Mārtiņš Kalējs

**OPTIMĀLI SIRDS VĀRSTUĻU
BIOPROTĒŽU
STRUKTŪRKOMPONENTU
MEHĀNISKIE PARAMETRI
UN ATBILSTOŠA
AIZVIETOTĀJMATERIĀLA
IZVĒLE**

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai
Specialitāte – medicīniskā biomehānika, sirds ķirurģija

Rīga, 2014

RĪGAS STRADIŅA
UNIVERSITĀTE

Mārtiņš Kalējs

**OPTIMĀLI SIRDS VĀRSTUĻU
STRUKTŪRKOMPONENTU
MEHĀNISKIE PARAMETRI
UN ATBILSTOŠA
AIZVIETOTĀJMATERIĀLA
IZVĒLE**

Promocijas darba kopsavilkums
medicīnas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – medicīniskā biomehānika, sirds ķirurģija

Rīga, 2014

Promocijas darbs izstrādāts laikposmā no 2007. līdz 2013. gadam:
VSIA Paula Stradiņa KUS, Sirds ķirurģijas centrā; Rīgas Stradiņa universitātes Biomehānikas laboratorijā; Rīgas Stradiņa universitātes, Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūtā; *Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV)*, Lozannā, Šveicē.

Darba zinātniskais vadītājs:

Dr. med. asociētais profesors **Pēteris Stradiņš**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Darba zinātniskie konsultanti:

Dr. habil. med. profesors **Romans Lācis**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. habil. med. profesore **Iveta Ozolanta**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. habil. sc. ing. profesors **Vladimirs Kasjanovs**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Oficiālie recenzenti:

Dr. habil. med. profesors **Aigars Pētersons**, Rīgas Stradiņa universitāte, Latvija

Dr. habil. sc. ing. profesors **Ivars Knēts**, Rīgas Tehniskā universitāte, Latvija

Dr. med. profesors **David Taggart**, Oksfordas universitāte, Apvienotā Karaliste

Promocijas darba aizstāvēšana notiks 2014. gada 14. maijā plkst. 15.00
Rīgas Stradiņa universitātes Medicīnas promocijas padomes atklātā sēdē Rīgā,
Dzirciema ielā 16, Hipokrāta auditorijā.

Ar promocijas darbu var iepazīties RSU bibliotēkā un RSU mājas lapā:
www.rsu.lv

Promocijas darbs veikts ar Eiropas sociālā fonda projekta “Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” finansiālu atbalstu, vienošanās Nr.: 2011/0056/IPD/1.1.2.1.2/11/IPIA/VIAA/006

Promocijas padomes sekretārs:

Dr. habil. med. profesors **Andrejs Skaģers**

SATURS

1. IEVADS	5
1.1. Pētījuma mērķis	7
1.2. Pētījuma uzdevumi	7
1.3. Pētījuma hipotēzes	9
1.4. Pētījuma novitāte	9
1.5. Pētījuma praktiskais pielietojums	10
1.6. Promocijas darba struktūra	10
2. MATERIĀLS UN METODES	10
2.1. Aortas vārstuļa un bioprotēžu lapiņu mehānisko īpašību noteikšana	11
2.2. Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehānisko īpašību noteikšana	13
2.3. Polimēru nanošķiedru materiālu izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem	16
2.3.1. Sintētiskā un bioloģiskā materiāla mehānisko īpašību pētījumi vienass noslogojuma stendā	17
2.3.2. Šūnu kultūra uz polimēru nanošķiedru materiāla	19
2.4. Datu analīze	19
3. REZULTĀTI	20
3.1. Aortas vārstuļa un bioprotēžu lapiņu mehāniskās īpašības	20
3.2. Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehāniskās īpašības	22
3.3. Polimēru nanošķiedru materiālu izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem	24
3.3.1. Nanomateriālu biosaderība ar COS-7 šūnām <i>in vitro</i>	26
3.3.2. Nanomateriālu mehāniskās īpašības pēc 6 nedēļu <i>in vitro</i> kultivēšanas ar fibroblastu šūnām	27

4. DISKUSIJA	29
4.1. Lapiņu mehānisko īpašību nozīmīgums vārstuļu protēžu ilgmūžībai	29
4.2. Bioprotēžu stentu mehānisko īpašību potenciālais nozīmīgums vārstuļu protēžu ilgmūžībai	31
4.3. Nanomateriālu atbilstība vārstuļu mehāniskajām īpašībām.....	32
4.4. Pētījuma trūkumi un ierobežojumi.....	34
5. SECINĀJUMI	35
6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS	36
7. PERSPEKTĪVIE TURPMĀKO PĒTĪJUMU VIRZIENI	37
8. ZINĀTNISKĀS PUBLIKĀCIJAS.....	38
9. ZIŅOJUMI PAR DARBA REZULTĀTIEM	40
10. IZMANTOTĀ LITERATŪRA	40
11. PATEICĪBAS	46

1. IEVADS

Sirds vārstuļu kaites ir plaši izplatīta un potenciāli dzīvību apdraudoša slimību grupa, kas skar ~ 2,5% no kopējās populācijas ekonomiski attīstītajās valstīs. Ar pieaugošu vecumu to izplatība palielinās un sasniedz pat 11,7% starp cilvēkiem, kas ir vecāki par 75 gadiem. Pieaugot vecumam, jo īpaši pieaug tieši aortālā vārstuļa stenozes izplatība, kas kļuvusi par visizplatītāko sirds vārstuļu kaiti attīstītajās pasaules valstīs [8, 21].

Visā pasaulē joprojām ir aktuāli cilvēka aortas vārstuļa labāka aizstājēja meklējumi. Pašlaik klīniskajā praksē visbiežāk pielietotās ir mehāniskās un bioloģiskās vārstuļu protēzes. Aortālā vārstuļa protezēšanas operācijās, īpaši vecāka gadu gājuma pacientiem, ļoti nozīmīgu vietu ieņem vārstuļu bioprotēzes, kas tiek izgatavotas no īpaši apstrādātiem cūkas aortas vārstuļiem vai liellopa perikarda. Šo vārstuļu galvenais mīnuss ir to ierobežotā ilgmūžība, ko galvenokārt nosaka bioprotēžu kalcificējošā deģenerācija pēc implantācijas organismā [32]. Tādēļ notiek aktīvi meklējumi, lai atrastu ideālu, pēc iespējas ilgmūžīgāku materiālu bioprotēžu izgatavošanai.

Pašreizējo bioprotēžu izgatavošanā lietotā biomateriāla paātrināto kalcifikāciju daļēji nosaka tā apstrāde ar glutāraldehīdu, kas pati par sevi veicina kalcija sāļu izgulsnēšanos [32], tādēļ dažādu moderno bioprotēžu izgatavošanas procesā tiek pielietotas atšķirīgas, bieži slepenībā turētas, pēcapstrādes metodes, kas ir paredzētas tam, lai mazinātu materiāla kalcificēšanos. Biomateriāla apstrāde ar glutāraldehīdu arī izmaina tā mehāniskās īpašības [2, 25], audi kļūst rigīdāki un izmainās sprieguma sadalījums tajos, kas var kalpot kā papildus veicinošs faktors mehāniskam bojājumam un kalcinozei [41].

Taču publiski nav pieejami dati, kur tiktu salīdzinātas šo jau praksē izmantoto biomateriālu mehāniskās īpašības. Šie dati ir nepieciešami, lai

izvērtētu, kura no metodēm ļauj saglabāt mehāniskās īpašības, kas ir salīdzināmas ar natīvo cilvēka aortas vārstuli. Vairāki autori ir izteikuši savas bažas, ka ne tik daudz kalcifikācija, bet arī no natīvā vārstuļa atšķirīgās mehāniskās īpašības un sprieguma sadalījums lapiņās ir faktors, kas var novest pie to disfunkcijas [41].

Vēl vairāk sprieguma sadalījumu vārstuļa lapiņās ietekmē to fiksējošā aparāta rigiditāte. Šis apgalvojums ir ticis pārliecinoši apstiprināts matemātiski modelējot sprieguma sadalījumu bioprotēžu lapiņās [3]. Rīgids fiksējošais stents palielina mehānisko slodzi vārstuļa lapiņām, īpaši komisūru reģionam, ar kuru lapiņas ir fiksētas pie stenta.

Šis pētījums šobrīd ir īpaši aktuāls, jo sirds ķirurģijas praksē ļoti strauji ienāk aortas vārstuļa stentprotēzes, kuru fiksējošie stenti ir praktiski bez jebkādas radiālās deformējamības un par kuru ilgmūžību pašlaik vēl nav datu. Šī pētījuma rezultāti potenciāli ļautu prognozēt šo protēžu ilgmūžību, kā arī varētu sniegt norādījumus par to, kādām mehāniskajām īpašībām ir jāatbilst nākamās paaudzes stentprotēzēm.

Neskatoties uz trūkumiem, vārstuļu bioprotēzes ir viena no veiksmīgākajām medicīnas ierīcēm, kas radītas no bioloģiskajiem audiem. No nedzīviem, ķīmiski apstrādātiem audiem – cūkas aortas vārstuļiem vai liellopa perikarda radītās bioprotēzes ir pierādījušas sevi kā lielisku produktu īstermiņā (līdz 10–15 gadiem), biosaderības ziņā ievērojami pārspējot mehāniskās vārstuļu protēzes. To nodrošina imunoloģiskai sistēmai atpazīstamu svešu šūnu komponentu neesamība, natīvajam vārstulim pietuvinātas mehāniskās īpašības, pateicoties kolagēna šķiedru līdzībai starp dažādām dzīvnieku valsts sugām. No citas puses, dzīvu šūnu trūkums bioprotēzēs nosaka vairākus to trūkumus, piemēram: 1) nespēju atjaunot ekstracelulārās matricēs komponentus, tai skaitā kolagēnu, 2) nespēju reparēt audu noguruma radītos bojājumus, 3) nespēju aktīvi pretoties infekcijai, 4) nespēju pretoties kalcifikācijai, 5) nespēju augt un remodelēties [34]. Kaut arī šie trūkumi ir zināmi jau daudzus gadu desmitus,

bioprotēzes turpina ieņemt nozīmīgu lomu vārstuļu kaišu ārstēšanā, pateicoties to labi prognozējamajai izturībai un paredzamajiem rezultātiem. Tomēr tas neaptur pētniekus meklēt jaunus veidus un iespējas radīt ideālu sirds vārstuļu aizvietotāju, kuram nebūtu raksturīgi bioprotēžu trūkumi. Audu inženierija pēdējos gados ir izvirzījies priekšplānā kā metode, kas varētu sniegt atbildi šai problēmai. Viena no aortas vārstuļa audu inženierijas neatrisinātajām problēmām ir piemērotas matricas izvēle šim mērķim. Tai pēc mehāniskajām īpašībām jāatbilst natīvajam sirds aortas vārstulim, tai jābūt biosaderīgai, kā arī, ideālā gadījumā, biodegradablai noteiktā laikā, kas nav īsāks par šūnu spēju radīt jaunu saistaudu šķiedru karkasu.

1.1. Pētījuma mērķis

Balstoties uz natīva cūkas aortas vārstuļa un bioprotēžu biomehānisko īpašību pētījumiem, noteikt optimālus aortas vārstuļa protēzes lapiņu un to fiksējošo karkasu mehāniskos parametrus jaunu bioprotēžu izgatavošanai.

Papildu mērķis

Piemeklēt optimālu polimēru nanošķiedru materiālu, kuru izmantot kā matrici sirds aortas vārstuļa protēžu lapiņu iegūšanai audu inženierijas ceļā, kura mehāniskās īpašības visvairāk atbilst natīvajām aortas vārstuļa lapiņām.

1.2. Pētījuma uzdevumi

Pētījums tematiski sadalīts trīs daļās:

- Aortas vārstuļa un bioprotēžu lapiņu mehānisko īpašību pētījumi
 1. Veikt mehānisko īpašību pētījumus vienass noslogojuma stendā natīvām cūkas aortas vārstuļa lapiņām, kā arī dažādu klīniskajā praksē plaši pielietotu bioprotēžu lapiņām.

2. Noteikt mehānisko īpašību robežas, kurām jāatbilst aortas vārstuļu bioprotēžu lapiņu materiālam.
- Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehānisko īpašību pētījumi
 1. Veikt natīvas cūkas aortas saknes un dažādu bioprotēžu fiksējošo karkasu radiālās deformējamības izpēti pseidostatiska spiediena sistēmā ar sonomikrometrijas palīdzību.
 2. Apkopojot datus par aortas saknes un bioprotēžu stentu deformējamību, noteikt mehānisko īpašību robežas, kurām jāatbilst bioprotēžu fiksējošajiem karkasiem.
 - Polimēru nanošķiedru materiālu izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem
 1. Veikt mehānisko īpašību pētījumus vienass noslogojuma stendā dažādu polimēru nanošķiedru elektrovērpšanas ceļā iegūtiem materiāliem.
 2. Atbilstoši iepriekš noteiktajiem kritērijiem piemeklēt pēc mehāniskajām īpašībām vispiemērotāko nanošķiedru materiālu aortas vārstuļa lapiņu audu inženierijas mērķiem.
 3. Pārbaudīt izvēlētajā nanošķiedru materiāla biosaderību ar COS-7 šūnām, novērtējot dzīvo šūnu proporciju pēc 6 nedēļu kultivācijas uz pārbaudāmā materiāla.
 4. Pārbaudīt nanošķiedru materiālu noturību pret biodegradāciju *in-vitro*, nosakot to mehāniskās īpašības vienass noslogojuma stendā pēc 6 nedēļu kultivēšanas ar COS-7 šūnām.

1.3. Pētījuma hipotēzes

1. Komerciāli pieejamo bioprotēžu lapiņu un to fiksējošo karkasu mehāniskie parametri ievērojami atšķiras no natīvā aortas vārstuļa lapiņām un natīvās aortas saknes.
2. Ir iespējams atrast polimēru nanošķiedru materiālu, kas mehānisko īpašību ziņā ir salīdzināms ar natīvā aortas vārstuļa lapiņām un kas vienlaicīgi ir biosaderīgs un pietiekami noturīgs pret pāragru biodegradāciju.

1.4. Pētījuma novitāte

Darba pamatideja ir, izvērtējot vairākas esošās bioprotēzes ar labiem attālajiem rezultātiem un „zelta standartu” natīvo aortas vārstuli, definēt mehānisko īpašību robežas bioprotēžu struktūrkomponentēm: lapiņām un fiksējošajiem karkasiem. Līdz šim ir bijuši salīdzinoši daudz pētījumu par natīvo lapiņu mehāniskajām īpašībām, mazāk par bioprotēzēm, bet neviens līdz šim nav mēģinājis definēt vēlamās to mehānisko īpašību robežas. Šinī darbā pirmo reizi tiek definētas mehāniskās īpašības, pēc kurām vadīties, izvērtējot jaunus biomateriālus un apstrādes metodes bioprotēžu lapiņu radīšanai.

Pētījumi par bioprotēžu fiksējošo karkasu radiālo deformējamību iztrūkst. Tomēr daudzās publikācijās tiek īpaši uzsvērts, ka fiksējošā karkasa lokanībai ir ļoti svarīga loma bioprotēžu ilgstošai funkcionēšanai. Šinī darbā pirmo reizi tiek definētas minimālās un optimālās radiālās deformācijas vērtības, kurām jāatbilst jaunu standarta un transkatetra bioprotēžu fiksējošajiem karkasiem.

Viena no aortas vārstuļa audu inženierijas neatrisinātajām problēmām ir piemērotas matricas izvēle šim mērķim. Šinī darbā tiek piedāvāts oriģināls risinājums, kurš ļauj iegūt kombinētu materiālu, kas pēc mehāniskajām

īpašībām atbilst natīvajam sirds aortas vārstulim, ir biosaderīgs un ar lēnu biodegradāciju.

1.5. Pētījuma praktiskais pielietojums

Definētās mehānisko īpašību robežas bioprotēžu lapiņu materiālam var izmantot jaunu biomateriālu un to apstrādes metožu izvērtēšanai.

Definētās radiālās deformējamības robežas var pielietot radot jaunas klasiskās, kā arī transkatetra aortas vārstuļa bioprotēzes. Īpaša loma šiem datiem ir tieši izstrādājot transkatetra protēzes, jo to fiksējošajiem stentiem ir jābūt ar salīdzinoši lielu radiālo spēku, kas nodrošina to fiksāciju fibrozajā gredzenā.

Jaunais nanošķiedru materiāla dizains potenciāli pielietojams sirds aortas vārstuļa lapiņu audu inženierijā kā matrice šūnu kultivēšanai.

1.6. Promocijas darba struktūra

Promocijas darbs uzrakstīts latviešu valodā un sastāv no 14 nodaļām. Kopējais apjoms ir 114 lappuses, tai skaitā 34 attēli, 7 tabulas un 3 pielikumi. Literatūras sarakstā ietvertas 192 vēres.

2. MATERIĀLS UN METODES

Eksperimentālie pētījumi veikti ar Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Attīstības biedrības klīniskās izpētes ētikas komisijas atļauju.

Iestādes, kurās veikti eksperimentālie pētījumi:

- VSIA Paula Stradiņa KUS, Sirds ķirurģijas centrs, Rīga, Latvija;
- Rīgas Stradiņa universitāte, Biomehānikas laboratorija, Rīga, Latvija;

- Rīgas Stradiņa universitāte, Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūts, Rīga, Latvija;
- Centre hospitalier universitaire vaudois – CHUV , Lozanna, Šveice.

2.1. Aortas vārstuļa un bioprotēžu lapiņu mehānisko īpašību noteikšana

Vadoties pēc *Mavrlis* un *Missirlis* un mūsu grupas [10, 16] agrāk veiktajiem vienass noslogojuma testiem ar natīviem un ķīmiski apstrādātiem cūkas un cilvēka aortas vārstuļiem, kopumā to īpašības ir salīdzināmas. Natīvam cūkas vārstuļu materiālam piemīt tikai salīdzinoši nedomāz lielāka deformējamība un mazāka rigiditāte, kā cilvēka vārstuļu materiālam. Tādēļ manā pētījumā tika izvēlēts cūkas aortas vārstuļa materiāls galvenokārt tā pieejamības dēļ, salīdzinājumā ar patoloģiski neizmainītu cilvēka vārstuļu audu materiālu. Salīdzinājums ar agrāk gūtajiem datiem par cilvēka vārstuļa mehāniskajām īpašībām netika veikts atšķirīgo izmantoto testēšanas ierīču dēļ agrākajos pētījumos un tagad, kas radītu lielu kļūdu salīdzināmajos datos.

Mehānisko īpašību pētījumiem izmantoju aortas vārstuļu lapiņas, kas tika iegūtas no 10 cūku sirdīm, kas tika iegādātas no kautuves, ne vēlāk kā 24 stundu laikā pēc dzīvnieka nāves iestāšanās. Vārstuļu lapiņas tika ekscidētas gar to pamatni un uzglabātas fizioloģiskajā šķīdumā maksimāli līdz 12 h pirms testu veikšanas. No aortas vārstuļa lapiņām tika sagatavoti paraugi 14 gareniskā virzienā un 13 radiālā virzienā kā parādīts 2.1. attēlā, izgriežot vismaz 15 mm garus un tieši 3,5 mm platus paraugus.

2.1. att. Virzieni kādos tika izgriezti paraugi no aortas vārstuļa lapiņām: A) radiālais un B) garenvirziens

Ar natīvo vārstuļu materiālu salīdzinājām trīs dažādas ksenoaortālas bioprotēzes, no katras pārbaudot pa trim: 3 *EPIC* bioprotēzes - 2.2. att. A (*St. Jude Medical*, Minesota, ASV), 3 *Hancock II* bioprotēzes - 2.2. att. B (*Medtronic inc.*, Mineapole, Minesota, ASV), 3 *Freestyle* bezkarkasa bioprotēzes - 2.2. att. C (*Medtronic inc.*, Mineapole, Minesota, ASV). Lai novērtētu, cik lielā mērā atšķiras bioprotēzes no cita materiāla, pārbaudījām arī 3 ksenoperikardiālas bioprotēzes *Sorin Soprano* - 2.2. att. D (*SORIN S.p.A.*, Milāna, Itālija), kas izgatavotas no apstrādāta liellopa perikarda. Paraugi tika iegūti no bioprotēzēm, kuru derīguma termiņš bija tikko beidzies (līdz 4 nedēļām pēc termiņa beigām). Paraugi tika sagatavoti līdzīgi kā no natīvo vārstuļu lapiņām, līdzīgos virzienos kā atainots 2.1. attēlā.

Gan natīvo vārstuļu, gan bioprotēžu lapiņu testēšanas metodika ir aprakstīta detalizēti šī darba sadaļā 2.3.1.

2.2. att. Pētījumā izmantotās bioprotēzes: A) *St. Jude Medical Epic*, B) *Medtronic Hancock II*, C) *Medtronic Freestyle*, D) *Sorin Soprano*

Avots: A) <http://cdn.medgadget.com/img/54355sjm2.jpg>; B) http://img.medicalexpo.com/images_me/photo-g/aortic-valve-bioprostheses-porcine-70691-3020049.jpg; C) http://www.ctsnet.org/vendor_graphics/products/401.jpg; D) http://img.medicalexpo.com/images_me/photo-mg/aortic-valve-bioprostheses-70922-96641.jpg

2.2. Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehānisko īpašību noteikšana

Fiksējošo karkasu deformējamības pētījumiem tika izmantotas sekojošas bioprotēzes: *Medtronic Intact* (*Medtronic Blood Systems, Irvine, CA, ASV*) ražota 1988.g. un *Carpentier Edwards Standard* (*American Edwards Laboratories, Irvine, CA, ASV*) ražota 1987. g. Abas bioprotēzes atradās

oriģinālajā iepakojumā un bija uzglabātas istabas temperatūrā. Tās tika salīdzinātas ar 3 dažādu modeļu modernajām tradicionālajām bioprotēzēm ar zināmiem labiem vidēja un ilgtermiņa rezultātiem [20, 39, 43]: *St. Jude Epic* (*St. Jude Medical Inc.*, *St. Paul*, MN, ASV), *Medtronic Hancock II* (*Medtronic Inc.*, *Minneapolis*, MN, ASV), *Sorin Soprano* (*Sorin S.p.A.*, Milāna, Itālija) un *ATS* (*ATS Medical Inc.*, *Minneapolis*, MN, ASV) stentprotēzi – *Enable* ar nitinola stentu implantācijai aortālā pozīcijā vaļējā ceļā.

Visas protēzes tika pārbaudītas pie 3 dažādiem transvalvulārā spiediena gradientiem: 0–10 mmHg, 70–90 mmHg un 120–140 mmHg, izmantojot 3 TRX 2mm sonomikrometrijas zondes (*Sonometrics Corp.*, *London*, *Ontario*, *Canada*), kas tika fiksētas vārstuļu lapiņu komisūru piestiprināšanas vietās –

2.3. attēls.

**2.3. att. Sonomikrometrijas zonžu
izvietojums uz bioprotēzes un ap tām
apvilkta rīņķa līnija**

In vitro eksperiments tika veikts speciāli izveidotā testa sistēmā (skat. 2.4. attēlu). Lai izvērtētu dažādo protēžu karkasu mehāniskās īpašības, tika

salīdzinātas ap trīs sonomikrometrijas zondēm apvilktas riņķa līnijas rādiusa vērtības dinamikā, mainoties transvalvulārajam spiediena gradientam.

2.4. att. Pētījumā izmantotās testēšanas iekārtas shēma

- 1 – protēzes fiksējošā kamera;
- 2 – kamera ar divām atverēm;
- 3 – konteiners ar istabas temperatūras 0,9% NaCl šķīdumu;
- 4 – oklūzijas sūknis;
- 5 – sistēma reālā laika spiediena fiksēšanai;
- 6 – endoskops;
- 7 – endoskopa “tornis”;
- 8 – trīs sonomikrometra zondes fiksētas komisūru līmenī.

Vidējās rādiusa vērtības tika aprēķinātas pēc 3 mērījumiem no 2400 starpzonžu distanču vērtībām, kas tika iegūtas ar frekvenci 626 Hz. Aprēķinos tika pielietota formula $R = abc/4S$, kur a , b , c – attiecīgie starpzonžu attālumi un S – trīs zonžu izveidotā trīsstūra laukums, kas tika aprēķināts, izmantojot Hērona formulu.

Šie dati tika salīdzināti ar 3 cūku (svars: 51 ± 2 kg) aortas sakņu mehāniskajām īpašībām sinotubulārā savienojuma līmenī. Testa metodika bija līdzīga – 3 sonomikrometrijas zondes tika piefiksētas pie aortas sienas komisūru līmenī un aortas sakne tika iemontēta testa sistēmā, lai pakļautu sekojošiem spiedieniem: 0-10 mmHg, 70–90 mmHg un 120–140 mmHg. Procentuālās rādiusa izmaiņas tika noteiktas katrai atsevišķajai aortai un no šīm vērtībām tika aprēķināta vidējā deformējamība $\pm$ standartnovirze.

Diastoles rādiuss aortas saknei un protēzēm tika aprēķināts pie transvalvulārā spiediena gradienta 70–90 mmHg, sistoles rādiuss – saknei pie 120–140 mmHg (atbilst spiedienam sistoles laikā), protēzēm pie 0–10 mmHg (atbilst transvalvulārā spiediena gradientam sistoles laikā). Deformējamība definēta kā relatīvais rādiusa pieaugums procentos, izmainot transvalvulārā spiediena gradientu no diastolei atbilstošā uz sistolei atbilstošu.

2.3. Polimēru nanošķiedru materiālu izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem

Ar elektrovērpšanas metodi radītie nanošķiedru materiāli tika izgatavoti pēc pasūtījuma Čehijas kompānijā Elmarco (*Elmarco s.r.o., Liberec*, Čehija) no vairākiem polimēru materiāliem, ieskaitot, želatīnu, poliuretānu (PUR), polilaktātu (PLA) un polikaprolaktonu (PCL). Tie tika izgatavoti ar atšķirīgu nanošķiedru diametru un dažādu laukuma blīvumu: PUR 6,2 un 10,4 g/m², PCL 3,86 un 12,0, un 15,7 g/m², PLA 5,2 un 11,0 g/m², želatīns 5,7 g/m². Materiāli tika izgatavoti pēc individuāla pasūtījuma un Elmarco nodrošināja arī katra materiāla skenējošās elektronmikroskopijas attēlus. Visu materiālu biezums tika noteikts uz vietas izmantojot katetometru MK-6 (LOMO, Sanktpēterburga, Krievija) ar precizitāti $\pm 0,01$ mm. Mehānisko īpašību pētījumiem materiāls tika sagriezts 3,5 mm platos un 20 mm garos paraugos. No katra materiāla sloksnes tika izgriezti 5 paraugi, kuriem tika pārbaudītas mehāniskās īpašības.

2.3.1. Sintētiskā un bioloģiskā materiāla mehānisko īpašību pētījumi vienass noslogojuma stendā

Biomehāniskās īpašības tika noteiktas vienass slogojuma stendā *Zwick/Roell BDO-FB0.5TS*, kas aprīkots ar 50 N spēka tenzodevēju. Stends tika izmantots savienojumā ar datoru ar testXpert programmatūru, kas paredzēta testēšanas ierīces vadībai un datu apstrādei. Paraugi slogošanai no vārstuļu lapiņām tika izgriezti 3,5 mm plati un ~15 līdz 30 mm gari radiālā un garenvirzienā (īsākais paraugu garums bija paraugiem radiālā virzienā), skat. 2.1. att. Visām vārstuļu un bioprotēžu lapiņām, kā arī nanomateriāliem, pirms biomehānisko īpašību pārbaudes tika mērīts biezums ar katetometru MK-6 (LOMO, Sanktpēterburga, Krievija), mērījumu precizitāte $\pm 0,01$ mm. Paraugi tika deformēti ar ātrumu 5 mm/min līdz paraugu saplīšanai. Maksimālā (graujošā) deformācija ($\epsilon_{\max}$) un maksimālais (graujošais) spriegums ($\sigma_{\max}$) tika noteikti katram paraugam. Paraugu cietība tika izteikta kā pieskares elastības modulis (E) un noteikta sprieguma – deformācijas līknes lineārajā daļā kā tangenss leņķim, kurš veidojas starp koordinātu assi un pieskari līknei tās lineārajā daļā (leņķis β attēlā 2.5.).

2.5. att. Piemērs sprieguma – deformācijas līknei un galvenajiem nosakāmajiem mehāniskajiem parametriem.

Paraugi, ņemot vērā to nelielos izmērus, jo īpaši mazo biezumu, tika nostiprināti slogojuma stendā ar speciāli konstruēta fiksatora palīdzību, kas redzams 2.6. attēlā.

**2.6. att. Vienass slogojuma stends *Zwick/Roell BDO-FB0.5TS*,
redzamas speciāli konstruētās fiksācijas spaiļes.
Ar bultiņu atzīmēts testējamais paraugs.**

Vienass noslogojuma stendā iegūtie dati tika apstrādāti ar *testXpert* programmatūru, turpmākai analīzei, izmantojot šo programmu, noteikti paraugu graužošais spriegums, graužošā deformācijā, kā arī to pieskares elastības modulis to sprieguma deformācijas līknes lineārajā daļā.

2.3.2. Šūnu kultūra uz polimēru nanošķiedru materiāla

Rūpīgākai pārbaudei tika izvēlēti trīs materiāli želatīns ar laukuma blīvumu $5,7 \text{ g/m}^2$, PCL – $15,7 \text{ g/m}^2$ un PUR – $6,2 \text{ g/m}^2$. Pārbaudīto materiālu paraugi tika ievietoti standarta 8 iedobju šūnu kultūras platēs un kultivēti 6 nedēļas ar COS-7 šūnām, kas sākotnēji izdalītas no Āfrikas zaļā pērtiķa nieru fibroblastu šūnu līnijas (ATCC 1651 CRL). Šūnas tika uzturētas *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) ar 5% fetālo teļa serumu pie 37°C mitrinātā 5% CO_2 atmosfērā. Vide tika mainīta 2 reizes nedēļā. Pēc 6 nedēļu kultivēšanas šūnu dzīvotspēja tika novērtēta izmantojot akridīna oranžā un etīdija bromīda krāsojumu, kuru pielietojot dzīvās šūnas fluorescentajā gaismā krāsojas zaļā, bet mirušās šūnas oranžā krāsā. Dzīvo/mirušo šūnu kvantifikācijai tika skaitītas šūnas mikroskopijas redzes laukos, 200 šūnas katram paraugam, no kurām tika aprēķināta dzīvo šūnu proporcija.

2.4. Datu analīze

Eksperimentālie dati tika apstrādāti ar programmu SPSS for Windows 16.0 (SPSS Inc., Čikāga, IL, ASV) un *Microsoft Excel* (Microsoft, Redmond, WA, ASV). Analīzei lietotas aprakstošās un analītiskās statistikas metodes – aprēķināta vidējā vērtība, standartnovirze. Vidējās vērtības starp 2 atsevišķām paraugu grupām tika salīdzinātas izmantojot Stjūdenta T-testu. Divi lielumi uzskatīti par statistiski nozīmīgi atšķirīgiem, ja starpības ticamības līmenis starp tiem ir lielāks kā 95 % ($p < 0,05$). Vidējās vērtības starp 3 un vairāk atsevišķām paraugu grupām tika salīdzinātas izmantojot viena parametra *ANOVA* testu un atbilstošos *post hoc* testus.

3. REZULTĀTI

3.1. Aortas vārstuļa un bioprotēžu lapiņu mehāniskās īpašības

Kopumā tika pārbaudīti 14 paraugi garenvirzienā un 13 paraugi radiāli, kombinējot aortas vārstuļa lapiņas no dažādām sirdīm. Aprēķinot vidējās vērtības, garenvirzienā natīvā aortas vārstuļa lapiņu elastības modulis ir $9,7 \pm 1,3$ MPa, graužoais spriegums $2,3 \pm 0,6$ MPa un graužoā deformācija $44,8 \pm 5,9$ %. Savukārt radiālā virzienā attiecīgie parametri bija sekojoši: elastības modulis ir $1,0 \pm 0,2$ MPa, graužoais spriegums $0,5 \pm 0,2$ MPa un graužoā deformācija $95,6 \pm 31,4$ %. Sprieguma deformācijas līknes no atsevišķiem eksperimentiem cūkas vārstuļa lapiņām abos testētajos virzienos var redzēt 3.1. attēlā, kur skaidri iezīmējās materiāla mehānisko īpašību atšķirības pārbaudītajos virzienos.

3.1. att. Sprieguma-deformācijas līknes no atsevišķiem eksperimentiem cūkas vārstuļa lapiņām:
A) radiālā un B) garenvirzienā

Visu pārbaudīto bioprotēžu mehānisko īpašību apkopojums ir atainots 3.1. tabulā, kas ietver sevī visu bioprotēžu lapiņu elastības moduļa (E), graužoā sprieguma ($\sigma_{\max}$) un graužoās deformācijas ($\epsilon_{\max}$) vidējās vērtības $\pm$ standartnovirze gan garenvirzienā, gan radiālā virzienā.

3.1. tabula

Natīvā vārstuļa un bioprotēžu mehānisko īpašību apkopojums

	E (Mpa)	$\sigma_{\max}$ (Mpa)	$\epsilon_{\max}$ (%)
Cūkas aortas vārstulis, garenvirzienā	$9,7 \pm 1,3$	$2,3 \pm 0,6$	$44,8 \pm 5,9$
Cūkas aortas vārstulis, radiāli	$1,0 \pm 0,2$	$0,5 \pm 0,2$	$95,6 \pm 31,4$
<i>Epic</i> , garenvirzienā	$19,7 \pm 3,9$	$3,8 \pm 0,7$	$28,7 \pm 6,3$
<i>Epic</i> , radiāli	$2,0 \pm 0,3$	$0,8 \pm 0,2$	$53,0 \pm 19,8$
<i>Freestyle</i> , garenvirzienā	$9,0 \pm 3,0$	$2,8 \pm 0,5$	$64,9 \pm 10,3$
<i>Freestyle</i> , radiāli	$0,8 \pm 0,3$	$0,4 \pm 0,1$	$89,0 \pm 13,9$
<i>Hancock II</i> , garenvirzienā	$22,5 \pm 2,2$	$4,7 \pm 0,2$	$36,8 \pm 9,1$
<i>Hancock II</i> , radiāli	$2,5 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,0$	$58,3 \pm 13,2$
<i>Soprano</i> , garenvirzienā	$29,5 \pm 6,0$	$8,9 \pm 1,2$	$56,9 \pm 9,3$
<i>Soprano</i> , radiāli	$15,8 \pm 5,4$	$5,2 \pm 0,9$	$65,2 \pm 10,4$

Pārbaudītajām bioprotēzēm ir natīvajam aortas vārstulim līdzīgs nelineārs sprieguma-deformācijas līknes raksturs. Taču bioprotēzēm raksturīga lielāka lapiņu rigiditāte, uz ko norāda garenvirzienā aptuveni 2 reizes lielāks elastības modulis *EPIC*, *Hancock II* bioprotēzēm un gandrīz trīs reizes lielāks elastības modulis *Soprano* protēzes lapiņām, kuras materiāls vērtējams kā visrigidākais. *Soprano* protēzei piemīt arī vismazāk izteiktā materiāla anizotropija un tās lapiņas radiālā virzienā ir ievērojami rigidākas un mazāk

deformējamas kā ksenoaortālajām bioprotēzēm. Ja *Hancock II* un *Epic* protēžu lapiņas radiālā virzienā ir aptuveni 2,5 un 2 reizes rigīdākas par natīvo vārstuli ($p < 0,05$), tad Soprano protēzei izmantotais liellopa perikards ir vairāk kā 15 reizes rigīdāks par natīvu cūkas aortas vārstuli ($p < 0,001$). *Freestyle* protēze pēc savām mehāniskajām īpašībām visvairāk atbilst natīvajam vārstulim. Šīs atšķirības starp bioprotēzēm nav vis to materiālu uzbūves, bet gan materiāla fiksācijas apstākļu īpatnību dēļ. *Freestyle* tiek fiksēta pie spiediena, kas ir tuvs 0 mmHg, savukārt pārējās protēzes tiek fiksētas pie lielāka spiediena (precīzs spiediens tiek turēts slepenībā), pie kura to saistaudu šķiedras fiksējas jau daļēji izstieptā stāvoklī un tādējādi samazinās to deformējamība [2, 25]. Šis jautājums tiks vairāk apskatīts diskusijas sadaļā. Apkopojot natīvo vārstulu un dažādu bioprotēžu mehānisko īpašību rādītājus ir iespējams izveidot neizsmeļošu pieļaujamo mehānisko īpašību robežu kopsavilkumu, kas atrodama šī darba sadaļā „Praktiskās rekomendācijas”.

3.2. Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehāniskās īpašības

Rezultāti apkopoti 3.2. tabulā. Diastoles rādiuss aortas saknei un protēzēm tika aprēķināts pie transvalvulārā spiediena gradienta 70–90 mmHg, sistoles rādiuss – saknei pie 120–140 mmHg (atbilst spiedienam sistoles laikā), protēzēm pie 0–10 mmHg (atbilst transvalvulārā spiediena gradientam sistoles laikā). Deformējamība definēta kā relatīvais rādiusa pieaugums procentos, izmainot transvalvulārā spiediena gradientu no diastolei atbilstošā uz sistolei atbilstošu.

Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehāniskās īpašības

	Protēzes R komisūru fiksācijas līmenī, mm			R pieaugums (%) diastole – sistole
Transvalvulārā spiediena gradients, mmHg	0–10 (sistole)	70–90 (diastole)	120–140	
<i>Edwards CES</i> (1987.g.)	7,99	7,35	7,20	8,70
<i>Medtronic Intact</i> (1988.g.)	7,24	6,97	6,85	3,87
<i>Medtronic Hancock II</i>	10,24	9,96	9,78	2,85
<i>Sorin Soprano</i>	10,37	10,07	9,95	2,99
<i>St. Jude Epic</i>	8,76	8,66	8,65	1,18
<i>ATS 3F Enable</i>	11,66	11,32	11,13	3,00
Transvalvulārā spiediena gradients, mmHg	0–10	70–90 (diastole)	120–140 (sistole)	
Neapstrādāta aortas sakne	11,64 ± 1,70	14,38 ± 3,10	15,40 ± 2,80	7,09 ± 2,20

Deformējamības rādītāji tradicionālajām bioprotēzēm svārstās no 1,18% *St. Jude Epic* līdz pat 8,7% *Carpentier Edwards Standard*, kuras materiāla padevīgums pārspēj natīvas cūkas aortas saknes audus. Vidējais padevīgums visu tradicionālo bioprotēžu grupā ar labiem attālajiem un vidēja termiņa rezultātiem ir $3,9 \pm 2,8\%$. Šai vidējai vērtībai aptuveni atbilst otra no vecajām bioprotēzēm – *Medtronic Intact* ar deformējamību 3,87%. Vienīgās

pārbaudītās vaļēji implantējamās stentprotēzes *ATS 3F Enable* stenta padevīgums ir tieši 3,0%. Taču vidējā deformējamība vecajām bioprotēzēm ir $6,3 \pm 3,4\%$, ievērojami augstāka par $2,3 \pm 1,0\%$ ($p < 0,05$), kas ir vidējā deformējamība modernajām standarta bioprotēzēm.

3.3. Polimēru nanošķiedru materiālu izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem

Dažādu nanošķiedru materiālu mehānisko īpašību apkopojums pirms šūnu kultūras redzams 3.3. tabulā, kurā ērtības labad iekļauti arī dati par natīva cūkas aortas vārstuļa lapiņām.

3.3. tabula

Neapstrādāta polimēru nanošķiedru materiāla mehāniskās īpašības

	E (MPa)	$\sigma_{\max}$ (Mpa)	$\epsilon_{\max}$ (%)
Cūkas aortas vārstulis, garenvirzienā	$9,70 \pm 1,30$	$2,30 \pm 0,60$	$44,80 \pm 5,90$
Cūkas aortas vārstulis, radiāli	$1,00 \pm 0,20$	$0,50 \pm 0,20$	$95,60 \pm 31,40$
PCL $3,86 \text{ g/m}^2$	$0,88 \pm 0,25$	$0,2 \pm 0,03$	$42,80 \pm 5,08$
PCL 12 g/m^2	$0,48 \pm 0,12$	$0,09 \pm 0,02$	$20,79 \pm 3,31$
PCL $15,7 \text{ g/m}^2$	$1,30 \pm 0,20$	$0,30 \pm 0,05$	$37,90 \pm 2,46$
PLA $5,2 \text{ g/m}^2$	$3,35 \pm 0,48$	$0,55 \pm 0,03$	$41,94 \pm 3,67$
PLA 11 g/m^2	$0,23 \pm 0,03$	$0,14 \pm 0,01$	$54,94 \pm 8,15$
Želatīns $5,7 \text{ g/m}^2$	$0,64 \pm 0,14$	$0,38 \pm 0,05$	$82,53 \pm 10,20$
PUR $6,2 \text{ g/m}^2$	$3,90 \pm 0,50$	$5,30 \pm 1,68$	$141,80 \pm 43,90$
PUR $10,4 \text{ g/m}^2$	$4,55 \pm 0,78$	$7,65 \pm 1,65$	$181,06 \pm 39,83$

No pārbaudītajiem materiāliem natīvajam aortas vārstulim garenvirzienā visvairāk atbilda PUR ar laukuma blīvumu $6,2 \text{ g/m}^2$, kura elastības modulis ir $E 3,9 \pm 0,5 \text{ MPa}$ ar graužošo spriegumu un deformāciju $5,3 \pm 1,68 \text{ MPa}$ un $141,8 \pm 43,9 \text{ MPa}$. Sprieguma un deformācijas līknes PUR $6,2 \text{ g/m}^2$ paraugiem salīdzinājumā ar natīvā vārstuļa lapiņām garenvirzienā var redzēt attēlā 3.2. Radiālajam virzienam vislabāk atbilst $5,7 \text{ g/m}^2$ želatīns ar $E 0,64 \pm 0,14 \text{ MPa}$, graužošo spriegumu $0,38 \pm 0,05 \text{ MPa}$ un graužošo deformāciju $82,53 \pm 10,20 \%$. Sprieguma un deformācijas līknes želatīnam $5,7 \text{ g/m}^2$ paraugiem salīdzinājumā ar cūkas aortas vārstuļa lapiņām radiālā virzienā var redzēt 3.3. attēlā

3.2. att. Sprieguma-deformācijas līknes:

A) cūkas aortas vārstulim garenvirzienā un B) PUR $6,2 \text{ g/m}^2$.

Ielikumā – PUR nanošķiedru materiāla skenējošās elektronmikroskopijas attēls

3.3. att. Sprieguma- deformācijas līknes:

A) cūkas aortas vārstulim radiālā virzienā un B) želatīnam 5,7 g/m².

Lielikumā – želatīna nanošķiedru materiāla skenējošās elektronmikroskopijas attēls

3.3.1. Nanomateriālu biosaderība ar COS-7 šūnām *in vitro*

Biosaderība tika pārbaudīta trīs nanošķiedru materiāliem PUR ar laukuma blīvumu 6,2 g/m² un želatīnam, jo to mehāniskās īpašības vislabāk atbilda natīvajam cūkas aortas vārstulim attiecīgi garenvirzienā un radiāli. Pārbaudīts tika arī PCL 15,7 g/m², ņemot vērā lielo pieredzi pielietojot šo polimēru ķirurģijā, kā arī šī materiāla pieņemamo atbilstību natīvajam vārstulim garenvirzienā. Pārbaudītajos apstākļos COS-7 šūnas auga labi uz visiem 3 pārbaudītajiem nanošķiedru materiāliem, veidojot vienmērīgu monoslāni – 3.4. attēls Dzīvo šūnu proporcija pēc 6 nedēļu kultivēšanas sastādīja $90,2 \pm 7,9\%$ uz PUR materiāla paraugiem, $92,6 \pm 7,4\%$ uz PCL materiāla un $88,1 \pm 5,7\%$ uz želatīna bez nozīmīgas atšķirības starp materiāliem un paraugiem.

3.4. att. COS-7 šūnu kultūras fluorescentās mikroskopijas attēli pēc 6 nedēļām kultūrā – akridīna oranžā un etīdija bromide krāsojums:

**A) PCL 15,7 g/m²; B) želatīns 5,7 g/m², C) PUR 6,2 g/m²,
D) PUR 6,2 g/m², ar vairākām redzamām mirušām šūnām oranžā krāsā**

3.3.2. Nanomateriālu mehāniskās īpašības pēc 6 nedēļu *in vitro* kultivēšanas ar fibroblastu šūnām

Mehānisko īpašību pētījumi pēc kultivācijas ar COS-7 šūnām ir apkopoti tabulā 3.4. Nozīmīgi mazinājās PCL graužošais spriegums no $0,49 \pm 0,01$ MPa līdz $0,37 \pm 0,03$ MPa ($p < 0,05$), skatīt 3.5. attēlu A. Savukārt želatīna maksimālā deformējamība palielinājās no $87,2 \pm 13,8\%$ līdz $157,1 \pm 15,2\%$ ($p < 0,05$), skatīt 3.5. attēlu B. PUR materiāla paraugiem netika novērotas nozīmīgas izmaiņas mehāniskajās īpašībās pirms un pēc kultivācijas. Jāatzīmē, ka nevienam no testētajiem materiāliem ilgstošas kultivācijas ar COS-7 šūnām iespaidā nemainījās elastības modulis – tabula 3.4.

**Nanošķiedru materiālu mehāniskās īpašības pirms un
pēc 6 nedēļu kultivācijas ar COS-7 šūnām**

	E (MPa)	σ M (Mpa)	σ X (%)
PCL 15,7 g/m ²	2,10 ± 0,10	0,49 ± 0,01	34,70 ± 4,00
PCL 15,7 g/m ² (COS-7)	2,20 ± 0,10	0,37 ± 0,03	28,50 ± 1,00
Želatīns 5,7 g/m ²	0,73 ± 0,17	0,43 ± 0,09	87,20 ± 13,80
Želatīns 5,7 g/m ² (COS-7)	0,62 ± 0,16	0,45 ± 0,08	157,10 ± 15,20
PUR 6,2 g/m ²	3,90 ± 0,50	5,30 ± 1,70	141,80 ± 43,90
PUR 6,2 g/m ² (COS-7)	4,20 ± 0,60	4,70 ± 2,10	153,60 ± 51,00

3.5. att. Sprieguma-deformācijas līknes no viena eksperimenta nanošķiedru materiālam PCL 15,7 g/m² un želatīnam: A) PCL - pirms kultivēšanas ar šūnām līknes, kas sniedzas virs dubultās raustītās līnijas, pēc kultivēšanas – zem raustītās līnijas, B) želatīns - pirms kultivēšanas ar šūnām līknes, kas ir pa kreisi no raustītās līnijas, pēc kultivēšanas – pa labi aiz raustītās līnijas

4. DISKUSIJA

4.1. Lapiņu mehānisko īpašību nozīmīgums vārstuļu protēžu ilgmūžībai

Eksperimentu rezultāti parādīja, ka aortas vārstuļa lapiņu mehāniskās īpašības ir atšķirīgas radiālā un garenvirzienā, kas ir saskaņā ar agrāk publicētiem datiem par šī materiāla anizotropiju [11, 23, 29, 35]. To nosaka vārstuļa lapiņu ultrastruktūra – precīzāk saistaudu šķiedru orientācija vārstuļa lapiņās. Vairāki autori ir nodemonstrējuši, ka elastīgās šķiedras ir izvietotas aptuveni vienādi visos virzienos, bet kolagēna šķiedras galvenokārt garenvirzienā [28, 35]. Šinī pētījumā tika nodemonstrēts, ka graužošais spriegums natīvam cūkas aortas vārstulim garenvirzienā ir par 4,6 reizēm lielāks nekā radiālā, ko var skaidrot ar kolagēna šķiedru koncentrāciju šajā virzienā. Līdzīgi elastības modulis ir pat 9,7 reizes lielāks garenvirzienā, līdzīgus rezultātus novēroja arī *Sauren* un *Missirlis* ar kolēģiem [18, 29] cūkas vārstuļu audiem – viņi ziņoja par elastības moduli, kas ir pat 21 reizi lielāks garenvirzienā.

Kā tas ticis demonstrēts agrāk [2, 25] bioprotēžu audu mehāniskās īpašības lielā mērā nosaka tas, vai tie tiek fiksēti noslogotā, vai nenoslogotā veidā. Fiksācija noslogotā stāvoklī izsauc līknes nobīdi pa kreisi – sprieguma ass virzienā, jo, fiksējot noslogotā stāvoklī, kolagēna šķiedras tiek nofiksētas jau atritinātā stāvoklī.

Nemot vērā agrāko pētījumu rezultātus un teorētiskus apsvērumus *Mano Thubrikar* un kolēģi nonāca pie secinājuma, ka, lai adekvāti funkcionētu, vārstuļu lapiņām ir nepieciešama materiāla mehāniskā divējādība ar lielu deformējamību pie neliela sprieguma un mehāniska izturība un materiāla rigīdums lielāka sprieguma situācijās [7, 36]. Mehāniskā izturība ir īpaši nepieciešama diastoles laikā, lai novērstu lapiņu prolabēšanos un pārlietu izstiepšanos. No otras puses augsta deformējamība un elastīgums nepieciešami sistoles sākumdaļā – tas nepieciešams, lai vārstulis varētu atvērties pēc iespējas

ātrāk un efektīvāk. Pārejā no diastoles uz sistoli un atpakaļ, vārstuļa lapiņas izliekums mainās pilnībā uz pretējo pusi, kam ir nepieciešams, lai lapiņas rigiditāte būtu pēc iespējas mazāka. Šī fleksijas rigiditāte ir tieši proporcionāla audu elastības modulim un to biezumam [37]. Attiecīgi vārstuļu protēžu lapiņas, kuras ir daudz rigīdākas fiksācijas dēļ, katra sirds cikla laikā tiek pakļautas daudz lielākam fleksijas spriegumam un tas var izraisīt paātrinātu audu defektu veidošanos, salīdzinājumā ar vārstuļu lapiņām, kurām deformējamība ir saglabāta natīvo audu līmenī. Nesen veiktā pētījumā *Miranjafi* un kolēģi parādīja, ka reģions, kurš ir pakļauts fleksijas deformācijai ir komisūru reģions – vārstuļa lapiņas sirds cikla laikā rotē par ~ 65 grādiem šinī reģionā [17]. Tādējādi šis reģions ir pakļauts izteiktam spriegumam fleksijas deformācijas dēļ un arī asins retrogrādās plūsmas radītā noslogojuma diastoles laikā dēļ. To apstiprina novērojumi, ka bioprotēzes tiek bieži bojātas tieši komisūru reģionā [36]. Fleksijas radīts nogurums tiek uzskatīts par vienu no biežākajiem cēloņiem lapiņu plīsumam [36, 42]. *Arcidiacono* un kolēģi [1] ar datormodelēšanas palīdzību nodemonstrēja, ka pat nelielas izmaiņas materiāla rigiditātē ievērojami ietekmē vārstuļa atvēršanās un slēgšanās dinamiku, uz-sverot mehānisko īpašību viendabīguma nozīmi vienas vārstuļa lapiņas ietvaros.

Dati par to, ka bioprotēžu mehāniskās īpašības ievērojami atšķiras no natīvo vārstuļu mehāniskajām īpašībām ir saskaņā ar daudzajām publikācijām par nekalcinējošu bioprotēžu lapiņu deģenerāciju [26, 41]. Kaut gan visticamāk šie divi procesi – pakāpeniska strukturāla deģenerācija un kalcifikācija darbojas roku rokā. To apstiprina vairāki pētījumi, kas demonstrē, ka kalcifikācija bieži sākas paaugstināta sprieguma un deformācijas zonās [13, 31, 37], tālāk audu kalcifikācija veicina deformējamības mazināšanos un rigiditātes pieaugumu, kas izraisa fleksijas sprieguma palielināšanos un veicina turpmāku bojājumu veidošanos. Kaut gan, runājot par modernajām bioprotēzēm, kalcifikācija vairs netiek minēta kā galvenais disfunkcijas cēlonis, uzsvars vairāk tiek likts uz mehānisku faktoru izraisītiem bojājumiem [41].

4.2. Bioprotēžu stentu mehānisko īpašību potenciālais nozīmīgums vārstuļu protēžu ilgmūžībai

Pētījuma rezultāti liecina par to, ka vecākās, 2. paaudzes bioprotēzes tika radītas ar salīdzinoši padevīgākiem fiksējošajiem karkasiem nekā modernās bioprotēzes. Jāatzīmē, ka arī abu agrīnāko bioprotēžu deformējamība ir savstarpēji ievērojami atšķirīga 3,87% *Medtronic Intact* un 8,7% *Carpentier Edwards* (CE) *Standard*. Ievērojami atšķiras arī materiāli, kas izmantoti šo protēžu ražošanā Medtronic vārstulim fiksējošā stenta pamatā ir karkass no polimēru materiāla, savukārt, CE vārstuļa karkass ir no īpaša metālu sakausējuma – *Elgiloy*. Taču abu šo vārstuļu attālie rezultāti ir vienlīdzīgi labi [5, 6, 9], kas ļauj domāt, ka arī 3,87% ir pieņemams deformējamības rādītājs. Salīdzinot ar natīvas aortas saknes mehāniskajām īpašībām, CE vārstuļa karkass ir pat padevīgāks. Savukārt visi jaunākās paaudzes vārstuļu stenti ir salīdzinoši rigīdāki, ar zemāku stenta padevību salīdzinājumā ar agrīnās paaudzes bioprotēžu vidējo un natīvas aortas saknes deformējamību. Taču arī šo moderno protēžu attālie rezultāti ir ļoti labi [20, 39, 43]. Tādēļ jo grūtāk atbildēt uz jautājumu, kāda būtu nepieciešamā vārstuļa karkasa minimālā deformējamība. Ja šis jautājums no tehniskā viedokļa nav pārāk nozīmīgs radot standarta bioprotēzes, tad pavisam citu nozīmīgumu tas iegūst radot jaunas stentprotēzes, jo tās savā pozīcijā aortas fibrozā gredzena līmenī notur tikai fiksējošā stenta radiālais spēks. Šī iemesla dēļ stentprotēžu stentam vienlaicīgi jābūt pietiekami rigīdam, lai tas noturētu vārstuli implantācijas pozīcijā un pietiekami padevīgam, lai tas neradītu mehāniskus bojājumus vārstuļa lapiņām. Pētījumā tika testēta viena jaunākās paaudzes stentprotēze – *ATS Enable*, kura tikai pavisam nesen ir ienākusi medicīnas preču tirgū un ir paredzēta implantācijai aortā standarta ķirurģiskā ceļā. Šīs protēzes stents ir izgatavots no nitinola un tā radiālā deformējamība ir 3%, kas ir pat vairāk kā modernajām standarta bioprotēzēm. Par šo vārstuli gan pašlaik ir zināmi tikai agrīnie

rezultāti [15, 27]. Taču, ņemot vērā, ka trans-katetra vārstuļu protēžu lauks ļoti strauji attīstās [38], parādās aizvien jaunas stentprotēzes, kuru stenti ir gatavoti no dažādiem materiāliem, ieskaitot nerūsējošo tēraudu. Šie stenti subjektīvi šķiet ļoti rigīdi, jo tiem ir jāsaglabā pareiza vārstuļa ģeometriskā konfigurācija izteikti kalcinētā aortas saknē kā arī jānofiksē protēze pareizā anatomiskajā pozīcijā. Attiecīgi lielas bažas rada šo protēžu ilgmūžība, vai tās nepiedzīvos pirmās paaudzes bioprotēzēm līdzīgu likteni. Tieši šīs protēzes, izvērtējot to sniegumu ilgtermiņā, daļēji spēs sniegt atbildi, vai stenta deformējamībai ir klīniska nozīme.

4.3. Nanomateriālu atbilstība vārstuļu mehāniskajām īpašībām

Polimēru materiāla matricēs audu inženierijā ar dažādām sekmēm tiek izmantotas jau ilgstoši [30]. Dažādi polimēri, gan dabīgi, gan sintētiski un to kombinācijas ir tikuši pielietoti dažādiem audu inženierijas mērķiem [4, 14, 33]. Dažāda tipa polimēru matricēs ir pielietotas agrāk arī sirds vārstuļu lapiņu audu inženierijai [19, 24, 30]. Mūsu pārbaudītie polimēru materiāli ir labi zināmi un, piemēram, PCL ir ticis izmantots ķirurģijā jau vairākas dekādes – tā bioloģiskās īpašības, ieskaitot biodegradāciju ir labi zināmas un aprakstītas [22, 44]. Taču, līdz šim nav tikušas aprakstītas izmaiņas PCL, PUR un želatīna mehānisko īpašību izmaiņas pirms un pēc ilgstošas kultivācijas ar fibroblastu šūnām.

PCL ir labi piemērots materiāls audu inženierijai, lai radītu audus, kuriem jāiztur liela mehāniska slodze, piemēram, skrimšļus, kaulus un arī sirds vārstuļu materiālu, jo tā biodegradācijas ātrums ir samērā lēns [44] *in vivo*. Kaut arī eksperimentāli iegūtie rezultāti liecina par graujošā sprieguma samazināšanos par ~25 % pēc 6 nedēļām kultūrā *in vitro*, no praktiskā

skatupunkta tam nav būtiskas nozīmes, jo fizioloģiskos apstākļos vārstuļa noslogojums nekad nesasniegtu apmērus, kādi tika pārbaudīti un jo vairāk tādēļ, ka materiāla elastības modulis pirms un pēc kultūras ar šūnām nemainījās.

Želatīns kaut arī ļoti plaši izmantots vēl joprojām ir diezgan vāji aprakstīts materiāls, ko iegūst no dabīgā kolagēna. Tomēr tas ir ļoti populārs modernajā biomedicīnas sfērā un tiek plaši pielietots kā zāļu un šūnu transportieris/matrice [12, 14]. Tā mehāniskās un bioloģiskās īpašības ir plaši pētītas [14, 40]. Manis veiktajā pētījumā pēc 6 nedēļām kultūrā želatīns nezaudēja savu mehānisko izturību, bet gan ieguva lielāku deformējamību, kuras iemeslus grūti izskaidrot bez ultrastruktūras pētījumiem. Praktiski pielietojot želatīna nanošķiedru materiālus tas varētu radīt sarežģījumus, izraisot vārstuļa lapiņu, kas radītas tikai no šī materiāla pārlietu stiepšanos un iespējams pat lapiņu prolapsu.

Ņemot vērā aortas vārstuļu lapiņu anizotropijas nozīmīgumu vārstuļa optimālai funkcionēšanai, kā tas tika apspriests sadaļā 6.1., neviens no pārbaudītajiem nanošķiedru materiāliem nav ideāli piemērots tā aizstāšanai. Kaut arī PUR salīdzinoši vislabāk atbilst natīvā vārstuļa garenvirzienam, kuram visnozīmīgākais ir materiāla izturīgums un stingrība, tas ir pārāk rigīds, lai varētu nodrošināt radiālajam virzienam nepieciešamo materiāla padevīgumu. Savukārt želatīnam piemīt izteikts materiāla padevīgums un deformējamība, taču iztrūkst mehāniskās izturības. Kā iespējams risinājums varētu kalpot kombinēts nanošķiedru materiāls izgatavots elektrovērpšanas ceļā no želatīna un PUR, kurā šo polimēru šķiedras būtu izvietotas savstarpēji perpendikulāri. Respektīvi, PUR šķiedras būtu galvenokārt izvietotas garenvirzienā, savukārt, želatīna šķiedras radiālā virzienā.

4.4. Pētījuma trūkumi un ierobežojumi

Galvenais pētījuma trūkums ir tas, ka tas tika veikts *in vitro* kontrolētas, relatīvi nemainīgas vides apstākļos. Attiecīgi, dati par materiālu biodegradāciju, kas iegūti no kultivēšanas ar COS-7 šūnām nevar tikt ekstrapolēti uz *in vivo* situāciju, kur vides apstākļi ir ļoti dinamiski, kur materiāls tiktu pakļauts dažādiem gan mehāniskiem, gan bioloģiskiem faktoriem. Līdzīgi, kaut arī kultivēšana ar COS-7 šūnām ļauj spriest par materiāla biosaderību ar šīm konkrētajām šūnām, tā neļauj izdarīt drošus vispārinātus spriedumus par pārbaudīto materiālu potenciālo biosaderīgumu *in vivo* vai par biosaderību ar citām šūnu līnijām.

Pētījums par bioprotēžu karkasu mehāniskajām īpašībām tika veikts tikai ar vienu katra parauga protēzi, kaut arī atkārtotos eksperimentos. Lai arī bioprotēžu fiksējošie karkasi ir tie, kuru ražošanu ir iespējams visprecīzāk standartizēt, pastāv iespēja, ka pārbaudot vairākus katras protēzes eksemplārus tiktu atklāta nozīmīga rādītāju variabilitāte, kuras izvērtēšana konkrētajā pētījumā netika veikta. Bioprotēžu skaitu, kas bija pieejams fiksējošo karkasu pētīšanai diktēja ne tikai finansiālie apsvērumi, bet arī fakts, ka, piemēram, divas vecākās bioprotēzes *CE Standart* un *Medtronic Intact* bija saglabājušās tikai vienā eksemplārā, kā arī *ATS Enable* no ražotāja tika laipni piedāvāta tikai vienā eksemplārā. Līdzīga problēma attiecināma uz bioprotēžu lapiņu pētījumiem, kuriem bija pieejamas pa trim no katras bioprotēzes, kas kopā sniedz 9 lapiņas no katras bioprotēzes. Tas dotajā pētījumā bija pietiekami, lai iegūtu statistiski nozīmīgus rezultātus, galvenokārt pateicoties salīdzinoši nelielajai iegūtu rezultātu variabilitātei starp atsevišķu bioprotēžu paraugiem.

5. SECINĀJUMI

Secinājumi I: Aortas vārstuļa un bioprotēžu lapiņu mehānisko īpašību noteikšana

Sirds aortas vārstuļa bioprotēžu lapiņu mehāniskās īpašības nozīmīgi atšķiras no natīvajiem cūkas aortas vārstuļa lapiņu audiem. To mehāniskās īpašības ir dažādas, ko nosaka to dažādie fiksācijas apstākļi un izmantotais biomateriāls.

Visām pārbaudītajām bioprotēzēm piemīt natīvajiem vārstuļu audiem līdzīga nelineāra sprieguma – deformācijas attiecība un anizotropija.

Secinājumi II: Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehānisko īpašību noteikšana

Pārbaudītās agrīnās paaudzes bioprotēzes ir ar padevīgākiem fiksējošajiem karkasiem salīdzinājumā ar modernajām protēzēm.

Minimālās bioprotēžu fiksējošā karkasa deformējamības vērtības ir 1,2% ksenoaortālajām un 3,0% ksenoperikardiālajām bioprotēzēm.

Secinājumi III: Polimēru nanošķiedru materiāla izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem

No nanošķiedru materiāliem pēc mehāniskajām īpašībām vislabāk radiālajam aortas vārstuļa lapiņu virzienam atbilst želatīns un garenvirzienam – poliuretāns. Lai visprecīzāk modelētu natīvo vārstuļu lapiņu mehāniskās īpašības, ieteicams kombinēts materiāls ar savstarpēji perpendikulāri izvietotām želatīna un poliuretāna šķiedrām.

Ilgstošā kultūrā ar COS-7 šūnām tika pierādīta pārbaudīto polimēru nanošķiedru materiālu biosaderība.

Pārbaudītie materiāli ir pielietojami sirds vārstuļu lapiņu audu inženierijas nolūkiem, pateicoties to biosaderībai un pietiekami lēnajai biodegradācijai.

6. PRAKTISKĀS REKOMENDĀCIJAS

A. Rekomendējamās aortas vārstuļa lapiņu aizvietojošā materiāla mehānisko īpašību robežas ir apkopotas 6.1. tabulā.

Jāņem vērā, ka nav iespējams apgalvot, ka bioprotēzes kas neatbilst šiem kritērijiem būtu pakļautas ātrākai degradācijai, jo tas netika pētīts. Iespējams tikai apgalvot, ka bioprotēzes, kuru lapiņu mehāniskās īpašības iekļaujas noteiktajās robežās būs ar apmierinošu kalpošanas laiku, vismaz cik tas ir atkarīgs no protēžu lapiņu materiāla.

6.1. tabula

Rekomendētās aortas vārstuļa bioprotēžu lapiņu materiāla mehāniskās īpašības

Elastības modulis, Mpa			
	Min	Optimāli	Max
Garenvirzienā	9,0	9,7	29,5
Radiāli	0,8	1,0	15,8
Grujošais spriegums, Mpa			
	Min	Optimāli	Max
Garenvirzienā	2,3	2,3	8,9
Radiāli	0,4	0,5	5,2
Grujošā deformācija, %			
	Min	Optimāli	Max
Garenvirzienā	28,7	44,8	64,9
Radiāli	53,0	95,6	95,6

- B. Rekomendējamās aortas vārstuļa bioprotēžu fiksējošo karkasu mehāniskās īpašības, kas balstītas uz bioprotēžu un aortas saknes pētījumiem ir apkopotas tabulā 6.2.

6.2. tabula

**Rekomendējamās aortas vārstuļa bioprotēžu fiksējošo karkasu
mehāniskās īpašības**

Radiālā deformējamība, %		
Min	Optimāli	Max
[*] 1,2	7,1	8,7
[#] 3,0		

^{*} ksenoaortālām bioprotēzēm

[#] ksenoperikarda bioprotēzēm

- C. Lai visprecīzāk modelētu natīvo vārstuļu lapiņu mehāniskās īpašības, ieteicams kombinēts materiāls ar savstarpēji perpendikulāri izvietotām želatīna un poliuretāna šķiedrām. Želatīna šķiedras nodrošinātu radiālajam virzienam tik svarīgo deformējamību, savukārt, poliuretāna šķiedras garenvirzienam svarīgo mehānisko izturību.

7. PERSPEKTĪVIE TURPMĀKO PĒTĪJUMU VIRZIENI

Sirds vārstuļu bioprotēžu izstrāde ir pielietojamās zinātnes joma, kurā pašreiz ir ļoti daudz inovāciju, kas skar gan jaunu protēžu veidu, gan to ievades ceļu, gan jaunu materiālu izstrādi. Šī pētījuma rezultāti vistiešākajā veidā

stimulē turpmākos pētījumus tieši jaunu protēžu un to struktūrkomponentu izstrādē. Kā galvenais perspektīvais nākotnes pētījumu virziens būtu jāmin autologa audu inženierijas ceļā radīta sirds vārstuļu aizvietotāja izstrāde. Iestrādes šādiem pētījumiem jau manāmas šinī darbā, jo praktiskajās rekomendācijās tiek definēts ideālais materiāls, kas būtu piemērots vārstuļa viru radīšanai audu inženierijas ceļā. Nākotnes pētījumi vistiešākajā mērā būtu saistāmi ar šāda kompozīta materiāla radīšanu un tā padziļinātu izpēti, izvērtējot gan tā reālās mehāniskās īpašības, gan biosaderību, gan šūnu infiltrēšanās spēju tajā u.c. Viennozīmīgi perspektīva ir arī citu jaunradīto polimēru nanošķiedru materiālu pārbaude, kultivējot ar cilmes šūnām, izvērtējot šūnu infiltrāciju atkarībā no materiāla porainības un šķiedru diametra. Šie ir aspekti, no kuriem vistiešākajā veidā ir atkarīgs audu inženierijas metožu sekmīgums.

8. ZINĀTNISKĀS PUBLIKĀCIJAS

1. Kalejs M., Stradins P., Lacis R., et al. Search for Electrospun Nanofiber Materials Matching the Mechanical Properties of Native Aortic Valve // International Journal Of Materials, Mechanics And Manufacturing, 2013; 1 (3): 261–264.
2. Stradins P., Kalejs M., Priedite V., et al. Fibroblast Growth on Nanofiber Material Matrices and Changes to Their Mechanical Properties // International Journal Of Materials, Mechanics And Manufacturing, 2013; 1 (4): 328–331.
3. Kasyanov V., Moreno-Rodriguez R. A., Kalejs M., et al. Age-Related Analysis of Structural, Biochemical and Mechanical Properties of the Porcine Mitral Heart Valve Leaflets // Connect Tissue Res, 2013; 54 (6): 394–402.

4. Kalejs M., Lacis R., Kasyanov V., et al. Comparison of Radial Deformability of Stent Posts of Different Aortic Bioprostheses // *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2013; 16 (2): 129–133.
5. Stradins P., Kalejs M., Lacis R., et al. Polymer Nanofiber Materials Matching Mechanical Properties of Native Aortic Valve // *RSU Scientific Proceedings*, 2012: 24–30.
6. Stradins P., Kalejs M., Priedite V., et al. Fibroblast Growth on Nanofiber Material Matrices and Changes to Their Mechanical Properties // *RSU Scientific Proceedings*, 2012: 31–35.
7. Kalejs M., Stradins P., Zarova L., et al. Aortic Valve Replacement in Latvia Influenced by an Ageing Population and Transcatheter Procedures – an Update // *Acta Chirurgica Latviensis*, 2011; 11: 94–97.
8. Kalejs M., Stradins P., Lacis R., et al. Deformability Comparison of Stents of Traditional Bioprostheses and Stentprostheses // *RSU Scientific Proceedings*, 2010: 260–266.
9. Kalejs M., Ferrari E., von Segesser LK. Towards No-Scar Cardiac Surgery - Minimally Invasive Access Through Umbilicus for Aortic Valve Replacement // *Eur J Cardiothorac Surg*, 2009; 36 (4): 773–775.
10. Vergnat M., Henaine R., Kalejs M., et al. A New Self-Expanding Aortic Stent Valve With Annular Fixation: In Vitro Haemodynamic Assessment // *Eur J Cardiothorac Surg*, 2009; 35 (6): 970–975.
11. Abdel-Sayed P., Kalejs M., von Segesser L. K. A New Training Set-Up for Trans-Apical Aortic Valve Replacement // *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2009; 8 (6): 599–601.
12. Kalejs M., Stradins P., Lacis R., et al. St Jude Epic Heart Valve Bioprostheses Versus Native Human and Porcine Aortic Valves – Comparison of Mechanical Properties // *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2009; 8 (5): 553–556.

13. Kalejs M., von Segesser L. K. Rapid Prototyping of Compliant Human Aortic Roots for Assessment of Valved Stents // *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2009; 8 (2): 182–186.
14. Stradins P., Kalejs M., Koris A., et al. Changes in Valve Replacement Surgery in Latvia – Influence of an Ageing Population // *Acta Chirurgica Latviensis*, 2007; 7: 16–19.
15. Stradins P., Kalejs M., Koris A., et al. Heart Valve Surgery in Elderly Patients // *RSU Scientific Proceedings*, 2007: 160–165.

9. ZIŅOJUMI PAR DARBA REZULTĀTIEM

Par darba rezultātiem kopā zinātniskās konferencēs ziņots 24 reizes, ziņojumu saraksts pieejams promocijas darba pilna teksta versijā.

10. IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Arcidiacono G., Corvi A., Severi T. Functional Analysis of Bioprosthetic Heart Valves // *Journal of biomechanics*, 2005; 38 (7): 1483–1490.
2. Broom N., Thomson F. J. Influence of Fixation Conditions on the Performance of Glutaraldehyde-Treated Porcine Aortic Valves: Towards a More Scientific Basis // *Thorax*, 1979; 34 (2): 166–176.
3. Christie G. Computer Modelling of Bioprosthetic Heart Valves // *European journal of cardio-thoracic surgery*, 1992; 6 (Supplement 1): S95–S101.

4. Chung S., King M. W. Design Concepts and Strategies for Tissue Engineering Scaffolds // *Biotechnology and applied biochemistry*, 2011; 58 (6): 423–438.
5. De La Fuente A., Sánchez J. R., Fernández J. L. et al. The Medtronic Intact Bioprosthesis: Clinical and Hemodynamic Performance over 13 Years // *Artificial organs*, 2002; 26 (10): 851–855.
6. de la Fuente A., Sánchez R., Imizcoz A. et al. Intact Medtronic and Carpentier Edwards Sav: Clinical and Hemodynamic Outcomes over 13 Years // *Cardiovascular surgery*, 2003; 11 (2): 139–144.
7. DECK J. D., THUBRIKAR M. J., SCHNEIDER P. J., NOLAN S. P. Structure, Stress, and Tissue Repair in Aortic Valve Leaflets // *Cardiovascular research*, 1988; 22 (1): 7–16.
8. Iung B., Baron G., Butchart E. G. et al. A Prospective Survey of Patients with Valvular Heart Disease in Europe: The Euro Heart Survey on Valvular Heart Disease // *European heart journal*, 2003; 24 (13): 1231–1243.
9. Jamieson W., Miyagishima R., Burr L. et al. Carpentier-Edwards Porcine Bioprostheses: Clinical Performance Assessed by Actual Analysis // *The Journal of heart valve disease*, 2000; 9 (4): 530–542.
10. Kalejs M., Stradins P., Lacis R. et al. St Jude Epic Heart Valve Bioprostheses Versus Native Human and Porcine Aortic Valves - Comparison of Mechanical Properties // *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*, 2009; 8 (5): 553–556.
11. Kasyanov V., Ozolanta I., Purinya B. et al. Compliance of a Biocomposite Vascular Tissue in Longitudinal and Circumferential Directions as a Basis for Creating Artificial Substitutes // *Mechanics of composite materials*, 2003; 39 (4): 347–358.

12. Kumari A., Yadav S. K., Yadav S. C. Biodegradable Polymeric Nanoparticles Based Drug Delivery Systems // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2010; 75 (1): 1–18.
13. Levy R. J., Schoen F. J., Levy J. T. et al. Biologic Determinants of Dystrophic Calcification and Osteocalcin Deposition in Glutaraldehyde-Preserved Porcine Aortic Valve Leaflets Implanted Subcutaneously in Rats // *The American journal of pathology*, 1983; 113 (2): 143–151.
14. Li M., Mondrinos M. J., Gandhi M. R. et al. Electrospun Protein Fibers as Matrices for Tissue Engineering // *Biomaterials*, 2005; 26 (30): 5999–6008.
15. Martens S., Ploss A., Sirat S. et al. Sutureless Aortic Valve Replacement with the 3f Enable Aortic Bioprosthesis // *The Annals of thoracic surgery*, 2009; 87 (6): 1914–1917.
16. Mavrilas D., Missirlis Y. An Approach to the Optimization of Preparation of Bioprosthetic Heart Valves // *Journal of biomechanics*, 1991; 24 (5): 331–339.
17. Mirnajafi A., Raymer J. M., McClure L. R., Sacks M. S. The Flexural Rigidity of the Aortic Valve Leaflet in the Commissural Region // *Journal of biomechanics*, 2006; 39 (16): 2966–2973.
18. Missirlis Y. F., Chong M. Aortic Valve Mechanics--Part I: Material Properties of Natural Porcine Aortic Valves // *Journal of bioengineering*, 1978; 2 (3-4): 287–300.
19. Mol A., Smits A. I., Bouten C. V., Baaijens F. P. Tissue Engineering of Heart Valves: Advances and Current Challenges // *Expert review of medical devices*, 2009; 6 (3): 259–275.
20. Myken P. S. Seventeen-Year Experience with the St. Jude Medical Biocor Porcine Bioprosthesis // *The Journal of heart valve disease*, 2005; 14 (4): 486–492.

21. Nkomo V. T., Gardin J. M., Skelton T. N. et al. Burden of Valvular Heart Diseases: A Population-Based Study // *The Lancet*, 2006; 368 (9540): 1005–1011.
22. Pitt C. G., Chasalow F., Hibionada Y. et al. Aliphatic Polyesters. I. The Degradation of Poly (ϵ -Caprolactone) in Vivo // *Journal of Applied Polymer Science*, 1981; 26 (11): 3779–3787.
23. Purinya B., Kasyanov V., Volkolakov J. et al. Biomechanical and Structural Properties of the Explanted Bioprosthetic Valve Leaflets // *Journal of biomechanics*, 1994; 27 (1): 1–11.
24. Rippel R. A., Ghanbari H., Seifalian A. M. Tissue-Engineered Heart Valve: Future of Cardiac Surgery // *World journal of surgery*, 2012; 36 (7): 1581–1591.
25. Rousseau E. P., Sauren A. A., van Hout M. C., van Steenhoven A. A. Elastic and Viscoelastic Material Behaviour of Fresh and Glutaraldehyde-Treated Porcine Aortic Valve Tissue // *Journal of biomechanics*, 1983; 16 (5): 339–348.
26. Sacks M. S., Schoen F. J. Collagen Fiber Disruption Occurs Independent of Calcification in Clinically Explanted Bioprosthetic Heart Valves // *Journal of biomedical materials research*, 2002; 62 (3): 359–371.
27. Sadowski J., Kapelak B., Pfitzner R., Bartuś K. Sutureless Aortic Valve Bioprosthesis' 3f/Ats Enable'--4.5 Years of a Single-Centre Experience // *Kardiologia polska*, 2009; 67 (8A): 956–963.
28. Sauren A., Kuijpers W., Van Steenhoven A., Veldpaus F. Aortic Valve Histology and Its Relation with Mechanics—Preliminary Report // *Journal of biomechanics*, 1980; 13 (2): 97–104.
29. Sauren A., Van Hout M., Van Steenhoven A. et al. The Mechanical Properties of Porcine Aortic Valve Tissues // *Journal of biomechanics*, 1983; 16 (5): 327–337.

30. Schmidt D., Stock U. A., Hoerstrup S. P. Tissue Engineering of Heart Valves Using Decellularized Xenogeneic or Polymeric Starter Matrices // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2007; 362 (1484): 1505–1512.
31. Schoen F., Levy R., Nelson A. et al. Onset and Progression of Experimental Bioprosthetic Heart Valve Calcification // *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1985; 52 (5): 523–532.
32. Schoen F. J., Levy R. J. Calcification of Tissue Heart Valve Substitutes: Progress toward Understanding and Prevention // *The Annals of thoracic surgery*, 2005; 79 (3): 1072–1080.
33. Smith I., Liu X., Smith L., Ma P. Nanostructured Polymer Scaffolds for Tissue Engineering and Regenerative Medicine // *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 2009; 1 (2): 226–236.
34. Stock U., Vacanti J., Mayer Jr J., Wahlers T. Tissue Engineering of Heart Valves-Current Aspects // *The Thoracic and cardiovascular surgeon*, 2002; 50 (03): 184–193.
35. Stradins P., Lacis R., Ozolanta I. et al. Comparison of Biomechanical and Structural Properties between Human Aortic and Pulmonary Valve // *European journal of cardio-thoracic surgery: official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, 2004; 26 (3): 634–639.
36. Thubrikar M., Deck J., Aouad J., Nolan S. Role of Mechanical Stress in Calcification of Aortic Bioprosthetic Valves // *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, 1983; 86 (1): 115–124.
37. Thubrikar M., Piepgrass W. C., Bosher L. P., Nolan S. P. The Elastic Modulus of Canine Aortic Valve Leaflets in Vivo and in Vitro // *Circulation research*, 1980; 47 (5): 792–800.

38. Vahanian A., Alfieri O., Andreotti F. et al. Guidelines on the Management of Valvular Heart Disease (Version 2012) the Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (Esc) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (Eacts) // European heart journal, 2012; 33 (19): 2451–2496.
39. Valfrè C., Ius P., Minniti G. et al. The Fate of Hancock II Porcine Valve Recipients 25 Years after Implant // European Journal of Cardio-Thoracic Surgery, 2010; 38 (2): 141–146.
40. van den Bosch E., Gielens C. Gelatin Degradation at Elevated Temperature // International journal of biological macromolecules, 2003; 32 (3): 129–138.
41. Vesely I., Barber J., Ratliff N. Tissue Damage and Calcification May Be Independent Mechanisms of Bioprosthetic Heart Valve Failure // The Journal of heart valve disease, 2001; 10 (4): 471–479.
42. Vesely I., Boughner D., Song T. Tissue Buckling as a Mechanism of Bioprosthetic Valve Failure // The Annals of thoracic surgery, 1988; 46 (3): 302–308.
43. Vohra H. A., Whistance R. N., Bolgeri M. et al. Mid-Term Evaluation of Sorin Soprano Bioprostheses in Patients with a Small Aortic Annulus ≤ 20 Mm // Interactive cardiovascular and thoracic surgery, 2010; 10 (3): 399–402.
44. Woodward S. C., Brewer P., Moatamed F. et al. The Intracellular Degradation of Poly (E-Caprolactone) // Journal of biomedical materials research, 1985; 19 (4): 437–444.

11. PATEICĪBAS

Paldies mana promocijas darba zinātniskajam vadītājam *Dr. med.*, asociētajam profesoram Pēterim Stradiņam par atbalstu visā darba tapšanas gaitā.

Paldies mana darba zinātniskajiem konsultantiem profesoriem – *Dr. habil. med.* Romanam Lācim, *Dr. habil. med.* Ivetai Ozolantai un *Dr. habil. sc. ing.* Vladimiram Kasjanovam par atbalstu un neatsveramām konsultācijām un ieteikumiem darba tapšanas gaitā.

Īpašs paldies arī *Dr. med.* profesoram Ludwig Karl von Segesser no *Centre hospitalier universitaire vaudois – CHUV*, Lozannā, Šveicē bez kura atbalsta nebūtu iespējams veikt darba sadaļu par bioprotēžu fiksējošo karkasu deformējamības pētījumiem.

Paldies Rīgas Stradiņa universitātes, Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūta darbiniekiem par neatsveramu palīdzību darbā ar COS-7 šūnu kultūru, jo īpaši institūta vadītājai *Dr. med.*, asociētajai profesorei Modrai Murovskai un *M. sc. biol.* Viktorijai Priedītei.

Promocijas darbs izstrādāts ar ESF līdzfinansēta projekta „Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē”, vienošanās Nr.

2011/0056/1PD/1.1.2.1.2/11/IPIA/VIAA/006, atbalstu.

Pētījumi veikti ar sekojošu projektu finansiālu atbalstu:

- Valsts pētījumu programma „Jaunu profilakses, ārstniecības, diagnostikas līdzekļu un metožu, biomedicīnas tehnoloģiju izstrāde sabiedrības veselības uzlabošanai” projekts Nr. 1, apakšprojekts 1.4.
- „Jaunas starpnozaru zinātniskās grupas izveide uz nanotehnoloģijām bāzētu pieeju izstrādei šūnu bioloģijā ar pielietojumu medicīnā”; Vienošānās Nr.2009/02221/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/074