

НАКОПЛЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ КАЛЬЦИЯ В АЛЛОГРАФТАХ IN VIVO

Н.Н. Щетинко¹, С.В. Спиридонов¹, В.О. Одинцов¹, Е.С. Смирнова², О.А. Юдина³, Ю.П. Островский¹

ГУ «Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь¹.

E-mail: mikalai.shchatsinka@gmail.com; dr.spiridonov79@gmail.com; vitalodin@gmail.com

УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь².

E-mail: alena.sergeevna.smirnova@gmail.com; o.yudina@inbox.ru

УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро», Минск, Беларусь³.

E-mail: youryost@yahoo.com

УДК 616.12-089.843:616.126-003.84

Ключевые слова: кальций, аллогraft, тканевая инженерия.

для цитирования. Н.Н. Щетинко, С.В. Спиридонов, В.О. Одинцов, Е.С. Смирнова, О.А. Юдина, Ю.П. Островский. Накопление соединений кальция в аллогraftах in vivo. *Неотложная кардиология и кардиоваскулярные риски*, 2019, Т. 3, № 1, С. 546–552.

Цель исследования. Провести сравнительную оценку накопления кальция в стандартных и девитализированных аллогraftах у животных, оценить динамику накопления кальция в стандартных аортальных аллогraftах у человека.

Материалы и методы. Изготовление и девитализация аллогraftов проводились в соответствии со стандартной методикой РНПЦ «Кардиология». Эксперимент ускоренной кальцификации проводился путем подкожной имплантации стандартных и девитализированных аллогraftов крысам с эксплантацией образцов через 3 и 6 месяцев и проведением исследования на предмет содержания кальция. Имплантация стандартных аортальных аллогraftов у человека проводилась по методике «полный корень». Для оценки накопления кальция в аортальных аллогraftах проводилась компьютерная томография с применением методики Calcium Scoring.

Результаты. Согласно результатам исследования у животных, через 6 месяцев содержание кальция в стандартных и девитализированных аллогraftах составляло $4,47 \pm 0,63$ и $2,79 \pm 0,49$, $p < 0,05$. В имплантированных аортальных аллогraftах у человека установ-

лено достоверное увеличение показателя CaScore в динамике через 4 года по сравнению с данными через 2 года после операции для кольца аортального клапана (122,2 (27,8–1042,2) и 282,0 (126,8–1086,0), $p < 0,05$) и восходящей аорты (0,0 (0,0–31,3) и 277,0 (0,0–437,0), $p < 0,05$). Через 4 года после операции выявлены достоверные различия между значениями CaScore для кольца и створок аортального клапана (282,0 (126,8–1086,0) и 0,0 (0,0–1,8), $p < 0,01$), для восходящей аорты и створок аортального клапана (277,0 (0,0–437,0) и 0,0 (0,0–1,8), $p < 0,05$).

Заключение. Установлено достоверно большее накопление кальция в стандартных аллогraftах по сравнению с девитализированными при их подкожной имплантации крысам. Выявлено достоверное увеличение значения CaScore в динамике через 4 года по сравнению с данными через 2 года после операции для кольца аортального клапана и восходящей аорты. Через 4 года после операции выявлены достоверные различия в значениях CaScore для кольца и створок аортального клапана, для восходящей аорты и створок аортального клапана.

IN VIVO CALCIUM COMPOUNDS ACCUMULATION IN ALLOGRAFTS

М.М. Shchatsinka¹, S.V. Spirydonau¹, V.A. Adzintsov¹, A.S. Smirnova², O.A. Yudina³, Y.P. Ostrovsky¹

Republican Scientific and Practical Centre "Cardiology", Minsk, Belarus¹

Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus²

City Clinical Pathologoanatomic Bureau, Minsk, Belarus³

Key words: calcium, allograft, tissue engineering.

FOR REFERENCES. M.M. Shchatsinka, S.V. Spirydonau, V.A. Adzintsov, A.S. Smirnova, O.A. Yudina, Y.P. Ostrovsky. In vivo calcium compounds accumulation in allografts. *Neotlozhnaya kardiologiya i kardiovaskulyarnye riski* [Emergency cardiology and cardiovascular risks], 2019, vol. 3, no. 1, pp. 546–552.

Aim. To assess calcium deposition in standard and decellularized aortic allografts in animals, to evaluate calcium accumulation dynamics in standard aortic allografts in humans.

Materials and methods. Aortic allografts were procured and decellularized according to the RSPC "Cardiology" standard technique. The accelerated calcification

experiment was performed by subcutaneous implantation of standard and decellularized allografts into young rats. Samples were explanted in 3 and 6 months and assessed for calcium content. Standard aortic allografts were implanted in humans using "full root" technique. Computed tomography was performed to assess calcium deposition with Calcium Scoring technique.

Results. According to the findings of animal experiments, in 6 months the calcium content in standard and decellularized allografts samples was 4.47 ± 0.63 and 2.79 ± 0.49 , $p < 0.05$. In humans a significant increase in the CaScore index was revealed in 4 years as compared to 2 years after operation, for aortic valve ring ($122.2 (27.8-1042.2)$ and $282.0 (126.8-1086.0)$, $p < 0.05$) and ascending aorta ($0.0 (0.0-31.3)$ and $277.0 (0.0-437.0)$, $p < 0.05$). A statistically significant difference for aortic ring and aortic valve cusps ($282.0 (126.8-1086.0)$ and $0.0 (0.0-1.8)$, $p < 0.01$), as well as for ascending aorta and aortic valve cusps ($277.0 (0.0-437.0)$ and $0.0 (0.0-$

$1.8)$, $p < 0.05$) was found in 4 years after the operation when assessing CaScore index.

Conclusion. In young rats a statistically significant increase in calcium deposition was found in standard allografts as compared to decellularized allografts. A statistically significant increase in CaScore index was found for standard cryopreserved allografts in 4 years as compared to 2 years after surgery. In 4 years after surgery, statistically significant differences were found in CaScore values for aortic ring and aortic valve cusps, as well as for ascending aorta and aortic valve cusps of standard allografts.

Введение

Клапанные аллогraftы применяются в кардиохирургической практике уже более 60 лет. Так, в 1956 году G. Murray впервые сообщил об успешной имплантации аортального аллогraftа в нисходящий отдел аорты пациенту с выраженной аортальной регургитацией [1]. Вместе с тем, по мере накопления результатов использования клапанных аллогraftов очевидным стал факт дегенерации донорских клапанов в отдаленном периоде наблюдения [2, 3, 4]. L. Brock одним из первых описал дегенеративные изменения в виде кальцификации аллогraftов аорты, которые были имплантированы в ходе оперативного вмешательства по поводу аневризмы или коарктации аорты [5].

В ходе проведенных исследований было установлено, что дегенерация и кальцификация ксеногенных биологических клапанных протезов происходит вследствие минерализации тканей клапана и дистрофических процессов в волокнах соединительнотканного каркаса.

Накопление соединений кальция может происходить как непосредственно в ткани створок (внутренняя кальцификация), так и снаружи створок в тромбах или вегетациях при их наличии (наружная кальцификация). Очагами минерализации в тканях клапана становятся клетки и их фрагменты, которые потеряли жизнеспособность, но не были удалены в результате проведения обработки с использованием глютаральдегида. В нежизнеспособных клетках не функционируют физиологические механизмы выведения кальция. В то же время клеточные мембраны и другие внутриклеточные структуры имеют высокое содержание соединений фосфора (фосфолипиды и фосфатные основания нуклеиновых кислот). Они связывают кальций и становятся ядрами кальцификации, которые постепенно разрастаются и сливаются, превращаясь в крупные очаги минерализации, которые нарушают структуру ткани и приводят к дисфункции клапана

[6]. Механическое напряжение, перекрестное химическое связывание, реакция организма реципиента, а также минерализация волокон коллагена и эластина являются независимыми факторами, которые ускоряют описанные выше процессы [7, 8].

Были проведены исследования по изучению причин развития дегенеративных изменений в клапанных аллогraftах и иммунологического ответа организма реципиента в отношении имплантированных аллогенных клапанов. Наиболее быстро структурные изменения в клапанах наблюдаются у пациентов с высокой метаболической и иммунологической активностью, а именно у детей и молодых взрослых [9, 10, 11]. Рядом авторов было подтверждено развитие гуморального иммунного ответа после имплантации клапанных аллогraftов. Так, J.A. Hawkins и соавт. выявили увеличение уровня панели реактивных антител в отношении аллоантигенов HLA класса I (HLA-A, B и C) с $1.9\% \pm 5\%$ до операции до $62\% \pm 33\%$ через 1 месяц, $92\% \pm 15\%$ через 3 месяца и $85\% \pm 18\%$ через 1 год после операции; также отмечалось увеличение уровня антител класса II (anti-HLA-DR/DQ) до $49\% \pm 35\%$ через 1 месяц и до $70\% \pm 26\%$ через 3 месяца после операции (имплантация аортальных и пульмональных аллогraftов в пульмональную позицию) [12]. G. Pomplilio и соавт. провели шестилетний мониторинг донор-специфического иммунного ответа в отношении криосохраненных аортальных аллогraftов, по результатам которого у 89,4% пациентов наблюдалось значительное повышение уровня панели реактивных антител с достижением пиковых значений через 6 месяцев после операции [13]. По данным исследования J.D. Smith и соавт., выработка анти-HLA антител наблюдалась в 56% случаев имплантации аллогraftов, стерилизованных в растворе антибиотиков и в 100% случаев имплантации «гомовитальных» аллогraftов [14].

Также изучалось наличие донор-специфического клеточного иммунного ответа в отношении имплантированных аллогraftов

тов. В исследовании F. Hoekstra и соавт. после эксплантации клапанов проводилось культивирование лимфоцитов в среде, содержащей интерлейкин-2. При фенотипировании было выявлено присутствие рецепторов к Т-клеткам более чем в 95% лимфоцитов, полученных в каждой культуре [15]. S. Numata и соавт. изучали гемодинамические свойства и иммунный ответ в отношении имплантированных аллографтов в модели на карликовых свиньях. В группе криосохраненных аллографтов была четко продемонстрирована инфильтрация воспалительных клеток, главным образом макрофагов и Т-лимфоцитов, в тканях аорты и створках клапана. В интерстициальной зоне створок клапана наблюдались CD68-положительные клетки, окруженные CD3-положительными клетками [16].

Существуют дополнительные факторы, которые вносят вклад в ускорение процессов кальцификации клапанных аллографтов. Они включают имплантацию клапанов без подбора совместимости по системе АВ0, а также применение неоптимальных технологий криоконсервации, что сопровождается образованием кристаллов льда в тканях аллографта [17, 18, 19].

Было предложено большое количество методов по предотвращению кальцификации клапанных аллографтов. Они включают применение краткосрочных курсов циклоспорина А с целью угнетения иммунного ответа организма реципиента, внедрение в аллографты изогенных гладкомышечных клеток перед их имплантацией, обработка клапанов соединениями алюминия, питание с высоким содержанием карбоната лантана (3%) и другие [20, 21, 22, 23].

Вместе с тем, основным и наиболее широко применяемым методом по предотвращению кальцификации является девитализация аллографтов, целью которой является удаление из донорских клапанов клеток, их фрагментов и нуклеиновых кислот [24]. Это приводит к получению клапанного протеза в виде соединительнотканного каркаса, который после имплантации реципиенту заселяется собственными клетками организма *in vivo* [25].

Материалы и методы

В ходе данного исследования выделение, стерилизация, девитализация и криоконсервация аортального аллографта проводилась в соответствии со стандартными

методиками РНПЦ «Кардиология». В соответствии с кратким описанием, после выделения из донорского сердца аллографт стерилизовался в растворе, содержащем ципрофлоксацин, амикацин, метронидазол, ванкомицин и флуконазол. Затем аллографт разделялся на две равные части, одна из которых сразу подвергалась криоконсервации, вторая – девитализации и последующей криоконсервации. Процедура девитализации включала обработку аллографта комбинированным раствором 0,5 % дезоксихолата натрия и 0,5 % додецилсульфата натрия (48 часов); дистиллированной водой (24 часа); раствором Рингера (96 часов). Замена растворов осуществлялась через 12 часов. Криоконсервация девитализированного аллографта проводилась по программе «Allograft 4», которая обеспечивает постепенное охлаждение пакета с аллографтом до температуры минус 130 °С.

Исследование у животных

С целью изучения процессов дистрофического кальциноза *in vivo* проводился эксперимент ускоренной кальцификации путем подкожной имплантации биологического материала молодым (3–5 недель) самкам лабораторных крыс линии Вистар (Wistar) с массой тела 100–120 г. Исследование с участием животных ($n = 30$) выполнялось в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Оперативные вмешательства проводились в условиях внутрибрюшинного тиопенталового наркоза. Подкожная имплантация образцов (10×10 мм) биологического материала производилась с соблюдением правил асептики и антисептики через выполненный по паравертебральной линии разрез длиной 1 см с последующим ушиванием послеоперационной раны нитью Vicryl 4-0 (Ethicon, США). Каждому животному было имплантировано по два образца биологического материала: I – стандартный криосохраненный аллографт аорты; II – девитализированный криосохраненный аллографт аорты (рисунок 1).

С целью удаления остатков реагентов для криоконсервации каждый из образцов биологического материала перед подкожной имплантацией животному был трижды промыт в 0,9 % растворе NaCl по 5 мин.

Животные выводились из эксперимента через 3 месяца ($n = 15$) и через 6 месяцев

($n = 15$) путем внутрибрюшинной инъекции тиопентала натрия в сверхтерапевтической дозе. Извлеченные образцы биологического материала анализировались на предмет содержания кальция с использованием метода атомно-эмиссионной спектрометрии. В качестве контроля использовались исходные образцы тканей аорты стандартных и девитализированных аллогraftов. Извлеченные после подкожной имплантации животным образцы биологического материала проходили процесс пробоподготовки по методу полного выделения кальция и его количественного переноса в раствор. Пробоподготовка начиналась с обезвоживания образцов до постоянной массы при температуре 80°C в течении 3 часов. Далее образцы подвергались минерализации смесью концентрированных серной, азотной кислот и воды в соотношении 1:1:1. Полученную после минерализации жидкость, в которой катионы металлы находились в виде сернокислых солей, разбавляли водой до определенного объема в мерной колбе и использовали для проведения количественного анализа методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой. Для этого минерализат доводился до объема 6 мл, разбавлялся в 50 и 25 раз и измерялся на спектрометре IRIS Interpid II XDL (Thermo Scientific, США) согласно инструкции по его эксплуатации. Полученные данные по концентрации переводились в непосредственное количество кальция в образце и выражались в процентном соотношении массы кальция к массе образца.

Исследование у человека

Имплантация аортальных аллогraftов у человека проводилась по методике «полный корень» (“full root”). Проводилось иссечение аортального клапана и восходящего отдела аорты с выделением устьев коронарных артерий. Проксимальный анастомоз накладывался П-образными швами на прокладках, затем проводилась реимплантация устьев коронарных артерий и наложение дистального анастомоза аллогraftа с восходящим отделом аорты непрерывным обвивным швом полипропиленовой нитью.

Для оценки накопления соединений кальция в имплантированном аллогraftе проводилась компьютерная томография с оценкой зоны реконструкции и применением методики Calcium Scoring для кольца

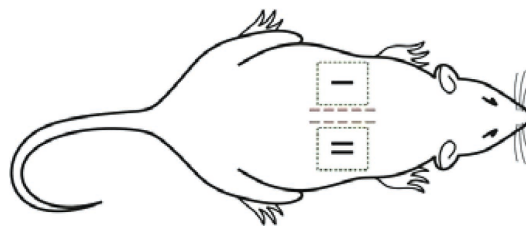


Рисунок 1.
Схема имплантации образцов биологического материала:
I – стандартный криосохраненный аллогraft аорты; II – девитализированный криосохраненный аллогraft аорты

аортального клапана, створок аортального клапана и восходящего отдела аорты. Компьютерная томография выполнялась через 12 суток, 6 месяцев, 1 год и далее каждый год после операции. Для выполнения компьютерной томографии использовался аппарат Somatom Force (Siemens, Германия). С помощью методики Calcium Scoring проводится комплексный анализ площади (мм^2), пиковой плотности (единицы Хаунсфилда), объема (мм^3) и массы кальция (мг кальция гидроксиапатит), а также оценка интегрального показателя CaScore по методу Агатстона.

Статистическая обработка

Обработка полученных данных проводилась с использованием статистических пакетов Excel, Statistica (версия 10.0, StatSoft, Inc., США). Для описания количественных признаков оценивали параметры распределения с использованием критерия Шапиро–Уилка. Сравнение двух независимых групп по количественному признаку проводилось при помощи критерия t-Стьюдента в случае нормального распределения признака в обеих группах и критерия Манна-Уитни при несоответствии распределения эмпирическому закону нормального распределения. При сравнении двух зависимых групп по количественному признаку применяли параметрический метод с вычислением t-критерия Стьюдента для зависимых групп (в случае нормального распределения признака). При распределении признака, отличного от нормального, вычисляли критерий Вилкоксона. Полученные данные интерпретировались как достоверные, а различия между показателями считались значимыми при вероятности безошибочного прогноза равной или большей 95,5 % ($p < 0,05$).

Результаты

Согласно результатам исследования у животных, содержание кальция в образцах стандартных и девитализированных аллогraftов через 3 месяца достоверно не

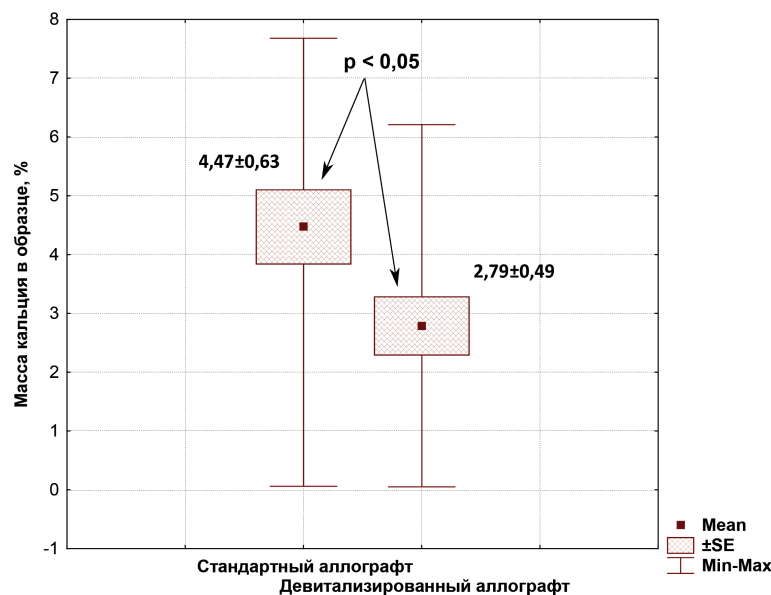
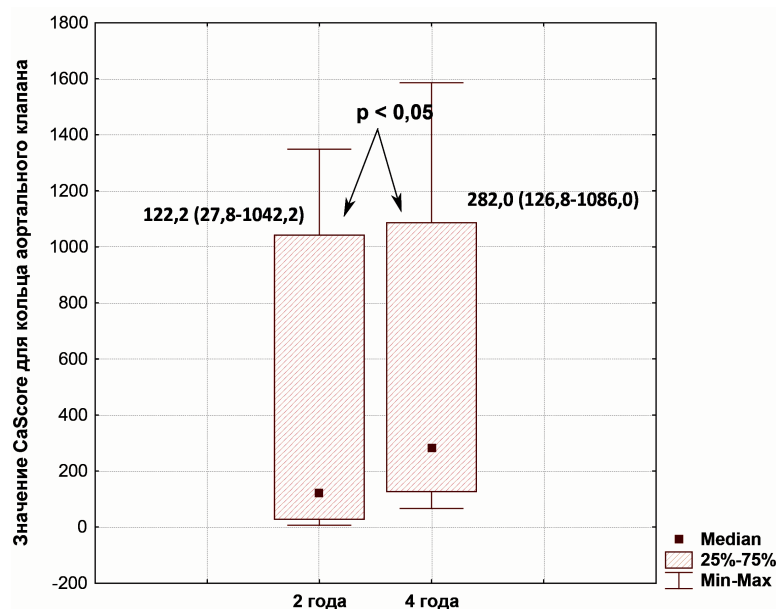


Рисунок 2.
Содержание кальция в стандартных и девитализированных аллогraftах через 6 месяцев после имплантации в эксперименте на животных

различалось: 4,15 (1,48–5,89) и 2,26 (0,74–5,82), соответственно, $p > 0,05$. Вместе с тем, были получены статистически значимые различия для содержания кальция через 6 месяцев: $4,47 \pm 0,63$ и $2,79 \pm 0,49$ для стандартных и девитализированных аллогraftов, соответственно, $p < 0,05$ (рисунок 2).

Рисунок 3.
Динамика показателя CaScore для кольца аортального клапана через 4 года по сравнению с данными, полученными через 2 года после имплантации аортального аллогraftа

При анализе накопления кальция в имплантированных аллогraftах у человека установлено статистически значимое увеличение значения показателя CaScore в динамике через 4 года по сравнению с данными, полученными через 2 года после оперативного вмешательства, для кольца аортального клапана (122,2 (27,8–1042,2) и 282,0 (126,8–1086,0), соответственно, $p < 0,05$) и восходящего отдела аорты (0,0 (0,0–31,3)



и 277,0 (0,0–437,0), соответственно, $p < 0,05$) (рисунки 3 и 4).

При анализе показателя CaScore через 4 года после оперативного вмешательства выявлены достоверные различия между значениями данного параметра для кольца и створок аортального клапана (282,0 (126,8–1086,0) и 0,0 (0,0–1,8), соответственно, $p < 0,01$), а также для восходящего отдела аорты и створок аортального клапана (277,0 (0,0–437,0) и 0,0 (0,0–1,8), соответственно, $p < 0,05$).

Результаты гистологического исследования аортальных аллогraftов иллюстрируют факт того, что содержание клеточного материала в области переходной зоны (кольцо аортального клапана) и в аорте превышает таковое в створке аортального клапана (рисунок 5).

Значительно более выраженное накопление кальция в кольце аортального клапана и в аорте по сравнению со створками аортального клапана подтверждает гипотезу о том, что кальцификация аллогraftа происходит главным образом за счет минерализации клеточных структур. Применение современных методик заготовки и криоконсервации аллогraftов позволяет сохранить жизнеспособность клеток, однако при этом возникает проблема иммунологического ответа, который приводит к структурному повреждению и дегенерации клапана в отдаленном периоде. Наиболее активно указанные процессы протекают у реципиентов молодого возраста. Элиминация донорских клеток и предотвращение инфильтрации воспалительных клеток в послеоперационном периоде позволяет минимизировать иммунный ответ и уменьшить степень повреждения тканей в ранние сроки после оперативного вмешательства. Именно по этой причине девитализация рассматривается как наиболее эффективный механизм предотвращения кальциноза аллогraftа.

Заключение

В соответствии с полученными результатами, установлено достоверно более выраженное накопление соединений кальция в стандартных криоконсервированных аллогraftах по сравнению с девитализированными криоконсервированными аллогraftами при их имплантации подкожно молодым растущим животным (крысы). Выявлено статистически значимое увеличение значения интегрального показателя кальцификации CaScore в динамике через 4 года по

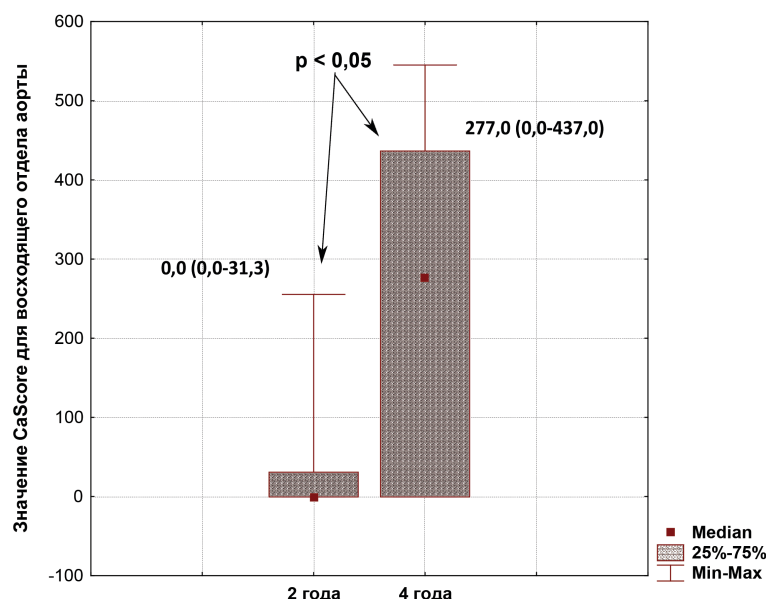


Рисунок 4.
Динамика показателя CaScore для восходящего отдела аорты через 4 года по сравнению с данными, полученными через 2 года после имплантации аортального аллогraftа

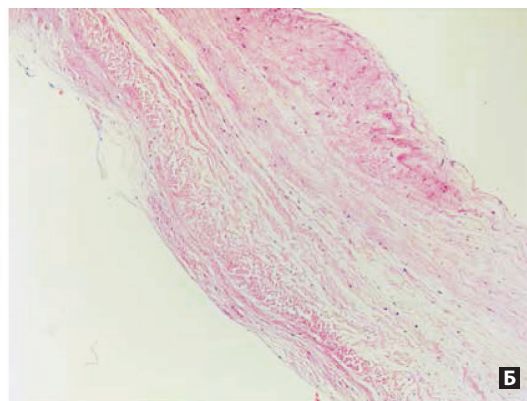
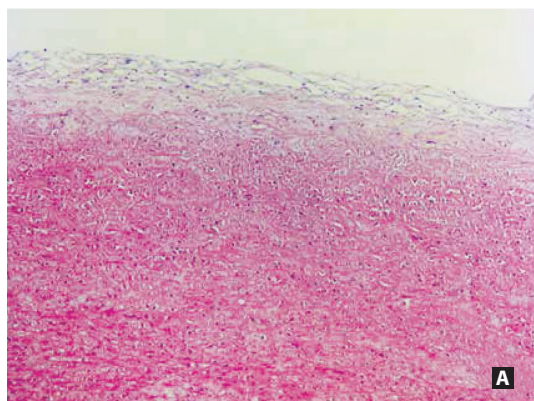


Рисунок 5.
Микроскопическая картина аортального аллогraftа, окраска гематоксилин и эозин: А – аорта при увеличении $\times 100$; Б – створка аортального клапана при увеличении $\times 100$.

сравнению с данными, полученными через 2 года после оперативного вмешательства для кольца аортального клапана и восходящего отдела аорты стандартных криосохраненных аллогraftов. При анализе показателя CaScore через 4 года после оперативного вмешательства выявлены достоверные различия между значениями данного параметра для кольца и створок аортального

клапана, для восходящего отдела аорты и створок аортального клапана стандартных криосохраненных аллогraftов, с меньшими значениями CaScore для створок клапана.

Источник финансирования: нет.

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

References

- Murray G. Homologous aortic-valve-segment transplants as surgical treatment for aortic and mitral insufficiency. *Angiology*, 1956, vol. 7, no. 5, pp. 466–471.
- Kowert A., Vogt F., Beiras-Fernandez A., Reichart B., Kilian E. Outcome after homograft redo operation in aortic position. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2012, vol. 41, no. 2, pp. 404–408. doi: 10.1016/j.ejcts.2011.04.043.
- Bekkers J.A., Klieverik L.M., Raap G.B., Takkenberg J.J., Bogers A.J. Re-operations for aortic allograft root failure: experience from a 21-year single-center prospective follow-up study. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2011, vol. 40, no. 1, pp. 35–42. doi: 10.1016/j.ejcts.2010.11.025.
- Yuan S.M., Mishaly D., Shinfeld A., Raanani E. Right ventricular outflow tract reconstruction: valved conduit of choice and clinical outcomes. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 2008, vol. 9, no. 4, pp. 327–337. doi: 10.2459/JCM.0b013e32821626ce.
- Brock L. Long-term degenerative changes in aortic segment homografts, with particular reference to calcification. *Thorax*, 1968, vol. 23, no. 3, pp. 249–255.
- Sacks M.S., Schoen F.J. Collagen fiber disruption occurs independent of calcification in clinically explanted bioprosthetic heart valves. *J Biomed Mater Res*, 2002, vol. 62, no. 3, pp. 359–371.
- Schoen F.J., Levy R.J. Calcification of tissue heart valve substitutes: progress toward understanding and prevention. *Ann Thorac Surg*, 2005, vol. 79, no. 3, pp. 1072–1080.
- Giachelli C.M. The emerging role of phosphate in vascular calcification. *Kidney Int*, 2009, vol. 75, no. 9, pp. 890–897. doi: 10.1038/ki.2008.644.
- Smedira N.G., Blackstone E.H., Roselli E.E., Laffey C.C., Cosgrove D.M. Are allografts the biologic valve of choice for aortic valve replacement in nonelderly patients? Comparison of explantation for structural valve deterioration of allograft and pericardial prostheses. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2006, vol. 131, no. 3, pp. 558–564.e4.
- Mohammadi S., Belli E., Martinovic I., Houyel L., Capderou A., Petit J., Planché C., Serraf A. Surgery for right ventricle to pulmonary artery conduit obstruction: risk factors for further reoperation. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2005, vol. 28, no. 2, pp. 217–222.
- Smith J.D., Hornick P.J., Rasmi N., Rose M.L., Yacoub M.H. Effect of HLA mismatching and antibody status on homovital aortic valve homograft performance. *Ann Thorac Surg*, 1988, vol. 66, suppl 6, pp. 212–215.
- Hawkins J.A., Breinholt J.P., Lambert L.M., Fuller T.C., Profai-zer T., McGough E.C., Shaddy R.E. Class I and class II anti-HLA antibodies after implantation of cryopreserved allograft material in pediatric patients. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2000, vol. 119, no. 2, pp. 324–330.

13. Pompilio G., Polvani G., Piccolo G., Guarino A., Nocco A., Innocente A., Porqueddu M., Dainese L., Veglia F., Sala A., Biglioli P. Six-year monitoring of the donor-specific immune response to cryopreserved aortic allograft valves: implications with valve dysfunction. *Ann Thorac Surg*, 2004, vol. 78, no. 2, pp. 557–563.
14. Smith J.D., Ogino H., Hunt D., Laylor R.M., Rose M.L., Yacoub M.H. Humoral immune response to human aortic valve homografts. *Ann Thorac Surg*, 1995, vol. 60, suppl 2, pp. 127–130.
15. Hoekstra H., Knoop C., Vaessen L., Wassenaar C., Jutte N., Bos E., Bogers A., Weimar W. Donor-specific cellular immune response against human cardiac valve allografts. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1996, vol. 112, no. 2, pp. 281–286.
16. Numata S., Fujisato T., Niwaya K., Ishibashi-Ueda H., Nakatani T., Kitamura S. Immunological and histological evaluation of decellularized allograft in a pig model: comparison with cryopreserved allograft. *J Heart Valve Dis*, 2004, vol. 13, no. 6, pp. 984–990.
17. Christenson J.T., Vala D., Sierra J., Beghetti M., Kalangos A. Blood group incompatibility and accelerated homograft fibrocalcifications. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2004, vol. 127, no. 1, pp. 242–250.
18. Shaddy R.E., Tani L.V., Sturtevant J.E., Lambert L.M., McGough E.C. Effects of homograft blood type and anatomic type on stenosis, regurgitation and calcium in homografts in the pulmonary position. *Am J Cardiol*, 1992, vol. 70, no. 3, pp. 392–393.
19. Narine K., Ing E.C., Cornelissen M., Desomer F., Beele H., Vanlangenhove L., Smet S.D., Nooten G.V. Readily available porcine aortic valve matrices for use in tissue valve engineering. Is cryopreservation an option? *Cryobiology*, 2006, vol. 53, no. 2, pp. 169–181.
20. Chang Q., Jing H., Sun M., Xu P. Exploring the role of short-course cyclosporin a therapy in preventing homograft valve calcification after transplantation. *Cell Immunol*, 2014, vol. 287, no. 1, pp. 36–45. doi: 10.1016/j.cellimm.2013.11.008.
21. Akatov V.S. Snizhenie kal'tsifikatsii beskletochnykh transplantatov klapanov serdtsa putem vnedreniya v nikh pered implantatsiy izogennykh gladkomyshechnykh kletok [Decrease of decellularized heart valves calcification by isogenic smooth muscle cells treatment before implantation]. *Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov*, 2003, no. 4, pp. 64–67. (in Russian).
22. Webb C.L., Nguyen N.M., Schoen F.J., Levy R.J. Calcification of allograft aortic wall in a rat subdermal model. *Am J Pathol*, 1992, vol. 141, no. 2, pp. 487–496.
23. Kinoshita O., Yamauchi H., Motomura N., Ono M. Lanthanum carbonate, a phosphate binder, inhibits calcification of implanted aortic allografts in a rat model. *Gen Thorac Cardiovasc Surg*, 2018, Oct 29. doi: 10.1007/s11748-018-1026-7.
24. Hopkins R.A., Jones A.L., Wolfenbarger L., Moore M.A., Bert A.A., Lofland G.K. Decellularization reduces calcification while improving both durability and 1-year functional results of pulmonary homograft valves in juvenile sheep. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2009, vol. 137, no. 4, pp. 907–913. e1–4. doi: 10.1016/j.jtcvs.2008.12.009.
25. Honge J.L., Funder J., Hansen E., Dohmen P.M., Konertz W., Hasenkamp J.M. Recellularization of aortic valves in pigs. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2011, vol. 39, no. 6, pp. 829–834. doi: 10.1016/j.ejcts.2010.08.054.

Поступила 20.03.2019