На правах рукописи

Ничай Наталия Романовна

Клинико-экспериментальное обоснование подходов к созданию новых ксенокондуитов для протезирования пути оттока в легочную артерию у педиатрических пациентов

3.1.15. Сердечно-сосудистая хирургия
(медицинские науки)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Новосибирск - 2026

Работа выполнена в научно-исследовательском отделе врожденных пороков сердца института патологии кровообращения ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России

Научный консультант д-р мед. наук Богачев-Прокофьев Александр Владимирович

Официальные оппоненты:

Зеленикин Михаил Михайлович, д-р мед. наук, профессор (Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Москва), заведующий кардиохирургическим отделением (детским) №4);
Кривощеков Евгений Владимирович, д-р мед. наук (Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр высоких медицинских технологий» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Калининград), заведующий кардиохирургическим отделением № 3 - врач-сердечно-сосудистый хирург);
Пурсанов Манолис Георгиевич, д-р мед. наук (Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения города Москвы (г. Москва); врач по рентгенэндоваскулярным диагностике и лечению отделения экстренной кардиохирургии и интервенционной кардиологии).

Ведущая организация:
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» (650002, г. Кемерово, Бульвар имени академика Л.С. Барбараша, 6).

Защита состоится 27.01.2027 года в 10.00 часов на заседании диссертационного совета 21.1.027.01 Д (208.063.01) при ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России.

Адрес: 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, 15;
e-mail: dissovet@meshalkin.ru
http://meshalkin.ru/nauchnaya_deyatelnost/dissertatsionnyy_sovet/soiskateli

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России и на сайте
http://meshalkin.ru/nauchnaya_deyatelnost/dissertatsionnyy_sovet/soiskateli

Автореферат разослан «___»_____ 20__ года

Ученый секретарь
21.1.027.01 Д (208.063.01)
д-р мед. наук Афанасьев Александр Владимирович

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АоК — аортальный корень

Бф — бисфосфоновая кислота, бисфосфонат

ВОПЖ — выходной отдел правого желудочка

ВПС — врождённый порок сердца

ГА — глутаровый альдегид

ГА-ПК — ксеноперикардиальный кондуит, консервированный ГА

ГА-ЯВ — бычья яремная вена, обработанная ГА

ДИ — доверительный интервал

ДЭ — диглицидиловый эфир этиленгликоля, диэпоксид

ДЭ-АоК — свиной аортальный корень, обработанный диэпоксидом

ДЭ-ПК — ксеноперикардиальный кондуит, фиксированный диэпоксидом

ИК-спектр — инфракрасный спектр

ЛА — лёгочная артерия

ОР — отношение риска

Пам — памидроновая кислота, памидронат

ПК — перикард

СН – сердечная недостаточность

ЧП-ЭХОКГ — чреспищеводная эхокардиография

ЯВ — яремная вена

ЯМР — ядерный магнитный резонанс

CEABA – 2-(2-карбоксиэтиламино)этилиден-1,1-бисфосфоновая кислота

D — диаметр кондуита

IQR — межквартильный интервал (interquartile range)

Let - летальный исход

Non-let - нелетальнй исход

Me — медиана (median)

Mismatch — несоответствие размеров протез-пациент

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В среднем у 150 детей на каждые 100 000 живорождённых диагностируют врожденный порок сердца (ВПС), связанный с патологией пути оттока из правого желудочка (ПЖ) в легочную артерию (ЛА). При этом процент данной патологии неуклонно растёт [Liu и др., 2019]. Сложная анатомия этого спектра ВПС зачастую требует протезирования ЛА. Данное хирургическое вмешательство является самой частой процедурой по замене клапана в педиатрической группе пациентов [Herrmann, Brown, 2020]. Для реконструкции ВОПЖ и замены ЛА применяются различные типы клапаносодержащих кондуитов. Легочные гомографты продолжают оставаться наиболее оптимальным вариантом для таких операций и рекомендуются как детям, так и взрослым пациентам [Baumgartner и др., 2021; Hazekamp и др., 2021; Huyan, Chang, Song, 2021]. Однако использование ЛА-гомографтов, особенно малого диаметра, лимитировано из-за их ограниченной доступности, что связано с рядом экономических, правовых и организационно-технических факторов [Harris и др., 2023; Sharifulin и др., 2021b; Singh и др., 2025]. Вследствие острой нехватки ЛА-гомографтов небольшого размера у детей широко применяются кондуиты, изготовленные из ксеногенных биоматериалов [Harris и др., 2023; Homann и др., 2000].

Несмотря на разнообразие доступных в настоящее время кондуитов, ни один из них не соответствует всем требованиям «идеального протеза» [Crago и др., 2023; Harris и др., 2023; Herrmann и др., 2020; Singh и др., 2025]. Вопрос выбора наиболее оптимального ксеногенного биоматериала для детской кардиохирургии остается открытым, особенно в контексте процедур, направленных на восстановление адекватного легочного кровотока. И хотя в конечном итоге дети перерастают имплантированные биопротезы из-за их неспособности к росту, структурные изменения графта часто приводят к несостоятельности кондуита значительно раньше [Crago и др., 2023; Hazekamp и др., 2021]. Одной из основных причин дисфункции ЛА-кондуитов у детей является кальцификация их структур [Ong и др., 2013; Soor и др., 2009]. В настоящее время не существует оптимального метода антикальциевой

защиты, способного эффективно предотвращать минерализацию биоматериала, особенно в детской популяции, что подтверждается результатами клинических исследований, оценивающих долговечность клапаносодержащих легочных графтов [Homann и др., 2000; Mery и др., 2016]. Эта проблема требует активных поисковых исследований и разработки новых стратегий антикальциевой защиты, учитывающих различия в структуре и аминокислотном составе ксеногенных тканей.

Степень разработанности темы диссертации

Проблема поиска оптимального графта для реконструкции пути оттока из ПЖ в ЛА у педиатрических пациентов в течение многих лет остаётся предметом активных дискуссий в мировой кардиохирургической литературе. Несмотря на проводимые исследовательские и поисковые работы в данной области, на настоящий момент не существует идеального клапаносодержащего кондуита для имплантации в легочную позицию [Crago и др., 2023; Harris и др., 2023; Herrmann и др., 2020; Singh и др., 2025]. Все доступные клапаносодержащие легочные кондуиты имеют существенные ограничения [Crago и др., 2023], неизбежно подвергаются дегенеративным изменениям и со временем требуют замены, что особенно значимо в педиатрической группе пациентов [Журавлева и др., 2016b; Dave и др., 2011; Lee и др., 2011; Ong и др., 2013; Qian и др., 2021; Romeo и др., 2019; Tweddell и др., 2000].

Одним из наиболее частых и клинически значимых механизмов дисфункции ЛА-кондуитов у детей является минерализация протезных структур, которая рассматривается как конечный этап структурной дегенерации биопротезной ткани [Capodanno и др., 2017; Ong и др., 2013; Soor и др., 2009; Wen и др., 2022]. В литературе предложены и обоснованы различные пути накопления кальциевых отложений в биоматериалах и факторы, ускоряющие этот патологический процесс. За последнее десятилетие накоплены убедительные данные, указывающие на ключевую роль иммунного ответа в механизмах кальцификации и деградации биологических клапанов сердца [Manji, Hara, Cooper, 2015; Wen и др., 2022; Cooper, 2020]. Феномен более быстрой и агрессивной минерализации биопротезной ткани у детей объясняется не только повышенной активностью иммунной системы [Simon, Hollander, McMichael,

2015], но и особенностями метаболизма этой возрастной группы [Homann и др., 2000; Vásquez-Alvarez и др., 2021]. В ряде исследований продемонстрирована роль циклической механической нагрузки, а также последующего повреждения и износа ткани в развитии кальцификации биопротезов [Liao и др., 2008; Vaesken и др., 2018]. Кроме того, структурные особенности и химический состав биоматериалов определяют предрасположенность к нуклеации кристаллов гидроксиапатита и дальнейшему накоплению минеральных отложений [Guo и др., 2021; Parashar и др., 2021; Rapoport и др., 2007; Tsolaki и др., 2023; Zhuravleva и др., 2023].

На основе имеющихся данных предложены различные подходы к подавлению кальцификации трансплантата [Schoen, Levy, 2013; Zheng, Yang, Wang, 2024]. Хотя многие из этих методов продемонстрировали обещающие результаты в доклинических моделях, в частности при подкожной имплантации у крыс, их эффективность в условиях реальной гемодинамической среды не подтверждена, и трансляция в клиническую практику остаётся проблематичной [Jorge-Herrero, Paez, Castillo-Olivares Ramos Del, 2005; Schoen, Levy, 2013]. В настоящее время не существует эффективного и общепринятого способа предотвращения кальцификации биопротезной ткани в условиях клинического применения [Костюнин и др., 2023a; Attia, Raja, 2021; Dvir и др., 2018], что подчёркивает актуальность темы и необходимость дальнейших фундаментальных и поисковых исследований.

Цель исследования

Целью данного исследования является разработка ксеногенного клапаносодержащего кондуита с повышенной резистентностью к кальцификации для протезирования пути оттока из правого желудочка в легочную артерию у педиатрических пациентов.

Задачи исследования

1) Оценить отдаленные результаты использования различных типов клапаносодержащих кондуитов для протезирования пути оттока в легочную артерию в педиатрической группе пациентов.

2) Проанализировать структуру причин дисфункции протезов легочной артерии в периоде наблюдения в зависимости от типа имплантированного клапаносодержащего графта.

3) Определить предикторы кондуит-ассоциированных реинтервенций у пациентов педиатрической группы.

4) Выявить риски ранней дисфункции легочных кондуитов в зависимости от типа биоматериала и варианта его обработки.

5) Исследовать механизмы кальцификации основных биоматериалов, используемых для создания ксенокондуитов, обработанных различными сшивающими агентами.

6) Обосновать принцип иммобилизации бисфосфоновых соединений на различные биоматериалы, консервированные глутаровым альдегидом и диэпоксидом.

7) Провести сравнительную оценку эффективности антикальциевой защиты различных типов биоматериалов в зависимости от способа базовой обработки и модификации бисфосфонатом.

8) Разработать технологию изготовления ксеногенного легочного кондуита и доказать ее эффективность в экспериментальных условиях, максимально приближенных к предполагаемой области применения протеза.

Научная новизна

Впервые представлен уникальный опыт имплантации различных типов легочных кондуитов в педиатрической популяции. Эта работа является крупнейшим исследованием различных вариантов кондуитов в России и одним из самых масштабных одноцентровых исследований, опубликованных в международной литературе. Особую новизну представляют впервые полученные данные по использованию ДЭ-фиксированных кондуитов (ДЭ-консервированного ксеноперикардиального кондуита; ДЭ-обработанного кондуита, содержащего свиной аортальный корень) у детей. В диссертационной работе впервые представлены убедительные доказательства высокой эффективности ДЭ-обработки как для ксеноперикарда, так и для клапаносодержащего сегмента яремной вены быка. Также

данная работа является первым исследованием, направленным на верификацию молекулярных механизмов взаимодействия между фиксированными ксеногенными тканями, имеющими структурные отличия, и разными типами азот-содержащих бисфосфонатов (Бф). Новые научные данные, полученные в рамках диссертационной работы, стали основой для разработки инновационного ксеногенного клапаносодержащего кондуита, обладающего повышенной резистентностью к минерализации и улучшенными структурными характеристиками по сравнению с ксенографтами, традиционно обработанными глутаровым альдегидом (ГА). Разработка выполнена на основе использования клапаносодержащего фрагмента яремной вены быка и защищена патентом на изобретение № 2633544 C1, что подтверждает её новизну и перспективы клинического применения.

Теоретическая и практическая значимость работы

Диссертационная работа обладает высокой теоретической и практической значимостью, что подтверждается публикацией результатов исследования в ведущих научных журналах с высоким импакт-фактором, а также признанием со стороны экспертов Европейской Ассоциации кардиоторакальной хирургии (EACTS) — премией Young Investigator’s Award. В работе были выявлены независимые факторы риска реинтервенций на кондуите, дисфункции протеза по причине его кальцификации и неоинтимальной гиперплазии, а также развития инфекционного эндокардита, что позволило сформулировать рекомендации по выбору кондуита для протезирования ЛА у детей. В рамках проведённых исследований получены новые научные данные, раскрывающие механизмы связывания консервантов с тканями, существенно различающимися по структуре и составу внеклеточного матрикса. Также подробно изучены процессы связывания бисфосфоновых кислот как с сшивающими агентами, так и с фиксированными тканями. Дополнительно выявлены закономерности влияния различных типов Бф на интенсивность кальцификации тканей и состав образующихся кальциевых депозитов.

Результатом проведённой диссертационной работы стала разработка ксеногенного клапаносодержащего кондуита с повышенной резистентностью к

минерализации и улучшенными структурными характеристиками. Данная разработка защищена патентом на изобретение (№ 2633544 C1, 13.10.2017), что подтверждает её прикладной потенциал. Кроме того, полученные новые данные могут послужить фундаментом для дальнейшего улучшения подходов в обработке биоматериалов и совершенствовании конструкций графтов.

Методология и методы исследования

Данное исследование было одобрено локальными Экспертным (протокол № 25 от 19.12.2017) и Этическим (протокол № 17 от 14.06.2018) комитетами. Дизайн диссертационной работы состоит из двух основных блоков (Рисунок 1):

(1) Клинический блок, направленный на оценку эффективности применения коммерческих кондуитов для протезирования ЛА у пациентов педиатрической группы;

(2) Экспериментальный блок, основанный на анализе биоматериалов и стратегий их консервации с целью повышения долговечности протезных конструкций.

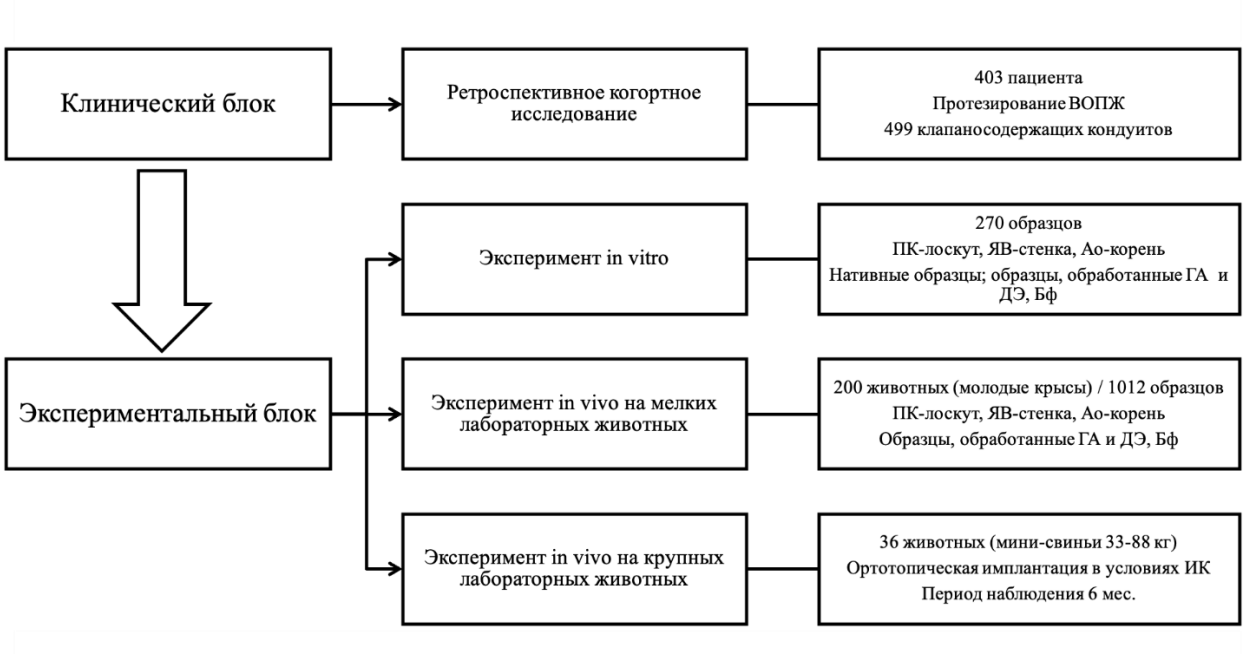


Рисунок 1 – Общий дизайн диссертационной работы

Клиническая часть диссертационной работы основана на материале, накопленном на базе ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России за период 2000–2024 гг. Все пациенты были отобраны из проспективно поддерживаемой базы данных. Проведён ретроспективный когортный анализ результатов имплантации

различных типов лёгочных кондуитов у 403 пациентов в возрасте от 0 до 18 лет. В зависимости от типа имплантированного кондуита пациенты были распределены на пять групп для сравнительного анализа:

1. бычья яремная вена (ЯВ), обработанная глутаровым альдегодим (ГА);

2. клапаносодержащий ксеноперикардиальный кондуит, консервированный ГА;

3. кондуит, содержащий свиной аортальный корень, фиксированный диглицидиловым этиленгликоля (диэпоксид, ДЭ);

4. клапаносодержащий ксеноперикардиальный кондуит, обработанный ДЭ;

5. криосохраненный легочный гомографт (ЛА-гомографт).

На основании результатов анализа клинических данных сформированы вводные данные для экспериментальной части работы. Экспериментальный блок диссертационного исследования включал несколько последовательных этапов:

I. эксперимент in vitro;

II. эксперимент in vivo на модели мелких лабораторных животных;

III. эксперимент in vivo на модели крупных лабораторных животных.

Эксперимент in vitro был направлен на оценку изменений аминокислотного состава биоматериалов под воздействием сшивающих агентов, изучение механизмов взаимодействия бисфосфонатов (Бф) с консервирующими веществами и фиксированными биоматериалами, а также анализ степени связывания Бф с тканями, консервированными ГА и ДЭ. В рамках данного этапа было исследовано 270 образцов биоматериалов, включающих необработанный бычий перикард (ПК), свиной аортальный корень (АоК) и стенку бычьей ЯВ, а также образцы, консервированные ГА или ДЭ и дополнительно модифицированные Бф.

В экспериментальном исследовании in vivo с использованием модели мелких лабораторных животных проведена сравнительная оценка степени кальцификации ксеногенных тканей, обработанных различными методами, включая модификацию Бф. Данное скрининговое исследование было направлено на выявление потенциала антикальциевой защиты различных способов обработки биоматериалов. В исследование были включены 200 здоровых самцов крыс линии Wistar массой 70–100 г, которым подкожно имплантировали 1020 образцов биоматериалов,

консервированных различными методами, включая модификацию Бф. Оценка степени кальцификации тканей проводилась на 10-й, 30-й и 60-й день. По результатам данного этапа работы были отобраны наиболее перспективные биоматериалы и методы их обработки, обеспечивающие значительное снижение накопления фосфатов кальция или полное подавление процесса минерализации ткани.

В исследование включены следующие биоматериалы:

→ лоскут бычьего перикарда (ПК-лоскут),

→ стенка свиной аорты (Ао-корень),

→ стенка яремной вены быка (ЯВ-стенка).

В исследование включены представители различных типов Бф:

→ тип 1 – памидроновая кислота (Пам), алендроновая кислота (Ален), неридроновая кислота (Нер);

→ тип 2 – CEABA [2-(2-карбоксиэтиламино)этилиден-1,1-бисфосфоновая кислота]; CPABA [2-(5-карбоксипентиламино)этилиден-1,1-бисфосфоновая кислота];

→ тип 3 – золедроновая кислота (Зол).

Экспериментальная часть in vivo на крупных лабораторных животных была сфокусирована на оценке гемодинамических и структурных характеристик клапаносодержащих графтов. В рамках данного этапа исследования были проанализированы ДЭ-консервированные ксеноперикардиальные и ксеновенозные кондуиты, в том числе дополнительно обработанные Бф. В качестве контрольных групп использовались графты, консервированные ГА, включая ксенокондуит Contegra. Протезы имплантировали в ортотопическую позицию молодым мини-свиньям (n=36). Период наблюдения составил 6 месяцев, в течение которых каждому животному выполняли три последовательных чреспищеводных эхокардиографических исследования (ЧП-ЭХОКГ). По завершении периода наблюдения кондуиты были эксплантированы и подвергнуты комплексной оценке структурных изменений.

Аминокислотный анализ образцов биоматериала выполняли по стандартной методике с использованием аминокислотного анализатора L-8800 (Hitachi Ltd., Япония). Количественное определение фосфора и кальция в исследуемых образцах проводили с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра

Thermo Solaar M6 (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США). Оценку взаимодействия Бф с сшивающими агентами исследовали методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР). Спектры ^{1}H ЯМР (400 МГц) регистрировали на спектрометре Bruker AV-400 (Bruker Inc., Карлсруэ, Германия). Инфракрасные спектры (ИК-спектры) образцов регистрировали на Фурье-спектрометре Tensor 27 (Bruker Inc., Карлсруэ, Германия) в диапазоне 4000–400 см$^{-1}$ с использованием гранул KBr (64 сканирования, разрешение 4 см$^{-1}$) и метода аттенуированного полного отражения (ATR) с кристаллом ZnSe (угол падения 45°). Для выполнения сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) образцы предварительно покрывали углеродным слоем толщиной 25–30 нм с помощью установки GVC-3000 (KYKY TECHNOLOGY, Пекин, Китай). Анализ методом СЭМ, энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС) и элементное картирование проводили на микроскопе WIN SEM A6000LV с системой AzTec One EDX (Oxford Instruments, Абингдон, Великобритания). Для микроскопического исследования образцы биоматериалов фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине, обезвоживали и заливали в парафин. Срезы толщиной 6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином (H&E), по фон Коссу, трихромом по Маллори, пентахромом по Расселу-Мовату и иммуногистохимически (ИГХ) на белок S100. Исследования проводили на световом микроскопе Axioskop 40 (Carl Zeiss, Йена, Германия).

Анализ данных проводился с использованием программного обеспечения R Statistical Software (v4.4.1; R Core Team, 2025) [R Core Team, 2025]. Для проверки нормальности распределения непрерывных переменных применяли тест Шапиро–Уилка (Shapiro-Wilk W test). Непрерывные данные представлены в виде медианы (median, Me) и межквартильного интервала (interquartile range, IQR), а категориальные — в виде абсолютных значений и процентов (%). Для оценки динамики изучаемого показателя использовали дисперсионный анализ Фридмана (Friedman ANOVA). Попарные сравнения выполнялись с помощью критериев Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test) и МакНемара (стандартный McNemar's test, 2x2). Сравнение групп проводили с использованием критерия χ^2 (или точного теста Фишера при ожидаемых

частотах менее 5), U-критерия Манна–Уитни (Mann–Whitney U test) или критерия Краскела–Уоллиса (Kruskal–Wallis test). Свобода от исследуемого события представлена на графиках Каплана–Мейера (Kaplan–Meier) как для всей когорты, так и для отдельных групп. Для сравнения кривых выживаемости применялся лог-ранговый тест (Log-rank test). Регрессионный анализ Кокса (Cox regression) использовался для выявления факторов риска развития исследуемого события. Значение $p<0,05$ считалось статистически значимым.

Положения, выносимые на защиту

1. Кальцификация структур графта является основной причиной их дисфункции у педиатрических пациентов и характерна для всех типов кондуитов, однако интенсивность накопления кальциевых депозитов варьирует в исследуемых группах протезов, используемых при реконструкции выходного отдела правого желудочка.

2. Кондуиты, содержащие в структуре диэпокси-обработанный свиной аортальный корень и фиксированный глутаровым альдегидом ксеноперикард, характеризуются наибольшей скоростью дегенеративных изменений, что приводит к ранней дисфункции протеза.

3. Тип имплантированного легочного кондуита не оказывает влияния на структуру и частоту кондуит-обусловленных осложнений, в том числе на заболеваемость протезным инфекционным эндокардитом.

4. Диэпоксид обладает большей реакционной способностью по сравнению с глутаровым альдегидом, что обеспечивает плотную сшивку тканей и позволяет ковалентно связывать различные типы бисфосфонатов.

5. Эффективность модификации ткани бисфосфоновыми кислотами зависит от структуры биоматериала, варианта его базовой обработки и типа иммобилизованного бисфосфоната.

6. Кондуиты из диэпокси-обработанного ксеноперикарда обладают лучшими структурными характеристиками по сравнению с графтами, фиксированными глутаровым альдегидом, однако независимо от типа сшивающего агента и

использования модификации бисфосфонатами, ксеноперикардиальные трансплантаты остаются склонными к кальцификации структур графта.

7. Кондуит из диэпокси-обработанной яремной вены быка с дополнительной обработкой бисфосфонатами является наиболее подходящим протезом для реконструкции выходного отдела правого желудочка за счет меньшей склонности к структурной дегенерации.

Личный вклад автора

Автор принимала активное участие на всех этапах исследования. Самостоятельно осуществляла научный поиск, участвовала в планировании и организации как клинического, так и экспериментального блоков диссертационной работы. В клинической части исследования автор лично проводила отбор пациентов, формировала базу данных и осуществляла проспективный сбор данных в течение всего периода наблюдения. В качестве врача-сердечно-сосудистого хирурга она проводила предоперационную подготовку пациентов, самостоятельно выполняла операции, связанные с протезированием или репротезированием пути оттока из ПЖ в ЛА, а также осуществляла ведение и лечение пациентов в раннем послеоперационном периоде и в периоде наблюдения.

В рамках экспериментального блока исследования автор лично подготавливала биоматериалы: выезжала на скотобойню для забора тканей, очищала их и готовила к консервации. Она также участвовала в подкожной имплантации образцов биоматериалов мелким лабораторным животным. Автор разработала и успешно внедрила методику имплантации лёгочного кондуита мини-свиньям. В качестве оперирующего хирурга она выполняла все экспериментальные операции на крупных лабораторных животных. Она участвовала в послеоперационном наблюдении за экспериментальными животными; совместно со специалистом ультразвуковой диагностики интерпретировала данные ЧП-ЭХОКГ. По окончании периода наблюдения автор эксплантировала кондуиты, совместно с гистологом готовила образцы и принимала участие в интерпретации результатов микроскопического исследования.

Автор лично представила полученные результаты в виде докладов на крупнейших российских и международных конгрессах и съездах, демонстрируя высокий уровень профессионализма и глубокое понимание темы исследования. Автор самостоятельно, а также в составе авторского коллектива подготовила и опубликовала результаты диссертационной работы в высокорейтинговых журналах.

Степень достоверности и апробация результатов

Все оригинальные клинические и экспериментальные исследования, включённые в структуру диссертационной работы, были отобраны на конкурсной основе организационными комитетами Межрегионального общества детских кардиохирургов и специалистов по врождённым порокам сердца, Европейской Ассоциации кардиоторакальной хирургии (EACTS) и Всемирного общества детской и врождённой хирургии сердца (WSPCHS) для представления в виде докладов на аффилированных конгрессах. Данная работа получила высокую международную оценку — автор была удостоена премии Young Investigator’s Award 2017 Европейской Ассоциации кардиоторакальной хирургии. Кроме того, различные части диссертационного исследования получили грантовую поддержку и положительную оценку экспертов (РНФ, Грант Президента РФ), что подтверждает высокий уровень проведённой научной работы. Каждое из исследований, выполненных в рамках диссертации, получило положительные отзывы как минимум трёх экспертов в соответствующей области, а также одобрение профессиональных биостатистов по результатам оценки применённых методов статистической обработки данных. Исследования прошли проверку на оригинальность, соответствие биоэтическим нормам, корректность заимствований и цитирования, после чего были допущены к публикации в ведущих международных журналах с рейтингом Q1-Q2.

Высокий методологический уровень работы, применение высокоточных методов исследования и современных подходов углублённого статистического анализа, а также признание ведущих научных сообществ и рейтинговых изданий подтверждают обоснованность полученных выводов и сформулированных в диссертационной работе практических рекомендаций.

Результаты диссертационной работы были представлены автором на ведущих российских и международных научных конференциях и съездах: the 31st EACTS Annual Meeting (Vienna, Austria, 2017); the 32st EACTS Annual Meeting (Milan, Italy, 2018); 7th Meeting of World Society for Pediatric and Congenital Heart Surgery (Marrakech, Morocco, 2022); Второй Всероссийский съезд детских кардиохирургов и специалистов по врождённым порокам сердца (Волгоград, Россия, 2023); XXV Московский Международный Конгресс по рентгенэндоваскулярной хирургии – МРК Россия 2023 (Москва, Россия, 2023); 9th Scientific Meeting and World Summit for Pediatric and Congenital Heart Surgery (Bologna, Italy, 2024); Третий Всероссийский съезд детских кардиохирургов и специалистов по врождённым порокам сердца (Казань, Россия, 2024); VIII Петербургский Медицинский Инновационный Форум (Санкт-Петербург, Россия, 2025); 25th Annual Conference Pediatric Cardiac Society of India (Mumbai, India, 2025); Четвертый Всероссийский съезд детских кардиохирургов и специалистов по врожденным порокам сердца (Самара, Россия, 2025); 9th World Congress of Paediatric Cardiology and Cardiac Surgery (Hong Kong, SAR China, 2025).

Основное содержание работы

Диссертационная работа изложена на 309 страницах машинописного текста. Указатель литературы включает 447 источников, в том числе отечественные и зарубежные публикации, а также международные и российские нормативные документы. Работа содержит 15 таблиц и 67 рисунков, иллюстрирующих основные результаты проведённого исследования.

Анализ клинического применения лёгочных клапаносодержащих кондуитов в педиатрической популяции

Проведено когортное ретроспективное исследование результатов имплантации клапаносодержащих кондуитов для протезирования пути оттока из ПЖ в ЛА у пациентов педиатрической группы с ВПС. В исследование включено 403 пациента в возрасте от 0 до 18 лет, которым была выполнена реконструкция пути оттока из ПЖ с использованием клапаносодержащего кондуита в ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е.Н.

Мешалкина» Минздрава России. В исследование включены все последовательные пациенты, соответствовавшие критериям включения и оперированные с января 2000 по декабрь 2016 года (Рисунок 2). Все отобранные случаи были включены в проспективно поддерживаемую базу данных. Пациенты, не соответствовавшие критериям включения, были исключены из данного исследования на этапе первичной обработки данных.

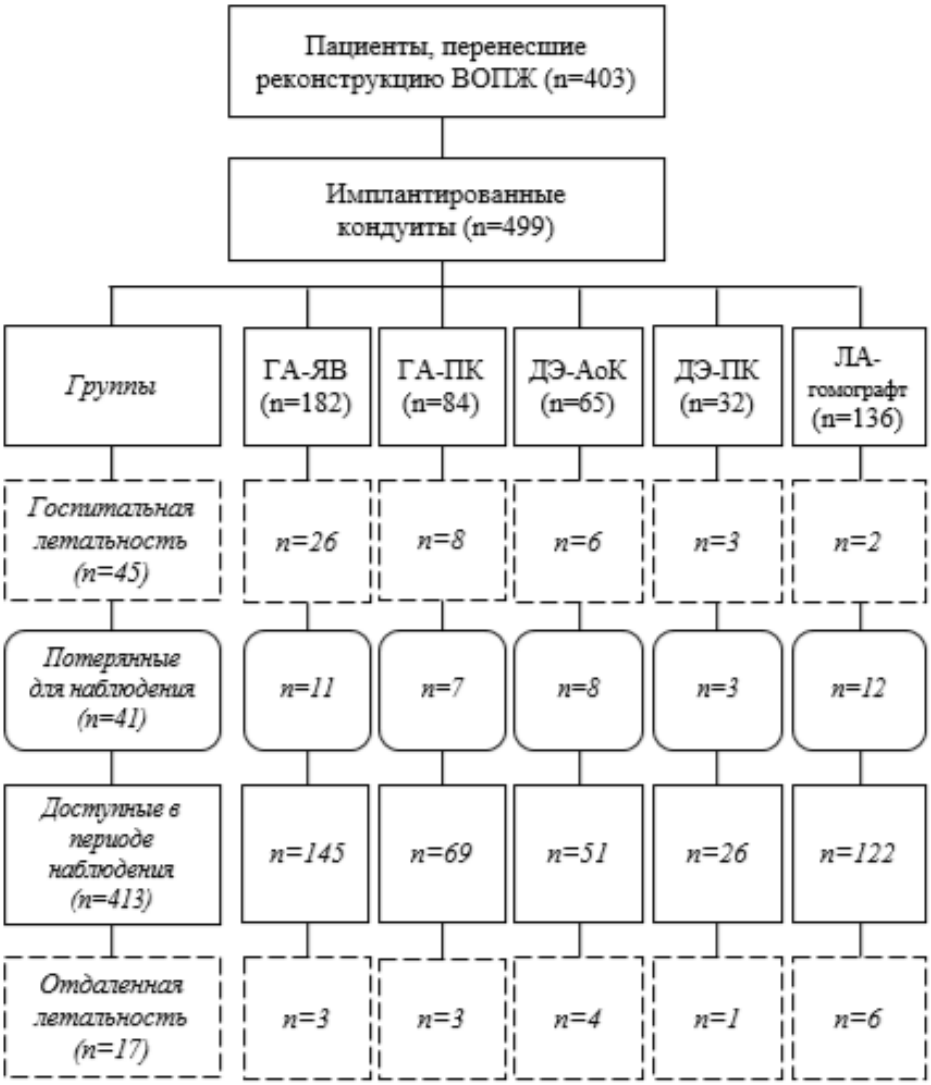


Рисунок 2 – Дизайн исследования

Критериями включения в исследование явились:

• Пациенты с ВПС, которым требовалась реконструкция выходного отдела правого желудочка (ВОПЖ);

• Педиатрическая группа пациентов (возраст от 0 до 18 лет);

• Протезирование/репротезирование пути оттока из ПЖ в ЛА клапаносодержащим графтом;

• Имплантированы лёгочных гомографты/аллографты и клапаносодержащие ксенокондуиты из бычьего перикарда (ПК), бычьей яремной вены (ЯВ), свиного аортального корня (АоК), зарегистрированные и используемые на территории РФ;

• Оперативное вмешательство выполнено в период с 01.01.2000 по 31.12.2016.

Критериями невключения явились:

• Пациенты с ВПС, возраст которых на момент протезирования/репротезирования ВОПЖ был старше 18 лет;

• Оперативное вмешательство по поводу реконструкции ВОПЖ выполнено ранее 2000 г. или позже 2016 г.;

• Реконструкция пути оттока из ПЖ с использованием трансаннулярной пластики ВОПЖ и ствола ЛА тканями кондуита (с/без створчатого аппарата);

• Протезирование пути оттока в ЛА синтетическим клапаносодержащим протезом.

Период наблюдения составил от 2,5 недель до 19,4 лет (Me 7,32 года, IQR 4,3–10,1 лет). Общая свобода от кондуит-ассоциированного летального исхода составила 87,66% (95% ДИ 84,22–90,39%) и 84,18% (95% ДИ 80,95–88,53%) в 5- и 10-летние периоды наблюдения соответственно. Свобода от кондуит-обусловленного летального исхода в зависимости от типа имплантированного графта достоверно не различалась между группами (p=0,072). В общей сложности в раннем и отдалённом послеоперационных периодах у 48 пациентов были диагностированы кондуит-обусловленные осложнения (9,6%). На рисунке 3 представлено распределение кондуит-обусловленных осложнений в исследуемых группах.

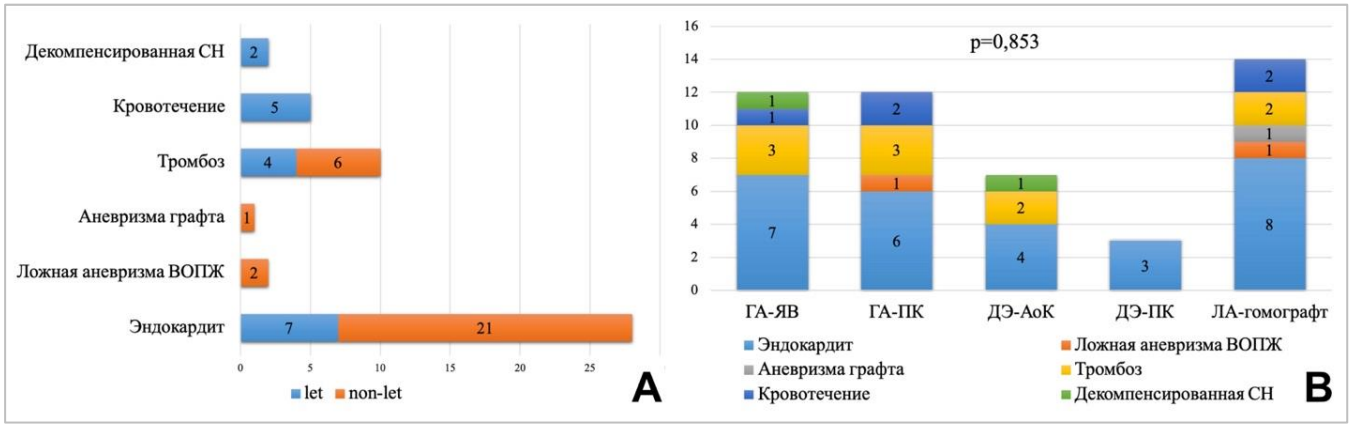


Рисунок 3 – Кондуит-обусловленные осложнения в послеоперационном периоде: А – структура осложнений; В – распределение осложнений в группах

Не было выявлено достоверных различий по структуре и частоте встречаемости осложнений между группами (p=0,853).

В течение исследуемого периода в 221 случае потребовалась 1 или более повторных вмешательств на имплантированных графтах. Общая свобода от реинтервенций составила79,55% (95% ДИ 75,11-83,29%) и 43,36% (95% ДИ 37,70-48,89%) в течение 5- и 10-летнего периодов наблюдения соответственно (Рисунок 4А).

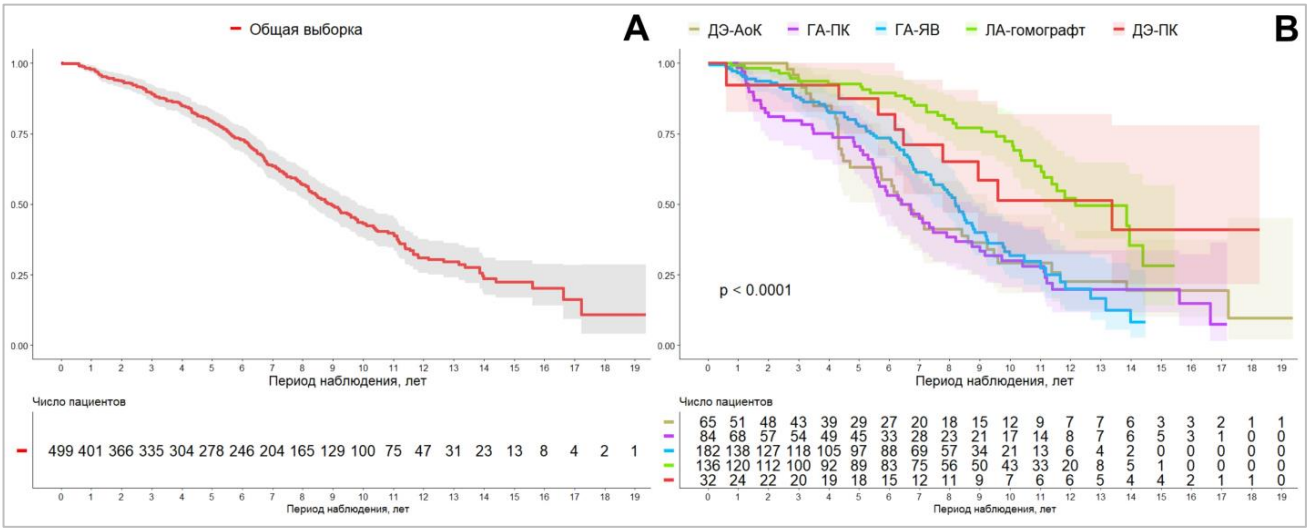


Рисунок 4 – Свобода от реинтервенций на графте в периоде наблюдения:
А – свобода от реинтервенций в исследуемой когорте; В – свобода от реинтервенций на кондуите в группах

При проведении однофакторного регрессионного анализа риск реинтервенций на графте увеличивался в более молодом возрасте, при малом весе пациента, использовании малых размеров протезов, при выполнении сложных реконструктивных оперативных вмешательств, а также при имплантации графта в экстра-анатомическую позицию. Имплантация кондуитов несоответственно большого размера (Z-score кондуита>2) увеличивала риск ранних реинтервенций в периоде наблюдения. Тип кондуита также был предиктором более раннего повторного вмешательства на графте. В многофакторной регрессионной модели только более младший возраст пациента на момент операции и тип кондуита достоверно увеличивали риск ранних реинтервенций (Таблица 1).

Таблица 1 – Анализ предикторов повторного вмешательства на кондуите

Предиктор	**Однофакторный анализ**		**Многофакторный анализ**	
	ОР (95% ДИ)	**p**	**ОР (95% ДИ)**	**p**
Пол, мужской/женский	0,86 (0,65-1,16)	0,322	0,83 (0,61-1,12)	0,212
Возраст на момент имплантации кондуита, мес.	0,99 (0,99-0,99)	<0,001	0,99 (0,98-0,99)	0,003
Вес на момент имплантации кондуита, кг	0,98 (0,97-0,98)	<0,001	1,00 (0,98-1,02)	0,802
Диагноз	0,97 (0,91-1,02)	0,209	0,98 (0,90-1,06)	0,615
STAT-категория процедуры	1,22 (1,08-1,38)	0,001	1,04 (0,85-1,27)	0,704
Первичная/повторная имплантация графта	0,79 (0,58-1,07)	0,125	1,11 (0,70-1,76)	0,645
Анатомическая/экстра-анатомическая позиция имплантированного кондуита	1,36 (1,03-1,80)	0,032	0,92 (0,63-1,34)	0,660
D кондуита, мм	0,93 (0,90-0,96)	<0,001	1,06 (0,98-1,14)	0,141
Z-score кондуита	1,27 (1,12-1,43)	<0,001	0,90 (0,73-1,11)	0,330
Тип кондуита	0,80 (0,73-0,87)	<0,001	0,89 (0,80-0,99)	0,041
ЛА-гомографт	Рефер. значение		Рефер. значение	
ГА-ЯВ	2,31 (1,62-3,28)	<0,001	1,44 (0,90-2,29)*	0,127*
ГА-ПК	2,48 (1,72-3,57)	<0,001	2,29 (1,48-3,52)*	<0,001*
ДЭ-АоК	2,15 (1,46-3,16)	<0,001	2,56 (1,58-4,14)*	<0,001*
ДЭ-ПК	1,17 (0,69-1,97)	0,560	1,13 (0,61-2,10)*	0,706*

Примечание: D, диаметр; ГА-ПК, глутаральдегид-обработанный клапаносодержащий ксеноперикардиальный кондуит; ГА-ЯВ, глутаральдегид-обработанная бычья яремная вена; ДИ, доверительный интервал; ДЭ-АоК, диэпокси-обработанный свиной аортальный корень; ДЭ-ПК, диэпокси-обработанный клапаносодержащий ксеноперикардиальный кондуит; ЛА, легочная артерия; ОР, отношение риска. * – с учетом поправки на кофакторы.

Наибольшая свобода от реинтервенций выявлена в группе ЛА-гомографтов (Рисунок 4В). Пяти- и 10-летняя свобода от повторного вмешательства для данной группы составила 92,86% (95% ДИ 86,21-96,37%) и 72,40% (95% ДИ 61,20-80,87%) соответственно. В группе ГА-ЯВ этот показатель составил 77,96% (95% ДИ 69,95-84,08%) и 32,25% (95% ДИ 23,21-41,61%) в тех же временных интервалах. Для ДЭ-ПК 5- и 10-летняя свобода от повторного вмешательства на кондуите была 88,20% (95% ДИ 67,12-96,12%) и 52,37% (95% ДИ 27,16-72,54%) соответственно. При сравнении разных вариантов графтов с поправкой на кофакторы (пол, возраст и вес на момент имплантации, диагноз, STAT-категория оперативного вмешательства,

анатомическая/экстра-анатомическая позиция кондуита, его размер и Z-score, первичная имплантация/замена графта) ГА-ЯВ и ДЭ-ПК показали сопоставимые результаты с ЛА-гомографтами (Таблица 1). В то же время ГА-ПК и ДЭ-АоК продемонстрировали достоверно более высокий риск реинтервенций в периоде наблюдения. Самая низкая свобода от реинтервенций выявлена в группе ДЭ-АоК. В этой группе 5-летняя свобода от повторных вмешательств составила 63,14% (95% ДИ 47,56-75,23%), 10-летняя свобода от реинтервенций была лишь 29,00% (95% ДИ 16,53-42,68%). Риск реинтервенций в группе ДЭ-АоК был более чем в 2,5 раза выше по сравнению с ЛА-гомографтами. Так для ГА-ПК риск повторного оперативного вмешательства на кондуите был в 2 раза выше, чем в группе ЛА-гомографтов. В группе ГА-ПК свобода от реинтервенций составила 70,36% (95% ДИ 58,21-79,97%) и 30,05% (95% ДИ 19,21-41,63%) через 5 и 10 лет после имплантации соответственно.

Наиболее распространённой причиной повторного вмешательства был стеноз графта (84,2%). Несмотря на то, что распределение причин дисфункции было различным для исследуемых типов кондуитов ($p<0,001$), кальцификация стенки и створок графтов встречалась во всех группах (Рисунок 5) и являлась ведущим патологическим механизмом нарушения функции протеза (67,0%).

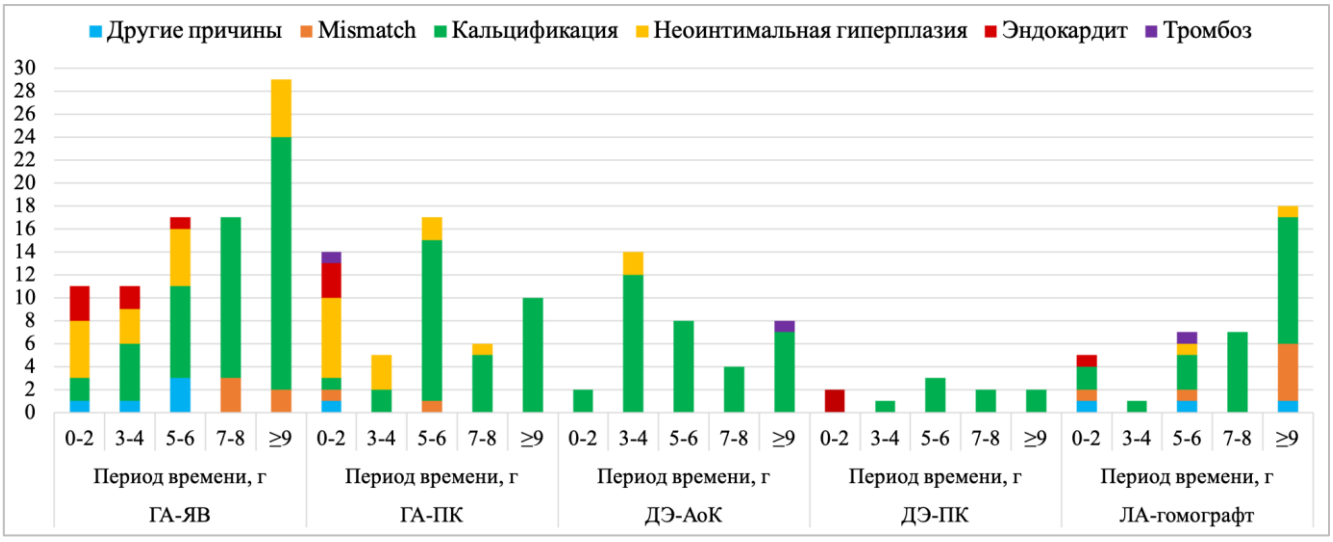


Рисунок 5 – Причины дисфункции имплантированных графтов по годам. Mismatch, несоответствие размеров протез-пациент

Общая свобода от реинтервенций по причине кальцификации графта составила 84,70% [95% ДИ 80,28-88,20%] и 51,95% [95% ДИ 45,30-58,10%] через 5 и 10 лет после имплантации кондуита (Рисунок 6А). Пяти- и десяти-летняя свобода от дисфункции

кондуита, вызванной минерализацией его структур, составила: для группы ЛА-гомографт – 95,13% [95% ДИ 88,59-97,96%] и 74,01% [95% ДИ 61,12-83,20%]; для ГА-ЯВ – 89,16% [95% ДИ 82,00-93,59%] и 45,61% [95% ДИ 32,28-57,11%]; для ДЭ-ПК – 89,16% [95% ДИ 63,15-97,18%] и 56,25% [95% ДИ 28,91-76,59%] соответственно (Рисунок 6В).

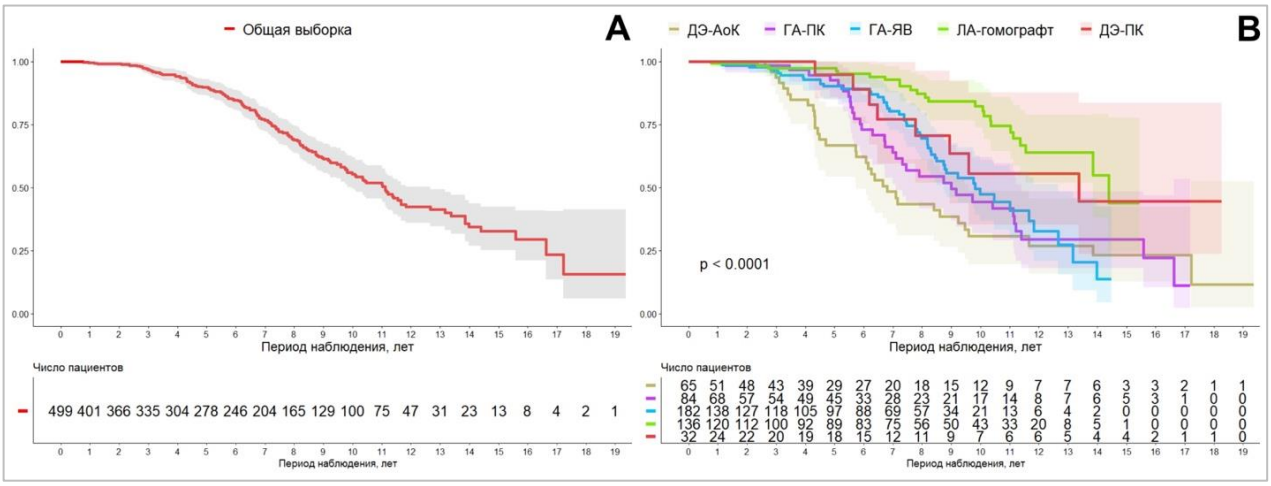


Рисунок 6 – Свобода от дисфункции кондуита по причине кальцификации в периоде наблюдения: А – свобода от дисфункции графта по причине кальцификации в исследуемой когорте; В – свобода от дисфункции графта по причине кальцификации в группах

При сравнении разных вариантов графтов с поправкой на кофакторы (пол, возраст и вес на момент имплантации, диагноз, STAT-категория оперативного вмешательства, анатомическая/экстра-анатомическая позиция кондуита, его размер и Z-score, первичная имплантация/замена графта) ГА-ЯВ и ДЭ-ПК показали схожие результаты с группой ЛА-гомографтами (Таблица 2).

Таблица 2 – Анализ факторов риска дисфункции кондуита по причине его кальцификации и неоинтимальной гиперплазии

Предиктор	**Однофакторный анализ**		**Многофакторный анализ**	
	ОР (95% ДИ)	**p**	**ОР (95% ДИ)**	**p**
Кальцификация кондуита				
Пол, мужской/женский	0,67 (0,46-0,91)	0,038	0,66 (0,45-0,97)	0,034
Возраст на момент имплантации кондуита, мес.	0,99 (0,99-0,99)	<0,001	0,99 (0,98-0,99)	0,002
Вес на момент имплантации кондуита, кг	0,98 (0,97-0,99)	<0,001	1,00 (0,98-1,03)	0,823
Диагноз	0,96 (0,90-1,03)	0,236	0,94 (0,85-1,04)	0,207

Предиктор	Однофакторный анализ		Многофакторный анализ	
	ОР (95% ДИ)	**p**	**ОР (95% ДИ)**	**p**
STAT-категория процедуры	1,23 (1,06-1,43)	0,006	1,10 (0,86-1,41)	0,439
Первичная/повторная имплантация графта	0,91 (0,63-1,30)	0,597	1,59 (0,90-2,83)	0,110
Анатомическая/экстра-анатомическая позиция имплантированного кондуита	1,37 (0,98-1,93)	0,068	0,89 (0,57-1,41)	0,631
D кондуита, мм	0,94 (0,91-0,97)	<0,001	1,09 (0,99-1,19)	0,079
Z-score кондуита	1,4 (1,22-1,64)	<0,001	0,97 (0,74-1,27)	0,812
Тип кондуита	0,82 (0,74-0,91)	<0,001	0,93 (0,81-1,06)	0,264
ЛА-гомографт	Рефер. значение		Рефер. значение	
ГА-ЯВ	2,24 (1,46-3,44)	<0,001	1,42 (0,81-2,49)*	0,221*
ГА-ПК	2,36 (1,51-3,68)	<0,001	1,95 (1,15-3,28)*	0,013*
ДЭ-АоК	3,09 (1,97-4,86)	<0,001	4,47 (2,52-7,95)*	<0,001*
ДЭ-ПК	1,29 (0,70-2,37)	0,409	1,52 (0,73-3,17)*	0,260*
Неоинтимальная гиперплазия				
Пол, мужской/женский	1,50 (0,76-2,96)	0,238	1,29 (0,63-2,62)	0,485
Возраст на момент имплантации кондуита, мес.	0,99 (0,98-0,99)	<0,001	0,99 (0,97-1,01)	0,189
Вес на момент имплантации кондуита, кг	0,97 (0,94-0,99)	0,005	1,02 (0,97-1,08)	0,424
Диагноз	0,97 (0,84-1,11)	0,664	1,08 (0,88-1,31)	0,467
STAT-категория процедуры	1,32 (0,99-1,78)	0,063	0,85 (0,51-1,41)	0,536
Первичная/повторная имплантация графта	0,34 (0,12-0,99)	0,047	0,39 (0,10-1,46)	0,162
Анатомическая/экстра-анатомическая позиция имплантированного кондуита	1,66 (0,78-3,51)	0,189	0,86 (0,32-2,27)	0,758
D кондуита, мм	0,87 (0,80-0,94)	<0,001	1,02 (0,84-1,23)	0,853
Z-score кондуита	1,30 (0,95-1,78)	0,095	0,96 (0,60-1,56)	0,881
Тип кондуита	0,59 (0,45-0,79)	<0,001	0,69 (0,47-1,00)	0,054
ЛА-гомографт	Рефер. значение		Рефер. значение	
ГА-ЯВ	4,80 (1,76-13,06)	0,002	1,63 (0,41-6,47)*	0,491*
ГА-ПК	6,26 (2,55-15,37)	<0,001	11,07 (3,60-37,99)*	<0,001*
ДЭ-АоК	1,53 (0,54-4,32)	0,422	1,47 (0,34-6,28)*	0,604*
ДЭ-ПК	0,99 (0,23-4,30)	0,993	0,59 (0,06-5,06)*	0,594*

Примечание: D, диаметр; ГА-ПК, глутаральдегид-обработанный клапаносодержащий ксеноперикардиальный кондуит; ГА-ЯВ, глутаральдегид-обработанная бычья яремная вена; ДИ,

доверительный интервал; ДЭ-АоК, диэпокси-обработанный свиной аортальный корень; ДЭ-ПК, диэпокси-обработанный клапаносодержащий ксеноперикардиальный кондуит; ЛА, легочная артерия; ОР, отношение риска. * – с учетом поправки на кофакторы.

В тоже время ГА-ПК и ДЭ-АоК продемонстрировали достоверно более высокий риск повторного оперативного вмешательства по причине кальцификации кондуита (Таблица 2). В группе ДЭ-АоК риск кальцификации ксенографта, потребовавшей реинтервенций, был почти в 4,5 раза выше по сравнению с ЛА-гомографтами. В этой группе свобода от дисфункции кондуита, вызванной его кальцификацией, была наименьшей (Рисунок 6В) и составила 62,41% [95% ДИ 46,63-74,73%] и 30,79% [95% ДИ 17,65-44,93%] через 5 и 10 лет после имплантации. В группе ГА-ПК риск повторного оперативного вмешательства из-за минерализации протеза был на 95% выше по сравнению с референтной группой. Для данной группы ксенографтов 5- и 10-летняя свобода от развития дисфункции по причине кальцификации структур кондуита составила 73,36% [95% ДИ 58,48-83,62%] и 42,04% [95% ДИ 27,15-56,22%] соответственно.

Общая свобода от реинтервенций по причине неоинтимальной пролиферации составила 91,57% [95% ДИ 88,05-94,09%] и 88,36% [95% ДИ 83,82-91,69%] в течение 5- и 10-летнего периодов наблюдения. Неоинтимальная гиперплазия приводила преимущественно к развитию дистального стеноза на графте ($p<0,001$) и достоверно чаще встречалась в группах ГА-обработанных ксенокондуитов. При сравнении разных групп с поправкой на кофакторы (пол, возраст и все на момент имплантации, диагноз, STAT-категория оперативного вмешательства, анатомическая/экстра-анатомическая позиция кондуита, его размер и Z-score, первичная имплантация/замена графта) риск дисфункции протеза из-за гиперплазии неоинтимы для ГА-ПК был в 11 раз выше по сравнению с референтной группой (Таблица 2). В этой группе 5- и 10-летняя свобода от реинтервенций из-за неоинтимальной гиперплазии была 79,81% [95% ДИ 66,96-88,09%] и 76,26% [95% ДИ 61,60-85,94%] соответственно. Для ГА-ЯВ кондуитов данный показатель был ниже, чем в референтной группе, и составил 89,37% [95% ДИ 82,27-93,74%] и 81,15% [95% ДИ 69,90-88,52%] через 5 и 10 лет после имплантации. Однако при учёте поправки на кофакторы, достоверной разницы между группами ГА-ЯВ и ЛА-гомографт получено

не было (p=0,491). В тоже время ДЭ-АоК и ДЭ-ПК продемонстрировали схожие результаты с ЛА-гомографтами. В этих группах 5- и 10-летняя свобода от дисфункции кондуита за счёт гиперплазии неоинтимы составила: для группы ЛА-гомографт – 98,03% [95% ДИ 92,36-99,51%] в обоих временных промежутках; для ДЭ-АоК – 94,29% [95% ДИ 79,03-98,54%] в обоих временных промежутках; для ДЭ-ПК – 100%.

В исследуемой когорте инфекционный эндокардит кондуита был выявлен в 28 случаях (5,6%) в интервале от 2 дней до 14 лет после имплантации (Me 11 мес.; IQR 0,5 мес. – 4 года). Общая летальность от инфекционного эндокардита в исследуемой когорте составила 25,0% (n=7). Общая свобода от развития протезного инфекционного эндокардита в исследуемой когорте в течение 5- и 10-летнего периодов наблюдения составила 93,69% [95% ДИ 90,63-95,78%] и 91,71% [95% ДИ 87,54-94,52%] соответственно (Рисунок 7А). Межгрупповая оценка свободы от инфекционного эндокардита легочного кондуита (Рисунок 7В) не выявила различий среди анализируемых клапаносодержащих графтов (p=0,71).

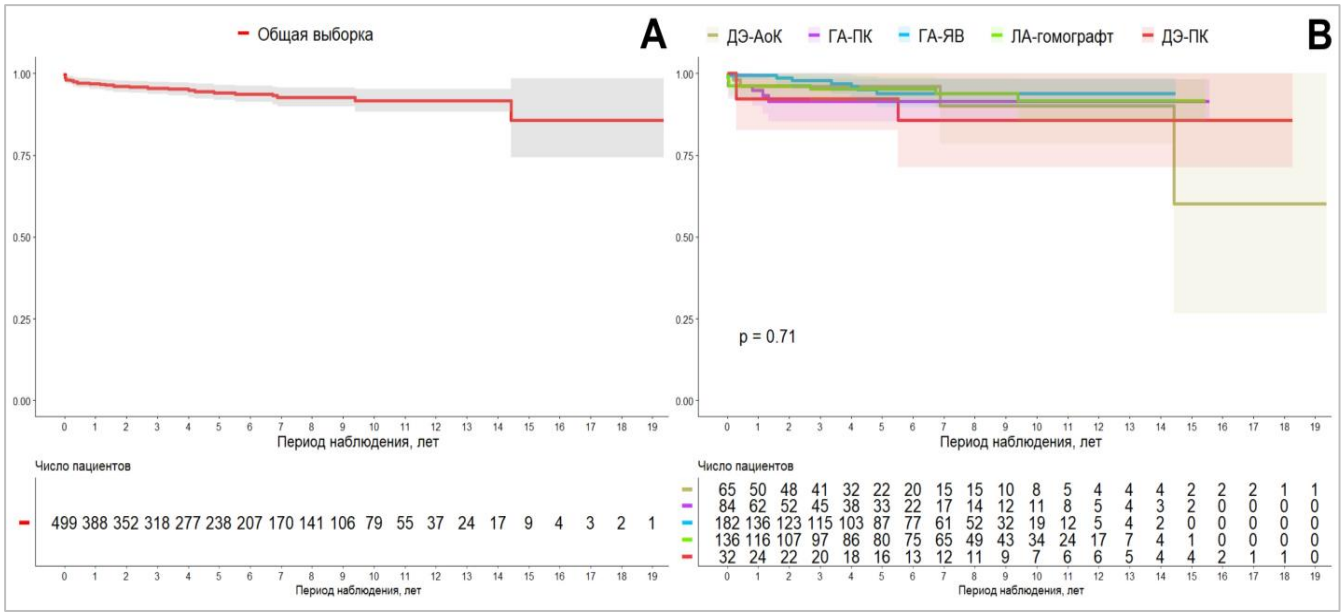


Рисунок 7 – Свобода от развития протезного инфекционного эндокардита в периоде наблюдения: А – свобода от развития протезного эндокардита в исследуемой когорте; В – свобода от развития протезного эндокардита в группах

Однофакторный регрессионный анализ предикторов развития инфекционного эндокардита показал статистически достоверное влияние возраста и веса на момент имплантации, а также размера графта. Однако в многофакторной модели эти

параметры не имели статистически значимой связи с частотой эндокардита легочного графта (Таблица 3).

Таблица 3 – Анализ предикторов развития протезного инфекционного эндокардита

Предиктор	**Однофакторный анализ**		**Многофакторный анализ**	
	ОР (95% ДИ)	**p**	**ОР (95% ДИ)**	**p**
Пол, мужской/женский	1,23 (0,57-2,67)	0,600	1,38 (0,62-3,09)	0,432
Вес на момент имплантации кондуита, кг	1,02 (1,00-1,04)	0,022	0,99 (0,95-1,04)	0,927
Возраст на момент имплантации кондуита, мес.	1,01 (1,00-1,01)	0,006	1,01 (0,99-1,03)	0,064
Диагноз	1,01 (0,86-1,18)	0,907	0,98 (0,76-1,26)	0,880
STAT-категория процедуры	0,85 (0,59-1,23)	0,394	0,83 (0,44-1,58)	0,578
Первичная/повторная имплантация графта	0,96 (0,41-2,25)	0,916	0,58 (0,17-1,95)	0,377
Анатомическая/экстра-анатомическая позиция имплантированного кондуита	0,88 (0,42-1,86)	0,737	2,58 (0,73-9,06)	0,139
D кондуита, мм	1,12 (1,03-1,23)	0,009	1,06 (0,87-1,29)	0,559
Z-score кондуита	0,97 (0,69-1,37)	0,882	1,46 (0,85-2,51)	0,175
Тип кондуита	1,07 (0,86-1,33)	0,566	0,77 (0,55-1,07)	0,115

Примечание: D, диаметр; ДИ, доверительный интервал; ОР, отношение риска.

Исследование in vitro взаимодействия консервантов с биоматериалом

В изучаемых ПК-образцах консервация биоматериала эпоксидным соединением изменяла содержание свободных Tyr, OHLys, Lys и His в сравнении с нативными тканями (Таблица 4). Данные аминокислоты активно реагировали с 5% раствором диэпоксида, что отражается в значимом снижении их уровня в ДЭ-консервированных образцах ПК-лоскута. Кроме того, было выявлено достоверное снижение уровня Phe, Ser и Arg в ДЭ-фиксированном ксеноперикарде.

Таблица 4 – Содержание аминокислот на 1000 аминокислотных остатков в нативном и ДЭ-фиксированном ксеноперикарде

Аминокислота	**Нативные образцы**	**ДЭ-образцы**	
	Me (IQR)		**p**
Ala	107,0 (105,7-113,9)	117,5 (117,2-117,7)	0,013
Arg*	48,2 (46,3-48,7)	33,4 (33,2-33,5)	<0,001
Asp	44,4 (44,1-44,9)	47,4 (47,0-47,5)	0,005

Аминокислота	Нативные образцы	ДЭ-образцы	p
	Me (IQR)		
Glu	72,3 (71,4-73,2)	77,3 (74,8-77,6)	0,005
Gly	310,3 (303,8-315,7)	349,7 (349,2-349,8)	0,005
His *	6,6 (6,5-6,6)	0,3 (0,3-0,3)	<0,001
Ile	13,9 (13,6-14,5)	15,3 (15,2-15,3)	0,005
Leu	32,7 (32,0-33,8)	32,4 (31,8-32,8)	0,022
Lys *	24,8 (24,5-25,3)	0,3 (0,2-0,5)	<0,001
Met	4,7 (4,7-4,9)	5,0 (4,9-5,0)	0,005
OHLys *	9,3 (8,9-10,1)	0,8 (0,7-0,8)	<0,001
OHPro	117,9 (113,5-119,1)	116,6 (115,9-117,7)	0,799
Phe *	16,7 (16,3-17,4)	13,1 (13,0-13,2)	<0,001
Pro	110,7 (108,2-112,2)	116,8 (114,3-117,4)	0,005
Ser *	30,3 (29,0-30,4)	27,6 (27,4-27,7)	<0,001
Thr	18,2 (18,2-18,2)	18,4 (18,2-18,5)	0,036
Tyr *	6,9 (6,8-7,2)	0,5 (0,4-0,5)	<0,001
Val	25,6 (25,5-28,2)	27,6 (26,5-27,6)	0,169

Примечание: Ala, аланин; Arg, аргинин; Asp, аспарагиновая кислота; Glu, глутаминовая кислота; Gly, глицин; His, гистидин; Ile, изолейцин; Leu, лейцин; Lys, лизин; Met, метионин; OHLys, гидроксилизин; OHPro, гидроксипролин; Phe, фенилаланин; Pro, пролин; Ser, серин; Thr, треонин; Tyr, тирозин; Val, валин; * – аминокислоты, содержание которых значимо убывало после консервации диэпоксидом.

Как ДЭ, так и ГА реагировали с аминокислотами, имеющими боковые первичные аминогруппы (Lys и OHLys) или имидазольное кольцо (His) (Таблица 5).

Таблица 5 – Содержание аминокислот на 1000 аминокислотных остатков в нативных и фиксированных образцах Ао-корня

Аминокислота	Нативные образцы	ГА-образцы	p*	ДЭ-образцы	p#
	Me (IQR)	Me (IQR)		Me (IQR)	
Glu	65,3 (63,8-66,5)	63,3 (59,7-68,3)	0,72	58,2 (56,9-59,4)	0,016
His	7,5 (7,4-7,9)	5,9 (5,0-6,6)	0,014	0,3 (0-0,3)	0,002
Lys	25,1 (24,8-25,3)	4,4 (4,2-5,6)	0,008	0,5 (0,5-0,6)	0,005
Met	6,6 (6,4-6,8)	6,1 (5,3-6,9)	0,44	1,9 (1,7-2,0)	0,014
OHLys	3,7 (3,6-4,0)	2,1 (2,0-2,2)	0,018	0	0,009
Ser	28,4 (28,3-28,5)	27,0 (25,5-29,2)	0,76	25,0 (24,7-25,2)	0,025
Tyr	18,3 (18,0-18,8)	17,6 (17,3-18,4)	0,15	0,2 (0,1-0,5)	0,006

Примечание: Glu, глутаминовая кислота; His, гистидин; Lys, лизин; Met, метионин; OHLys, гидроксилизин; Ser, серин; Tyr, тирозин. Сравнение содержания аминокислот между нативными и ГА-обработанными образцами – p*; между нативными и ДЭ-обработанными образцами – p#.

Будучи более реактивным, чем ГА, диэпоксид также связывался со слабонуклеофильными боковыми группами Ser и Tyr (группы -OH) и Met (-S-CH_3). Кроме того, при ДЭ-обработке эластин-содержащих тканей снижалось определяемое содержание Glu (Таблица 5, Таблица 6).

Таблица 6 – Содержание аминокислот на 1000 аминокислотных остатков в нативных и фиксированных образцах ЯВ-стенки

Аминокислота	**Нативные образцы**	**ГА-образцы**		**ДЭ-образцы**	
	Me (IQR)	Me (IQR)	**p***	Me (IQR)	**p#**
Glu	60,7 (59,8-60,7)	59,0 (57,8-61,0)	0,83	50,4 (49,3-52,6)	0,012
His	5,3 (5,2-5,3)	4,1 (3,8-4,2)	0,12	0,6 (0,6-0,6)	0,011
Lys	22,2 (21,8-22,6)	5,0 (5,0-5,2)	0,012	0,5 (0,3-0,6)	0,003
Met	4,2 (3,9-4,3)	4,3 (4,2-4,8)	0,88	2,6 (2,6-2,7)	0,012
OHLys	5,8 (5,7-5,9)	1,6 (1,5-1,6)	0,012	0	0,008
Ser	27,6 (27,5-28,4)	27,0 (26,9-27,6)	0,16	23,8 (23,4-24,0)	0,012
Tyr	6,8 (6,7-7,0)	6,8 (6,7-6,9)	0,95	0	0,007

Примечание: Glu, глутаминовая кислота; His, гистидин; Lys, лизин; Met, метионин; OHLys, гидроксилизин; Ser, серин; Tyr, тирозин. Сравнение содержания аминокислот между нативными и ГА-обработанными образцами – p*; между нативными и ДЭ-обработанными образцами – p#.

Исследование взаимодействия Бф типа 1 с консервантами выявило, что Пам связывается с ГА посредством образования иминогрупп, тогда как с ДЭ взаимодействие происходит через раскрытие оксиранового кольца. Аналогичный механизм связывания с диэпоксидом был установлен и для CEABA (Рисунок 8).

Предполагается, что Бф типов 1 и 2 расщепляют оксирановое кольцо ДЭ посредством нуклеофильной атаки первичных и вторичных аминогрупп. В тоже время, ГА, по-видимому, не взаимодействует с вторичной аминогруппой CEABA, что подтверждается отсутствием изменений в ЯМР-спектрах.

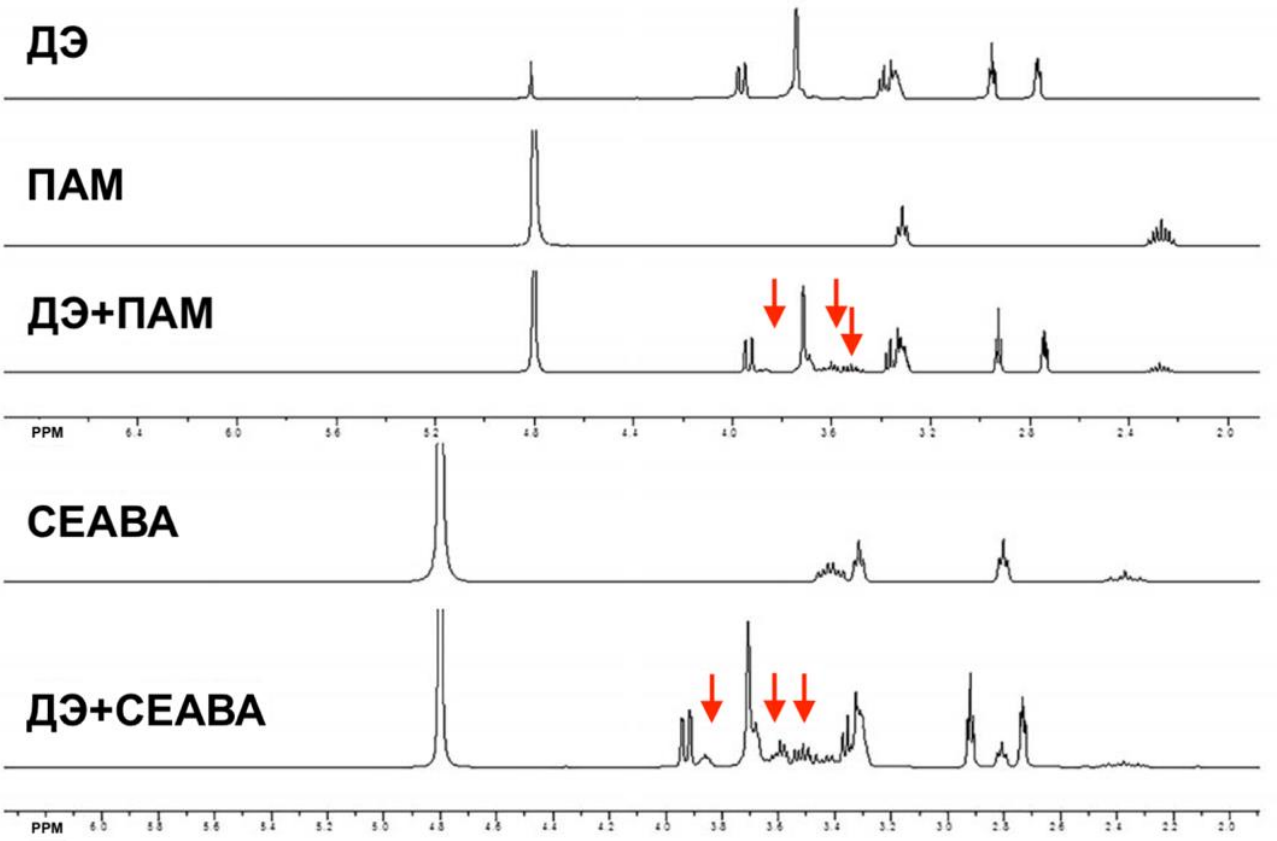


Рисунок 8 – Спектры ^{1}H ЯМР консерванта ДЭ, бисфосфонатов Пам и СЕАВА и инкубированных смесей ДЭ + Пам и ДЭ + СЕАВА. Сигналы продуктов реакции указаны красными стрелками

Результаты анализа методом атомно-эмиссионной спектрометрии и ИК - спектроскопии подтвердили присутствие Пам и СЕАВА в фиксированных образцах ПК-лоскута, ЯВ-стенки и Ао-корня (Рисунок 9).

При этом интенсивность полос колебаний, соответствующих Бф, была выше во всех биоматериалах, модифицированных Пам. Фиксированный ПК-лоскут связывает бисфосфонаты преимущественно за счёт образования ковалентных связей с маскирующими группами сшивающего агента, тогда как взаимодействие Бф с аминогруппами субстрата является нетипичным для данного биоматериала. В эластин-содержащих тканях (ЯВ-стенка, Ао-корень) наблюдалось явное связывание Бф с аминогруппами субстратов независимо от типа обработки. Кроме того, полученные данные свидетельствуют о том, что Бф типов 1 и 2 связываются с фиксированными тканями Ао-корня и ЯВ-стенки преимущественно нековалентно, в основном за счёт взаимодействий Ван дер Ваальса.

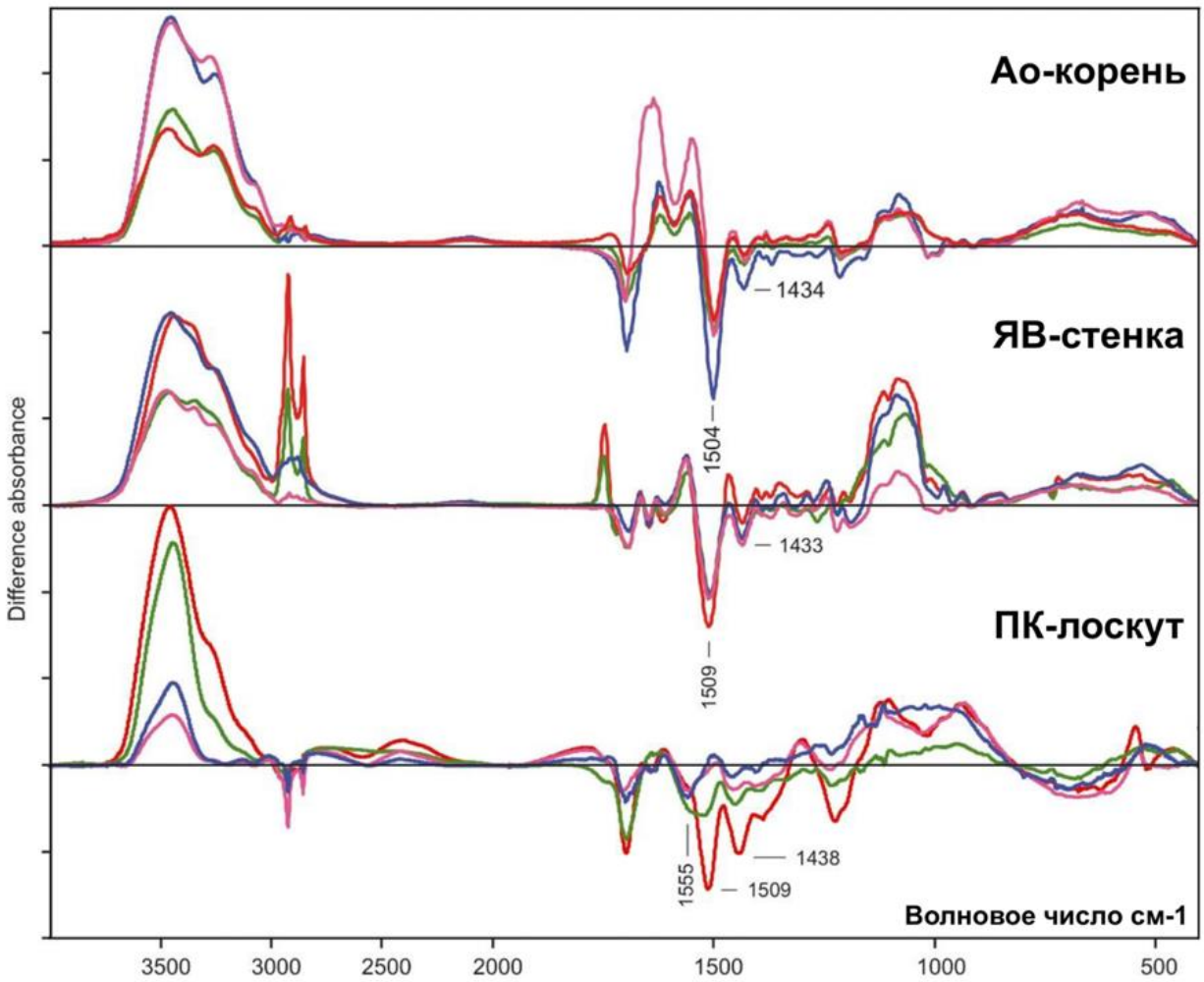


Рисунок 9 – ИК-спектры фиксированных биоматериалов, обработанных Пам и СЕАВА: ГА+Пам – красная линия; ГА+СЕАВА – зеленая линия; ДЭ+Пам – синяя линия; ДЭ+СЕАВА – розовая линия

Количественный анализ содержания Бф, иммобилизованных в ткани, показал, что ПК-лоскут независимо от варианта поперечной сшивки накапливал наименьшее количество Бф типов 1 и 2. Наибольшее количество иммобилизованного Бф было выявлено в ЯВ-стенке. Также для эластин-содержащих образцов (Ао-корень, ЯВ-стенка) было свойственно снижение уровня иммобилизации Бф типов 1 и 2 с увеличением длины их боковой цепи. Памидронат продемонстрировал высокий уровень иммобилизации во всех фиксированных образцах ЯВ-стенки и Ао-корня (Рисунок 10).

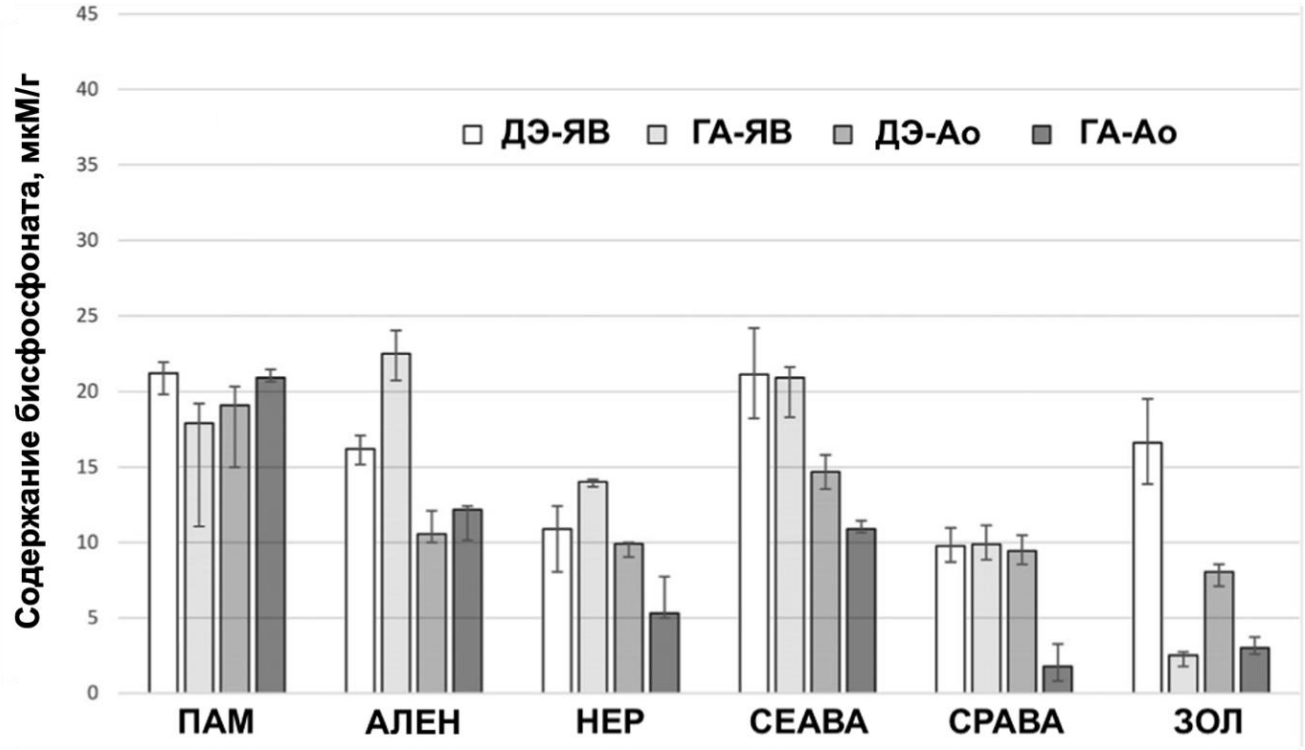


Рисунок 10 – Содержание иммобилизованных Бф в эластин-содержащих биоматериалах, предварительно обработанных ГА и ДЭ. СЕАВА, 2-(2-карбоксиэтиламино)этилиден-1,1-бисфосфоновая кислота; СРАВА, 2-(5-карбоксипентиламино)этилиден-1,1-бисфосфоновая кислота; Ален, алендроновая кислота; Ао, стенка свиного аортального корня; ГА, глутаральдегид; ДЭ, диэпоксид; Зол, золедроновая кислота; Нер, неридроновая кислота; Пам, памидроновая кислота; ЯВ, стенка яремной вены быка

Эксперимент in vivo на модели мелких лабораторных животных (крысы)

В эластин-содержащих консервированных тканях (Ао-корень, ЯВ-стенка) кальцификация инициируется на эластиновых волокнах. При этом в фиксированной аортальной стенке значительное количество девитализированных ГМК способствует усилению накопления кальция за счёт их минерализации. В фиксированном ПК-лоскуте кальциевые депозиты формируются преимущественно в коллагеновой матрице. В образцах ЯВ-стенки, содержащей как эластин, так и коллаген, процесс кальцификации начинается с образования кальциевых кластеров на эластиновых волокнах, после чего распространяется на коллагеновые фибриллы.

Образцы фиксированного Ао-корня продемонстрировали высокую степень кальцификации независимо от типа обработки и модификации Бф (Рисунок 11). Выявленные уже на 10-й день имплантации кристаллы фосфата кальция значительно увеличивались к 60-му дню, что приводило к структурной дегенерации ткани. Кроме того, консервация аортального корня диэпоксидом способствовала усилению минерализации даже в случае модификации Бф.

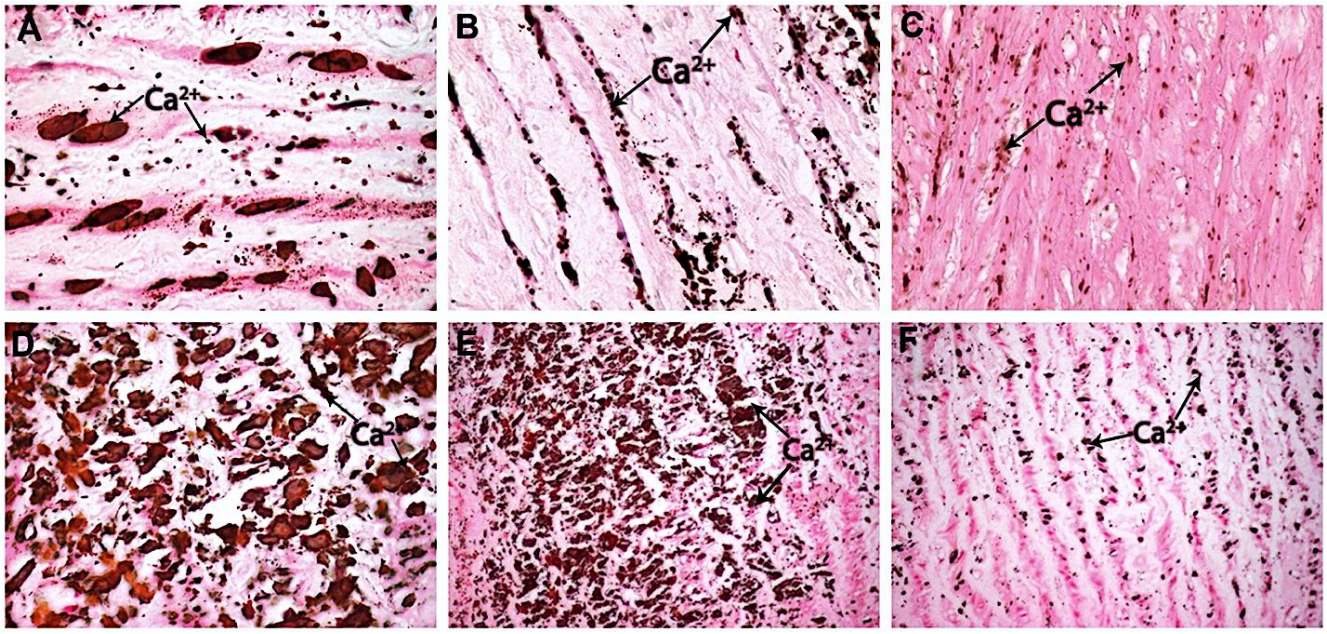


Рисунок 11 – Микрофотографии эксплантированных образцов стенки Ао-корня через 10 (A–C) и 60 дней подкожной имплантации (D–F). Окраска по фон Коссу. Увеличение ×1000 (B, C, D) и ×400 (A, E, F). A, D – Образцы, фиксированные ГА. B, E – Образцы, консервированные ДЭ. C, F – ДЭ-фиксированные образцы, модифицированные CEABA

Обработка ГА продемонстрировала неудовлетворительные результаты: кальциевые отложения обнаруживались во всех типах ГА-сшитых материалов уже к 10-му дню подкожной имплантации. Через 60 дней подкожной имплантации для всех типов исследуемых ксеногенных тканей, обработанных ГА, был свойственен высокий уровень содержания кальция. Эти данные подтверждаются результатами количественного анализа содержания кальция. ПК-лоскут, фиксированный ГА, показал самую высокую активность связывания кальция (Рисунок 12). Модификация ГА-образцов бисфосфонатами позволила замедлить процесс нуклеации и роста кальциевых депозитов, но не подавить его полностью.

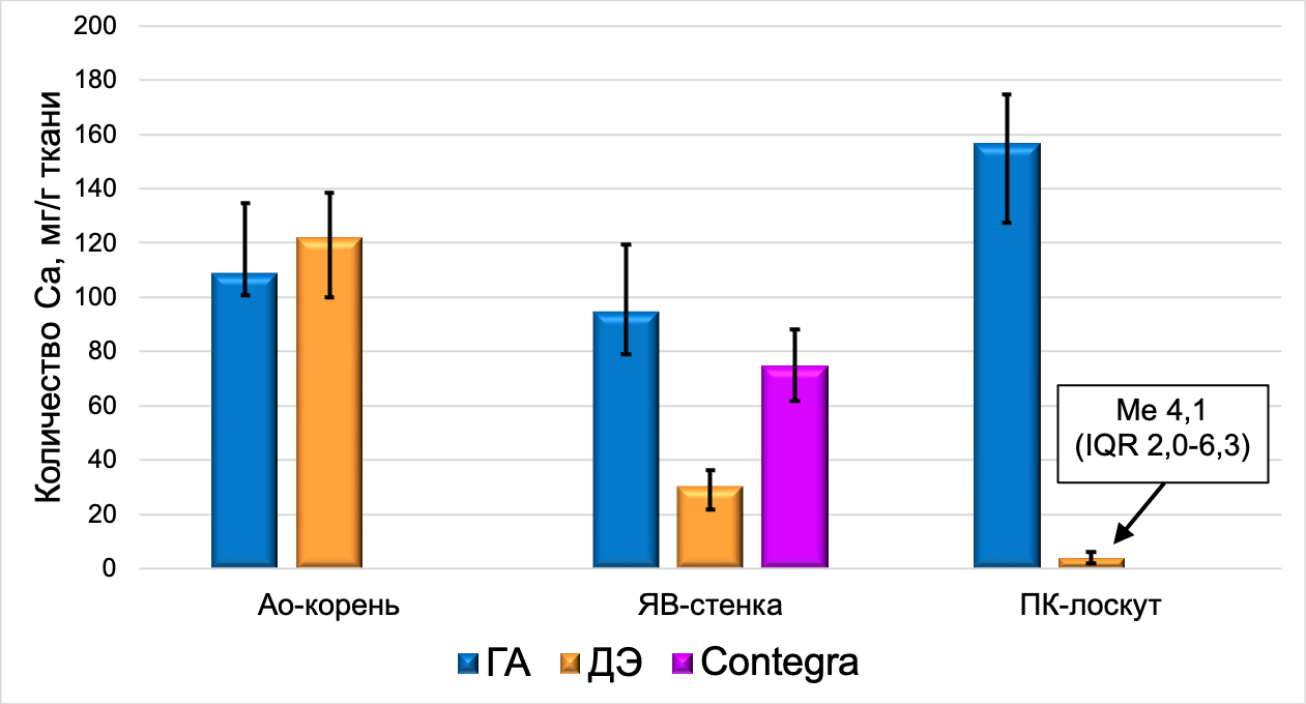


Рисунок 12 – Содержание кальция в ГА- и ДЭ-обработанных биоматериалах после 60 дней подкожной имплантации крысам

В то же время, замена основного сшивающего агента на ДЭ ингибировала минерализацию ЯВ-стенки и ПК-лоскута. Диэпоксидная обработка ЯВ-стенки снижала интенсивность минерализации ткани, а дополнительная иммобилизация Бф типов 1 и 2 на ДЭ-фиксированные образцы значительно замедляла процесс нуклеации и последующего роста кальциевых кристаллов (Рисунок 13). Диэпоксидная обработка ПК-лоскута эффективно подавляла кальцификацию коллагена независимо от использования Бф, что делает данный материал перспективным для создания биопротезов с повышенной антикальциевой защитой. Кальциевые кластеры в ДЭ-фиксированном ПК-лоскуте не были выявлены даже через 60 дней подкожной имплантации, независимо от применения модификации Бф.

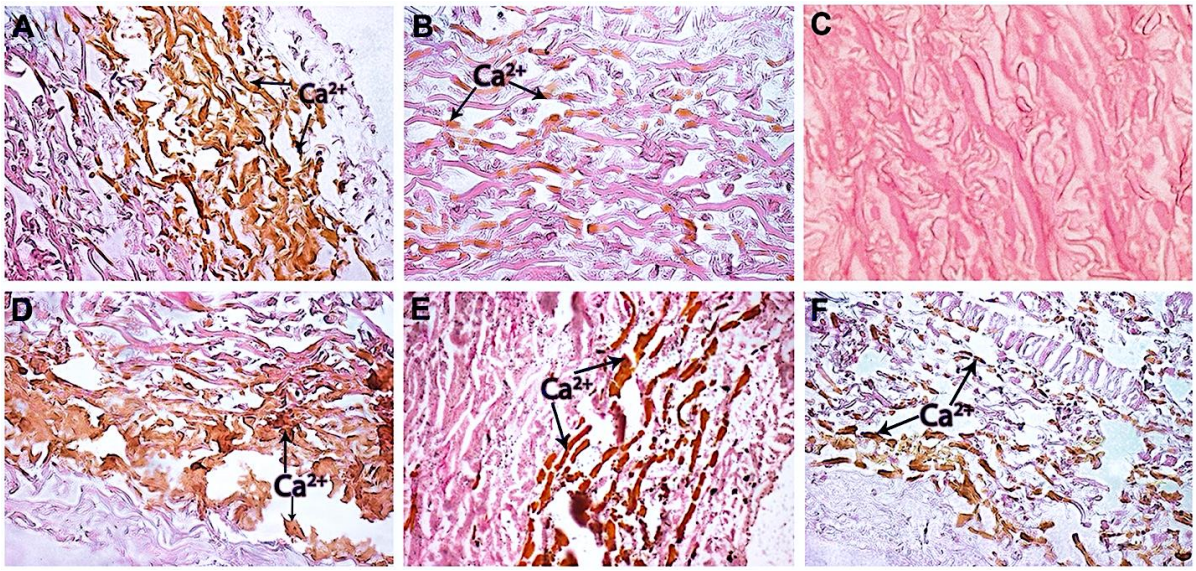


Рисунок 13 – Микрофотографии эксплантированных образцов ЯВ-стенки через 10 (A–C) и 60 дней подкожной имплантации (D–F). Окраска по фон Коссу. Увеличение ×400. A, D – Образцы, фиксированные ГА. B, E – Образцы, консервированные ДЭ. C, F – ДЭ-фиксированные образцы, модифицированные CEABA

Выраженность антикальцифицирующего эффекта иммобилизованных Бф зависела не только от микроструктуры биоматериалов и метода их базовой консервации, но и от химической структуры бисфосфоната. Наиболее эффективной кальций-связывающей протекцией обладали Бф типов 1 и 2. Золедронат (тип 3) в меньшей степени снижал кальцификацию ГА- и ДЭ- фиксированного аортального корня, при этом способствовал увеличению минерализации ДЭ-обработанной ЯВ-стенки. Кроме того, Бф-модификация биоматериалов значительно влияла на соотношение Ca/P: для модифицированных тканей было характерно высокое содержание кальция (Ca/P>3,5), тогда как в немодифицированных образцах это соотношение соответствовало значениям гидроксиапатита.

Эксперимент in vivo на модели крупных лабораторных животных (мини-свиньи)

Стенка ксеновенозных графтов была более мягкой в отличии от ксеноперикардиальных протезов, где дополнительную жёсткость структурам кондуитам придавали технические швы. В абсолютном большинстве линии технических швов, формирующих кондуит, содержали крупные депозиты кальция (Рисунок 14). При этом полифиламентная нить была инкорпорирована в минеральные

кластеры, а её волокна – инкрустированы кристаллами гидроксиапатита. Эта находка была свойственна всем ксеноперикардиальным кондуитам, не зависимо от типа обработки.

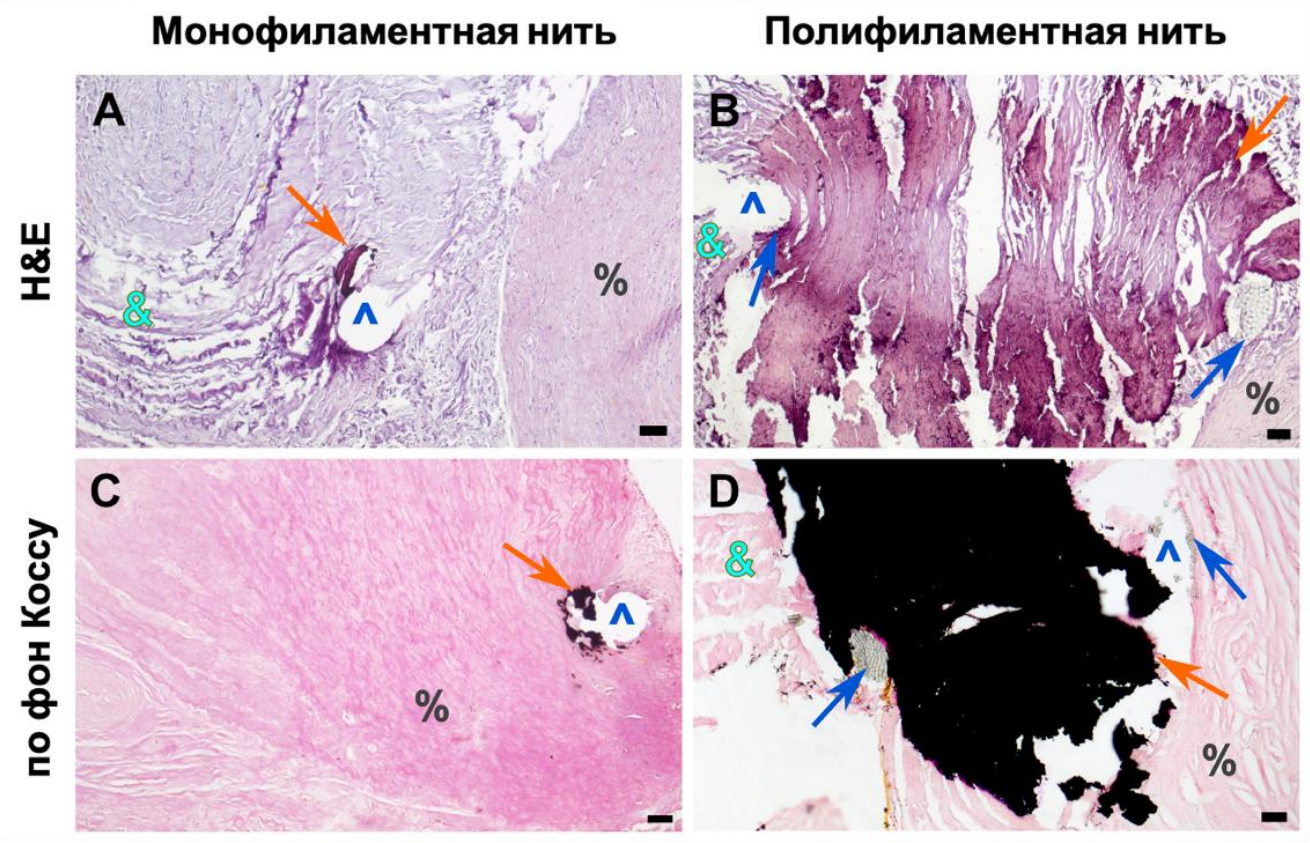


Рисунок 14 – Микрофотографии ДЭ-ПК, отражающие очаги кальцификации по линиям швов. (A, C) – область дистального анастомоза, прошитая монофиламентной нитью 6/0. (B, D) – область технического шва, формирующего кондуит, прошитая полифиламентной нитью 5/0. A–B – окрашивание H&E, ×40, масштабная линейка – 50 мкм. C–D – окрашивание по фон Коссу, ×40, масштабная линейка – 50 мкм. Оранжевая стрелка указывает на области минерализации, синяя стрелка – на волокна полифиламентной нити, & – ткань кондуита, ^ – шовное отверстие, % – ткань легочной артерии

Другой отличительной чертой ПК-графтов было распространение неоинтимального слоя на тело створок, что приводило к их утолщению и росту градиента в проксимальном отделе кондуита (Рисунок 15). В тоже время, створки ксеновенозных графтов были свободны от неоинтимы. В отличие от ксеноперикардиальных кондуитов, протезам из бычей яремной вены не был свойственен рост градиента на уровне клапана.

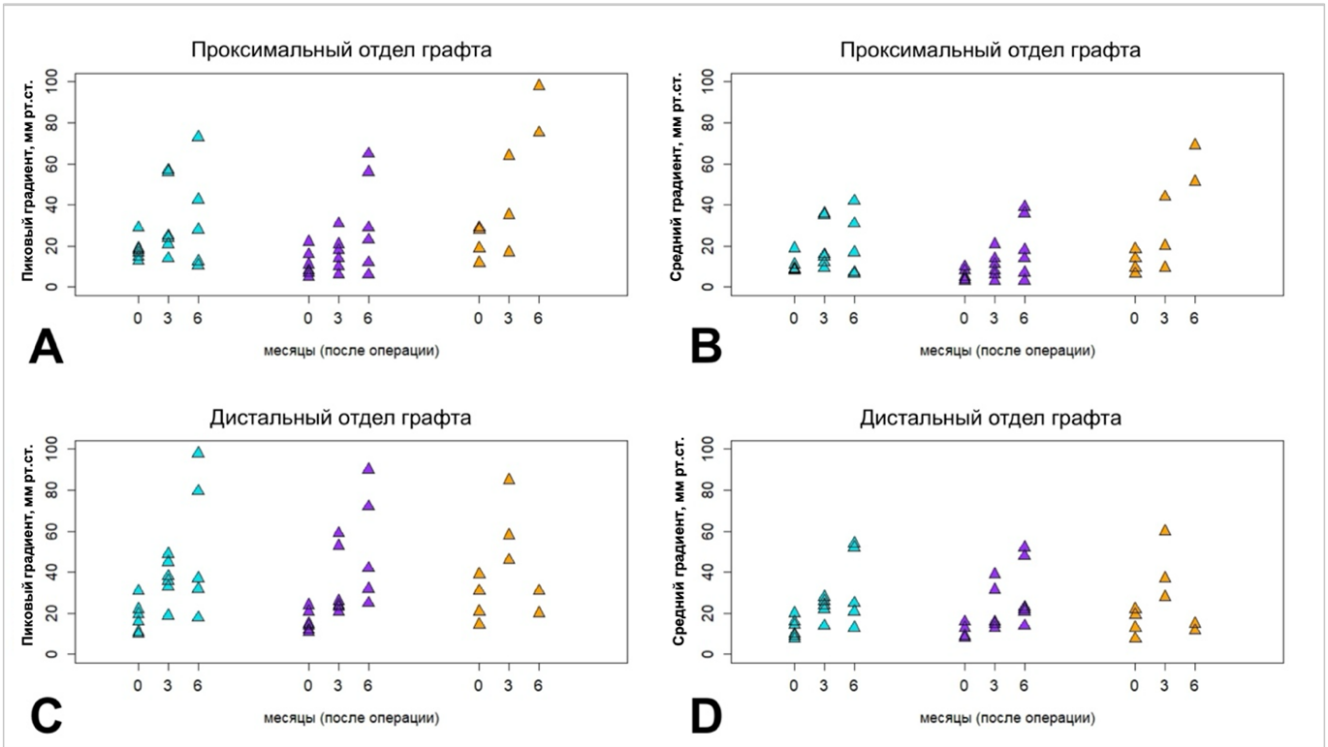


Рисунок 15 – Динамика изменения градиента на ксеноперикардиальных в периоде наблюдения. A – Пиковый проксимальный градиент. B – Средний проксимальный градиент. C – Пиковый дистальный градиент. D – Средний дистальный градиент. Голубой треугольник – ДЭ-ПК; фиолетовый треугольник – ДЭ+Пам-ПК; оранжевый треугольник – ГА-ПК

Результаты исследования кондуитов в ортотопической позиции продемонстрировали преимущества ксеновенозных и ксеноперикардиальных графтов, фиксированных ДЭ, независимо от применения дополнительной антикальциевой обработки. Для всех ДЭ-фиксированных ксеновенозных (ДЭ-ЯВ, ДЭ+Пам-ЯВ) и ксеноперикардиальных (ДЭ-ПК, ДЭ+Пам-ПК) кондуитов были свойственны признаки ремоделирования и витализации графтов в виде миграции в стенку миофибробластов, замещения коллагеновых волокон мягкой недеформирующей соединительной тканью и активного неоангиогенеза. Люминальная поверхность ДЭ-протезов была чистой, гладкой, без участков минерализации и тромбоза. Равномерный неоинтимальный слой, покрытый хорошо развитым эндотелием, был свойственен этим группам (Рисунок 16). Признаки минерализации стенки в группах ДЭ-обработки отсутствовали вне линий анастомозов и технических швов (для ПК-кондуитов). Створки сохранили свою структуру, не имели повреждений или очагов отложения кальция. Более того, в

некоторых диэпокси-консервированных графтах была отмечена миграция фибробластов в тело створки.

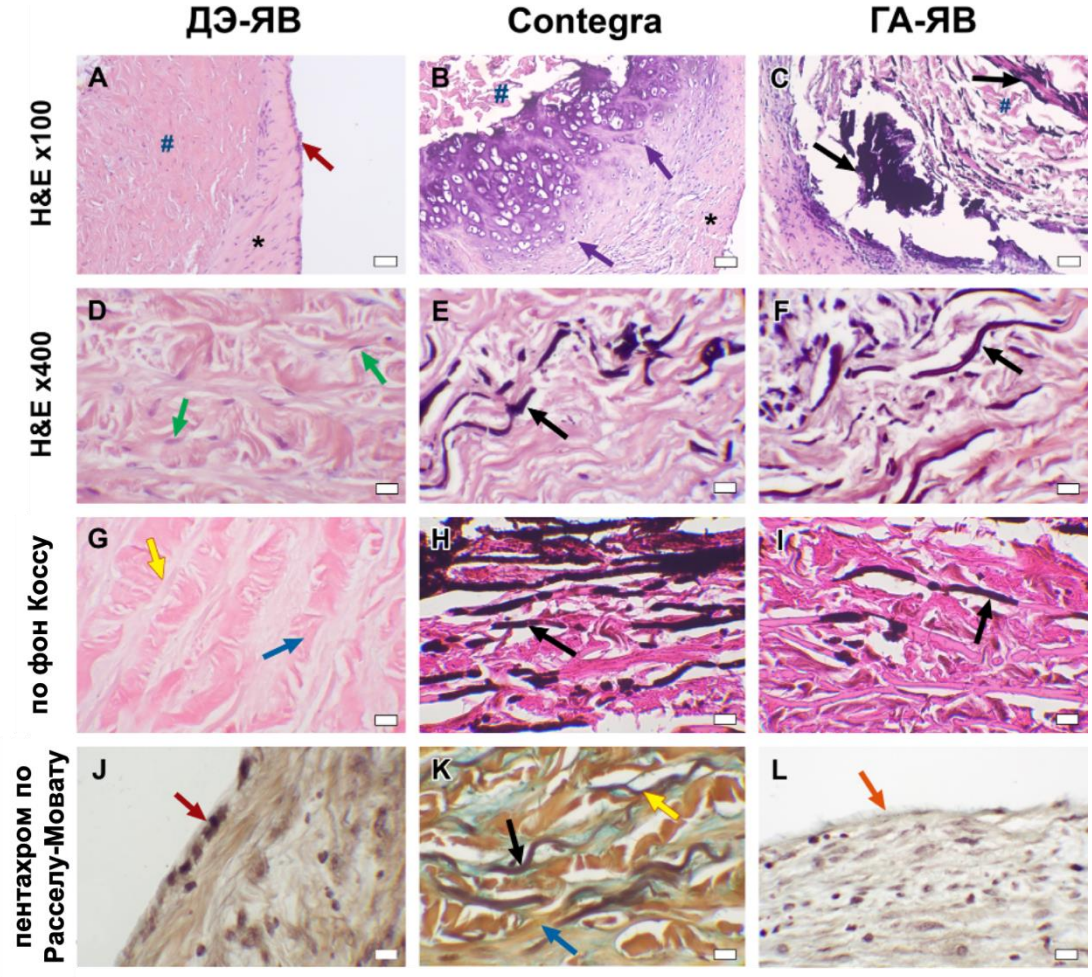


Рисунок 16 – Микрофотографии эксплантированных ксеновенозных кондуитов. A–C – обзорные изображения, окрашивание H&E, ×100, масштабная линейка – 50 мкм. D–F – структура стенки кондуита, окрашивание H&E, ×400, масштабная линейка – 10 мкм. G–I – структура стенки графта, окрашивание по фон Коссу, ×400, масштабная линейка – 10 мкм. J–L – структура стенки ксенокондуита, окрашивание пентахромом по Расселу–Мовату, ×400, масштабная линейка – 10 мкм. Черные стрелки указывают на участки минерализации; зеленые стрелки – на мигрирующие фибробласты; желтые стрелки – на волокна эластина; синие стрелки – на волокна коллагена; фиолетовые стрелки – на гиалиноз и хондроидную метаплазию; красные стрелки – на монослой эндотелия; оранжевая стрелка указывает на отсутствие эндотелия на люминальной поверхности графта; * – неоинтима; # – ткань кондуита

В тоже время ГА-обработанные ксеноперикардиальные (ГА-ПК) и ксеновенозные (ГА-ЯВ) протезы, включая кондуит Contegra, характеризовались

повышенной жёсткостью стенки, обусловленной формированием плотной внешней фиброзной капсулы, неоинтимальной гиперплазией, фиброзированием стенки и минерализацией структур графтов как в области линии швов, так и вне их – в глубине ткани. В ГА-фиксированных ксеновенозных кондуитах выявлены четкие признаки отложения солей кальция по ходу эластиновых волокон (Рисунок 16). В глубоких слоях ксеноперикардиальных графтов, консервированных ГА, присутствовали кальцинированные волокна коллагена. В данных группах кондуитов (ГА-ЯВ, Contegra, ГА-ПК) признаки витализации были не выражены или отсутствовали вовсе.

Неравномерный неоинтимальный слой с гиперплазией в области дистального и проксимального анастомозов был свойственен для всех ГА-консервированных графтов. При этом эндотелизация люминальной поверхности ограниченно присутствовала в участках наиболее утолщенного неоинтимального покрытия. Перечисленные структурные отличия являются следствием цитотоксического эффекта ГА, который высвобождается из тканей протезов даже после стандартной процедуры отмывки. Еще одной находкой, свойственной ГА-фиксированным протезам (Contegra, ГА-ПК), были очаги хондроидной метаплазии и гиалиноза с признаками минерализации (Рисунок 16В; Рисунок 17).

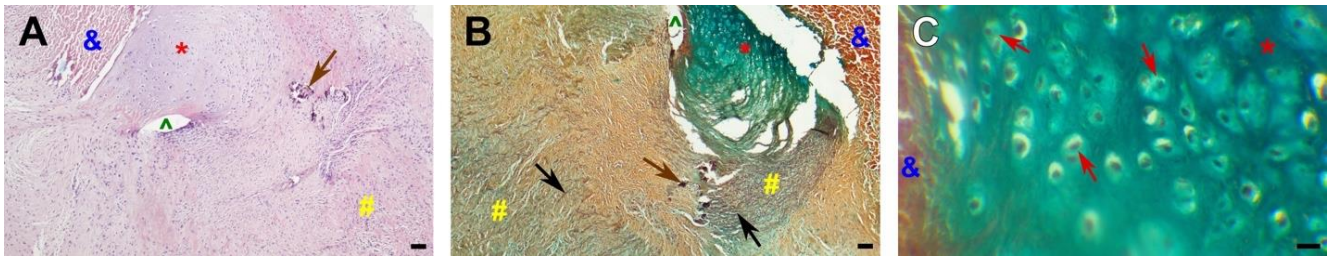


Рисунок 17 – Хондроидная метаплазия в стенке ГА-ПК. А – структура стенки ГА-ПК, обзорное изображение, окрашивание H&E, ×40, масштабная линейка – 50 мкм. В – структура стенки ГА-ПК, обзорное изображение, окрашивание пентахромом по Расселу-Мовату, ×40, масштабная линейка – 50 мкм. С – область хондроидной метаплазии в стенке ГА-ПК, окрашивание пентахромом по Расселу-Мовату, ×400, масштабная линейка – 10 мкм. Черные стрелки указывают на волокна эластина, коричневые стрелки – на депозиты кальция, красные стрелки – на хрящеподобные клетки, # – нативная ЛА, * – хондроидная метаплазия, & – ткань кондуита; ^ – шовное отверстие

Иммобилизация Бф усиливала антиминерализующие свойства диэпоксидной обработки. Наиболее наглядно этот эффект был отмечен при сравнении ПК-кондуитов. Во всех ДЭ-ПК протезах были выявлены минеральные кластеры по ходу швов, формирующих кондуит. В тоже время половина графтов из группы ДЭ+Пам-ПК была свободна от кальциевых депозитов в данных областях. Только в трёх случаях были выявлены минеральные кластеры по ходу полифиламентной нити. В большинстве исследуемых областей минеральные кластеры характеризовались отношением атомной массы кальция и фосфора Me 1,46 (IQR 1,36–1,54). В группах диэпокси-обработанной ЯВ-стенки, как в ДЭ-ЯВ, так и в ДЭ+Пам-ЯВ, не были выявлены кальциевые кластеры в структурах графтов после окончания 6-месячного периода наблюдения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в рамках данного диссертационного исследования, убедительно подтвердили эффективность нового подхода к созданию легочного кондуита на основе ксеногенных тканей. Клапаносодержащий сегмент яремной вены быка, обработанный ДЭ с дополнительной иммобилизацией Бф, признан наиболее оптимальным биоматериалом для создания клапанного ксенокондуита, предназначенного для реконструкции пути оттока в ЛА у педиатрических пациентов. Эти графты продемонстрировали высокую степень интеграции в легочное русло, сопровождающейся ремоделированием и витализацией ткани, формированием хорошо развитого эндотелиального слоя, а также сниженной склонностью к кальцификации и неоинтимальной пролиферации. Отмеченные структурные изменения, в том числе сниженная склонность к минерализации, указывают на то, что данная стратегия консервации способствует повышению долговечности ЯВ-ксенографтов по сравнению с кондуитами, фиксированными глутаровым альдегидом. Иммобилизация памидроновой кислоты дополнительно улучшает устойчивость диэпокси-консервированных тканей к кальцификации. Полученные данные свидетельствуют о том, что кондуиты из ДЭ-ЯВ с дополнительной Бф-модификацией способны обеспечить пролонгированную работоспособность по сравнению с другими

ксеногенными графтами. Улучшенная износостойкость графтов имеет особое значение для детей с ВПС, поскольку их соматический рост требует многократной замены легочных протезов, а повышение срока службы кондуитов существенно снизит количество повторных вмешательств и улучшит качество жизни пациентов.

Опираясь на полученные результаты, был разработан легочный кондуит, который представляет собой клапаносодержащий сегмент яремной вены быка, консервированный в растворе диэпоксида с дополнительной иммобилизацией бисфосфоновой кислоты. Данная разработка защищена патентом на изобретение (№ 2633544 C1, 13.10.2017), что подтверждает её новизну и перспективы клинического применения.

ВЫВОДЫ

1. Анализ клинических данных выявил, что в педиатрической популяции общая свобода от повторных оперативных вмешательств на графте после реконструкции выходного отдела правого желудочка составляет 79,6% через 5 лет и 43,4% через 10 лет после имплантации.

2. Свобода от первой реинтервенции на легочном кондуите достоверно различалась между исследуемыми группами ($p<0,001$): наибольшая свобода от повторного вмешательства в течение 5- и 10-летнего периода наблюдения была свойственна легочным гомографтам (92,9% и 72,4%), наименьшая – кондуитам, содержащим диэпокси-обработанный свиной аортальный корень (63,1% и 29,0%).

3. В педиатрической популяции пациентов основной причиной дисфункции легочного кондуита, характерной для всех исследуемых групп протезов, является стеноз графта (84,2%; $p<0,001$).

4. Кальцификация стенки и створок протеза выступает ведущим патологическим механизмом нарушения функции клапаносодержащего кондуита (67,0%; $p<0,001$) в детской популяции, независимо от типа биоматериала и варианта его обработки.

5. Основными факторами риска ранних реинтервенций на графте после реконструкции выходного отдела правого желудочка являются более ранний возраст пациента на момент операции (ОР 0,99; $p=0,003$) и тип кондуита (ОР 0,89; $p=0,041$).

6. Риск развития ранней дисфункции кондуита в группах яремной вены быка, консервированной глутаровым альдегидом, и диэпокси-обработанного ксеноперикардиального протеза был сопоставим с показателями в группе легочных гомографтов (ОР 1,44, p=0,127 и ОР 1,13, p=0,706 соответственно).

7. Кондуиты, содержащие диэпокси-обработанный свиной аортальный корень, характеризуются наиболее высоким риском кальцификации структур графта (ОР 4,47; p<0,001) и ранней дисфункции протеза, требующей реинтервенций (ОР 2,56; p<0,001).

8. Реконструкция выходного отдела правого желудочка кондуитом из ксеноперикарда, фиксированного глутаровым альдегидом, сопровождается двукратным увеличением риска повторного оперативного вмешательства (p<0,001). В данной группе протезов риск реинтервенций, обусловленных кальцификацией графта, возрастает на 95%, а вследствие неоинтимальной гиперплазии — увеличивается в 11 раз по сравнению с легочными гомографтами.

9. Частота инфекционного эндокардита при протезировании выходного отдела правого желудочка составляет 5,6%, и не зависит от типа имплантированного кондуита (p=0,115). Основными предикторами данного осложнения являются более старший возраст пациента (ОР 1,01; p=0,006), больший вес на момент операции (ОР 1,02; p=0,022) и больший диаметр имплантированного протеза (ОР 1,12; p=0,009).

10. Анализ экспериментальных данных показал, что замена основного сшивающего агента с глутарового альдегида на диэпоксид позволяет полностью ингибировать кальцификацию коллагена за счёт подавления нуклеации фосфата кальция и обеспечить более высокую плотность сшивки биоматериалов.

11. Эластин-содержащие ткани обладают высокой кальций-связывающей активностью и, независимо от типа сшивающего агента, подвержены значительной минерализации, которая инициируется на эластиновых волокнах.

12. Иммобилизация бисфосфонатов в фиксированном ксеноперикарде происходит преимущественно за счёт образования ковалентных связей с маскирующими группами сшивающего агента, тогда как для эластин-содержащих тканей (консервированный аортальный корень, стенка яремной вены) характерно

взаимодействие бисфосфоновых кислот с аминогруппами субстратов, а также их нековалентное связывание.

13. Аортальный корень, богатый как эластиновыми волокнами, так и нежизнеспособными гладкомышечными клетками, характеризуется высокой степенью накопления фосфата кальция независимо от способа базовой обработки и модификации бисфосфонатами.

14. Диэпоксидная обработка эффективно ингибирует минерализацию стенки яремной вены и бычьего перикарда, в сравнении с консервацией глутаровым альдегидом, а дополнительная иммобилизация бисфосфонатов типов 1 и 2 на данные биоматериалы значительно замедляет процесс нуклеации и последующего роста кальциевых кристаллов.

15. В экспериментальной модели на крупных лабораторных животных ксеновенозные и ксеноперикардиальные кондуиты, обработанные диэпоксидом, демонстрируют витализацию ткани графтов, развитый эндотелиальный слой, а также меньшую склонность к кальцификации и неоинтимальной пролиферации по сравнению с протезами, обработанными глутаровым альдегидом.

16. Ксеноперикардиальные графты, независимо от типа обработки и модификации бисфосфонатами, подвергаются кальцификации в области технических швов, где полифиламентная нить выступает инициатором минерализации. Для данной группы графтов характерно распространение неоинтимального слоя на приточную и отточную поверхности створок, что способствует увеличению градиента давления в проксимальном отделе кондуита.

17. Согласно экспериментальным данным, разработанный кондуит из яремной вены быка, обработанный диэпоксидом с дополнительной мобилизацией бисфосфоната, обладает хорошей интеграцией в легочное русло, улучшенными структурными характеристиками и низкой склонностью к кальцификации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При протезировании ВОПЖ у пациентов педиатрической группы рекомендуется использовать ЛА-гомографты и кондуиты ГА-ЯВ. При наличии

протеза соответствующего размера предпочтение следует отдавать ЛА-гомографтам как кондуиту выбора.

2. Для реконструкции пути оттока из ПЖ у детей не рекомендуется использовать кондуиты, содержащие диэпокси-обработанный свиной аортальный корень и перикард, фиксированный глутаровым альдегидом.

3. Размер планируемого к имплантации кондуита не должен превышать Z-score более чем на 2 единицы, при расчете на фактическую площадь поверхности тела ребенка.

4. Перед имплантацией кондуита необходимо тщательно промыть протез от раствора хранения в строгом соответствии с инструкциями производителя, что позволит минимизировать токсическое действие оставшихся на ткани консервантов. Не следует сокращать временной интервал отмывки или уменьшать кратность смены стерильного раствора 0,9% NaCl.

5. Во время имплантации графта следует избегать кисетирования линий проксимального и дистального анастомозов, а также перекручивания или деформации кондуита, чтобы снизить риск ранней дисфункции протеза.

6. При возможности рекомендуется сохранять заднюю стенку нативной легочной артерии, что облегчит выделение ранее имплантированного кондуита при репротезировании ВОПЖ.

7. Рекомендуется выполнять одномоментную пластику ветвей легочной артерии во время протезирования ВОПЖ с использованием тканей имплантируемого кондуита за счёт моделирования дистального конца графта или с применением отдельных заплат. Не рекомендуется использовать ксеногенную аортальную стенку в качестве пластического материала.

8. При появлении признаков дисфункции кондуита первым этапом необходимо рассмотреть возможность выполнения эндоваскулярных процедур для устранения нарушения оттока в легочное артериальное русло.

9. Детям, перенесшим протезирование ВОПЖ, в обязательном порядке рекомендуется соблюдение принципов профилактики протезного инфекционного

эндокардита. Контроль за выполнением этих рекомендаций должен осуществляется законными представителями ребенка.

10. При появлении субфебрильной/фебрильной лихорадки без явных проявлений локального инфекционного процесса рекомендуется выполнить ЭхоКГ для исключения протезного инфекционного эндокардита.

11. При подозрении/выявлении инфекционного эндокардита имплантированного кондуита рекомендуется своевременная консультация в специализированном медицинском учреждении.

ПУБЛИКАЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ ОСНОВНЫЕ НАУЧНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ДИССЕРТАЦИИ

Список статей в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК

1. Nichay N.R., Zhuravleva I.Y., Kulyabin Y.Y., Timchenko T.P., Voitov A.V., Kuznetsova E.V., Soynov I.A., Zubritskiy A.V., Bogachev-Prokophiev A.V., Karaskov A.M. In search of the best xenogeneic material for a paediatric conduit: an analysis of clinical data // Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery. – 2018. – Т. 27. – №. 1. – С. 34-41.

2. Zhuravleva I.Y., Nichay N.R., Kulyabin Y.Y., Timchenko T.P., Korobeinikov A.A., Polienko Y.F., Shatskaya S.S., Kuznetsova E.V., Voitov A.V., Bogachev-Prokophiev A.V., Karaskov A.M. In search of the best xenogeneic material for a paediatric conduit: an experimental study // Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery. – 2018. – Т. 26. – №. 5. – С. 738-744.

3. 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 Journal for Pediatric and Congenital Heart Surgery. – 2020. – Т. 11. – №. 1. – С. 56-64.

4. Zhuravleva I.Y., Polienko Y.F., Karpova E.V., Timchenko T.P., Vasilieva M.B., Baratova L.A., Shatskaya S.S., Kuznetsova E.V., Nichay N.R., Beshchasna N., Bogachev-Prokophiev A.V. Treatment with bisphosphonates to mitigate calcification of

elastin-containing bioprosthetic materials // Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2020. – Т. 108. – №. 7. – С. 1579-1588.

5. Zhuravleva I.Y., Karpova E.V., Dokuchaeva A.A., Kuznetsova E.V., Vladimirov S.V., Ksenofontov A.L., Nichay N.R. Bovine jugular vein conduit: What affects its elastomechanical properties and thermostability? // Journal of Biomedical Materials Research Part A. – 2022. – Т. 110. – №. 2. – С. 394-408.

6. Nichay N.R., Dokuchaeva A.A., Kulyabin Y.Y., Boyarkin E.V., Kuznetsova E.V., Rusakova Y.L., Murashov I.S., Vaver A.A., Bogachev-Prokophiev A.V., Zhuravleva I.Y. Epoxy-versus Glutaraldehyde-Treated Bovine Jugular Vein Conduit for Pulmonary Valve Replacement: A Comparison of Morphological Changes in a Pig Model // Biomedicines. – 2023. – Т. 11. – №. 11. – С. 3101.

7. Nichay N.R., Dokuchaeva A.A., Kuznetsova E.V., Zhuravleva I.Y., Kulyabin Y.Y., Boyarkin E.V., Malakhova O.Y., Timchenko T.P., Rusakova Y.L., Bogachev-Prokophiev A.V. In Vivo Comparative Study of Calcification in Diepoxy- and Glutaraldehyde-Treated Bovine Pericardial Conduits for RVOT Reconstruction // Prosthesis. – 2025. – Т. 7. – №. 3. – С. 67.

8. Ничай Н.Р., Кулябин Ю.Ю., Журавлева И.Ю., Горбатых Ю.Н., Зубрицкий А.В., Войтов А.В., Сойнов И.А., Горбатых А.В., Богачёв-Прокофьев А.В., Караськов А.М. Правосторонние ксенокондуиты у детей: анализ причин дисфункции // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2019. – Т. 12. – №. 3. – С. 173-182.

9. Ничай Н.Р. Структурная дегенерация биологических кондуитов: аналитический обзор механизмов кальцификации // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2026. – Т. 30. – №. 2. – С. 20-33.

10. Сойнов И.А., Журавлева И.Ю., Кулябин Ю.Ю., Ничай Н.Р., Афанасьев А.В., Алешкевич Н.П., Богачев-Прокофьев А.В., Караськов А.М. Клапансодержащие кондуиты в детской кардиохирургии // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2018. – №. 1. – С. 75-81.

11. Ничай Н.Р., Горбатых Ю.Н., Войтов А.В., Сойнов И.А., Кулябин Ю.Ю., Хапаев Т.С., Архипов А.Н., Аникина Н.В., Докучаева А.А., Богачев-Прокофьев А.В.

Инфекционный эндокардит легочных кондуитов в педиатрической группе пациентов // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2024. – Т. 17. – № 2. – С. 139-151.

12. Журавлева И.Ю., Карпова Е.В., Опарина Л.А., Кабос Н., Ксенофонтов А.Л., Журавлева А.С., Ничай Н.Р., Богачев-Прокофьев А.В., Трофимов Б.А., Караськов А.М. Ксеноперикард, консервированный ди- и пентаэпоксидами: молекулярные механизмы сшивки и механические свойства биоматериала // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2018. – Т. 22. – №. 3. – С. 56-68.

13. Журавлева И.Ю., Карпова Е.В., Кузнецова Е.В., Юношев А.С., Коробейников А.А., Тимченко Т.П., Ничай Н.Р., Сойнов И.А., Горбатых А.В. Клапаносодержащий ксеновенозный кондуит: terra incognita или tabula rasa? // Сибирский научный медицинский журнал. – 2016. – Т. 36. – №. 2. – С. 90-101.

14. Журавлева И.Ю., Васильева М.Б., Тимченко Т.П., Кузнецова Е.В., Полиенко Ю.Ф., Ничай Н.Р., Григорьев И.А., Богачев-Прокофьев А.В. Кальцификация эластин-содержащих ксеногенных биоматериалов: влияние консервантов и бисфосфонатов // Сибирский научный медицинский журнал. – 2017. – Т. 37. – №. 6. – С. 28-37.

15. Ничай Н.Р., Журавлева И.Ю., Кулябин Ю.Ю., Зыков И.С., Бояркин Е.В., Малахова О.Ю., Кузнецова Е.В., Тимченко Т.П., Русакова Я.Л., Мурашов И.С., Докучаева А.А., Богачев-Прокофьев А.В. Диэпокси-обработанный кондуит из яремной вены быка для протезирования легочной артерии // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2022. – Т. 26. – №. 4. – С. 19-32.

16. Сойнов И.А., Рзаева К.А., Горбатых А.В., Войтов А.В., Архипов А.Н., Ничай Н.Р., Кулябин Ю.Ю., Манукян С.Н., Богачев-Прокофьев А.В. Физико-механические свойства кондуитов при формировании пути оттока в легочную артерию // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2024. – Т. 13. – №. 1. – С. 67-76.

17. Кулябин Ю.Ю., Ничай Н.Р., Сойнов И.А., Докучаева А.А., Журавлева И.Ю., Богачев-Прокофьев А.В. Сравнительный анализ кондуитов для протезирования легочной артерии у детей // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2024. – Т. 13. – №. 4. – С. 25-34.

18. Журавлева И.Ю., Ничай Н.Р., Докучаева А.А., Сойнов И.А., Иванцов С.М., Кейль И.М., Омельченко А.Ю., Горбатых Ю.Н., Горбатых А.В. Клинико-морфологический анализ дисфункции кондуита Contegra у пациентов первого года жизни // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2016. – Т. 20. – № 1. – С. 56–61.

19. Горбатых Ю.Н., Синельников Ю.С., Наберухин Ю.Л., Латыпов А.К., Зайцев Г.С., Новикова М.А., Ничай Н.Р. Отбор пациентов, нуждающихся в замене экстракардиальных правосторонних кондуитов: объем предоперационного обследования, показания к повторным операциям // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2011. – №. 3. – С. 13-16.

Патент

1. Пат. RU 2 633 544 Российской Федерации, МПК: A61F 2/00 (2006.01) / Способ изготовления клапансодержащего кондуита из яремной вены крупного рогатого скота / Журавлёва И.Ю., Кузнецова Е.В., Тимченко Т.П., Сойнов И.А., Ничай Н.Р., Горбатых А.В. Заявитель и патентообладатель федеральное государственное бюджетное учреждение "Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России). № 2016122308; заявл. 06.06.2016; опубл. 13.10.2017, Бюл. № 29.