



УДК 616.126

DOI 10.17802/2306-1278-2023-12-3-173-180

ONLINE

N-ГЛИКОЛИЛНЕЙРАМИНОВАЯ КИСЛОТА КАК ВОЗМОЖНЫЙ ТРИГГЕР ИММУННОГО ОТТОРЖЕНИЯ ЭПОКСИОБРАБОТАННЫХ КСЕНОПЕРИКАРДИАЛЬНЫХ БИОПРОТЕЗОВ КЛАПАНОВ СЕРДЦА

А.Е. Костюнин, Т.В. Глушкова, М.А. Резцова, К.Ю. Клышников, П.С. Онищенко, Е.А. Овчаренко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Сосновы бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Стабилизация бычьего перикарда диглицидиловым эфиром этиленгликоля не экранирует содержащуюся в его структуре N-гликолилнейраминовую кислоту – один из наиболее иммунореактивных гликановых ксеноантигенов.
- N-гликолилнейраминовая кислота может являться потенциальным триггером раннего иммунного отторжения эпоксиобработанных ксенобиопротезов клапанов сердца.

ORIGINAL STUDIES

Цель	Оценить присутствие N-гликолилнейраминовой кислоты (ГНК) в интактном бычьем перикарде, стабилизированном диглицидиловым эфиром этиленгликоля, а также в створках эпоксиобработанных ксеноперикардиальных биопротезов клапанов сердца (БП), эксплантированных по причине дисфункций.
Материалы и методы	Посредством иммуногистохимического окрашивания антителом к ГНК изучены фрагменты пяти лоскутов интактного эпоксиобработанного бычьего перикарда, применяемого в производстве БП. Аналогичным образом исследованы фрагменты створок восьми эпоксиобработанных БП со сроками функционирования от 1 дня до 68 мес. и иссеченных при репротезировании. В качестве положительного и отрицательного контролей использовали нативный бычий перикард и створки трех аортальных клапанов, удаленных при протезировании у пациентов с аортальным стенозом, соответственно.
Результаты	Положительное окрашивание ГНК отмечено в интактном эпоксиобработанном ксеноперикарде и створках БП, иссеченных через 1, 2, 20 и 42 дня после имплантации. Ткани БП, функционировавшего 30 мес., характеризовались следовым присутствием ГНК. В створках аортальных клапанов и БП, эксплантированных через 34, 63 и 68 мес., ГНК не выявлена.
Заключение	Стабилизация ксенобиоматериала диглицидиловым эфиром этиленгликоля не экранирует ГНК. Данный сахарид сохраняется в структуре биоматериала функционирующих эпоксиобработанных БП около 2,5 лет после имплантации.
Ключевые слова	Биологические протезы клапанов сердца • Структурная дегенерация клапанов • Иммунное отторжение • N-гликолилнейраминовая кислота

Поступила в редакцию: 03.05.2023; поступила после доработки: 14.06.2023; принята к печати: 05.07.2023

N-GLYCOLYLNEURAMINIC ACID AS A POSSIBLE TRIGGER FOR IMMUNE REJECTION OF EPOXY-TREATED XENO-PERICARDIAL HEART VALVE BIOPROSTHESES

А.Е. Kostyunin, T.V. Glushkova, M.A. Rezvova, K.Yu. Klyshnikov, P.S. Onishchenko, E.A. Ovcharenko

Federal State Budgetary Institution "Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases", 6, Sosnovy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Highlights

- Stabilization of bovine pericardial tissue by ethylene glycol diglycidyl ether does not remove the N-glycolylneuraminic acid contained in its structure, which is one of the most immunoreactive glycan xenoantigens.

Для корреспонденции: Александр Евгеньевич Костюнин, rhabdophis_tigrina@mail.ru; адрес: Сосновы бульвар, 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Alexander E. Kostyunin, rhabdophis_tigrina@mail.ru; address: 6, Sosnovy Blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

- N-glycolylneuraminic acid can potentially cause early immune rejection of epoxy-treated bioprosthetic heart valves.

Aim	To assess the presence of N-glycolylneuraminic acid (Neu5Gc) in an intact bovine pericardial tissue stabilized by ethylene glycol diglycidyl ether and in the leaflets of epoxy-treated bioprosthetic heart valves (BHV) explanted due to dysfunction.
Methods	By means of immunochemistry (using anti-Neu5Gc antibodies), we studied the fragments of 5 samples of intact epoxy-treated bovine pericardium commonly used in cardiac surgery. Similarly, we examined the fragments of the leaflets of 8 epoxy-treated BHVs that lasted for different time periods (1 day to 68 months) and excised during reoperation. The native bovine pericardium and the leaflets of 3 human aortic valves (AV) removed during reoperation in patients with aortic stenosis were used as positive and negative controls, respectively.
Results	Positive reaction for Neu5Gc was observed in intact epoxy-treated xenopericardium and BHVs excised 1, 2, 20 and 42 days after implantation. The tissue of BHV that had lasted 30 months was characterized by the faint presence of Neu5Gc. In the leaflets of AV and in BHVs, explanted after 34, 63 and 68 months, Neu5Gc was not detected.
Conclusion	Stabilization of xenobiomaterial with ethylene glycol diglycidyl ether does not remove the Neu5Gc. This saccharide remains in the biological tissue of epoxy-treated BHV for about 2.5 years after implantation.
Keywords	Bioprosthetic heart valve • Structural valves degeneration • Immune rejection • N-glycolylneuraminic acid

Received: 03.05.2023; received in revised form: 14.06.2023; accepted: 05.07.2023

Список сокращений

БП – биологические протезы	ГНК – N-гликолилнейраминавая кислота
ГА – глутаровый альдегид	ДЭЭ – диглицидиловый эфир этиленгликоля

Введение

При протезировании несостоятельных клапанов сердца в современной хирургии широко применяют ксеногенные биологические протезы (БП), изготовленные из химически стабилизированных тканей животного происхождения (бычьего перикарда или аортального комплекса свиньи) [1]. БП характеризуются низкой тромбогенностью и оптимальными гидродинамическими параметрами транспротезного тока крови, приближенными к таковым естественных клапанов сердца [2]. Вместе с тем БП относительно недолговечны: сроки функционирования большинства моделей этих медицинских изделий составляют в среднем 10–15 лет [3]. В качестве основной причины протезных дисфункций выступает структурная дегенерация биологического компонента имплантатов [4, 5]. Последняя представляет собой постепенный необратимый процесс ухудшения свойств биоматериала, обусловленный повреждением и кальцификацией его волокнистой основы [4, 5]. Вследствие накопления дегенеративных изменений в створчатом аппарате БП формируются перфорации и крупные кальцификаты, что приводит к недостаточности и/или стенозированию клапана [4, 5].

Одним из ведущих факторов развития структур-

ной дегенерации является хроническое иммунное отторжение БП [6], главными триггерами которого служат остаточные углеводные антигены животных, в том числе N-гликолилнейраминавая кислота (ГНК) [7]. ГНК принадлежит классу сиаловых кислот, она выступает в качестве терминального звена полисахаридов, конъюгированных с белками и липидами клеточных мембран и внеклеточного матрикса [8]. ГНК обильно синтезируется в тканях большинства млекопитающих, включая свиней и крупный рогатый скот, однако отсутствует в организме человека, вследствие чего люди лишены иммунной толерантности к ней [9].

Ранее показано, что ГНК не разрушается и не экранируется при химической стабилизации биоматериала растворами на основе глутарового альдегида (ГА) [10]. Следует подчеркнуть, что ГА является главным консервантом, используемым при производстве подавляющего большинства коммерческих марок БП по всему миру [11]. В то же время в Российской Федерации применяют уникальную технологию обработки БП диглицидиловым эфиром этиленгликоля (ДЭЭ) [11]. Согласно теоретическим представлениям фиксация биоматериала ДЭЭ может экранировать ГНК и другие ксеногликаны, препят-

ствуя развитию антительного и клеточного иммунного ответа против эпоксиобработанных БП [12]. Впрочем, до настоящего времени это предположение не проверяли экспериментально.

Целью настоящей работы стала оценка способности обработки ДЭЭ разрушать или маскировать ГНК от распознавания специфическими антителами. Для этого мы изучили фиксированный ДЭЭ бычий перикард и удаленные при реоперациях эпоксиобработанные ксеноперикардальные БП посредством иммуногистохимического метода.

Материалы и методы

Настоящее исследование состояло из двух последовательных этапов.

Первым этапом мы оценивали способность обработки ДЭЭ разрушать или маскировать содержащуюся в биоматериале ГНК. С этой целью мы использовали фрагменты пяти лоскутов эпоксиобработанного бычьего перикарда «КемПерипласНео» (ЗАО «НеоКор», Россия), применяемого в производстве БП. Образцы были получены в растворе ДЭЭ, после чего подвергнуты отмывке в 0,9% растворе хлорида натрия в течение 15 мин и заморожены в жидком азоте для выполнения дальнейшей пробоподготовки. В качестве положительного контроля применяли нефиксированный бычий перикард, любезно предоставленный ЗАО «НеоКор» (Россия). Образцы находились в 0,9% растворе хлорида натрия при 4 °С и по прибытии в лабораторию были заморожены в жидком азоте. В качестве отрицательного контроля мы использовали створки трех аортальных клапанов человека, удаленных в ходе операций протезирования по причине кальцинирующего аортального стеноза. Последние доставляли в лабораторию в 0,9% растворе хлорида натрия в течение 15–20 мин после иссечения и затем замораживали. Замороженные образцы применяли для изготовления серийных срезов толщиной 6 мкм с помощью криотома Microm HM 525 (Thermo Scientific, Германия). Срезы располагали на предметные стекла в количестве 4–5 штук.

Для выявления ГНК в срезах тканей применяли иммуногистохимический метод с докрасиванием гематоксилином. Перед окрашиванием срезы 10 мин фиксировали в 4% параформальдегиде, после чего трехкратно отмывали (по 5 мин) в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) (рН 7,4) на шейкере Polymax 1040 (Heidolph Instruments, Германия) при 30 об./мин. Далее блокировали эндогенную пероксидазу 4% раствором пероксида водорода в течение 5 мин и после двукратной отмывки срезов в ФСБ блокировали неспецифическое связывание антител 0,1% солевым раствором человеческого сывороточного альбумина (A1653-5G, Sigma-Aldrich, США). Для детекции ГНК применяли соответствующее куриное антитело (146903, BioLegend, США), разведенное в соот-

ношении 1:100 в 0,1% солевом растворе человеческого сывороточного альбумина. Инкубацию срезов с первичным антителом производили в закрытом коробе в течение 20 ч при 4 °С. После трехкратной отмывки в ФСБ срезы 45 мин обрабатывали противokuриным козым антителом, конъюгированным с пероксидазой хрена (ab97135, Abcam, Великобритания). Затем срезы трижды отмывали в ФСБ и инкубировали с 0,087% раствором диаминобензидина из набора NovoLink Polymer Detection System (RE7150-CE, Leica Biosystems, США) в течение 2 мин. Далее срезы 5 мин отмывали в бидистиллированной воде и помещали на 15 мин в гематоксилин Майера (05-002, «БиоВитрум», Россия). После этого производили подсинение срезов в проточной воде (5 мин), их обезжизивание в трех сменах 95% этанола (по 5 мин) и просветление в трех сменах ксилола (по 5 мин), в конце заключая под покровное стекло с помощью монтирующей среды Витрогель (12-005, «БиоВитрум», Россия). В качестве отрицательного контроля антител использовали срезы, окрашиваемые по описанному протоколу без добавления первичного или вторичного антитела. Анализ срезов с иммуногистохимическими окрасками осуществляли посредством светового микроскопа AxioImager.A1 (Zeiss, Германия), обработку изображений производили с помощью программы AxioVision (Zeiss, Германия).

Целью второго этапа исследования стало определение временных рамок, в течение которых ГНК сохраняется в биоматериале имплантированных пациентам эпоксиобработанных БП. Для этого нами изучены фрагменты створок 8 ксеноперикардальных БП моделей «ЮниЛайн» (n = 5) и «ТиАра» (n = 3) (ЗАО «НеоКор», Кемерово, Россия), иссеченных из митральной и аортальной позиций в ходе операций репротезирования у 8 реципиентов соответственно. Сроки функционирования полученных БП составили от 1 дня до 68 мес. (таблица). Причины дисфункций БП в раннем послеоперационном периоде (2–42 дня) включали острый тромбоз и деформацию проволочного каркаса, приведшие к стенозированию и недостаточности имплантатов соответственно. Эксплантация БП, функционировавшего один день, не была связана с его дисфункцией и выполнена в ходе экстренного хирургического вмешательства по причине разрыва задней стенки левого желудочка. Причиной дисфункции БП, удаленных через 30–68 мес., стала структурная дегенерация клапанов.

После транспортировки БП в лабораторию производили отделение створок от каркаса, которые затем замораживали в жидком азоте. Подготовку срезов, окрашивание антителами к ГНК и последующий анализ производили в соответствии с вышеописанной методикой.

Удаленные аортальные клапаны и БП использовали при наличии подписанного добровольного информированного согласия пациентов. Исследо-

вание одобрено локальным этическим комитетом НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний.

Результаты

Изучение срезов нативного (необработанного) бычьего перикарда, инкубированных с антителом к ГНК, показало, что интенсивное положительное окрашивание локализуется с присутствующими в биоткани клетками (рис. 1). Также окрашивание на ГНК наблюдали вдоль коллагеновых волокон ксеноперикарда. Аналогичная картина отмечена при анализе срезов эпоксиобработанного бычьего перикарда. Створки аортальных клапанов человека (отрицательный контроль) не показали признаков присутствия ГНК.

Обработка антителом к ГНК створок иссеченных эпоксиобработанных БП продемонстрировала значительную разницу в интенсивности окрашивания, зависящую от времени функционирования имплантатов (рис. 2). В частности, характер окрашивания функционировавших до полутора месяцев БП не различался между собой и не отличался от такового нативного и интактного эпоксиобработанного БП. Окрашивание створок БП, иссеченного через 30 мес. после имплантации, показало следовое присутствие ГНК во внеклеточном матриксе, при этом слабое положительное окрашивание наблюдалось как вдоль коллагеновых волокон, так и на поверхности остаточных клеток донора. Наконец, эксплантированные через 34, 63 и 68 мес. БП не демонстрировали положительного окрашивания на ГНК.

Обсуждение

ГНК является сахаридом, присутствующим в тканях большинства млекопитающих, но не экспрессирующимся в организме человека [13]. Неспособность людей синтезировать ГНК связана с эволюционной инактивацией гена *Cmah*, кодирующего ответственный за ее образование фермент – гидроксилазу цитидин-монофосфат-N-ацетилнейраминовой кислоты [13]. Эволюционная утрата ГНК привела к потере иммунной толерантности к этому сахариду, вследствие чего люди продуцируют специфичные антитела, определяемые в сыворотке крови примерно у 85% здоровых лиц [14]. Последние исследования продемонстрировали, что у реципиентов ксеногенных БП уровни антител к ГНК значительно увеличиваются через месяц после имплантации и остаются выше исходного уровня спустя 24 мес. [8]. При этом этого не наблюдается у пациентов, которым выполнено аортокоронарное

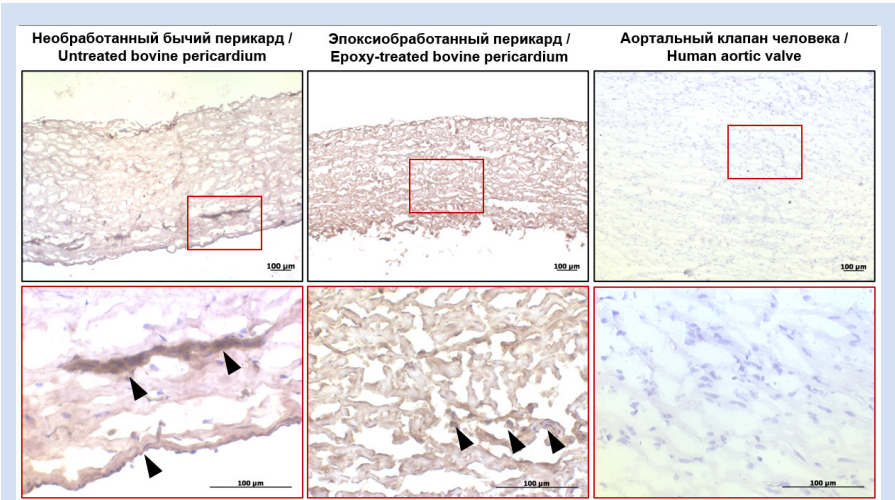


Рисунок 1. Результаты иммуногистохимического окрашивания исследуемых биологических тканей антителом к N-гликолилнейраминовой кислоте. Стрелки указывают на клеточный компонент ксеноперикарда. Обращает внимание отсутствие положительного окрашивания, ассоциированного с клетками или волокнистым компонентом ткани в нативных аортальных клапанах человека (отрицательный контроль)
Figure 1. Immunohistochemical staining using anti-N-glycolylneuraminic acid antibodies. Arrow heads indicate cells of the xenopericardium. Note the absence of positive reaction for cells or fibers of the native human aortic valves (negative control)

Основные характеристики изученных биопротезов клапанов сердца и их реципиентов
Main characteristics of the studied bioprosthetic heart valves and their recipients

Случай / Case	Пол пациента / Patient gender	Возраст пациента, лет / Patient age, years	Время работы БП / BHVs lifespan	Причина дисфункции / Cause of dysfunction
1	Женщина / Female	71	1 день / 1 day	Эксплантация не связана с дисфункцией БП / Explantation is not associated with BHV dysfunction
2	Женщина / Female	72	2 дня / 2 days	Тромбоз / Thrombosis
3	Женщина / Female	72	20 дней / 20 days	Деформация каркаса / Frame deformation
4	Мужчина / Male	75	42 дня / 42 days	Деформация каркаса / Frame deformation
5	Женщина / Female	68	30 мес. / 30 months	СД / SVD
6	Мужчина / Male	72	34 мес. / 34 months	СД / SVD
7	Женщина / Female	77	63 мес. / 63 months	СД / SVD
8	Мужчина / Male	66	68 мес. / 68 months	СД / SVD

Примечание: БП – биопротезы клапанов сердца; СД – структурная дегенерация клапанов.
Note: BHV – bioprosthetic heart valve; SVD – structural valve degeneration.

шунтирование или произведена замена нативного клапана сердца механическим протезом [8].

Предположительно, осаждение антител в БП стимулирует воспалительную клеточную инфильтрацию имплантатов, тогда как иммунные клетки способствуют развитию структурной дегенерации клапанов через продукцию широкого спектра матрикс-деградирующих ферментов и кальций-связывающих белков [12, 15]. Эксперименты на модели подкожной имплантации *Cmah*-дефицитным мышам фрагментов ГА-фиксированных БП показывают, что предварительная обработка образцов человеческими или мышинными антителами к ГНК способствует их ускоренной кальцификации по сравнению с таковыми, не обрабатываемыми антителами или взятыми от *Cmah*-дефицитных свиней [8].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что стабилизация биоматериала с применением ДЭЭ не дает дополнительных преимуществ по снижению ГНК-обусловленной иммуногенности ксенобиоматериала относительно более распространенной обработки ГА [10]. Вероятно, этот способ консервации не устраняет и другие гликановые ксеноантигены, такие как галактоза- α 1,3-галактоза, выявляемые в ГА-фиксированных тканях методами иммунодетекции [16]. Впрочем, это предположение требует экспериментальной проверки.

Важнейшей составляющей нашего исследования следует назвать выявление сроков, в течение которых присутствующая в структуре эпоксиобработанных БП ГНК остается доступной для связывания с антителами. Они составляют не более 2,5 лет. В то же время сопровождаемую агрессивной инфильтрацией иммунными клетками структурную дегенерацию клапанов, как правило, выявляют значительно позже – через 5–10 лет после имплантации БП [17, 18]. Эти данные указывают на то, что ГНК вряд ли выступает в качестве триггера хронического воспалительного поражения БП, возникающего через несколько лет после протезирования. Таковыми, вероятно, являются более устойчивые гликановые или белковые ксеноантигены. Например, согласно недавним исследованиям, в составе ГА-фиксированного бычьего перикарда обнаружено 19 белков, к которым реципиенты БП вырабатывают специфичные антитела [19]. Тем не менее ГНК может быть одним из главных триггеров раннего отторжения БП [20].

В настоящее время не разработано недорогих и эффективных способов устранения содержащейся в биоматериале ГНК и других ксеногликанов. В качестве возможных путей решения указанной проблемы предложено выведение генномодифицированных животных, не экспрессирующих иммунореактивные гликановые антигены, однако из-за высокой стоимости этот метод применяется лишь в рамках экспериментальной деятельности и почти не находит выход в клиническую практику [12]. Дру-

гим путем может стать децеллюляризация, или ферментная обработка биоматериала, показавшая удовлетворительные результаты при попытке удалить из структуры ксенотканей еще один важнейший ксеноантиген – галактоза- α 1,3-галактозу [21, 22]. Тем не менее применимость этого подхода для устранения ГНК в эпоксиобработанном ксеноперикарде требует изучения [12].

Закключение

Результаты настоящего исследования демонстрируют наличие неэкранированной ГНК в эпоксиобработанных ксеноперикардальных биопротезах клапанов сердца, сохраняющейся в периоде до 2,5 лет после имплантации. Исходя из этого можно предположить, что широко применяемый в России метод стабилизации ксенобиоматериала ДЭЭ не имеет преимуществ перед консервацией ГА в отношении

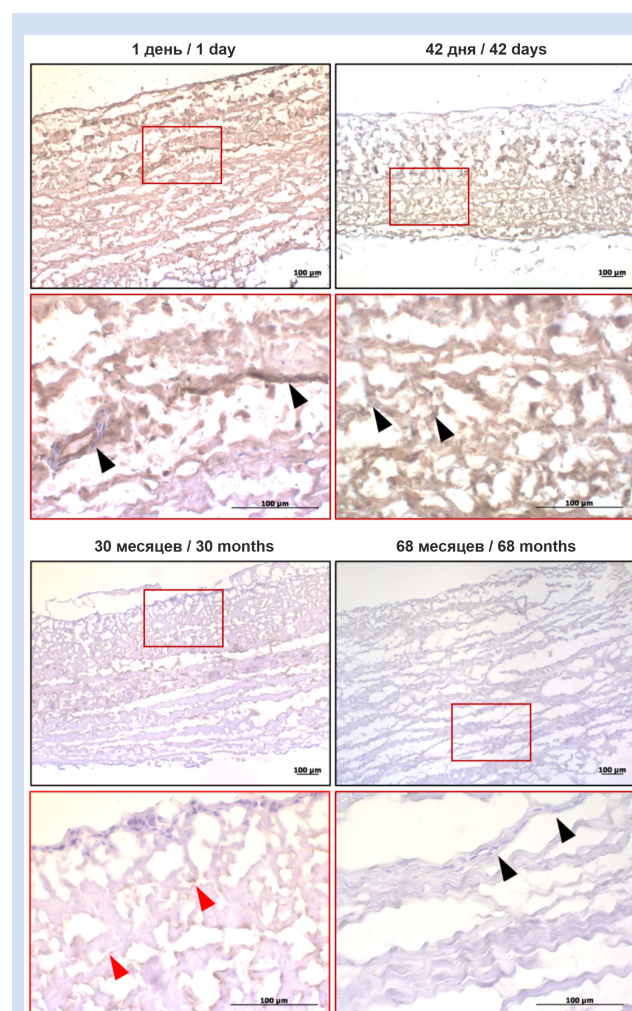


Рисунок 2. Результаты иммуногистохимического окрашивания створок эпоксиобработанных ксеноперикардальных биопротезов клапанов сердца антителом к N-гликолилнейраминной кислоте. Черные стрелки указывают на остаточные клетки донора и клеточный дебрис. Красные стрелки демонстрируют слабое положительное окрашивание, свидетельствующее о следовом присутствии N-гликолилнейраминной кислоты

Figure 2. Immunohistochemical staining of the leaflets of epoxy-treated bioprosthetic heart valves using anti-N-glycolylneuraminic acid antibodies. Black arrow heads indicate residual cells and cellular debris. Red arrow heads indicate weak positive reaction, indicating the trace presence of N-glycolylneuraminic acid

экранирования или разрушения ГНК – одного из наиболее иммунореактивных гликановых ксеноантигенов. С учетом того что ГНК может быть ответственной за раннюю кальцификацию или иммунное отторжение имплантатов, необходима разработка подходов к дополнительной модификации эпокси-обработанного биоматериала, позволяющих устранить или маскировать гликановые ксеноантигены.

Конфликт интересов

А.Е. Костюнин заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.В. Глушкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.А. Резвова заявляет об отсутствии конфликта интересов. К.Ю. Клышников заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Информация об авторах

Костюнин Александр Евгеньевич, кандидат биологических наук научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-6099-0315

Глушкова Татьяна Владимировна, кандидат биологических наук старший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Резвова Мария Александровна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4405-8904

Клышников Кирилл Юрьевич, кандидат медицинских наук научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-3211-1250

Онищенко Павел Сергеевич, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-2404-2873

Овчаренко Евгений Андреевич, кандидат технических наук заведующий лабораторией новых биоматериалов отдела экспериментальной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-7477-3979

Вклад авторов в статью

КАЕ – вклад в дизайн исследования, анализ и интерпретация данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

П.С. Онищенко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Е.А. Овчаренко заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках комплексной программы фундаментальных научных исследований СО РАН по фундаментальной теме НИИ КПССЗ № 0419-2022-0001 «Молекулярные, клеточные и биомеханические механизмы патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний в разработке новых методов лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы на основе персонифицированной фармакотерапии, внедрения малоинвазивных медицинских изделий, биоматериалов и тканеинженерных имплантатов».

Author Information Form

Kostyunin Alexander E., PhD, researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution «Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases», Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6099-0315

Glushkova Tatyana V., PhD, senior researcher at the Laboratory of New Biomaterials, Department of Experimental Medicine, Federal State Budgetary Institution «Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases», Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Rezvova Maria A., a junior research assistant at the Laboratory of New Biomaterials, the Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4405-8904

Klyshnikov Kirill Yu., PhD, a research assistant at the Laboratory of New Biomaterials, the Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3211-1250

Onishchenko Pavel S., a junior research assistant at the Laboratory of New Biomaterials, the Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-2404-2873

Ovcharenko Evgeniy A., PhD, Head of the Laboratory of New Biomaterials, the Department of Experimental Medicine, Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-7477-3979

Author Contribution Statement

КАЕ – contribution to the design of the study, data analysis and interpretation, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

ГТВ – анализ данных исследования, написание статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

РМА – получение данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ККЮ – получение данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ОПС – получение и анализ данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

ОЕА – вклад в дизайн исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

GTV – data analysis, manuscript writing, approval of the final version, fully responsible for the content

RMA – data collection, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

KKY – data collection, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

OPS – data collection and analysis, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

OEA – contribution to the design of the study, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тимченко Т.П. Бисфосфонаты как потенциальные ингибиторы кальцификации биопротезов клапанов сердца (обзор). Современные технологии в медицине. 2022; 14(2):68-79. doi:10.17691/stm2022.14.2.07
2. Head S.J., Çelik M., Kappetein A.P. Mechanical versus bioprosthetic aortic valve replacement. Eur. Heart J. 2017; 38(28):2183-2191. doi:10.1093/eurheartj/ehx141
3. Fatima B., Mohananeey D., Khan F.W., Jobanputra Y., Tummala R., Banerjee K., Krishnaswamy A., Mick S., Tuzcu E.M., Blackstone E., Svensson L., Kapadia S. Durability data for bioprosthetic surgical aortic valve: a systematic review. JAMA Cardiol. 2019; 4(1):71-80. doi:10.1001/jamacardio.2018.4045
4. Capodanno D., Petronio A.S., Prendergast B., Eltchaninoff H., Vahanian A., Modine T., Lancellotti P., Sondergaard L., Ludman P.F., Tamburino C., Piazza N., Hancock J., Mehilli J., Byrne R.A., Baumbach A., Kappetein A.P., Windecker S., Bax J., Haude M. Standardized definitions of structural deterioration and valve failure in assessing long-term durability of transcatheter and surgical aortic bioprosthetic valves: a consensus statement from the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI) endorsed by the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). Eur. Heart J. 2017; 38(45):3382-3390. doi:10.1093/eurheartj/ehx303
5. Dvir D., Bourguignon T., Otto C.M., Hahn R.T., Rosenhek R., Webb J.G., Treede H., Sarano M.E., Feldman T., Wijesundera H.C., Topilsky Y., Aupart M., Reardon M.J., Mackensen G.B., Szeto W.Y., Kornowski R., Gammie J.S., Yoganathan A.P., Arbel Y., Borger M.A., Simonato M., Reisman M., Makkar R.R., Abizaid A., McCabe J.M., Dahle G., Aldea G.S., Leipsic J., Pibarot P., Moat N.E., Mack M.J., Kappetein A.P., Leon M.B.; VIVID (Valve in Valve International Data) Investigators Standardized definition of structural valve degeneration for surgical and transcatheter bioprosthetic aortic valves. Circulation. 2018; 137(4):388-399. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030729
6. Bozso S.J., Kang J.J., Basu R., Adam B., Dyck J.R.B., Oudit G.Y., Mañez R.C., Freed D.H., Nagendran J., Nagendran J. Structural valve deterioration is linked to increased immune infiltrate and chemokine expression. J Cardiovasc Trans Res. 2021; 14:503-512. doi:10.1007/s12265-020-10080-x
7. Bozso S.J., El-Andari R., Al-Adra D., Moon M.C., Freed D.H., Nagendran J., Nagendran J. A review of the immune response stimulated by xenogenic tissue heart valves. Scand J Immunol. 2021; 93(4):e13018. doi:10.1111/sji.13018
8. Senage T., Paul A., Le Tourneau T., Fellah-Hebia I., Vadori M., Bashir S. et al. The role of antibody responses against glycans in bioprosthetic heart valve calcification and deterioration. Nat Med. 2022; 28(2):283-294. doi:10.1038/s41591-022-01682-w
9. Barone A., Benktander J., Whiddon C., Jin C., Galli C., Teneberg S., Breimer M.E. Glycosphingolipids of porcine, bovine, and equine pericardium as potential immune targets in bioprosthetic heart valve grafts. Xenotransplantation. 2018; 25(5):e12406. doi:10.1111/xen.12406
10. Reuven E.M., Leviatan Ben-Arye S., Marshanski T., Breimer M.E., Yu H., Fellah-Hebia I., Roussel J.C., Costa C., Galinanes M., Mañez R., Le Tourneau T., Soulillou J.P., Cozzi E., Chen X., Padler-Karavani V. Characterization of immunogenic Neu5Gc in bioprosthetic heart valves. Xenotransplantation. 2016; 23(5):381-92. doi:10.1111/xen.12260
11. Барбараш Л.С., Журавлева И.Ю. Эволюция биопротезов клапанов сердца: достижения и проблемы двух десятилетий. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2012; (1):4-11. doi:10.17802/2306-1278-2012-1-4-11
12. Костюнин А.Е., Резцова М.А. Роль остаточных ксеноантигенов в дегенерации ксеногенных биопротезов клапанов сердца. Иммунология. 2019; 40(4):56-63. doi:10.24411/0206-4952-2019-14005
13. Altman M.O., Gagneux P. Absence of Neu5Gc and presence of anti-Neu5Gc antibodies in humans – an evolutionary perspective. Front Immunol. 2019; 10:789. doi: 10.3389/fimmu.2019.00789
14. Zhu A., Hurst R. Anti-N-glycolylneuraminic acid antibodies identified in healthy human serum. Xenotransplantation. 2002; 9(6):376-381. doi:10.1034/j.1399-3089.2002.02138.x
15. Marro M., Kossar A.P., Xue Y., Frasca A., Levy R.J., Ferrari G. Noncalcific mechanisms of bioprosthetic structural valve degeneration. J Am Heart Assoc. 2021; 10(3):e018921. doi:10.1161/JAHA.120.018921
16. Naso F., Gandaglia A., Bottio T., Tarzia V., Nottle M.B., d'Apice A.J., Cowan P.J., Cozzi E., Galli C., Lagutina I., Lazzari G., Iop L., Spina M., Gerosa G. First quantification of alpha-Gal epitope in current glutaraldehyde-fixed heart valve bioprostheses. Xenotransplantation. 2013; 20(4):252-261. doi:10.1111/xen.12044
17. Мухамадияров Р.А., Рутковская Н.В., Сидорова О.Д., Барбараш Л.С. Исследование клеточного состава кальцинированных биопротезов клапанов сердца. Вестник РАМН. 2015; 70(6):662-668. doi:10.15690/vramn560
18. Kostyunin A., Mukhamadiyrov R., Glushkova T., Bogdanov L., Shishkova D., Osyayev N., Ovcharenko E., Kutikhin A. Ultrastructural pathology of atherosclerosis, calcific aortic valve disease, and bioprosthetic heart valve degeneration: commonalities and differences. Int J Mol Sci. 2020; 21(20):7434. doi:10.3390/ijms21207434
19. Gates K.V., Xing Q., Griffiths L.G. Immunoproteomic identification of noncarbohydrate antigens eliciting graft-specific adaptive immune responses in patients with bovine pericardial bioprosthetic heart valves. Proteomics Clin. Appl. 2019; 13(4):e1800129. doi:10.1002/prca.201800129
20. Fournier P.E., Thuny F., Grisoli D., Lepidi H., Vitte J., Casalta J.P., Weiller P.J., Habib G., Raoult D. A deadly aversion to pork. Lancet. 2011; 377(9776):1542. doi:10.1016/S0140-6736(11)60021-4
21. Heuschkel M.A., Leitolis A., Roderjan J.G., Suss P.H., Luzia C.A.O., da Costa F.D.A., Correa A., Stimamiglio M.A. In vitro evaluation of bovine pericardium after a soft decellularization approach for use in tissue engineering. Xenotransplantation. 2019; 26(2):e12464. doi:10.1111/xen.12464
22. Wu L.C., Kuo Y.J., Sun F.W., Chen C.H., Chiang C.J., Weng P.W., Tsuang Y.H., Huang Y.Y. Optimized decellularization protocol including α -Gal epitope reduction for fabrication of an acellular porcine annulus fibrosus scaffold. Cell Tissue Bank. 2017; 18(3):383-396. doi:10.1007/s10561-017-9619-4

REFERENCES

1. Timchenko T.P. Bisphosphonates as potential inhibitors of calcification in bioprosthetic heart valves (review). *Modern Technologies in Medicine*. 2022; 14(2):68-79. doi:10.17691/stm2022.14.2.07 (in Russian)
2. Head S.J., Çelik M., Kappetein A.P. Mechanical versus bioprosthetic aortic valve replacement. *Eur. Heart J.* 2017; 38(28):2183-2191. doi:10.1093/eurheartj/ehx141
3. Fatima B., Mohananeey D., Khan F.W., Jobanputra Y., Tummala R., Banerjee K., Krishnaswamy A., Mick S., Tuzcu E.M., Blackstone E., Svensson L., Kapadia S. Durability data for bioprosthetic surgical aortic valve: a systematic review. *JAMA Cardiol.* 2019; 4(1):71-80. doi:10.1001/jamacardio.2018.4045
4. Capodanno D., Petronio A.S., Prendergast B., Eltchaninoff H., Vahanian A., Modine T., Lancellotti P., Sondergaard L., Ludman P.F., Tamburino C., Piazza N., Hancock J., Mehilli J., Byrne R.A., Baumbach A., Kappetein A.P., Windecker S., Bax J., Haude M. Standardized definitions of structural deterioration and valve failure in assessing long-term durability of transcatheter and surgical aortic bioprosthetic valves: a consensus statement from the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI) endorsed by the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur. Heart J.* 2017; 38(45):3382-3390. doi:10.1093/eurheartj/ehx303
5. Dvir D., Bourguignon T., Otto C.M., Hahn R.T., Rosenhek R., Webb J.G., Treede H., Sarano M.E., Feldman T., Wijesundera H.C., Topilsky Y., Aupart M., Reardon M.J., Mackensen G.B., Szeto W.Y., Kornowski R., Gammie J.S., Yoganathan A.P., Arbel Y., Borger M.A., Simonato M., Reisman M., Makkar R.R., Abizaid A., McCabe J.M., Dahle G., Aldea G.S., Leipsic J., Pibarot P., Moat N.E., Mack M.J., Kappetein A.P., Leon M.B.; VIVID (Valve in Valve International Data) Investigators Standardized definition of structural valve degeneration for surgical and transcatheter bioprosthetic aortic valves. *Circulation*. 2018; 137(4):388-399. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030729
6. Bozso S.J., Kang J.J., Basu R., Adam B., Dyck J.R.B., Oudit G.Y., Moon M.C., Freed D.H., Nagendran J., Nagendran J. Structural valve deterioration is linked to increased immune infiltrate and chemokine expression. *J Cardiovasc Trans Res.* 2021; 14:503-512. doi:10.1007/s12265-020-10080-x
7. Bozso S.J., El-Andari R., Al-Adra D., Moon M.C., Freed D.H., Nagendran J., Nagendran J. A review of the immune response stimulated by xenogenic tissue heart valves. *Scand J Immunol.* 2021; 93(4):e13018. doi:10.1111/sji.13018
8. Senage T., Paul A., Le Tourneau T., Fellah-Hebia I., Vadori M., Bashir S. et al. The role of antibody responses against glycans in bioprosthetic heart valve calcification and deterioration. *Nat Med.* 2022; 28(2):283-294. doi:10.1038/s41591-022-01682-w
9. Barone A., Benktander J., Whiddon C., Jin C., Galli C., Teneberg S., Breimer M.E. Glycosphingolipids of porcine, bovine, and equine pericardia as potential immune targets in bioprosthetic heart valve grafts. *Xenotransplantation*. 2018; 25(5):e12406. doi:10.1111/xen.12406
10. Reuven E.M., Leviatan Ben-Arye S., Marshanski T., Breimer M.E., Yu H., Fellah-Hebia I., Roussel J.C., Costa C., Galiñanes M., Mañez R., Le Tourneau T., Soullou J.P., Cozzi E., Chen X., Padler-Karavani V. Characterization of immunogenic Neu5Gc in bioprosthetic heart valves. *Xenotransplantation*. 2016; 23(5):381-92. doi:10.1111/xen.12260
11. Barbarash L.S., Zhuravleva I.Yu. Bioprosthetic heart valve evolution: two decades of advances and challenges. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2012; 1:4-11. doi:10.17802/2306-1278-2012-1-4-11 (in Russian)
12. Kostyunin A.E., Rezvova M.A. The role of residual xenoantigens in the degeneration of xenogenic bioprosthetic heart valves. *Immunologiya*. 2019; 40(4):56-63. doi:10.24411/0206-4952-2019-14005 (in Russian)
13. Altman M.O., Gagneux P. Absence of Neu5Gc and presence of anti-Neu5Gc antibodies in humans – an evolutionary perspective. *Front Immunol*. 2019; 10:789. doi: 10.3389/fimmu.2019.00789
14. Zhu A., Hurst R. Anti-N-glycolylneuraminic acid antibodies identified in healthy human serum. *Xenotransplantation*. 2002; 9(6):376-381. doi:10.1034/j.1399-3089.2002.02138.x
15. Marro M., Kossar A.P., Xue Y., Frasca A., Levy R.J., Ferrari G. Noncalcific mechanisms of bioprosthetic structural valve degeneration. *J Am Heart Assoc*. 2021; 10(3):e018921. doi:10.1161/JAHA.120.018921
16. Naso F., Gandaglia A., Bottio T., Tarzia V., Nottle M.B., d'Apice A.J., Cowan P.J., Cozzi E., Galli C., Lagutina I., Lazzari G., Iop L., Spina M., Gerosa G. First quantification of alpha-Gal epitope in current glutaraldehyde-fixed heart valve bioprostheses. *Xenotransplantation*. 2013; 20(4):252-261. doi:10.1111/xen.12044
17. Mukhamadiyarov R.A., Rutkovskaya N.V., Sidorova O.D., Barbarash L.S. Cellular composition of calcified bioprosthetic heart valves. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70(6):662-668. doi:10.15690/vramn560 (in Russian)
18. Kostyunin A., Mukhamadiyarov R., Glushkova T., Bogdanov L., Shishkova D., Osyaev N., Ovcharenko E., Kutikhin A. Ultrastructural pathology of atherosclerosis, calcific aortic valve disease, and bioprosthetic heart valve degeneration: commonalities and differences. *Int J Mol Sci*. 2020; 21(20):7434. doi:10.3390/ijms21207434
19. Gates K.V., Xing Q., Griffiths L.G. Immunoproteomic identification of noncarbohydrate antigens eliciting graft-specific adaptive immune responses in patients with bovine pericardial bioprosthetic heart valves. *Proteomics Clin. Appl*. 2019; 13(4):e1800129. doi:10.1002/prca.201800129
20. Fournier P.E., Thuny F., Grisoli D., Lepidi H., Vitte J., Casalta J.P., Weiller P.J., Habib G., Raoult D. A deadly aversion to pork. *Lancet*. 2011; 377(9776):1542. doi:10.1016/S0140-6736(11)60021-4
21. Heuschkel M.A., Leitolis A., Roderjan J.G., Suss P.H., Luzia C.A.O., da Costa F.D.A., Correa A., Stimamiglio M.A. In vitro evaluation of bovine pericardium after a soft decellularization approach for use in tissue engineering. *Xenotransplantation*. 2019; 26(2):e12464. doi:10.1111/xen.12464
22. Wu L.C., Kuo Y.J., Sun F.W., Chen C.H., Chiang C.J., Weng P.W., Tsuang Y.H., Huang Y.Y. Optimized decellularization protocol including α -Gal epitope reduction for fabrication of an acellular porcine annulus fibrosus scaffold. *Cell Tissue Bank*. 2017; 18(3):383-396. doi:10.1007/s10561-017-9619-4

Для цитирования: Костюнин А.Е., Глушкова Т.В., Резцова М.А., Клышников К.Ю., Онищенко П.С., Овчаренко Е.А. N-гликолилнейраминовая кислота как возможный триггер иммунного отторжения эпоксиобработанных ксеноперикардальных биопротезов клапанов сердца. *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2023;12(3): 173-180. DOI: 10.17802/2306-1278-2023-12-3-173-180

To cite: Kostyunin A.E., Glushkova T.V., Rezvova M.A., Klyshnikov K.Yu., Onishchenko P.S., Ovcharenko E.A. N-glycolylneuraminic acid as a possible trigger for immune rejection of epoxy-treated xeno-pericardial heart valve bioprostheses. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2023;12(3): 173-180. DOI: 10.17802/2306-1278-2023-12-3-173-180