

УДК 616.126-77-002-008.953-091-003.8
DOI 10.17802/2306-1278-2025-14-4-176-194

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАТТЕРНЫ ДИСФУНКЦИЙ КСЕНОПЕРИКАРДИАЛЬНЫХ БИОПРОТЕЗОВ КЛАПАНОВ СЕРДЦА МОДЕЛИ «ЮНИЛАЙН»

Е.А. Овчаренко, Т.В. Глушкова, А.Е. Костюнин, А.А. Ключева, Т.Н. Акентьева,
А.О. Поддубняк, М.П. Фокеева, К.Ю. Клышников, А.Н. Стасев, О.Л. Барбараш

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Основные положения

- Главной причиной дисфункций биологических протезов (БП) клапанов сердца модели «ЮниЛайн», возникших в течение первых 4 лет функционирования, стал протезный эндокардит (ПЭ). Основным фактором развития несостоятельности БП в более позднем временном периоде была структурная клапанная дегенерация (СКД).
- Ключевые макроскопические признаки СКД включали кальцификацию и разрывы створчатого аппарата. На микроскопическом уровне БП с СКД характеризовались умеренной клеточной инфильтрацией с преобладанием макрофагов. В свою очередь, для клапанов с ПЭ отмечены утолщение створок и формирование вегетаций, развитие которых сопровождалось агрессивной инвазией нейтрофилов.
- Результаты кластерного анализа данных по 46 ключевым клиническим и патоморфологическим признакам поддержали разделение исследованной выборки БП на 2 стабильных кластера, соответствующих паттернам СКД и ПЭ.

Цель	Выполнить комплексную оценку патоморфологических изменений в БП модели «ЮниЛайн», эксплантированных по причине дисфункции.
Материалы и методы	Изучено 44 БП модели «ЮниЛайн», удаленных у соответствующего числа реципиентов при репротезировании клапанов. Для выявления состава и оценки микроструктуры биоматериала производили криотомирование створок с последующим окрашиванием срезов гематоксилином и эозином, пентахромом по Расселу–Мовату, масляным красным и ализариновым красным С. Колонии бактерий в образцах детектировали окрашиванием по Граму. Типирование клеток выполняли иммуногистохимическим методом, используя набор реактивов NovoLink Polimer DS и антитела к пан-лейкоцитарному маркеру (CD45), маркерам Т- и В-лимфоцитов (CD3 и CD19 соответственно), макрофагов (CD68), нейтрофилов (MPO) и тромбоцитов (CD62p). Окрашенные срезы сканировали на микроскопе MT5300L, полученные гистологические слайды анализировали в программах QuPath и Fiji. Для анализа патоморфологических паттернов дисфункций БП провели кластерный анализ.
Результаты	Анализ клинических данных и результатов патоморфологического исследования показал, что причинами развития дисфункций в изученной выборке БП стали ПЭ и СКД. Пациенты в группах ПЭ и СКД не имели значимых клинико-демографических различий. Средний срок функционирования БП при ПЭ составил 30 месяцев, при СКД – 74 месяца. Для клапанов, удаленных по причине СКД отмечена кальцификация створок и наличие в них разрывов. Большая часть БП с ПЭ отличались присутствием вегетаций на створчатом аппарате. Клапаны с СКД характеризовались умеренной макрофагальной инфильтрацией, тогда как при ПЭ выявлена агрессивная инвазия нейтрофилов. С помощью алгоритмов кластерного анализа выделено 2 стабильных паттерна дисфункций: первый характеризовался типичными для СКД признаками, включающими хроническое воспаление и кальцификацию, второй соответствовал персистирующему острому воспалению при ПЭ.

Для корреспонденции: Евгений Андреевич Овчаренко, ovchea@kemcardio.ru; адрес: бульвар им. академика Л.С. Барбараша 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Corresponding author: Evgeny A. Ovcharenko, ovchea@kemcardio.ru; address: 6, academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Закключение	Ключевые паттерны дисфункций клапанов «ЮниЛайн», стабилизированных диглицидиловым эфиром этиленгликоля, сводятся к двум патоморфологическим сценариям, связанным с развитием ПЭ или СКД. Выявленные паттерны аналогичны основным причинам дегенерации БП, обработанных глутаровым альдегидом. Это указывает на фундаментальные ограничения использования химически сшитого ксеноперикарда для производства БП и, как следствие, необходимость разработки новых материалов и методов, направленных на повышение долговечности искусственных клапанов сердца.
Ключевые слова	Биологические протезы клапанов сердца • Протезный эндокардит • Структурная клапанная дегенерация • Воспаление • Патоморфологический анализ • Кластерный анализ

Поступила в редакцию: 23.06.2025; поступила после доработки: 11.07.2025; принята к печати: 23.07.2025

PATHOMORPHOLOGICAL PATTERNS OF DYSFUNCTIONS OF
XENOPERICARDIAL BIOPROSTHESES OF HEART VALVES
OF THE “UNILINE” MODEL

E.A. Ovcharenko, T.V. Glushkova, A.E. Kostyunin, A.A. Klyueva, T.N. Akentieva,
A.O. Poddubnyak, M.P. Fokeeva, K.Yu. Klyshnikov, A.N. Stasev, O.L. Barbarash

Federal State Budgetary Institution “Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases”, 6,
academician Barbarash blvd., Kemerovo, Russian Federation, 650002

Highlights

- Prosthetic endocarditis (PE) was the main cause of dysfunctions of biological prosthetic heart valves of the UniLine model that occurred during the first 4 years of operation. The main factor in the development of PD insolvency in the later time period was structural valvular degeneration (SKD).
- The key macroscopic signs of SCD included calcification and ruptures of the valve apparatus. At the microscopic level, PD with SCD was characterized by moderate cellular infiltration with a predominance of macrophages. In turn, for valves with PE, thickening of the valves and the formation of vegetation were noted, the development of which was accompanied by aggressive invasion of neutrophils.
- The results of cluster analysis of data on 46 key clinical and pathomorphological features supported the division of the studied PD sample into 2 stable clusters corresponding to the patterns of CD and PE.

Aim	This study aimed to comprehensively evaluate the pathomorphological changes in “Uniline” bioprosthetic heart valves (BHV) explanted due to dysfunction.
Methods	A total of 44 “Uniline” BHVs, retrieved from an equal number of recipients during valve re-replacement procedures were examined. To determine cellular composition and assess biomaterial microstructure, valve leaflets were sectioned and stained using hematoxylin and eosin, Russell-Movat pentachrome, Oil Red O, and Alizarin Red S. Bacterial colonies were identified using Gram staining. Immunohistochemistry was performed with the NovoLink Polymer DS detection system and antibodies against the pan-leukocyte marker (CD45), T-lymphocytes (CD3), B-lymphocytes (CD19), macrophages (CD68), neutrophils (MPO), and platelets (CD62p). Stained sections were scanned on an MT5300L microscope, and the resulting histological slides were analyzed using QuPath and Fiji software. Cluster analysis was performed to identify pathomorphological patterns of BHV dysfunction.
Results	Clinical and pathomorphological data confirmed PE and SVD as the underlying causes of dysfunction within the cohort. Patients in the PE and SVD groups showed no significant clinical or demographic differences. The mean duration of BHV function was 30 months for PE and 74 months for SVD. Valves explanted due to SVD exhibited leaflet calcification and tears. Most BHVs with PE were characterized by the presence of vegetations on the leaflets. SVD-affected valves displayed moderate macrophage infiltration, whereas PE cases showed aggressive neutrophil invasion. Cluster analysis algorithms identified two stable patterns of dysfunction:

ORIGINAL STUDIES

the first was characterized by features typical of SVD, including chronic inflammation and calcification, while the second corresponded to persistent acute inflammation associated with PE.

Conclusion

PE and SVD are key pathomorphological patterns of dysfunction in “Uniline” BHVs, treated with ethyleneglycol diglycidyl ether. The identified patterns are the same as the main causes of degeneration in BHVs treated with glutaraldehyde. This underscores fundamental limitations in using chemically cross-linked xenopericardium for BHV manufacturing and, consequently, highlights the necessity for developing new materials and methods aimed at improving the durability of artificial heart valves.

Keywords

Heart valve bioprotheses • Prosthetic endocarditis • Structural valve degeneration • Inflammation • Pathomorphological analysis • Cluster analysis

Received: 23.06.2025; received in revised form: 11.07.2025; accepted: 23.07.2025

Список сокращений

БП — биопротезы клапанов сердца

ГА — глutarовый альдегид

ДЭЭ — диглицидиловый эфир этиленгликоля

ПЭ — протезный эндокардит

СКД — структурная клапанная дегенерация

Введение

Ксеноперикардальные биологические протезы (БП) клапанов сердца модели «ЮниЛайн» (АО «НеоКор», Россия) внедрены в клиническую практику в 2009 г. [1]. Рассматриваемые медицинские изделия изготавливают из перикарда крупного рогатого скота, стабилизируемого химически с помощью диглицидилового эфира этиленгликоля (ДЭЭ) по уникальной отечественной технологии [1]. Фиксация биологической ткани ДЭЭ разработана как альтернатива широко распространенному методу ее консервации глutarовым альдегидом (ГА) [2]. Ксеногенный биоматериал, обработанный ДЭЭ, демонстрирует улучшенную биосовместимость и устойчивость к кальцификации по сравнению со стабилизированным ГА, что подтверждено как в доклинических исследованиях на лабораторных животных, так и в ходе клинических наблюдений [3–5].

Следует отметить, что в настоящее время полноценные исследования долговечности ксеноперикардальных клапанов, стабилизированных ДЭЭ, ограничены из-за относительной молодости самой технологии. В литературных источниках опубликованы сведения об актуарной свободе от реоперации при имплантации клапанов «ЮниЛайн» в аортальную (100%) и митральную (94,2–96,5%) позиции лишь за 5- и 6-летний период наблюдений соответственно [6–8]. Также в литературе практически нет информации, характеризующей гистопатологическую картину дегенеративных изменений в биоматериале, возникающих при развитии дисфункций рассматриваемых БП. Подобные сведения получены для первого поколения ДЭЭ-обработанных БП (модели «КемКор» и «ПериКор»), но они отличаются от клапанов «ЮниЛайн» происхождением

материала створчатого аппарата, представленным створками аортального клапана свиньи [9, 10].

К основным причинам несостоятельности БП, изготовленных из стабилизированной ДЭЭ ксеноткани, относят протезный эндокардит (ПЭ) и структурную клапанную дегенерацию (СКД) [11]. В настоящей работе мы приводим данные патоморфологического и кластерного анализа серии БП «ЮниЛайн», удаленных по причине гемодинамически значимой дисфункции, обусловленной этими патологиями.

Материалы и методы

Объекты исследования

Материалом для исследования стали 44 БП модели «ЮниЛайн» (АО «НеоКор»), удаленные у соответствующего числа реципиентов при репротезировании клапанов сердца. Операции выполнены в период с 2015 по 2024 г. на базе Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (НИИ КПССЗ, Кемерово, Россия). В 19 случаях причиной замены БП стал ПЭ, тогда как 25 клапанов иссечены из-за СКД. При постановке диагноза ПЭ руководствовались модифицированными критериями Дьюка [12], а также результатами макроскопического и гистологического изучения образцов.

Эксплантированные при операциях БП помещали в охлажденный до 10 °С стерильный 0,9% раствор натрия хлорида и доставляли в лабораторию. После фотофиксации и макроскопического исследования БП готовили для дальнейшего изучения. Часть клапанов была сохранена в 10% растворе нейтрального забуференного формалина.

Для выполнения гистологических и иммуногистохимических окрашиваний створки БП отделя-

ли от каркаса, вырезая фрагменты с вегетациями и дегенеративными изменениями (разрывами, кальцификатами и внутривторочными кровоизлияниями), которые фиксировали в среде для быстрого замораживания тканей Neg-50 (6502, Thermo Fisher Scientific) и до исследования сохраняли при -140°C . В дальнейшем эти образцы использовали для серийной криотомной резки с помощью микротом-криостата HM525 (Thermo Fisher Scientific). Готовые криосрезы створок толщиной 5–6 мкм размещали на предметные стекла.

Исследование проводили в соответствии с принципами Надлежащей клинической практики и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, и одобрено локальным этическим комитетом НИИ КПССЗ (протокол №19 от 06.11.2018 г.). Перед включением в исследование все пациенты подписали письменное информированное согласие.

Гистологические окрашивания

Для анализа компонентного состава и структуры внеклеточного матрикса створок БП применяли методы окрашивания криосрезов гематоксилином (НК-G0-BL01, БиоВитрум) и эозином (НК-ES, БиоВитрум), пентахромом по Расселу-Мовату (ab245884, Abcam), масляным красным (ab150678, Abcam) и ализариновым красным С (142980, Abcam). Визуализацию бактерий осуществляли с помощью метода окрашивания по Граму (ab150672, Abcam). Все виды гистологических окрасок выполняли в соответствии с протоколами производителей реактивов. Окрашенные срезы заключали под покровные стекла, используя монтирующую среду Витрогель (HM-VI-A250, БиоВитрум) или водный раствор (1:1) глицерина (для срезов, окрашенных масляным красным).

Иммуногистохимические окрашивания

Для типирования клеток в створках БП применяли иммуногистохимический метод. С этой целью использовали набор реактивов для выполнения иммуногистохимической реакции NovoLink Polimer DS (RE7150-CE, Leica Biosystems) и антитела к пан-лейкоцитарному маркеру (CD45, ab10558, Abcam, разведение 1:4000), маркерам Т-лимфоцитов (CD3, ab16669, Abcam, 1:1000), В-лимфоцитов (CD19, MA5-32544, Thermo Fisher Scientific, 1:1500), макрофагов (CD68, ab227458, Abcam, 1:500), нейтрофилов (MPO, ab208670, Abcam, 1:4000) и тромбоцитов (CD62p, ab54427, Abcam, 1:1000).

Перед началом окрашивания срезы 10 минут инкубировали в 4% параформальдегиде при комнатной температуре, далее три раза отмывали (по 5 минут) в фосфатно-солевом буфере (pH 7,4). При выполнении иммуногистохимической реакции сле-

довали протоколу производителя вышеуказанного набора. Антитела к детектируемым маркерам разводили в 1% солевом растворе бычьего сывороточного альбумина (A3059-50G, Sigma-Aldrich), при этом их оптимальные разведения были подобраны в ходе предварительных серийных окрашиваний. Окрашенные срезы заключали под покровное стекло монтирующей средой Витрогель (HM-VI-A250, БиоВитрум). В качестве отрицательного контроля использовали срезы, окрашиваемые без добавления первичных антител.

Визуализация и анализ окрашенных срезов

После окрашивания срезы сканировали на автоматизированном микроскопе MT5300L (Meiji Techno) с дальнейшей обработкой гистологических слайдов и подготовкой изображений в программе QuPath v.0.5.1 [13]. На основе полученных слайдов и изображений осуществляли полуколичественный анализ липидной и клеточной инфильтрации, для чего выбирали по 10 репрезентативных гистологических срезов от каждого БП.

Интенсивность накопления липидов в створках БП выражали как процент занятой ими площади от общей площади среза, вычисленный с использованием пакета Fiji [14]. Для оценки средней плотности клеточной инфильтрации выполняли подсчет общего количества клеток на всей площади гистологического среза. Подсчет клеток и вычисление площади срезов производили в программе QuPath v.0.5.1.

Кластеризация данных

На основе патоморфологического анализа нами выделено 46 признаков для последующего сравнения и кластеризации данных (табл. 1). С целью оптимизации набора признаков проведена редукция исходных переменных: удалены признаки с низкой встречаемостью и высокой корреляцией.

Для выявления оптимальной кластерной структуры применялся комплекс алгоритмов кластеризации: иерархическая кластеризация, спектральная кластеризация, пространственный кластеризатор на основе плотности с шумом (DBSCAN), иерархический пространственный кластеризатор на основе плотности с шумом (HDBSCAN), метод распространения близости и алгоритм k-средних. С целью улучшения качества кластеризации было использовано предварительное снижение размерности признакового пространства методами главных компонент (PCA), стохастического вложения соседей с t-распределением (t-SNE) и проекции равномерного многообразия (UMAP) [15]. Качество полученных решений оценивалось по коэффициенту силуэта [16], индексам Калински–Харабаса [17] и Дэвиса–Болдина [18]. Отдельно была оценена сбалансированность классов как соотношение разме-

Таблица 1. Признаки, использованные при сравнении и кластеризации данных
Table 1. Features used in data comparison and clusterization

№	Признак	
1	Позиция имплантации биопротеза	
2	Средняя плотность клеток на срезе, шт./мм ² ; Ме [25-75%; min-max]	
3	Средняя площадь среза, занятая липидными пятнами, %; Ме [25-75%; min-max]	
4	Разрывы в створчатом аппарате	
5	Разрывы в куполе створок	
6	Разрывы в основании створок	
7	Разрывы в комиссуральной зоне створок	
8	Разрывы в свободном крае створок	
9	Утолщение створок	
10	Утолщение створок в куполе	
11	Утолщение створок в основании	
12	Утолщение створок в комиссуральной зоне	
13	Утолщение створок по свободному краю	
14	Площадь кальцификации створчатого аппарата	0 – макрокальцификация отсутствует (46%), 1 – каль
15	Кальцификаты в куполе створок	
16	Кальцификаты в основании створок	
17	Кальцификаты в комиссуральной зоне створок	
18	Кальцификаты в свободном крае створок	
19	Степень кальцификации обшивки каркаса	0 – макрокальцификация отсутствует (63%), 1 – каль
20	Кальцификация паннуса	
21	Нарастание паннуса на каркас	
22	Нарастание паннуса на створки	
23	Запаивание створок паннусом по стойкам	
24	Запаивание створок паннусом "в карман"	
25	Растяжение створок по свободному краю	
26	Внутристворочные кровоизлияния	
27	Деформация каркаса	
28	Вегетации	
29	Бактериальная инвазия, подтверждённая гистологически	
30	Пол	
31	Причина протезирования исследуемым биопротезом	0 – дегенеративный порок неинфекционной природы
32	Причина репротезирования исследуемого биопротеза	0 – стр
33	Курение	
34	Наркозависимость	
35	Функциональный класс по NYHA	
36	Гипертоническая болезнь	
37	Дислипидемия	
38	Прием статинов	
39	Индекс массы тела, средняя ± ошибка средней	
40	Сахарный диабет II типа	
41	Хроническая болезнь почек	
42	Транспротезная регургитация, степень	
43	Стенозирование биопротеза	
44	Возраст реципиента на момент протезирования, лет; Ме [25-75%; min-max]	
45	Срок функционирования биопротеза, месяцы; средняя ± ошибка средней	
46	Количество вмешательств	

Расшифровка категорий	
1 – трикуспидальная (39%), 2 – аортальная (16%), 3 – митральная (45%)	
155,6 [112,9–331,5; 30,6–1053,8]	
5,4 [0,3–10,3; 0–23]	
0 – отсутствуют (80%), 1 – присутствуют (20%)	
0 – отсутствуют (93%), 1 – присутствуют (7%)	
0 – отсутствуют (98%), 1 – присутствуют (2%)	
0 – отсутствуют (82%), 1 – присутствуют (18%)	
0 – отсутствуют (98%), 1 – присутствуют (2%)	
0 – отсутствует (43%), 1 – присутствует (57%)	
0 – отсутствует (61%), 1 – присутствует (39%)	
0 – отсутствует (59%), 1 – присутствует (41%)	
0 – отсутствует (52%), 1 – присутствует (48%)	
0 – отсутствует (45%), 1 – присутствует (55%)	
– кальцификация занимает < 25% площади (11%), 2 – кальцификация занимает 25–50% площади (11%), 3 – кальцификация занимает 50–75% площади (25%), 4 – кальцификация занимает > 75% площади (7%)	
0 – отсутствуют (48%), 1 – присутствуют (52%)	
0 – отсутствуют (52%), 1 – присутствуют (48%)	
0 – отсутствуют (45%), 1 – присутствуют (55%)	
0 – отсутствуют (80%), 1 – присутствуют (20%)	
1 – кальцификация занимает < 25% площади (23%), 2 – кальцификация занимает 25–50% площади (7%), 3 – кальцификация занимает 50–75% площади (5%), 4 – кальцификация занимает > 75% площади (2%)	
0 – отсутствует (91%), 1 – присутствует (9%)	
0 – отсутствует (55%), 1 – умеренный паннус (27%), 2 – массивный паннус (18%)	
0 – отсутствует (68%), 1 – умеренный паннус (14%), 2 – массивный паннус (18%)	
0 – отсутствует (82%), 1 – присутствует (18%)	
0 – отсутствует (95%), 1 – присутствует (5%)	
0 – отсутствует (98%), 1 – присутствует (2%)	
0 – отсутствуют (45%), 1 – присутствуют (55%)	
0 – отсутствует (86%), 1 – присутствует (14%)	
0 – отсутствуют (66%), 1 – присутствуют (34%)	
0 – отсутствует (48%), 1 – присутствует (52%)	
0 – женский (64%), 1 – мужской (36%)	
природы (при протезировании нативного клапана) или структурная клапанная дегенерация (при репротезировании) (68%), 1 – инфекционный эндокардит (32%)	
0 – структурная клапанная дегенерация (57%), 1 – инфекционный протезный эндокардит (43%)	
0 – нет (80%), 1 – да (20%)	
0 – нет (84%), 1 – да (16%)	
2 – II (32%), 3 – III (38%), 4 – IV (30%)	
0 – нет (27%), 1 – да (73%)	
0 – нет (73%), 1 – да (27%)	
0 – нет (50%), 1 – да (50%)	
27,49 ± 4,93 (p = 0,08)	
0 – нет (73%), 1 – да (27%)	
0 – нет (39%), 1 – да (61%)	
0 – отсутствует (27%), 1 – I (25%), 2 – II (7%), 3 – III (27%), 4 – IV (14%)	
0 – отсутствует (5%), 1 – присутствует (95%)	
61 [35,8–66; 23–75]	
63,59 ± 37,75 (p = 0,08)	
1 (84%), 2 (16%)	

ров каждой из групп к общей выборке, сформированных каждым признаком (не менее 20% в каждой группе).

Для идентификации признаков, наиболее значимых для разделения кластеров, была построена суррогатная модель классификации на основе логистической регрессии с L2-регуляризацией. В качестве целевой переменной использовались кластерные метки, а в роли предикторов выступали ранее отобранные признаки. Стандартизованные коэффициенты регрессии позволили оценить вклад каждого признака в вероятность отнесения наблюдений к определенному кластеру.

Все вычисления и кластерные процедуры реализованы с использованием Python-библиотек NumPy, pandas, scikit-learn, hdbscan, scipy и UMAP. Код программы доступен по ссылке: https://github.com/Eugene-Ovcharenko/BHV_dysfunction_clustering

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов выполнена в среде Python v.3.13.5 с использованием библиотеки SciPy v.1.15.3 для. Нормальность распределения была оценена с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для межгрупповых сравнений категориальных признаков применяли точный критерий Фишера в случае таблиц 2×2, для таблиц большей размерности – перестановочный тест независимости на основе эмпирического распределения χ^2 статистики [19]. Сравнение групп по количественным признакам проводили с использованием непараметрических тестов: U-критерия Манна-Уитни при сравнении двух независимых выборок и критерия Краскела-Уоллиса с последующей коррекцией множественных сравнений методом контроля ложного открытия (FDR) при наличии трех и более групп. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости α менее 0,05. Количественные данные представлены в виде медианы, процентов, минимальных и максимальных значений (Me[Q1–Q3; min–max]).

Результаты

Клиническое описание изученных биопротезов клапанов сердца и клиничко-демографическая характеристика их реципиентов

Клиническое описание изученной выборки БП, а также клиничко-демографическая характеристика их реципиентов приведена в (табл. 2). Надо отметить, что пациенты в двух группах (ПЭ и СКД) не имели статистически значимых различий по половой принадлежности, возрасту и частоте сопутствующих заболеваний. При этом причиной замены естественного клапана у пациентов с ПЭ чаще становился инфекционный эндокардит, тогда как первичное протезирование у пациентов с СКД выполняли по поводу клапанных пороков неинфек-

ционной природы (прежде всего, развившихся на фоне ревматической болезни сердца).

Срок функционирования клапанов, эксплантационных по причине ПЭ, был статистически значимо меньше, чем у БП, удаленных ввиду СКД (30[10–59; 5–101] месяцев против 74[63–98,5; 49–160] месяцев соответственно, $p < 0,0001$). Эта тенденция сохранялась для разных позиций имплантации БП (рис. 1). Наблюдаемую разницу можно объяснить тем, что на развитие СКД обычно требуется несколько лет [20], тогда как разрушение биоматериала при его инфицировании бактериальными возбудителями чаще является быстро протекающим процессом, причем ПЭ может возникать как на ранних (< 12 месяцев), так и на поздних сроках функционирования БП [21]. В изученной нами выборке 9 БП с ПЭ удалили в течение первых 5–19 месяцев после имплантации.

Макроморфологическая характеристика исследуемых биопротезов клапанов сердца

Меньшие сроки функционирования отчасти объясняют ряд различий, выявленных при макроскопическом изучении БП. Так, у большинства клапанов, удаленных из-за СКД, отмечена кальцификация створчатого аппарата (92%) и формирование на его поверхности соединительной ткани – паннуса (64%), что не было характерно для БП с признаками инфекции (соответственно 5,3% и 26,3%). В группе ПЭ макрокальцификаты обнаружены только в одном БП, при этом они имели незначительную площадь и не вносили существенный вклад в гидродинамическую функцию клапана (рис. 2).

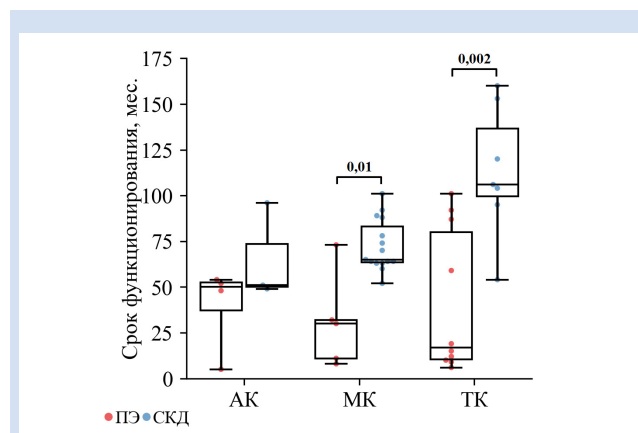


Рисунок 1. Сроки функционирования исследованных биопротезов «ЮниЛайн» в разных позициях имплантации. Ввиду ограниченной выборки аортальных клапанов, мы не производили статистическую обработку данных для этой группы

Примечание: АК – аортальный клапан; МК – митральный клапан; ПЭ – протезный эндокардит; СКД – структурная клапанная дегенерация; ТК – трикуспидальный клапан.

Figure 1. Duration of “UniLine” bioprosthesis function by implantation position

Note: AV – aortic valve; MV – mitral valve; PE – prosthetic endocarditis; SVD – structural valve degeneration; TV – tricuspid valve.

По результатам макроскопического анализа группу клапанов с ПЭ можно разделить на две подгруппы в соответствии с выраженностью вегетаций. Две трети изученных БП (63,2%) с ПЭ имели чрезмерно утолщенные створки с обширными участками кровоизлияний и покрытые многочисленными крупными вегетациями (рис. 3А). Остальные клапаны в группе ПЭ (36,8%) характеризовались сла-

бым или умеренным утолщением створчатого аппарата при наличии единичных мелких вегетаций или отсутствии таковых (рис. 3В). В свою очередь, удаленные по причине СКД медицинские изделия имели типичные признаки этого состояния: наличие в створках кальциевых депозитов, разрывов и участков с незначительным утолщением биоматериала (рис. 3С).

Таблица 2. Клинико-демографическая характеристика реципиентов изученных биопротезов клапанов сердца модели «ЮниЛайн»
Table 2. Clinical and demographic characteristics of recipients of the studied “Uniline” ioprosthesis heart valves

Показатель / Variable		Реципиенты клапанов, удаленных из-за протезного эндокардита / PE group (n = 19)	Реципиенты клапанов, удаленных из-за структурной дегенерации / SVD group (n = 25)	р-значения (по критерию Фишера или Манна-Уитни) / p value (Fisher's / Mann-Whitney)
Женский пол / Female sex, n (%)		9 (47,37%)	19 (76%)	0,06
Возраст на момент протезирования, лет / Age at implantation, years, Me [Q1–Q3]		60 [33–66]	62 [37–66,5]	0,80
Срок функционирования протезов, месяцев / Prosthesis functioning duration, months, Me [Q1–Q3]		30 [10–59]	74 [63–98,5]	< 0,0001
Позиция имплантации биопротеза / Implantation position	Аортальная / Aortic, n (%)	4 (21,05%)	3 (12%)	0,44
	Митральная / Mitral, n (%)	5 (26,32%)	15 (60%)	0,04
	Трикуспидальная / Tricuspid, n (%)	10 (52,63%)	7 (28%)	0,13
Клиническая причина замены биопротеза / Clinical indication for bioprosthesis replacement	Стеноз / Stenosis, n (%)	6 (31,58%)	17 (68%)	0,03
	Недостаточность / Regurgitation, n (%)	2 (10,53%)	0 (0%)	0,18
	Смешанная дисфункция / Mixed dysfunction, n (%)	11 (57,89%)	8 (32%)	0,13
Причина первичного протезирования клапана / Primary indication for initial valve replacement	Кальцинирующий аортальный стеноз / Calcific aortic stenosis, n (%)	3 (15,79%)	3 (12%)	> 0,99
	Дегенеративный порок митрального клапана (неуточненная этиология) / Degenerative mitral valve disease (unspecified etiology), n (%)	1 (5,26%)	2 (8%)	> 0,99
	Ревматическая болезнь сердца / Rheumatic heart disease, n (%)	2 (10,53%)	12 (48%)	0,01
	Дисплазия митрального клапана / Mitral valve dysplasia, n (%)	0 (0%)	1 (4%)	> 0,99
	Митрально-папиллярная дисфункция / Mitral papillary dysfunction, n (%)	1 (5,26%)	1 (4%)	> 0,99
	Аномалия Эпштейна / Ebstein's anomaly, n (%)	1 (5,26%)	0 (0%)	0,43
	Инфекционный эндокардит / Infective endocarditis, n (%)	11 (57,89%)	6 (24%)	0,03
Курение / Smoking, n (%)		4 (21,05%)	5 (20%)	> 0,99
Наркозависимость / Intravenous drug use, n (%)		5 (26,32%)	2 (8%)	0,21
Гипертоническая болезнь / Arterial hypertension, n (%)		12 (63,16%)	20 (80%)	0,31
Дислипидемия / Dyslipidemia, n (%)		6 (31,58%)	6 (24%)	0,74
Сахарный диабет / Diabetes mellitus, n (%)		3 (15,79%)	9 (36%)	0,18
Хроническая болезнь почек / Chronic kidney disease, n (%)		13 (68,42%)	14 (56%)	0,54
Индекс массы тела, кг/м² / Body mass index. kg/m², Me [Q1–Q3]		25,1 [22,5–30,9]	27,8 [25,2–32]	0,10
Функциональный класс на момент удаления протеза / NYHA functional class at explantation	Class II	7 (36,84%)	7 (28%)	0,74
	Class III	7 (36,84%)	10 (40%)	> 0,99
	Class IV	5 (26,32%)	8 (32%)	0,75

Note: NYHA – New-York Heart Association.

Патоморфологическое (гистологическое) исследование эксплантированных биопротезов клапанов сердца

Изучение срезов, окрашенных пентахромом по Расселу–Мовату, продемонстрировало, что для инфицированных БП с чрезмерным утолщением створчатого аппарата и его почти полным покрытием вегетациями характерно разрушение структуры биоматериала: фрагментация и разрыхление коллагеновых волокон, а также накопление фибрина в толще ткани (рис. 4А). Впрочем, клапаны с диагностированным ПЭ сохраняли исходные состав и структуру перикардальной ткани, если их створки покрывали единичные вегетации или таковые отсутствовали. При этом ксеноперикард был сложен из плотно упакованных коллагеновых волокон (желтое окрашивание), тогда как вегетации (при наличии) состояли из фибрина и имели рыхлую структуру (красное окрашивание). Несмотря на отсутствие крупных кальцификатов в створках БП с ПЭ, у 12 (63,2%) клапанов выявлены участки микрокальцификации, ассоциированные с вегетациями или локализованные на границе между вегетациями и перикардом (рис. 4В). В свою очередь, створки БП, удаленных из-за СКД, состояли из плотного коллагена и имели незначительные микротромбы на поверхности, а также кальциевые депозиты в толще (рис. 4А/В). Независимо от причины эксплантации (ПЭ или СКД), в створках БП обнаружены липиды (рис. 4С) и клеточные инфильтраты (рис. 4D). Липиды формировали мелкие капли в межфибрилярном пространстве ксеноперикарда по всей толщине, тогда как инвазия клеток отмечена преимущественно в неглубоких (около 50 мкм) предповерхностных слоях биоматериала. В клапанах с диагностированным ПЭ клетки локализовались главным образом в вегетациях, где достигали высокой плотности.

Полуколичественный анализ липидной и клеточной инфильтрации створок показал, что кла-

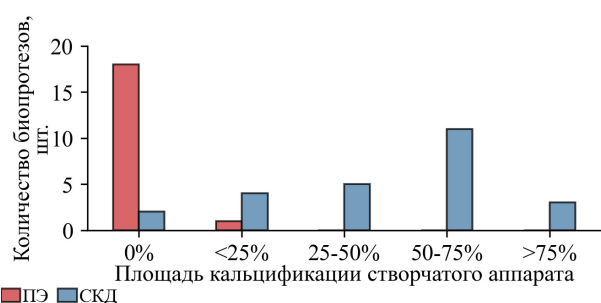


Рисунок 2. Распределение изученных биопротезов «ЮниЛайн» по площади кальцификации створчатого аппарата
Примечание: ПЭ – протезный эндокардит; СКД – структурная клапанная дегенерация.

Figure 2. Distribution of Explanted “Uniline” Bioprostheses by Leaflet Calcification Area

Note: PE – prosthetic endocarditis; SVD – structural valve degeneration.

паны с СКД демонстрировали тенденцию к большему накоплению липидов крови по сравнению с инфицированными БП, хотя разница в площади липидных капель не была статистически достоверной (рис. 5А). По средней плотности клеток на срезах БП с диагностированным ПЭ, покрытые единичными вегетациями или с отсутствием таковых, статистически не отличались от БП, удаленных из-за СКД, однако обе эти группы резко уступали по данному показателю клапанам, тотально покрытым вегетациями (рис. 5В).

Таким образом, при слабой инфекционной инвазии и минимальном развитии вегетаций пораженные клапаны сохраняют исходную коллагеновую структуру перикарда. Напротив, при массивном поражении бактериальными агентами происходила значительная деградация коллагеновых волокон,

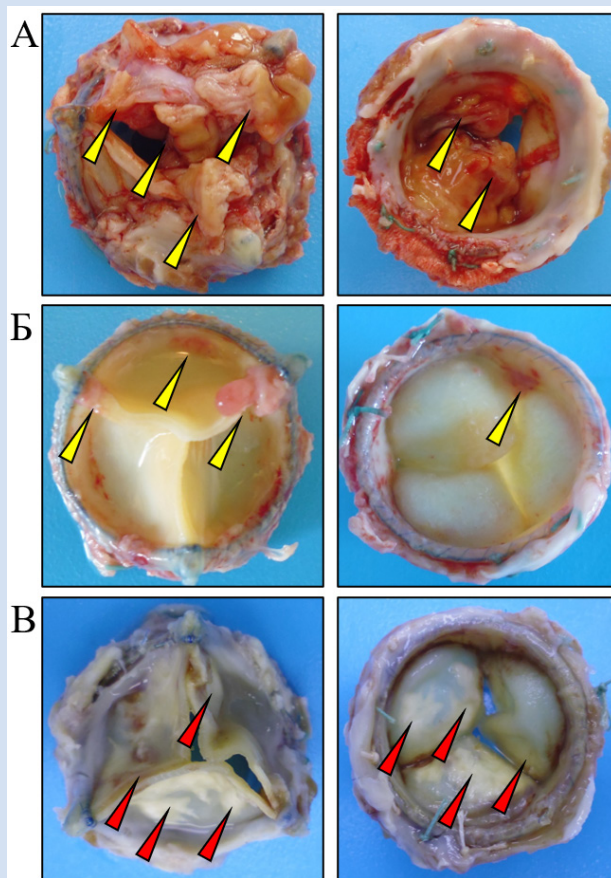


Рисунок 3. Примеры макропрепаратов изученных биопротезов «ЮниЛайн», удаленных по причине дисфункции: А – клапан с диагностированным протезным эндокардитом, имеющий чрезмерно утолщенный створчатый аппарат, полностью покрытый вегетациями; В – клапан с диагностированным протезным эндокардитом, покрытый единичными вегетациями; С – клапан с типичными признаками структурной клапанной дегенерации. Желтые стрелки указывают на вегетации, красные стрелки указывают на кальциевые депозиты

Figure 3. Examples of macroscopic specimens of the studied “Uniline” bioprosthetic valves explanted due to dysfunction: (A) valve with prosthetic endocarditis showing markedly thickened leaflets completely covered by vegetations; (B) valve with prosthetic endocarditis bearing isolated vegetations; (C) valve exhibiting characteristic features of structural valve degeneration. Yellow arrows indicate vegetations; red arrows indicate calcium deposits

сопровождаясь отложением фибрина в толще ткани и формированием сгустков (собственно, вегетаций) на поверхности створок. Также активность бактерий объясняет чрезмерную инфильтрацию клапанов с ПЭ иммунными клетками, чего не наблюдается при СКД.

При анализе срезов, окрашенных по Граму, в 14 (73,7%) БП с ПЭ выявлены бактерии, представленные грамположительными кокками, которые формировали многочисленные колонии в составе вегетаций (рис. 6). Отсутствие бактерий в 5 (26,3%) БП с признаками инфекции (наличие вегетаций и/или клинических признаков ПЭ) может быть обусловлено гибелью микроорганизмов ввиду предшествующей операции антибиотикотерапии. Видовая принадлежность бактерий была установлена методом посева крови для 6 случаев ПЭ, тогда как пробы от остальных пациентов дали отрицательные результаты. Согласно данным истории болезни

среди выявленных возбудителей отмечены следующие виды: *Enterococcus faecalis* (у трех пациентов), *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus capitis*.

Следует отметить, что бактерии выявлены и в 9 (36%) БП, удаленных по причине СКД, где были представлены грамположительными кокками (в 5 случаях), грамотрицательными палочками (в 2 случаях), или образовывали смешанные колонии (в 2 случаях). Микроорганизмы в клапанах с признаками

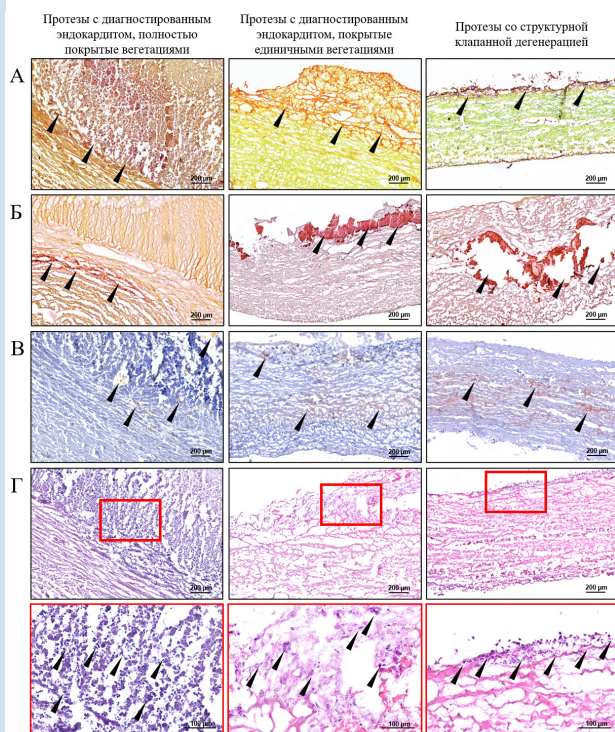


Рисунок 4. Гистологические окрашивания срезов створчатого аппарата изученных биопротезов «ЮниЛайн», эксплантированных по причине дисфункции: *A* – пентахромное окрашивание по Расселу–Мовату (стрелки указывают на границу между биоматериалом и вегетациями/микротромбами); *B* – окрашивание ализариновым красным *C* (стрелки указывают на кальцификаты); *C* – окрашивание масляным красным (стрелками отмечены липидные капли); *D* – окрашивание гематоксилином и эозином (стрелки указывают на клеточные инфильтраты). Увеличение $\times 100$ и $\times 400$ (для выносных изображений)

Figure 4. Histological stainings of leaflet sections from the studied “Uniline” bioprostheses explanted due to dysfunction: *(A)* Russell–Movat pentachrome stain (arrows denote the interface between the biomaterial and vegetations/microthrombi); *(B)* Alizarin Red S stain (arrows indicate calcific deposits); *(C)* Oil Red O stain (arrows mark lipid droplets); *(D)* Hematoxylin and eosin stain (arrows point to cellular infiltrates). Magnification: $\times 100$ and $\times 400$ (for close-ups of images)

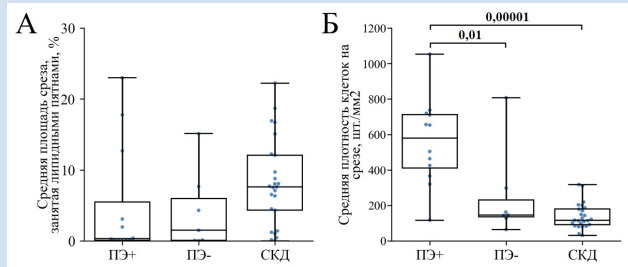


Рисунок 5. Полуколичественная оценка липидной (*A*) и клеточной (*B*) инфильтрации изученных биопротезов «ЮниЛайн», эксплантированных по причине дисфункции. Каждая точка на графике является усредненным показателем, полученным при анализе 10 срезов от одного клапана. Условные обозначения

Примечание: ПЭ⁺ – клапаны с диагностированным эндокардитом, полностью покрытые вегетациями; ПЭ⁻ – клапаны с диагностированным эндокардитом и слабым развитием или отсутствием вегетаций; СКД – протезы с признаками структурной клапанной дегенерации.

Figure 5. Semi-quantitative assessment of lipid (*A*) and cellular (*B*) infiltration in “Uniline” bioprostheses explanted due to dysfunction. Each point represents the mean value obtained from ten sections of a single valve

Note: PE⁺ – valves with confirmed endocarditis, fully covered by vegetations; PE⁻ – valves with confirmed endocarditis, exhibiting minimal or no vegetations; SVD – prostheses displaying features of structural valve degeneration.

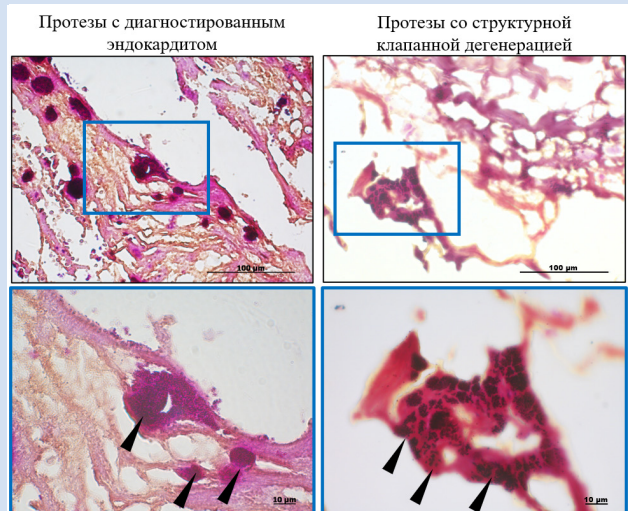


Рисунок 6. Примеры бактериальной контаминации изученных биопротезов «ЮниЛайн», эксплантированных по причине дисфункции (окрашивание по Граму; стрелки указывают на колонии бактерий). Увеличение: $\times 400$ и $\times 1000$ (для выносных изображений)

Figure 6. Examples of bacterial contamination in the studied “Uniline” bioprostheses explanted due to dysfunction (Gram stain; arrows indicate bacterial colonies). Magnification: $\times 400$ and $\times 1000$ (for close-ups of images)

ми СКД формировали мелкие единичные скопления, локализующиеся в микротромбах на поверхности створок БП. В целом, несмотря на присутствие бактерий в этой группе БП, у реципиентов не было клинических или макроскопических признаков ПЭ.

Обнаружение бактериальной флоры в клапанах с СКД и отсутствие таковой в части случаев ПЭ является весьма интересным аспектом. В первом случае могут иметь место латентные формы ПЭ, что поднимает вопрос о возможной связи инфекций с прогрессированием СКД. Потенциально, колонизация БП бактериями может поддерживать локальное воспаление и способствовать дегенерации и кальцификации биоматериала без развития типичных признаков ПЭ. Полученные результаты оценки микрокальцификации у большинства клапанов с ПЭ, ассоциированной с вегетациями, также указывают на возможную связь между бактериальной инвазией и минерализацией. В свою очередь, отсутствие бактерий в некоторых БП, эксплантированных из-за ПЭ, может быть обусловлено эффективной предшествующей антибиотикотерапией, приводящей к гибели бактерий, но не отменяющей развившиеся в результате инвазии патологические изменения в клапане [22, 23].

Иммунотипирование клеточных элементов в створках эксплантированных биопротезов клапанов сердца

Типирование клеток иммуногистохимическим методом показало, что как в клапанах с ПЭ, так и в клапанах с признаками СКД, клеточные элементы представлены лейкоцитами (CD45⁺), среди которых в обоих случаях практически отсутствовали Т- и В-лимфоциты (CD3⁺ и CD19⁺) соответственно (рис. 7). При этом в клапанах с диагностированным ПЭ вне зависимости от сроков функционирования, наличия и выраженности вегетаций преобладали нейтрофилы (MPO⁺), тогда как макрофаги (CD68⁺) были представлены единично. Наоборот, удаленных по причине СКД клапанах клеточные инфильтраты

состояли в основном из макрофагов (CD68⁺), а нейтрофилы встречались в виде отдельных клеток или небольших скоплений (до 5–7 штук в поле зрения). Наконец, в составе вегетаций выявлено интенсивное окрашивание на маркер тромбоцитов CD62p, практически отсутствующее в клапанах без признаков активной инфекции.

Полученные данные о присутствии в БП CD45⁺ клеток свидетельствует об интенсивном лейкоцитарном воспалении, при этом отсутствие значимой лимфоцитарной инфильтрации (CD3⁺, CD19⁺) указывает на меньшую роль адаптивного иммунитета в этом процессе. Преобладание нейтрофильной инфильтрации (MPO⁺) в створках инфицированных БП согласуется с результатами других исследований, указывающих на то, что нейтрофилы являются ключевыми маркерами ПЭ [23, 24]. Агрессивная нейтрофильная реакция, вероятно, связана с прямым ответом на бактериальную инвазию, что подтверждается обнаружением колоний бактерий в вегетациях у большинства пациентов с ПЭ. Более того, активация нейтрофилов и высвобождение ими нейтрофильных внеклеточных ловушек, по-видимому, дополнительно способствуют отложению фибрина, формированию и росту вегетаций на поверхности клапанов с ПЭ [25].

В свою очередь, при СКД клеточный инфильтрат представлен преимущественно макрофагами (CD68⁺), что характерно для хронических воспалительных и дегенеративных процессов и согласуется с аналогичными исследованиями [23, 24]. Надо сказать, что макрофагальная инфильтрация рассматривается как один из ключевых факторов патогенеза СКД, задействованный как в процессах ремоделирования матрикса, так и в развитии кальцификации [26–30]. Показано, что макрофаги выделяют широкий спектр факторов (таких как протеазы и реактивные формы кислорода), способствующих разрушению химически фиксированного биоматериала [26–30].

Морфологическое описание выборки эксплантированных биопротезов клапанов сердца для кластеризации

На основании проведенного макроскопического описания и патоморфологического исследования 44 эксплантированных БП, а также изучения историй болезни их реципиентов, был сформирован регистр данных, включающий 46 исходных признака.

По результатам оценки разделяющей способности признаков были выявлены три макроскопических признака, показавших наилучшие значения метрик при использовании их в качестве основы для разделения выборки (табл. 3).

Признак «растяжение створок по свободному краю» обеспечивал наилучшее разделение данных, согласно наивысшему значению коэффициента си-

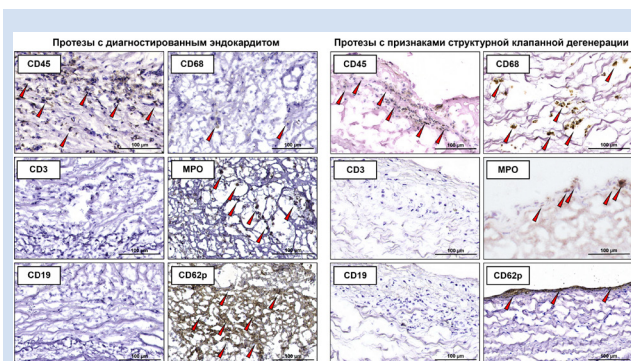


Рисунок 7. Результаты иммунотипирования клеток в створках изученных биопротезов «ЮниЛайн», эксплантированных по причине дисфункции. Увеличение $\times 400$

Figure 7. Results of immunophenotyping of cellular populations in leaflet sections of explanted “UniLine” bioprostheses retrieved for dysfunction. Magnification: $\times 400$

луэта (0,43) и минимальному индексу Дэвиса–Болдина (0,43), в то время как признак «стенозирование биопротеза» показал наивысшее значение индекса Калински–Харабас (5,50). Важно отметить, что все группы, сформированные на основе каждого из этих отдельных признаков, характеризовались несбалансированностью по размеру кластеров.

Поскольку датасет характеризовался преобладанием бинарных морфологических признаков и выраженной ненормальностью распределения количественных показателей, для последующей кластеризации количество коррелирующих признаков и признаков с относительно низкой встречаемостью было редуцировано до 12: 1) площадь кальцификации створчатого аппарата, 2) разрывы в створчатом аппарате, 3) утолщение створок, 4) вегетации, 5) внутриворочные кровоизлияния, 6) нарастание паннуса на створки, 7) стенозирование биопротеза, 8) степень транспротезной регургитации, 9) средняя плотность клеток на срезе, 10) средняя площадь срез, занятая липидными пятнами, 11) сроки функционирования биопротеза, 12) причина репротезирования исследуемого биопротеза (ПЭ или СКД).

Исследуемые алгоритмы кластеризации продемонстрировали широкий диапазон метрик для несжатых данных, превосходящий качество разбиения на основе исходных признаков: значения коэффициента силуэта –0,41–0,73, индекса Калински–Харабас 3–154 и индекса Дэвиса–Болдина 0,41–2,37, со средним значение метрик 0,29, 39 и 1,05, соответственно. Использование предварительного сжатия данных на основе метода главных компонент (PCA) позволило улучшить среднее значение метрик до 0,49, 54 и 0,75 (коэффициенты силуэта, Калински–Харабас и Дэвиса–Болдина). Предобработка данных с использованием нелинейного вероятностного метода – стохастического вложения соседей с t-распределением (t-SNE) продемонстрировала схожий результат (0,48, 55 и 0,74). В то же время, аппроксимация и проекция равномерного многообразия (UMAP) за счет способности одновременно сохранять локальную и глобальную геометрию многообразия данных показала наибольшую эффективность по всем метрикам кластери-

зации (в среднем): коэффициенты 0,60, 151 и 0,56 соответственно.

Анализ признаков методом алгоритмов k-средних превзошел методы иерархической кластеризации, DBSCAN и HDBSCAN, спектральную кластеризацию, продемонстрировав наивысшие значения коэффициента силуэта (0,54–0,77) и минимальные – Дэвиса–Болдина (0,31–0,72). Важно отметить, что при кластеризации на 3 группы не удалось получить сбалансированного разбиения при метриках, превышающих качество разбиения на основе исходных признаков, в то время как большее количество кластеров для относительно малой выборки являлось нецелесообразным.

На основе комбинации метода k-средних и предварительного сжатия данных методом аппроксимации и UMAP была выявлена оптимальная двухкластерная структура, обеспечившая как наилучшие метрики кластеризации, так и относительно сбалансированность классов: разделение выборки 57 на 43%. Полученная модель продемонстрировала высокое качество разделения: интегральный индекс силуэта составил 0,77, что указывает на отчетливую внутрикластерную однородность и межкластерную разобщенность, что также подтверждается максимальным значением индекса Калинского–Харабаша – 351, в то время как минимальное значение индекса Дэвиса–Боулдина – 0,31 подтверждает минимальное перекрытие кластеров.

Визуальный анализ распределения наблюдений после проекций в двумерное пространство подтверждает статистические выводы о наличии двух стабильных кластеров (рис. 8). В проекции PCA эллипсы 95%-го доверительного интервала групп соприкасаются, однако центроиды четко разделены вдоль первой главной компоненты. При переходе к нелинейной проекции t-SNE расстояние между центроидами возрастает, а межкластерное перекрытие уменьшается; тем не менее внутри каждой группы сохраняется значительная внутренняя дисперсия. Наиболее убедительное визуальное подтверждение двухкластерной модели дает UMAP: кластеры формируют два плотных, значительно удаленных друг от друга, облака с минимальным внутрикластерным разбросом и максимальным межкластерным

Таблица 3. Кластеризация на основе исходных признаков набора данных
Table 3. Cluster analysis based on initial dataset features

Признак, формирующий группы / Feature used for grouping	Коэффициент Силуэта / Silhouette coefficient	Индекс Калински–Харабас / Calinski–Harabasz index	Индекс Дэвиса–Болдина / Davies–Bouldin index	Сбалансированность групп / Group balance
Растяжение створок по свободному краю / Leaflet distension at the free edge	0,43	5,09	0,43	Не сбалансированы / Unbalanced
Стенозирование биопротеза / Bioprosthesis stenosis	0,35	5,50	1,14	Не сбалансированы / Unbalanced
Разрывы в основании створок / Tears at the leaflet base	0,31	3,11	0,54	Не сбалансированы / Unbalanced

расстоянием, что полностью коррелирует с наивысшими значениями оценки силуэта и минимальным значением Дэвиса–Боулдина.

Для анализа факторов, определяющих кластерную принадлежность, была использована суррогатная модель классификатора на основе линейной логистической регрессии с L2-регуляризацией, где целевой переменной служила кластерная метка, а предикторами – те же 12 информативных признаков. Ниже представлены стандартизованные β -коэффициенты (по модулю), отражающие относительный вклад каждого признака в вероятность отнесения к кластеру 2 (рис. 9). Наибольшим весом обладали переменные «вегетации» и «внутристворочные кровоизлияния», являющиеся явными индикаторами ПЭ, тогда как «срок функционирования биопротеза», «стенозирование биопротеза», «степень регургитации» и «утолщение створок» внесли лишь незначимый вклад, что свидетельствует о слабом индивидуальном влиянии этих признаков на кластеризацию.

Выявленные на основе кластеризации паттерны дисфункций БП продемонстрировали выраженные статистические различия между кластерами (рис. 10). Выявленный кластер №1 ($n = 25$) представлял собой классический паттерн СКД, для которого были характерны: наличие разрывов в створках ($p < 0,01$), кальцификация ($p < 0,00001$), интенсивная липидная инфильтрация ($p < 0,01$) и более продолжительный срок функционирования БП ($p < 0,00001$). Кластер №2 ($n = 19$) был сформирован паттерном "инфекционного воспаления" с повышенной частотой утолщения створок ($p < 0,00001$) и развития вегетации ($p < 0,00001$). С позиции гистологической оценки, данный кластер был охарактеризован высокой клеточной плотностью ($p < 0,00001$), что согласуется с картиной острой или подострой воспалительной реакции.

Обсуждение

Клинико-демографическая характеристика реципиентов продемонстрировала удовлетворитель-



Рисунок 9. Коэффициенты суррогатной модели классификации на основе линейной логистической регрессии

Figure 9. Coefficients of the surrogate classification model derived from logistic regression

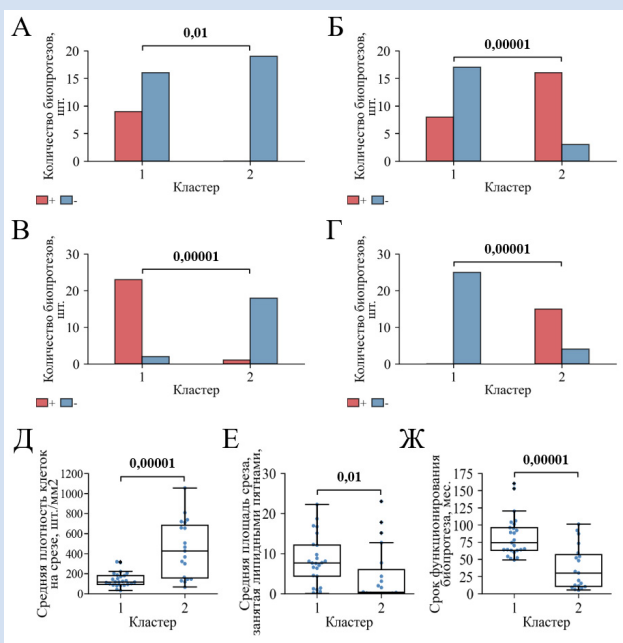


Рисунок 10. Статистические различия между выявленными кластерами паттернов дисфункций БП: А – наличие разрывов в створках; В – утолщение створок; С – формирование макрокальцификатов; D – присутствие вегетаций; E – степень клеточной инфильтрации; F – степень липидной инфильтрации; G – сроки функционирования биопротезов

Figure 10. Statistical differences between the two identified clusters of bioprosthetic valve dysfunction patterns: (A) presence of leaflet tears; (B) leaflet thickening; (C) formation of macrocalcifications; (D) presence of vegetations; (E) degree of cellular infiltration; (F) degree of lipid infiltration; (G) prosthesis functional duration

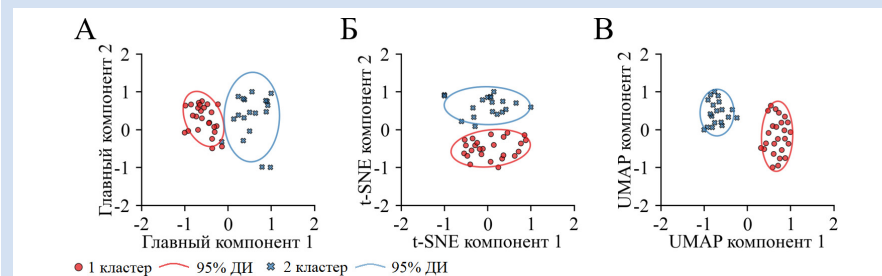


Рисунок 8. Визуализация данных кластеризации k-средних с UMAP на основе методов пониженной размерности: А – PCA, В – t-SNE, С – UMAP

Примечание: PCA – метод уменьшения размерности данных путем преобразования исходных признаков в новые ортогональные переменные, которые сохраняют наибольшую вариативность данных; t-SNE – это алгоритм для визуализации данных высокой размерности, который стремится сохранить локальные структуры данных в низкоразмерном пространстве (обычно двумерном); UMAP – это метод визуализации и уменьшения размерности данных, который строит гладкое вложение данных, сохраняя при этом топологические свойства и отношения между точками в данных.

Figure 8. Visualization of k-means clustering results using dimensionality-reduction techniques: A – PCA; B – t-SNE; C – UMAP

Note: PCA – principal component analysis; t-SNE – t-distributed stochastic neighbor embedding; UMAP – uniform manifold approximation and projection.

ную гомогенность исследуемой совокупности: группы ПЭ и СКД не различались по полу, возрасту, индексу массы тела, распространенности наиболее частых сопутствующих заболеваний и функциональному классу сердечной недостаточности, что минимизировало риск систематического смещения при сравнительном анализе. Кроме того, коморбидность пациентов являлась сопоставимой между группами, что позволяет рассматривать вовлеченные патологические процессы как независимые от традиционных кардиометаболических факторов риска. Объединение БП, эксплантированных из аортальной, митральной и трикуспидальной позиций представляется методологически оправданным, поскольку ключевые различия по сроку службы и морфологии наблюдались вне зависимости от локализации, что подтверждено непараметрическим сравнением внутри каждой позиции. Кроме того, использование единой модели БП «ЮниЛайн» обеспечило сопоставимость паттернов дегенеративных изменений при разных гемодинамических режимах.

Среднее время до развития СКД составило 6 лет, что согласуется с началом наступления первых случаев дисфункций по этой причине, требующих повторного вмешательства [31]. Важно отметить, что собранная коллекция эксплантированных БП составляет менее 6% всей выборки: актуарный показатель отсутствия повторных операций и отсутствия дисфункций в 6-летнем периоде наблюдения достигают 94,2% [6]. Хотя клапаны, удаленные по причине ранней дисфункции, статистически не репрезентируют всю популяцию имплантатов (ввиду того, что их медианный срок службы существенным образом смещен к меньшим значениям и отражает лишь «левый хвост» распределения свободы от дисфункций), эта подгруппа обладает высокой научной и клинической ценностью, поскольку функционально определяет верхнюю границу уязвимости БП. Во первых, ранние отказы концентрируют максимальную информацию о патогенетических механизмах, которые остаются скрытыми при анализе паттернов БП с медианными сроками функционирования. Во вторых, фокус на ранних эксплантатах позволяет уточнить пороговые условия, при которых БП перестают выполнять гемодинамическую функцию независимо от причины (будь то микробная контаминация, механическое разрушение или минерализация). Таким образом, именно эти случаи указывают на основные направления для дальнейшего совершенствования антикальцифицирующих и антимикробных технологий.

Данные гистологического исследования обработанных ДЭЭ протезов «ЮниЛайн» представляют особый интерес в контексте сравнения с широко используемыми БП, стабилизированными ГА. Хотя эпоксидная обработка позиционируется как

обеспечивающая лучшую биосовместимость и устойчивость к кальцификации [2–5], наше исследование показывает, что СКД, характеризующаяся выраженной кальцификацией и макрофагальной инфильтрацией, остается основной причиной поздних дисфункций и этой модели БП.

Результаты кластерного анализа демонстрируют, что идентифицированные кластеры отличались по всем ключевым аспектам ПЭ и СКД: от макроописания и микроморфологии до клинической истории и гемодинамики, что подтверждает многофакторную природу кластерной стратификации. Методологически важно, что попытка выделить более трех кластеров не позволила получить стабильное и сбалансированное разбиение, в то время как использование одиночных признаков исходного набора данных продемонстрировало более низкие метрики. Наилучший результат кластеризации был достигнут с использованием классического алгоритма k средних и алгоритмом UMAP, который является относительно новым методом нелинейного снижения размерности, обеспечивая баланс между сохранением локальной и глобальной структуры данных [15], что также дает ему преимущество перед PCA и t-SNE [32].

Выявленный паттерн дисфункции БП кластера 1, характеризующийся накоплением кальция и нарастанием паннуса является классическими описанием поздних стадий СКД, обусловленной асептическим воспалением и усталостным разрушением биоматериала [20, 33]. Кластер 2 характеризовался вегетациями и эндокардитом нативного клапана в анамнезе, тем самым являясь репрезентативным для ПЭ, признанного отдельной (некальцинирующей) категорией дисфункции БП [34]. Важно отметить, что средний срок развития дисфункции 30 месяцев укладывается в интервал 18–36 месяцев, на котором чаще всего манифестирует ПЭ [35]. Важно также подчеркнуть, что выделенные кластеры, будучи морфологически и клинически сопоставимыми с классическими сценариями СКД и ПЭ [36], демонстрируют отсутствие каких либо уникальных или ранее не описанных путей деградации, связанных непосредственно с использованием альтернативного метода консервации тканей на основе ДЭЭ. Иными словами, переход от традиционной консервации ГА к ДЭЭ фиксированному ксеноперикарду не приводит к появлению принципиально новых патогенетических траекторий: в одних случаях ключевым драйвером остается хроническое асептическое воспаление, в других – персистирующее острое септическое воспаление, приводящее к быстрой деструкции биоматериала и формированию вегетаций. Следовательно, обработка биоматериала ДЭЭ хотя и способна замедлить его минерализацию и повысить биосовместимость, но она не отменяет фундаментальных биомеханических

и иммунобиологических факторов, определяющих долговечность БП.

Полученные нами данные демонстрируют, что паттерны дисфункции БП (ранний ПЭ и поздний СКД) детерминированы в большей степени воспалением, триггером которого является инвазия клеток и белков плазмы в створки клапана [29, 33, 37]. Это подтверждает актуальность стратегии создания антиадгезивного материала как потенциально способа защиты и от ПЭ, и от СКД [38].

Заключение

Настоящее исследование впервые демонстрирует комплексные паттерны дисфункции ксеноперикардальных БП «ЮниЛайн», стабилизированных ДЭЭ. Выявлено, что основными паттернами ранней дисфункции этих медицинских изделий являются септические или асептические воспалительные процессы, диагностируемые как ПЭ и СКД соответственно. Установлено, что механизмы дегенерации БП, выявленные в данном исследовании, сходны с ранее описанными для клапанов, стабилизированных ГА. Это свидетельствует о фундаментальных ограничениях использования ксеноперикарда для производства искусственных клапанов сердца, подчеркивая необходимость дальнейших исследований, а также разработки новых материалов и технологий, направленных на повышение долговечности БП.

Ограничения исследования

Небольшой объем выборки и ретроспективный дизайн ограничивают генерализуемость выводов настоящего исследования. В то же время, согласо-

ванность клинических данных макроскопического и патоморфологического описания, а также результатов кластеризации вкупе со статистическим анализом подчеркивает достоверность полученных результатов.

Конфликт интересов

Е.А. Овчаренко заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.В. Глушкова заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Е. Костюнин заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.А. Ключева заявляет об отсутствии конфликта интересов. Т.Н. Ацентьева заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.О. Поддубняк заявляет об отсутствии конфликта интересов. М.П. Фокеева заявляет об отсутствии конфликта интересов. К.Ю. Клышников заявляет об отсутствии конфликта интересов. А.Н. Стасев заявляет об отсутствии конфликта интересов. О.Л. Барбараш является главным редактором журнала «Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний».

Финансирование

Работа подготовлена 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».

Информация об авторах

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

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

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

Ключева Анастасия Александровна, младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0008-8957-5041

Author Information Form

Ovcharenko Evgeny A., Candidate of Technical Sciences, Head of the Laboratory of New Biomaterials of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-7477-3979

Glushkova Tatiana V., Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-4890-0393

Kostyanin Alexander E., PhD, Senior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials of the Federal State Budgetary Scientific Institution Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-6099-0315

Klyueva Anastasia A., Junior Researcher at the Laboratory of Genomic Medicine of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0008-8957-5041

Агентьева Татьяна Николаевна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-0033-9376

Поддубняк Алена Олеговна, лаборант-исследователь лаборатории геномной медицины федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0001-7388-356X

Фокеева Марина Павловна, младший научный сотрудник лаборатории новых биоматериалов федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0009-0008-7392-2344

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

Стасев Александр Николаевич, кандидат медицинских наук старший научный сотрудник лаборатории пороков сердца федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0003-1341-204X

Барбарааш Ольга Леонидовна, академик РАН директор федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово, Российская Федерация; **ORCID** 0000-0002-4642-3610

Akentieva Tatiana N., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-0033-9376

Poddubnyak Alyona O., Laboratory Researcher at the Laboratory of Genomic Medicine of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0001-7388-356X

Fokeeva Marina P., Junior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials of the Federal State Budgetary Scientific Institution Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0009-0008-7392-2344

Klyshnikov Kirill Yu., PhD, Senior Researcher at the Laboratory of New Biomaterials of the Federal State Budgetary Scientific Institution Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-3211-1250

Stasev Alexander N., PhD, Senior Researcher at the Laboratory of Heart Defects of the Federal State Budgetary Scientific Institution Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0003-1341-204X

Barbarash Olga L., Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases", Kemerovo, Russian Federation; **ORCID** 0000-0002-4642-3610

Вклад авторов в статью

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

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

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

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

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

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

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

Author Contribution Statement

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

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

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

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

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

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

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

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

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

БОЛ – интерпретация данных исследования, корректировка статьи, утверждение окончательной версии для публикации, полная ответственность за содержание

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

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

BOL – data interpretation, editing, approval of the final version, fully responsible for the content

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кудрявцева Ю.А. Биологические протезы клапана сердца. От идеи до клинического применения. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2015; 4:6-16 doi:10.17802/2306-1278-2015-4-6-16
2. 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
3. Karaskov A., Sharifulin R., Zheleznev S., Demin I., Lenko E., Bogachev-Prokophiev A. Results of the Ross procedure in adults: a single-Centre experience of 741 operations. Eur J Cardiothorac Surg. 2016; 49:e97-e104. doi:10.1093/ejcts/ezw047
4. Nichay N.R., Zhuravleva I.Y., Kulyabin Y.Y., Zubritskiy A.V., Voitov A.V., Soynov I.A., Gorbatykh A.V., Bogachev-Prokophiev A.V., Karaskov A.M. Diepoxy- versus glutaraldehyde-treated xenografts: outcomes of right ventricular outflow tract reconstruction in children. World J Pediatr Congenit Heart Surg. 2020; 11:56-64. doi:10.1177/2150135119885900
5. Zhuravleva I.Y., Karpova E.V., Dokuchaeva A.A., Titov A.T., Timchenko T.P., Vasilieva M.B. Calcification of various bioprosthetic materials in rats: is it really different? Int J Mol Sci. 2023; 24(8):7274. doi:10.3390/ijms24087274
6. Глушкова Т.В., Овчаренко Е.А., Рогулина Н.В., Клышников К.Ю., Кудрявцева Ю.А., Барбараш Л.С. Дисфункции эпоксиобработанных биопротезов клапанов сердца. Кардиология. 2019; 59(10):49-59 doi:10.18087/cardio.2019.10.n327
7. Караськов А.М., Железнев С.И., Рогулина Н.В., Сапегин А.В., Одаренко Ю.Н., Левадин Ю.В., Рутковская Н.В., Барбараш Л.С. Отечественный биологический протез нового поколения «ЮниЛайн» в хирургии митрального порока: первый опыт. Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. 2017; 59(2):98-104 doi:10.24022/0236-2791-59-2-98-104
8. Козлов Б.Н., Петлин К.А., Пряхин А.С., Середкина Е.Б., Панфилов Д.С., Шипулин В.М. Непосредственные и отдаленные результаты применения биопротезов «ЮниЛайн» в аортальной позиции. Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал им. акад. Б.В. Петровского. 2017; 4:37-42 doi:10.24411/2308-1198-2017-00005
9. Мухамадияров Р.А., Рутковская Н.В., Кокорин С.Г., Одаренко Ю.Н., Мильто И.В., Барбараш Л.С. Типирование клеток биопротезов клапанов сердца, эксплантационных вследствие развития кальций-ассоциированных дисфункций. Бюллетень сибирской медицины. 2018; 17(4):94-102 doi:10.20538/1682-0363-2018-4-94-102
10. 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
11. Барбараш Л.С., Караськов А.М., Семеновский М.Л., Журавлева И.Ю., Одаренко Ю.Н., Вавилов П.А., Нохрин А.В., Астапов Д.А. Биопротезы клапанов сердца в России: опыт трех клиник. Патология кровообращения и кардиохирургия. 2011; 2:21-26
12. Fowler V.G., Durack D.T., Selton-Suty C., Athan E., Bayer A.S., Chamis A.L., Dahl A., DiBernardo L., Durante-Mangoni E., Duval X., Fortes C.Q., Fosbøl E., Hannan M.M., Hasse B., Hoen B., Karchmer A.W., Mestres C.A., Petti C.A., Pizzi M.N., Preston S.D., Roque A., Vandenesch F., van der Meer J.T.M., van der Vaart T.W., Miro J.M. The 2023 Duke-international society for cardiovascular infectious diseases criteria for infective endocarditis: updating the modified Duke criteria. Clin Infect Dis. 2023; 77(4):518-526. doi:10.1093/cid/ciad271
13. Bankhead P., Loughrey M.B., Fernández J.A., Dombrowski Y., McArt D.G., Dunne P.D., McQuaid S., Gray R.T., Murray L.J., Coleman H.G., James J.A., Salto-Tellez M., Hamilton P.W. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. Sci Rep. 2017; 7(1):16878. doi:10.1038/s41598-017-17204-5
14. Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., Preibisch S., Rueden C., Saalfeld S., Schmid B., Tinevez J.Y., White D.J., Hartenstein V., Eliceiri K., Tomancak P., Cardona A. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. Nat Methods. 2012; 9(7):676-682. doi:10.1038/nmeth.2019
15. Healy J., McInnes L. Uniform manifold approximation and projection. Nat Rev Methods Primers. 2024; 4:82. doi:10.1038/s43586-024-00363-x
16. Rousseeuw P.J. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. Journal of Computational and Applied Mathematics. 1987; 20: 53-65. doi:10.1016/0377-0427(87)90125-7
17. Caliński T., Harabasz J. A dendrite method for cluster analysis. Communications in Statistics. 1974; 3(1):1-27. doi:10.1080/03610927408827101
18. Davies D.L., Bouldin D.W. A cluster separation measure. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence. 1979; PAMI-1(2):224-227. doi:10.1109/TPAMI.1979.4766909
19. Berrett T.B., Samworth R.J. USP: an independence test that improves on Pearson's chi-squared and the G-test. Proc Math Phys Eng Sci. 2021; 477(2256):20210549. doi:10.1098/rspa.2021.0549
20. Cote N., Pibarot P., Clavel M.A. Incidence, risk factors, clinical impact, and management of bioprosthesis structural valve degeneration. Curr Opin Cardiol. 2017; 32(2):123-129. doi:10.1097/HCO.0000000000000372
21. Nappi F. Advancements and challenges in the management of prosthetic valve endocarditis: a review. Pathogens. 2024; 13(12):1039. doi:10.3390/pathogens13121039
22. DeSimone D.C., Garrigos Z.E., Marx G.E., Tattevin P., Hasse B., McCormick D.W., Hannan M.M., Zuhlke L.J., Radke C.S., Baddour L.M. Blood culture-negative endocarditis: a scientific statement from the American Heart Association: endorsed by the International Society for Cardiovascular Infectious Diseases. J Am Heart Assoc. 2025; 14(8):e040218. doi:10.1161/JAHA.124.040218
23. Lepidi H., Casalta J.P., Fournier P.E., Habib G., Collart F., Raoult D. Quantitative histological examination of bioprosthetic heart valves. Clin Infect Dis. 2006; 42(5):590-596. doi:10.1086/500135
24. Anton C.I., Ștefan I., Duțulescu S., Stăniceanu F., Buzilă C.A., Ștefan A.T., Streinu-Cercel A. Histological findings in infective endocarditis-a retrospective cohort study conducted at "Dr. Carol Davila" Central Military Emergency University Hospital in Bucharest. Life (Basel). 2024; 14(12):1658. doi:10.3390/life14121658
25. Meyers S, Crescente M, Verhamme P, Martinod K. Staphylococcus aureus and neutrophil extracellular traps: the master manipulator meets its match in immunothrombosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2022 Mar;42(3):261-276. doi: 10.1161/ATVBAHA.121.316930
26. Christian A.J., Lin H., Alferiev I.S., Connolly J.M., Ferrari G., Hazen S.L., Ischiropoulos H., Levy R.J. The susceptibility of bioprosthetic heart valve leaflets to oxidation. Biomaterials. 2014;

35(7):2097-2102. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.11.045

27. Kostyunin A.E., Glushkova T.V., Lobov A.A., Ovcharenko E.A., Zainullina B.R., Bogdanov L.A., Shishkova D.K., Markova V.E., Asanov M.A., Mukhamadiyarov R.A., Velikanova E.A., Akentyeva T.N., Rezvova M.A., Stasev A.N., Evtushenko A.V., Barbarash L.S., Kutikhin A.G. Proteolytic degradation is a major contributor to bioprosthetic heart valve failure. *J Am Heart Assoc.* 2023; 12(1):e028215. doi:10.1161/JAHA.122.028215

28. Liu Z., Wang Y., Xie F., Liu X., Li F., Dong N. Elimination of macrophages reduces glutaraldehyde-fixed porcine heart valve degeneration in mice subdermal model. *Pharmacol Res Perspect.* 2021; 9(1):e00716. doi:10.1002/prp2.716

29. Sakaue T., Koyama T., Nakamura Y., Okamoto K., Kawashima T., Umeno T., Nakayama Y., Miyamoto S., Shikata F., Hamaguchi M., Aono J., Kurata M., Namiguchi K., Uchita S., Masumoto J., Yamaguchi O., Higashiyama S., Izutani H. Bioprosthetic valve deterioration: accumulation of circulating proteins and macrophages in the valve interstitium. *JACC Basic Transl Sci.* 2023; 8(7):862-880. doi:10.1016/j.jacbs.2023.01.003

30. Shetty R., Pibarot P., Audet A., Janvier R., Dagenais F., Perron J., Couture C., Voisine P., Després J.P., Mathieu P. Lipid-mediated inflammation and degeneration of bioprosthetic heart valves. *Eur J Clin Invest.* 2009; 39(6):471-480. doi:10.1111/j.1365-2362.2009.02132.x

31. Werner P., Gritsch J., Scherzer S., Gross C., Russo M., Coti I., Kocher A., Laufer G., Andreas M. Structural valve deterioration after aortic valve replacement with the Trifecta valve. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2021; 32(1):39-46. doi:10.1093/icvts/ivaa236

32. Yang Y., Sun H., Zhang Y., Zhang T., Gong J., Wei Y., Duan Y.G., Shu M., Yang Y., Wu D., Yu D. Dimensionality reduction by UMAP reinforces sample heterogeneity analysis in bulk transcriptomic data. *Cell Rep.* 2021; 36(4):109442. doi:10.1016/j.celrep.2021.109442

33. Kostyunin A.E., Yuzhalin A.E., Rezvova M.A., Ovcharenko

E.A., Glushkova T.V., Kutikhin A.G. Degeneration of bioprosthetic heart valves: update 2020. *J Am Heart Assoc.* 2020; 9(19):e018506. doi:10.1161/JAHA.120.018506

34. Delgado V., Ajmone Marsan N., de Waha S., Bonaros N., Brida M., Burri H., Caselli S., Doenst T., Ederhy S., Erba P.A., Foldager D., Fosbøl E.L., Kovac J., Mestres C.A., Miller O.I., Miro J.M., Pazdernik M., Pizzi M.N., Quintana E., Rasmussen T.B., Ristić A.D., Rodés-Cabau J., Sionis A., Zühlke L.J., Borger M.A. 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis. *Eur Heart J.* 2023; 44(39):3948-4042. doi:10.1093/eurheartj/ehad193

35. Ivanovic B., Trifunovic D., Matic S., Petrovic J., Sacic D., Tadic M. Prosthetic valve endocarditis – a trouble or a challenge? *J Cardiol.* 2019; 73(2):126-133. doi:10.1016/j.jcc.2018.08.007

36. Pibarot P., Herrmann H.C., Wu C., Hahn R.T., Otto C.M., Abbas A.E., Chambers J., Dweck M.R., Leipsic J.A., Simonato M., Rogers T., Sathananthan J., Guerrero M., Ternacle J., Wijeyesundera H.C., Sondergaard L., Barbanti M., Salaun E., Gèneux P., Kaneko T., Landes U., Wood D.A., Deeb G.M., Sellers S.L., Lewis J., Madhavan M., Gillam L., Reardon M., Bleiziffer S., O'Gara P.T., Rodés-Cabau J., Grayburn P.A., Lancellotti P., Thourani V.H., Bax J.J., Mack M.J., Leon M.B. Standardized definitions for bioprosthetic valve dysfunction following aortic or mitral valve replacement: JACC state-of-the-art review. *J Am Coll Cardiol.* 2022; 80(5):545-561. doi:10.1016/j.jacc.2022.06.002

37. Poirier B., Rancic J., Richez U., Piquet J., El Batti S., Smadja D.M. Fibrin deposition on bovine pericardium tissue used for bioprosthetic heart valve drives its calcification. *Front Cardiovasc Med.* 2023; 10:1198020. doi:10.3389/fcvm.2023.1198020

38. Zakharchenko A., Xue Y., Keeney S., Rock C.A., Alferiev I.S., Stachelek S.J., Takano H., Thomas T., Nagaswami C., Krieger A.M., Chorny M., Ferrari G., Levy R.J. Poly-2-methyl-2-oxazoline-modified bioprosthetic heart valve leaflets have enhanced biocompatibility and resist structural degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022; 119(6):e2120694119. doi:10.1073/pnas.2120694119

REFERENCES

1. Kudryavtseva Yu.A. Bioprosthetic heart valves. From idea to clinical use. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases.* 2015; 4:6-16. (In Russian) doi:10.17802/2306-1278-2015-4-6-16

2. 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. (In Russian) doi:10.17802/2306-1278-2012-1-4-11

3. Karaskov A., Sharifulin R., Zheleznev S., Demin I., Lenko E., Bogachev-Prokophiev A. Results of the Ross procedure in adults: a single-Centre experience of 741 operations. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2016; 49:e97-e104. doi:10.1093/ejcts/ezw047

4. Nichay N.R., Zhuravleva I.Y., Kulyabin Y.Y., Zubritskiy A.V., Voitov A.V., Soynov I.A., Gorbatykh A.V., Bogachev-Prokophiev A.V., Karaskov A.M. Diepoxy- versus glutaraldehyde-treated xenografts: outcomes of right ventricular outflow tract reconstruction in children. *World J Pediatr Congenit Heart Surg.* 2020; 11:56-64. doi:10.1177/2150135119885900

5. Zhuravleva I.Y., Karpova E.V., Dokuchaeva A.A., Titov A.T., Timchenko T.P., Vasilieva M.B. Calcification of various bioprosthetic materials in rats: is it really different? *Int J Mol Sci.* 2023; 24(8):7274. doi:10.3390/ijms24087274

6. Glushkova T.V., Ovcharenko E.A., Rogulina N.V., Klyshnikov K.Yu., Kudryavtseva Yu.A., Barbarash L.S. Dysfunction patterns of epoxy-treated tissue heart valves. *Kardiologiya.* 2019; 59(10):49-59. (In Russian) doi:10.18087/cardio.2019.10.n327

7. Karaskov A.M., Zheleznev S.I., Rogulina N.V., Sapegin A.V., Odarenko Yu.N., Levadin Yu.V., Rutkovskaya N.V., Barbarash L.S. Next generation russian biological prosthesis "UniLin" for mitral valve replacement: first experience. *Russian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery.* 2017; 59(2):98-104. (In Russian) doi:10.24022/0236-2791-59-2-98-104

8. Kozlov B.N., Petlin K.A., Pryakhin A.S., Seredkina E.B., Panfilov D.S., Shipulin V.M. Immediate and long-term results of application of UniLine bioprostheses in the aortic position. *Clinical and Experimental Surgery. Petrovsky journal.* 2017; 4:37-42 (In Russian) doi:10.24411/2308-1198-2017-00005

9. Mukhamadiyarov R.A., Rutkovskaya N.V., Kokorin S.G., Odarenko Yu.N., Milto I.V., Barbarash L.S. Cell typing of biological heart valves prosthesis explained due to the development of calcium-associated dysfunctions. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2018; 17(4):94-102. (In Russian) doi:10.20538/1682-0363-2018-4-94-102

10. 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. (In Russian) doi:10.15690/vramn560

11. Barbarash L.S., Karaskov A.M., Semenovskiy M.L., Zhuravleva I.Yu., Odarenko Yu.N., Vavilov P.A., Nokhrin A.V., Astapov D.A. Bioprostheses of heart valves in Russia: experience of three clinics. *Pathology of Blood Circulation and Cardiac Surgery.* 2011; (2):21-26. (In Russian)

12. Fowler V.G., Durack D.T., Selton-Suty C., Athan E., Bayer A.S., Chamis A.L., Dahl A., DiBernardo L., Durante-Mangoni E., Duval X., Fortes C.Q., Fosbøl E., Hannan M.M., Hasse B., Hoen B., Karchmer A.W., Mestres C.A., Petti C.A., Pizzi M.N., Preston S.D., Roque A., Vandenesch F., van der Meer J.T.M., van der Vaart T.W., Miro J.M. The 2023 Duke-international society for cardiovascular infectious diseases criteria for infective endocarditis: updating the modified Duke criteria. *Clin Infect Dis.* 2023; 77(4):518-526. doi:10.1093/cid/ciad271

13. Bankhead P., Loughrey M.B., Fernández J.A., Dombrowski Y., McArt D.G., Dunne P.D., McQuaid S., Gray R.T., Murray L.J., Coleman H.G., James J.A., Salto-Tellez M., Hamilton P.W. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep.* 2017; 7(1):16878. doi:10.1038/s41598-017-17204-5

14. Schindelin J., Arganda-Carreras I., Frise E., Kaynig V., Longair M., Pietzsch T., Preibisch S., Rueden C., Saalfeld S., Schmid B., Tinevez J.Y., White D.J., Hartenstein V., Eliceiri K., Tomancak P., Cardona A. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods.* 2012; 9(7):676-682. doi:10.1038/nmeth.2019

15. Healy J., McInnes L. Uniform manifold approximation and

projection. *Nat Rev Methods Primers*. 2024; 4:82. doi:10.1038/s43586-024-00363-x

16. Rousseeuw P.J. Silhouettes: A graphical aid to the interpretation and validation of cluster analysis. *Journal of Computational and Applied Mathematics*. 1987; 20: 53-65. doi:10.1016/0377-0427(87)90125-7

17. Caliński T., Harabasz J. A dendrite method for cluster analysis. *Communications in Statistics*. 1974; 3(1):1-27. doi:10.1080/03610927408827101

18. Davies D.L., Bouldin D.W. A cluster separation measure. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*. 1979; PAMI-1(2):224-227. doi:10.1109/TPAMI.1979.4766909

19. Berrett T.B., Samworth R.J. USP: an independence test that improves on Pearson's chi-squared and the G-test. *Proc Math Phys Eng Sci*. 2021; 477(2256):20210549. doi:10.1098/rspa.2021.0549

20. Cote N., Pibarot P., Clavel M.A. Incidence, risk factors, clinical impact, and management of bioprosthesis structural valve degeneration. *Curr Opin Cardiol*. 2017; 32(2):123-129. doi:10.1097/HCO.0000000000000372

21. Nappi F. Advancements and challenges in the management of prosthetic valve endocarditis: a review. *Pathogens*. 2024; 13(12):1039. doi:10.3390/pathogens13121039

22. DeSimone D.C., Garrigos Z.E., Marx G.E., Tattevin P., Hasse B., McCormick D.W., Hannan M.M., Zuhlke L.J., Radke C.S., Baddour L.M. Blood culture-negative endocarditis: a scientific statement from the American Heart Association: endorsed by the International Society for Cardiovascular Infectious Diseases. *J Am Heart Assoc*. 2025; 14(8):e040218. doi:10.1161/JAHA.124.040218

23. Lepidi H., Casalta J.P., Fournier P.E., Habib G., Collart F., Raoult D. Quantitative histological examination of bioprosthetic heart valves. *Clin Infect Dis*. 2006; 42(5):590-596. doi:10.1086/500135

24. Anton C.I., Ștefan I., Duțulescu S., Stăniceanu F., Buzilă C.A., Ștefan A.T., Streinu-Cercel A. Histological findings in infective endocarditis-a retrospective cohort study conducted at "Dr. Carol Davila" Central Military Emergency University Hospital in Bucharest. *Life (Basel)*. 2024; 14(12):1658. doi:10.3390/life14121658

25. Meyers S, Crescente M, Verhamme P, Martinod K. Staphylococcus aureus and neutrophil extracellular traps: the master manipulator meets its match in immunothrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2022 Mar;42(3):261-276. doi: 10.1161/ATVBAHA.121.316930

26. Christian A.J., Lin H., Alferiev I.S., Connolly J.M., Ferrari G., Hazen S.L., Ischiropoulos H., Levy R.J. The susceptibility of bioprosthetic heart valve leaflets to oxidation. *Biomaterials*. 2014; 35(7):2097-2102. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.11.045

27. Kostyunin A.E., Glushkova T.V., Lobov A.A., Ovcharenko E.A., Zainullina B.R., Bogdanov L.A., Shishkova D.K., Markova V.E., Asanov M.A., Mukhamadiyarov R.A., Velikanova E.A., Akentyeva T.N., Rezvova M.A., Stasev A.N., Evtushenko A.V., Barbarash L.S., Kutikhin A.G. Proteolytic degradation is a major contributor to bioprosthetic heart valve failure. *J Am Heart Assoc*. 2023; 12(1):e028215. doi:10.1161/JAHA.122.028215

28. Liu Z., Wang Y., Xie F., Liu X., Li F., Dong N. Elimination of macrophages reduces glutaraldehyde-fixed porcine heart valve degeneration in mice subdermal model. *Pharmacol Res Perspect*. 2021; 9(1):e00716. doi:10.1002/prp2.716

29. Sakaue T., Koyama T., Nakamura Y., Okamoto K., Kawashima T., Umeno T., Nakayama Y., Miyamoto S., Shikata F., Hamaguchi M., Aono J., Kurata M., Namiguchi K., Uchita S., Masumoto J., Yamaguchi O., Higashiyama S., Izutani H. Bioprosthetic valve deterioration: accumulation of circulating proteins and macrophages in the valve interstitium. *JACC Basic Transl Sci*. 2023; 8(7):862-880. doi:10.1016/j.jacbts.2023.01.003

30. Shetty R., Pibarot P., Audet A., Janvier R., Dagenais F., Perron J., Couture C., Voisine P., Després J.P., Mathieu P. Lipid-mediated inflammation and degeneration of bioprosthetic heart valves. *Eur J Clin Invest*. 2009; 39(6):471-480. doi:10.1111/j.1365-2362.2009.02132.x

31. Werner P., Gritsch J., Scherzer S., Gross C., Russo M., Coti I., Kocher A., Laufer G., Andreas M. Structural valve deterioration after aortic valve replacement with the Trifecta valve. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2021; 32(1):39-46. doi:10.1093/icvts/ivaa236

32. Yang Y., Sun H., Zhang Y., Zhang T., Gong J., Wei Y., Duan Y.G., Shu M., Yang Y., Wu D., Yu D. Dimensionality reduction by UMAP reinforces sample heterogeneity analysis in bulk transcriptomic data. *Cell Rep*. 2021; 36(4):109442. doi:10.1016/j.celrep.2021.109442

33. Kostyunin A.E., Yuzhalin A.E., Rezvova M.A., Ovcharenko E.A., Glushkova T.V., Kutikhin A.G. Degeneration of bioprosthetic heart valves: update 2020. *J Am Heart Assoc*. 2020; 9(19):e018506. doi:10.1161/JAHA.120.018506

34. Delgado V., Ajmone Marsan N., de Waha S., Bonaros N., Brida M., Burri H., Caselli S., Doenst T., Ederhy S., Erba P.A., Foldager D., Fosbøl E.L., Kovac J., Mestres C.A., Miller O.I., Miro J.M., Pazdernik M., Pizzi M.N., Quintana E., Rasmussen T.B., Ristić A.D., Rodés-Cabau J., Sionis A., Zühlke L.J., Borger M.A. 2023 ESC Guidelines for the management of endocarditis. *Eur Heart J*. 2023; 44(39):3948-4042. doi:10.1093/eurheartj/ehad193

35. Ivanovic B., Trifunovic D., Matic S., Petrovic J., Sacic D., Tadic M. Prosthetic valve endocarditis – a trouble or a challenge? *J Cardiol*. 2019; 73(2):126-133. doi:10.1016/j.jcc.2018.08.007

36. Pibarot P., Herrmann H.C., Wu C., Hahn R.T., Otto C.M., Abbas A.E., Chambers J., Dweck M.R., Leipsic J.A., Simonato M., Rogers T., Sathananthan J., Guerrero M., Ternacle J., Wijeyesundera H.C., Sondergaard L., Barbanti M., Salaun E., Gèneux P., Kaneko T., Landes U., Wood D.A., Deeb G.M., Sellers S.L., Lewis J., Madhavan M., Gillam L., Reardon M., Bleiziffer S., O'Gara P.T., Rodés-Cabau J., Grayburn P.A., Lancellotti P., Thourani V.H., Bax J.J., Mack M.J., Leon M.B. Standardized definitions for bioprosthetic valve dysfunction following aortic or mitral valve replacement: JACC state-of-the-art review. *J Am Coll Cardiol*. 2022; 80(5):545-561. doi:10.1016/j.jacc.2022.06.002

37. Poitier B., Rancic J., Richez U., Piquet J., El Batti S., Smadja D.M. Fibrin deposition on bovine pericardium tissue used for bioprosthetic heart valve drives its calcification. *Front Cardiovasc Med*. 2023; 10:1198020. doi:10.3389/fcvm.2023.1198020

38. Zakharchenko A., Xue Y., Keeney S., Rock C.A., Alferiev I.S., Stachelek S.J., Takano H., Thomas T., Nagaswami C., Krieger A.M., Chorny M., Ferrari G., Levy R.J. Poly-2-methyl-2-oxazoline-modified bioprosthetic heart valve leaflets have enhanced biocompatibility and resist structural degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2022; 119(6):e2120694119. doi:10.1073/pnas.2120694119

Для цитирования: Овчаренко Е.А., Глушкова Т.В., Костюнин А.Е., Ключева А.А., Акентьева Т.Н., Поддубняк А.О., Фокеева М.П., Клышников К.Ю., Стасев А.Н., Барбараш О.Л. Патоморфологические паттерны дисфункций ксеноперикардальных биопротезов клапанов сердца модели «ЮниЛайн». *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2025;14(4): 176-194. DOI: 10.17802/2306-1278-2025-14-4-176-194

To cite: Ovcharenko E.A., Glushkova T.V., Kostyunin A.E., Klyueva A.A., Akentieva T.N., Poddubnyak A.O., Fokeeva M.P., Klyshnikov K.Yu., Stasev A.N., Barbarash O.L. Pathomorphological patterns of dysfunctions of xenopericardial bioprostheses of heart valves of the "UniLine" model. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2025;14(4): 176-194. DOI: 10.17802/2306-1278-2025-14-4-176-194

Комментарий к статье «Патоморфологические паттерны ДИСФУНКЦИЙ ксеноперикардальных биопротезов клапанов сердца МОДЕЛИ «ЮниЛайн»

Ю.А. Кудрявцева

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», бульвар им. академика Л.С. Барбараша, стр. 6, Кемерово, Российская Федерация, 650002

Биологические протезы клапана сердца обладают неоспоримыми преимуществами перед механическими протезами в плане гидродинамических параметров, отсутствие необходимости пожизненной антикоагулянтной терапии, обеспечивающее в целом более высокое качество жизни пациента. Долговечность биологических протезов во многом зависит от технологии консервации биоткани, применяемой изготовителем. Отдаленным результатам имплантации биопротезов клапанов сердца, консервированных глутаровым альдегидом, посвящено достаточно большое количество исследований. В тоже время история применения эпоксиобработанных биопротезов (диглицидиловым эфиром этиленгликоля) имеет менее продолжительный период. Анализ дисфункций и тщательное изучение эксплантированных биопротезов дает ценный материал для выяснения причин отказа работы биопротеза и основу для поиска возможностей усовершенствования технологии производства изделий столь высокого класса риска.

Исследование «Овчаренко Е.А. с соавторами посвящено изучению причин и механизмов дисфункции имплантированных ксеноперикардальных биопротезов «Юнилайн». Удаленные протезы были подвергнуты тщательному анализу с использованием современных лабораторных и статистических методов, что позволило с помощью алгоритмов кластерного анализа выделить 2 стабильных паттерна дисфункций: первый характеризовался типичными для структурной клапанной дегенерации признаками, включающими хроническое вос-

паление и кальцификацию, второй соответствовал персистирующему острому воспалению при протезном эндокардите. Получены уникальные данные о различиях клеточного состава толщи биоматериала в зависимости от причины дисфункции – преобладание нейтрофильной инфильтрации, как следствие септического воспаления при протезном эндокардите, и макрофагальной, сопровождающей асептическое воспаление при структурной дегенерации биоткани. Установлено, что паттерны дисфункции биопротезов (ранний протезный эндокардит и поздняя структурная клапанная дегенерация) детерминированы в большей степени воспалением, триггером которого является инвазия клеток и белков плазмы в створки клапана.

Важным результатом является тот факт, что исследование фактически подтверждает единство механизмов дегенерации ГА и ДЭЭ - обработанных материалов, что в свою очередь обуславливает необходимость поиска новых путей повышения биологической инертности биоматериалов. Кроме того, позволяет экстраполировать и сопоставлять результаты исследований ГА-ксеноперикарда на проблему ограничения долговечности ДЭЭ- протезов.

Полученные научным коллективом данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего совершенствования антикальциевых и антимикробных технологий и дают понимание, в каком направлении двигаться и какие патологические процессы должны быть в фокусе разработчиков.