

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ**  
**“ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ” – ВАРНА**  
ФАКУЛТЕТ ПО МЕДИЦИНА  
КАТЕДРА ПО ОБЩА И КЛИНИЧНА ПАТОЛОГИЯ, СЪДЕБНА  
МЕДИЦИНА И ДЕОНТОЛОГИЯ

**КАТАРИНА ГЕОРГИЕВА ВАСИЛЕВА, Д. М.**

**“ВЪЗДЕЙСТВИЕТО НА ВЕНТРИКУЛАРНИТЕ ПОМОЩНИ  
УСТРОЙСТВА ПРЕДИ ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ВЪРХУ  
МОРФОЛОГИЧНИТЕ ПАРАМЕТРИ  
ПРИ СЪРДЕЧНИТЕ АЛОГРАФТИ”**

---

“The impact of ventricular assist device prior to transplantation  
on morphological parameters in cardiac allografts”

**АВТОРЕФЕРАТ**

НА ДИСЕРТАЦИОНЕН ТРУД ЗА ПРИСЪЖДАНЕ НА  
НАУЧНА СТЕПЕН “ДОКТОР НА МЕДИЦИНСКИТЕ НАУКИ”

**Научна специалност:** Патологоанатомия и цитопатология

**Рецензенти:**

Проф. д-р Ханс Гуски, дмн  
Проф. д-р Красимир Методиев, дмн  
Доц. д-р Мария Цанева, дм

**Варна, 2014**

Защитата на дисертационния труд ще се състои на .....2014 г.,  
от ..... часа, в аудитория ..... -  
Медицински университет “Проф. Д-р Параскев Стоянов” – Варна.

Материалите по защитата са публикувани на интернет страницата на  
Медицински университет – Варна.

## СЪДЪРЖАНИЕ

<b>СЪКРАЩЕНИЯ И АКРОНИМИ</b> .....	5
<b>1. ВЪВЕДЕНИЕ</b> .....	7
1.1. Преглед на съвременните практики на трансплантация на сърце и механична поддържаща терапия на сърцето в крайния етап на сърдечна недостатъчност .....	7
1.2. Научен проблем .....	8
1.3. Отхвърляне на сърдечни алографти медирано от антитела .....	9
1.4. Остро клетъчно отхвърляне на сърдечни алографти .....	10
1.5. Макрофаги и интерстициална фиброза при човешкото сърце .....	10
<b>2. ХИПОТЕЗА</b> .....	10
<b>3. МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО И МАТЕРИАЛИ</b> .....	11
3.1. Критерии на включването .....	11
3.2. Критерии на изключването .....	11
3.3. Хистология и имунохистохимия .....	12
3.4. Статистически методи .....	15
<b>4. РЕЗУЛТАТИ</b> .....	16
4.1. Основни характеристики .....	16
4.1.1. Основни характеристики на донорите на сърдечни алографти .....	16
4.1.2. Основни характеристики на реципиентите на сърдечни алографти .....	16
4.2. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху остро клетъчно отхвърляне на сърдечните алографти .....	18
4.3. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху отхвърлянето на сърдечни алографти медирано от антитела .....	19
4.4. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху ремоделирането на интерстициума на сърдечните алографти .....	21
4.5. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху развитието на трансплантната васкулопатия на сърдечните алографти .....	23

<b>5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....	27
5.1. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху остро клетъчно отхвърляне на сърдечните алографти .....	27
5.2. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху отхвърлянето на сърдечни алографти медирано от антитела .....	28
5.3. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху ремоделирането на интерстициума на сърдечните алографти .....	28
5.4. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху развитието на трансплантната васкулопатия на сърдечните алографти .....	29
<b>6. ОГРАНИЧЕНИЯ</b> .....	29
<b>7. ОБСЪЖДАНЕ</b> .....	30
<b>8. ПУБЛИКАЦИИ НА АВТОРА, СВЪРЗАНИ С ТОЗИ ТРУД</b> .....	32
<b>9. ДЕКЛАРАЦИЯ ЗА ОРИГИНАЛНОСТ</b> .....	34

## СЪКРАЩЕНИЯ И АКРОНИМИ

- MCS** – Mechanical circulatory support = Assist/Механична циркулаторна поддръжка = Вентрикуларно асистиращо/помощно устройство
- VAD** – Ventricular assist device = Assist / Вентрикуларно асистиращо/помощно устройство
- LVAD** – Left ventricular assist device/Асистиращо/помощно устройство на левия вентрикул на сърцето
- RVAD** – Right ventricular assist device/Асистиращо/помощно устройство на десния вентрикул на сърцето
- BVAD** – Biventricular assist device/Бивентрикуларно асистиращо/помощно устройство
- TVP (CAV)** – Transplant vasculopathy = accelerated graft atherosclerosis = cardiac allograft vasculopathy  
Васкулопатия при трансплантиране на сърце = ускорена атеросклероза на алогофта = васкулопатия на алогофта
- ACR** – Acute cellular rejection (coded as ISHLT in statistical analysis)  
Остро целуларно/клетъчно отхвърляне/Клетъчният имунен отговор (клетъчно-медиран имунитет)/кодирано като ISHLT при статистически анализ
- AMR** – Antibody-mediated rejection = humoral rejection  
Отхвърляне медирано от антитела= хуморално отхвърляне
- IF** – Interstitial fibrosis/интерстициална фиброза
- pure IF** – Interstitial fibrosis calculated without scar tissue/интерстициална фиброза изчислена при тъкан без цикатрикс
- EMB** – Right ventricular endomyocardial biopsy – ендомиокардна биопсия на дясната камера на сърцето
- HTX** – Heart transplantation Трансплантация на сърце
- ISHLT** – International Society for Heart and Lung Transplantation-  
Международно общество за сърдечна и белодробна трансплантация
- DHZB** – Deutsches Herzzentrum Berlin= German Heart Institute Berlin/Германски Кардиологичен Институт в Берлин
- HU** – High-urgency (listing at Eurotransplant) Изключителна спешност/Приоритетни пациенти в списъци на Евротрансплант

- GLM** – General linear model/Общ линеен модел
- DCM** – Dilated Cardiomyopathy/Дилатативна кардиомиопатия
- ICM** – Ischemic cardiomyopathy/Исхемична кардиомиопатия
- CHD** – Congenital Heart Defect/Вроден сърдечен дефект/порок на сърцето
- RCM** – Restrictive Cardiomyopathy /Рестриктивна /облитерираща /кардиомиопатия
- VCM** – Valvular cardiomyopathy/Валвуларна кардиомиопатия

## **1. ВЪВЕДЕНИЕ**

### **1.1. Преглед на съвременните практики на трансплантация на сърце и механична поддържаща терапия на сърцето в крайния етап на сърдечна недостатъчност**

Понастоящем в цяла Европа съществува нарастващ недостиг на налични органи на донори по отношение на търсенето и потребността от алографти за сърдечни трансплантации. През последните няколко години се забелязва, че това се дължи на намаляващата готовност и липса на желание на населението да дарява органи или тъкани.

Многообразни са болести на сърцето, които могат да причинят терминална сърдечна недостатъчност, налагаща сърдечна трансплантация. Разпространението на активната сърдечна недостатъчност нараства с възрастта като засяга приблизително 10 на всеки 1000 души от населението, на възраст от 85 години и по-възрастни. За след по-малко от 20 години се предвижда, че разпространението на сърдечната недостатъчност ще се увеличи с 25%. Въз основа на това предвиждане неравновесието между търсенето и броя на наличните донорни органи ще се увеличи.

Механичните циркулаторни поддържащи системи (MCS) са вече широко разпространени като опция за лечение на сърдечна недостатъчност в краен етап. В случаите когато пациентът със сърдечна недостатъчност в краен етап е подходящ за трансплантация на сърце, MCS терапията се използва като мост или преход от нефункционално действащото сърце към трансплантация. Главната цел на MCS имплантирането е да стабилизира здравословното състояние на пациента чрез контролирано кръвообръщение докато се открие подходящ сърдечен донор за пациента.

С оглед на очакваното в близко бъдеще увеличение на пациентите със сърдечна недостатъчност в краен етап и намаляващия брой сърдечни алографти в наличност, все по-голям брой кандидати ще чакат за назначение и разпределение на алографт докато са на MCS/механични циркулаторни поддържащи системи.

Главната отличителна черта между различните използвани системи е тяхното разположение спрямо перикардиума, а именно екстракорпоралното, паракорпорално или интракорпорално разположение. За разлика от първо поколение пулсиращи VADs, съвременните MCS устройства са средства с непрекъснато подаване на импулси. MCS устройствата от трето поколение

обикновено са напълно интракорпорално имплантабилни. Общо взето те са малки и в Европа сега се използват не само да подпомагат левия вентрикул (ляво венрикулярно устройство за подпомагане на левия вентрикул, left ventricular assist device – LVAD), но също и да поддържат и двата вентрикула. (бивентрикулярно поддържащо устройство, biventricular assist device- BVAD). Бивентрикулярното поддържащо устройство се прилага в случаите на бивентрикулярна сърдечна недостатъчност с изявена недостатъчност при дясната камера или при случаи на кардиогенен шок. За разлика от други MCS системи, вливащата канюла на пулсиращия Excor Berlin Heart система е изградена от силикон с полиестерно и филцово покритие. Повечето от трето поколение MCS видове устройства имат интегрирана, синтерована, металокерамична вливаща канюла.



Note the endocardial thickening (indicated by the arrow) adjacent to the inflow cannula of the left ventricular assist device in a child with non-compaction cardiomyopathy.

*Вижда се удебеляването на ендокардиума (посочено със стрелка) непосредствено до вливащата канюла на лявото вентрикулярно помощно устройство при дете с некомпактна кардиомиопатия*

**Фигура 1: Напречен разрез на сърце, който показва удебеляване на ендокардиума около LVAD вливаща канюла**

## 1.2. Научен проблем

Въпреки че дългосрочното лечение с MCS механични циркулаторни поддържащи системи не е било свързвано с намаляването на процента на оцеляване след НТХ сърдечна трансплантация, освен напредъка на MCS терапията данните, които предполагат, че дълготрайното им приложение може да доведе до дисфункция на сърдечния алографт са ограничени. Беше посочено, че активирането на допълнителна каскада от реакции по време на MCS лечението продължава настойчиво след НТХ сърдечна трансплантация



като води до исхемично увреждане на сърдечния алографт. Това обстоятелство бе свързано с наблюдение, което показва, че пациенти които са били подложени на MCS лечение преди сърдечната трансплантация наистина демонстрират признаци на хуморална сензитация. Терминът хуморална сензитация в този случай включва панел-реактивни антитела (PRA) над 10% при серологичния скрининг. Скритите и основните механизми за ало-сензитацията още не са напълно ясни и разбрани, но се смята, че представят имунна реакция насочена срещу помощното устройство. Ало-сензитацията действително изглежда, че има ефект върху резултата от сърдечния алографт относно по-високата честота на случаи на отхвърляне, медирано от антитела (AMR) и последващо развитие на сърдечна алографтна васкулопатия (CAV), но не и върху развитието на остро клетъчно отхвърляне (ACR).

### **1.3. Отхвърляне на сърдечни алографти медирано от антитела**

Понастоящем хистопатологичната диагноза на AMR разчита според ISHLT едновременно както на морфологичните черти, така и на имунохистохимията и особено на C4d депа при интрамуралните капилляри. Ролята на C3d при диагностика с AMR все още се обсъжда. Характерни морфологични черти на AMR са сериозен интестинален едем, фрагментация на капиллярите придружена от интерстициално кървене и възпалителни инфилтрати съдържащи еозинофили и неутрофили. Напоследък, нарастващ брой имунохистохимично-позитивни AMR случаи са били идентифицирани при наблюдението на ендомиокардните биопсии, особено при късно сърдечно трансплантиране и сърдечните биопсии на пациенти без асоциирана алографтна дисфункция. В допълнение, при диагностичната процедура бяха идентифицирани находки на неспецифични цитоплазмени и перимизиални петна с оцветяване на кардиомиоцитите за C4d или други допълнителни депа в ендокардиума при случаите на исхемично увредени кардиомиоцити и при наранявания около трансплантацията. Един позитивен C4d резултат с оцветяване може да остане трайно повече от месец след периода на отхвърляне поради стабилната ковалентна връзка между сплит-допълващия продукт C4d и ендотелните клетки. Сплит-допълващия продукт C4d може да се получи и по двете пътеки: класическа и допълнена с лектин. Оттук други причини, различни от AMR както например инфекциите могат да предизвикат активирането на допълнителна каскада от реакции.

#### **1.4. Остро клетъчно отхвърляне на сърдечни алогографти**

Ендомиокардната биопсия си остава златния стандарт за диагноза на остро клетъчно отхвърляне, въпреки техническия напредък през последните десетилетия. ACR уврежда функцията на алогографта. Резорбцията на възпаляващите инфилтрати е последвана от фиброзно ремоделиране на интерстициума, което се отразява върху резултата от алогографта.

#### **1.5. Макрофаги и интерстициална фиброза при човешкото сърце**

По отношение на функционалните параметри и двата вида остро целуларно отхвърляне (ACR) и повишаване на интерстициалната фиброза (IF) често корелират с нарушена вентрикуларна функция. Активността на имунната система, в частност макрофагите, играе важна роля в процеса на резорбция на ACR, а от друга страна е известно, че промотира и стимулира IF. Макрофагите са включени в процеса на резорбция на остро клетъчно отхвърляне.

## **2. ХИПОТЕЗА**

Целта на това проучване е да анализира преимуществата на сърдечното AMR/отхвърляне медирано от антитела = хуморално отхвърляне/при MCS пациенти, при които успешно е осъществен мост към трансплантация по отношение на капилярни C3d и C4d отлагания. В допълнение бе изследвана и хипотезата, че видът MCS устройство може да окаже влияние върху резултата на сърдечния алогографт по отношение на интрамиокардните капилярни C4d депа.

Тъй като съществуват само ограничен брой данни относно ефекта на MCS върху системата на васкуларната мрежа от сърдечни алогографти, конкретната цел бе да се изследва дали съществува обратна корелация между MCS лечението и васкулопатията при трансплантиране/сърдечна алогографт **васкулопатия**/на миокардната терминална васкуларна мрежа.

По-нататък това проучване има за цел да анализира ефекта на ACR и по-специално нивото на макрофагите върху степента на IF при дясно вентрикуларни ендомиокардни биопсии (EMBs) на сърдечните алогографти.

### **3. МЕТОДИ НА ИЗСЛЕДВАНЕ И МАТЕРИАЛИ**

#### **3.1. Критерии на включването**

Бяха оценени всички последователни EMBs на сърдечни алографти направени на 254 пациента в периода от 01/2011 до 12/2012. Пациенти с пълен комплект от следните параметри бяха включени в плана на изследването.

Вземахме пред вид демографски данни като:

- възраст, дата на раждане, пол, основна диагноза, (DCM, ICM, RCM, валвуларна CM, CHD), ръст, тегло, индекс на телесната маса, телесна повърхност, кръвна група, резус фактор

- ако е подходящо за всеки отделен случай допълвахме и данните относно MCS като датата на (ре-) имплантирането на устройството, вида устройство (модел), място на имплантацията [помощно устройство на лявия вентрикул на сърцето (LVAD) или бивентрикуларно асистиращо устройство (BVAD)], дата на експлантация на устройството, дните върху устройството.

За всеки пациент: дата на завеждане в списъка за изключителна спешност (HU), датата на НТХ сърдечната трансплантация, времевия интервал между вписването в HU списъка за изключителна спешност.

В допълнение анализирахме и данните на донора, включително: възраст, пол, причина за смъртта, кръвна група, резус фактор, ръст, тегло и индекс на телесната маса. По отношение на MCS лечението преди трансплантацията, пациентите бяха разделени на две групи (MCS група и неползваща MCS група). MCS пациентите бяха от своя страна разделени на групи относно вида използвано устройство (HeartMate II, HeartWare, Novacor, Incor, Excor).

Пациентите, обект на проучването бяха съответно конфиденциални, като се следваха съответните изисквания за клинично управление (система за усъвършенстване стандартите на добрата клинична практика).

#### **3.2. Критерии на изключването**

Случаи на пациенти с направление, които бяха трансплантирани в друг център, различен от DHZB, пациенти с няколко трансплантирани органи или няколкократно сърдечна трансплантация и ендомиокардни биопсии, които не

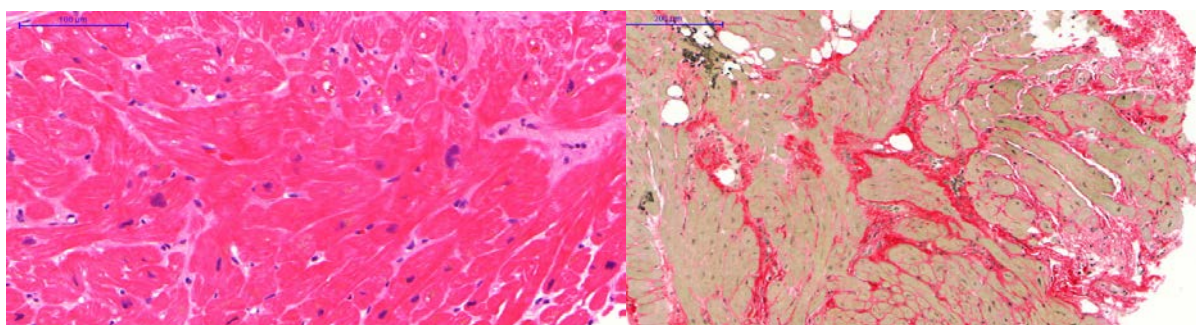
са били диагностицирани за една от изследваните стойности, бяха изключени от по-нататъшен анализ.

Пациенти бяха изключени от по-нататъшен статистически анализ, ако са били на MCS система, която е била използвана от по-малко от 5 от проучваните пациенти и ако те са сменили своята MCS система докато са чакали за сърдечна трансплантация.

### **3.3. Хистология и имунохистохимия**

Ендомиокардните дясно вентрикуларни биопсии бяха фиксирани при топъл 4% безвреден фосфат (pH7) формалдехиден разтвор, формалин [“Roti-Histofix 4%” (№. P087.3 от фирмата ROTH)].

Първоначалният хистологичен анализ за наличие на остро клетъчно отхвърляне на десния вентрикуларен миокард бе извършен със стандартно хематоксилин-еозин оцветяване и Пикросириус оцветени в червено набор от срези на формалин-фиксирана, включена в парафин тъкан с дебелина един микрон.

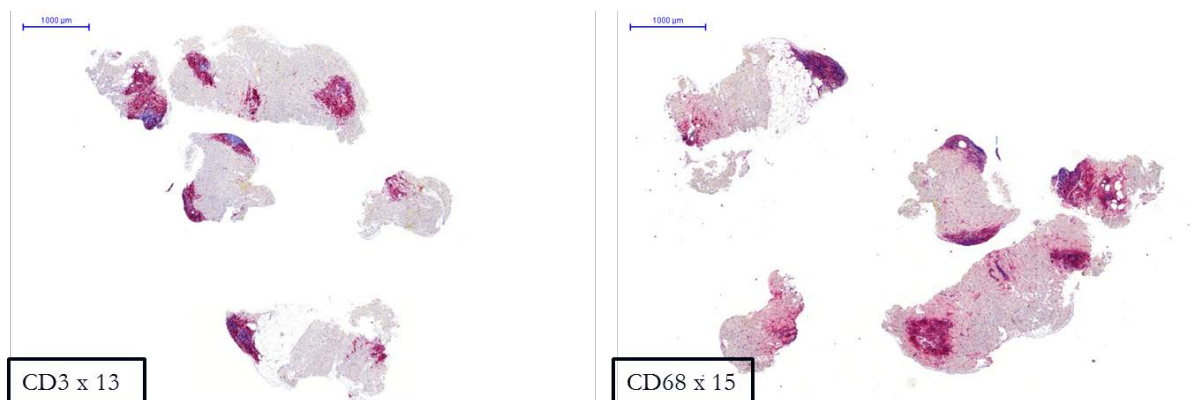


**Фигура 2: Н&Е и Picrosirius оцветен в червено участък от тъкан подчертаващ интерстициална фиброза.**

Относно нивото на фиброза изображения от 14 последователни силно увеличени полета (x200 увеличение) на Picrosirius, оцветени в червено тъканни срези, което се равнява на 1qmm, бяха получени с помощта на NIKON Eclipse светлинно проекционен микроскоп. Бе извършен последващ анализ на образа за да се определи нивото на интерстициалната и периваскуларна фиброза. По-нататък бе изчислено съдържанието на колаген с помощта на NIKON software (Nikon Advanced research), NIS Elements imaging software - софтуеър за изображение на елементи, NIS елементи, AR 4.10.02). Нивото на интерстициална фиброза бе изразено като част от обема колаген (%) на квадратен милиметър (обща фиброза). Области с остатъчна скарификация-белези и периваскуларна фиброза бяха анализирани

поотделно. Белезите бяха дефинирани като области на фиброза надвишаващи два пъти диаметъра на съседните кардиомиоцити. Чистата фиброза бе изчислена като разликата между общата фиброза и белезите.

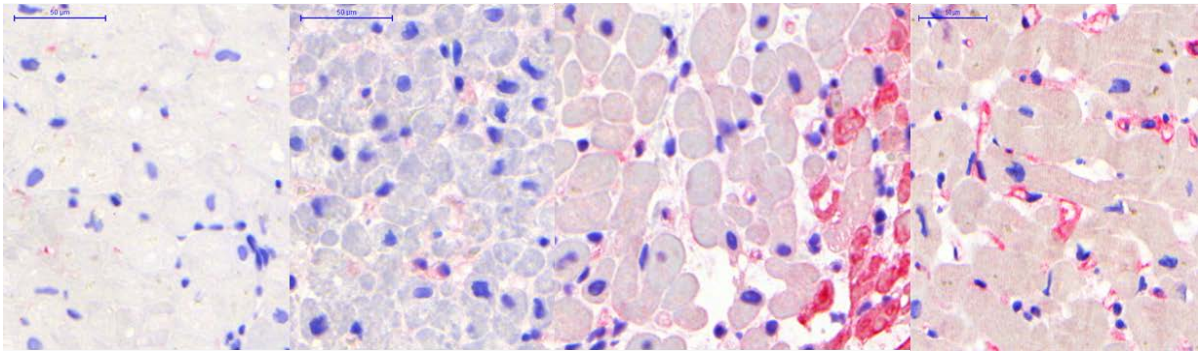
Имунохистохимичните оцветени места за лимфоцитен маркер (CD3-DCS, Nr:C1597C01) и пан макрофаг маркер (CD68- Leica, Nr: NCL-CD68-KP1) бяха използвани за да се потвърдят конвенционалните морфологични данни относно ACR или наличието на феномена Quilty. Количеството макрофаги и лимфоцити бе оценено чрез прецизно и детайлно наблюдение независимо от присъствието на остро клетъчно отхвърляне. Разликата между възпаление на миокарда поради обща и локална инфекция и остро клетъчно отхвърляне се основаваше на клинична информация и микробиологични данни.



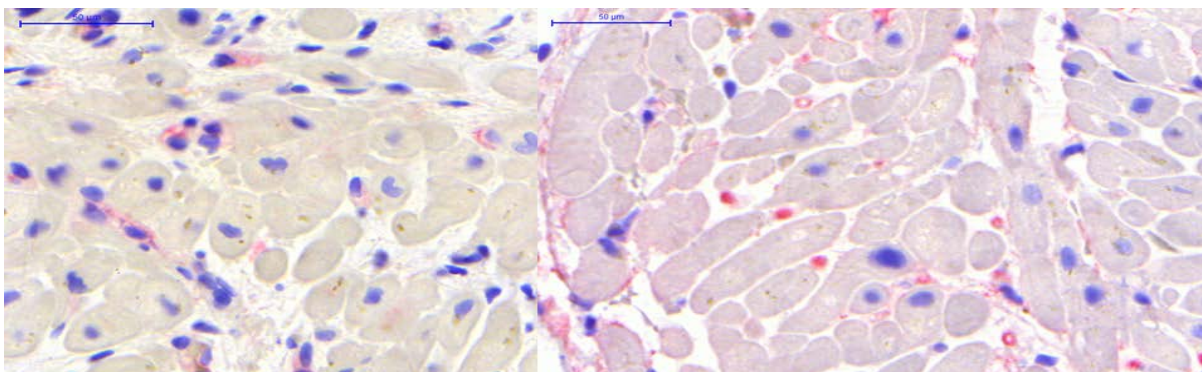
**Фигура 3: Имунохистохимични цветни петна подчертаващи Quilty феномена, които отчасти изглежда са локализовани в рамките на миокарда.**

Нещо повече, имунохистохимичните петна оцветявания сплит допълващи продукти C4d и C3d бяха използвани за преценка на срези от ендомиокардна тъкан за имунопатологични характеристики на отхвърляне медирано от антитела. Само отлаганията в интрамиокардните капиляри бяха оценени. Корелацията между интензитета на оцветяването на капилярите C3d (Dako, Catalogue code A0063) и C4d (Biozol, Vi-RC4D) отлагания бе валидиран и проверен с контролна тъкан. По отношение на ISHLT препоръката имунохистохимичния протокол бе адаптиран и съобразен така, че да даде силна реакция на оцветяване за C4d. В сравнение с разпределението и интензитета на оцветяването на C4d интрамиокардните отлагания, една като цяло по-малко интензивна реакция при оцветяването, и не така дифузна, бе класифицирана като позитивен C3d резултат. Качеството на всяко имунохистохимично оцветяване се оценява според модела на оцветяване за фибриногена на ендомиокардната биопсия, който е съществена

част от диагностичния имунохистохимичен панел за сърдечни алографти. Като контролна тъкан за специфичността на интрамиокардните капилярни C4d и C3d отлагания послужиха участъци от тъканта на един експлантиран сърдечен алографт с хипер остро клетъчно отхвърляне като позитивен контрол и ляво вентрикулярна миокардна тъкан на хомографт сърце като негативен контрол.

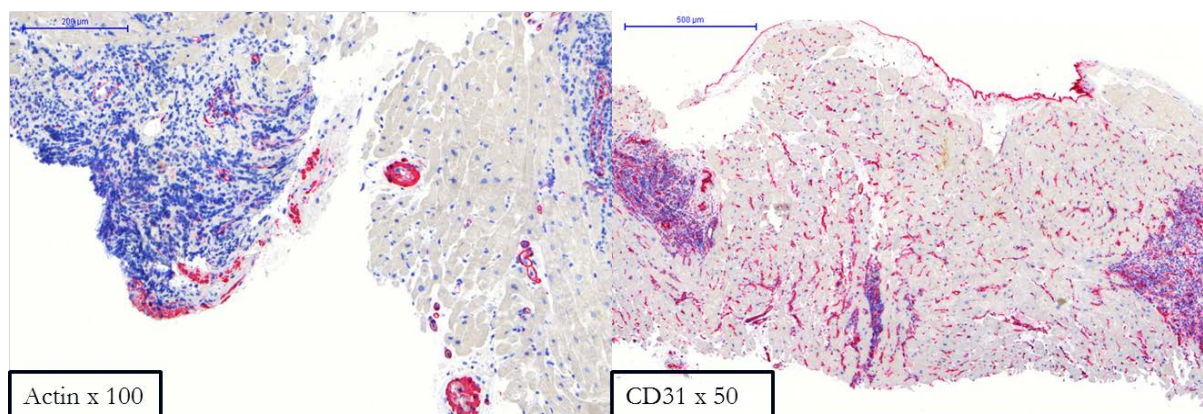


**Фигура 4: C4d x 400 увеличение. Модели на оцветяване от ляво на дясно: негативно, на слаб фокус, слаб фокус с неспецифично оцветяване на кардиомиоцити поради исхемично увреждане, силно позитивно разсейване.**



**Фигура 5: C3d x 400 увеличение. Разпределение и интензитет на оцветяването при два различни C3d-позитивни случая.**

За да прецени въздействието на мост-към-трансплант механична циркулаторна помощ върху развитието на трансплант васкулопатията при сърдечните алографти, интрамиокардната терминална артериална мрежа бе оценена като се използва конвенционалната хистология и имунохистохимията (CD31- DCS, SIG-3632-1000, alpha actin- Zytomed, MSK030).



**Фигура 6: Имунохистохимия подчертаваща медиално удебеляване на интрамуралните артериоли (ляво) и терминална васкуларна мрежа (дясно).**

Bond Polymer Refine Red имунохистохимични протоколи (Leica Biosystems) бяха използвани като имунохистохимичното изследване бе проведено с напълно автоматизиран Bond имуно оцветител.

### **3.4. Статистически анализ**

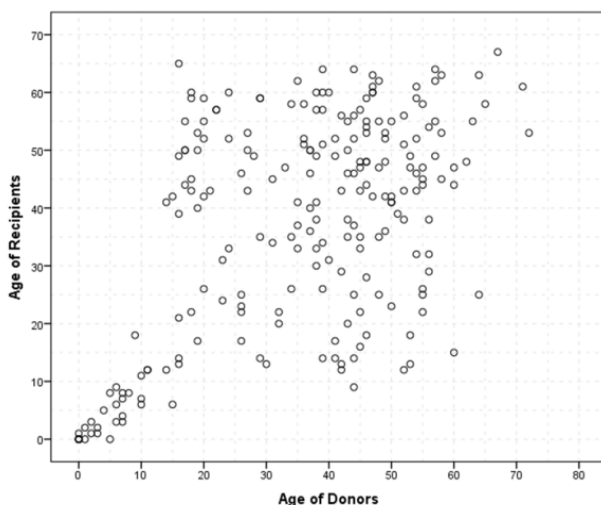
Тъй като планът на проучването се концентрира върху въздействието на MCS върху резултата от сърдечния алографт, а не върху самите биопсии, оптималното решение за преценка на многократните биопсии бе съвкупността от „множество биопсии от пациента” към статистическата единица “пациент”. Във връзка с това биопсията с положителен резултат за остро клетъчно отхвърляне или с диагностично значими депа за C4d и/или C3d бе селектирана от общия резерв биопсии за по-нататъшен статистически анализ. Ако биопсиите не бяха диагностични нито за остро клетъчно отхвърляне, нито за отхвърляне медирано от антитела, биопсията с признаци на трансплантна васкулопатия на терминалната мрежа бе избрана за статистически анализ. Ако всички горепосочени стойности бяха негативни, максималната стойност на всеки номинален параметър бе избрана от биопсиите на пациентите (допълнителни отлагания за C4d и C3d, ендотелно клетъчно подуване, остро клетъчно отхвърляне, ниво на интерстициални макрофаги, признаци на трансплантна васкулопатия на терминалната коронарна васкуларна мрежа). Средната стойност на всички измервания бе изчислена от метричните променливи. По време на статистическия анализ бе намерена стойност с висока степен на селективност за обща и чиста фиброза. След това метричните променливи бяха трансформирани в номинални променливи и градираны според тяхната позиция спрямо изчислената стойност с най-висока степен на селективност.

## 4. РЕЗУЛТАТИ

### 4.1. Основни характеристики

#### 4.1.1. Основни характеристики на донорите на сърдечни алографти.

Само всеки пети донор на сърце бе жена ( $n=58/220$ ). В повечето случаи сърцата на донора бяха съпоставени с тези на реципиентите от същия пол (женски/женски  $n=40/58$ , мъжки/мъжки  $n=98/162$ ), останалата трета от сърдечните алографти ( $82/220$ ) бе разпределена на пациенти от различен пол – мъжки/женски  $n=64$ , женски на мъжки  $n=18$ ). Освен това обхвата на разликата във възрастта между донори и реципиенти се увеличи с възрастта на реципиента, като разпределението бе най-рестриктивно при сърдечни алографти на деца; най-голямата разлика във възрастта стига до 40 години и бе наблюдавана при млади реципиенти и четиридесетгодишните хора.



Възрастова корелация между донори на сърдечни алографти и реципиенти

#### 4.1.2 Основни характеристики на реципиентите на сърдечни алографти

По отношение на основната патология за развитие на терминалната сърдечна недостатъчност, повече от три четвърти от пациентите от цялата група пациенти бяха диагностицирани с дилатална кардиомиопатия ( $n=165/220$ ), 8 пациенти от които с DCM пост-инфламаторна етиология и други двама пациенти с клинично диагностицирана болест на съединителната тъкан.



Втората по големина подгрупа се състоеше от пациенти с исхемична кардиомиопатия (n=34) последвана от група пациенти с вродени сърдечни малформации (n=11).

Разпределението между групата пациенти по пол (n=220) бе почти равно, 104 пациенти жени и 116 мъже реципиенти на сърдечни алографти.

Обхватът на възрастта на пациентите по време на наблюдаваната ендомиокардиална биопсия (350 EMBs от 220 пациента) бе широк и се простираше от ранна детска възраст до пациенти на 70 годишна възраст с най-голям брой пациенти в петата и шестата декада на живота им. Средната възраст на пациентите при биопсия беше 37 години. Бяха забелязани значителни различия във времевия интервал между датата на сърдечната трансплантация и ендомиокардиалната биопсия (n=350). Средното време след сърдечна трансплантация (НТХ) по време на ендомиокардиална биопсия (ЕМВ) беше 8.9 години. По-малко от 10 % от EMBs бяха направени в рамките на 30 или по-малко дни след НТХ (сърдечната трансплантация) и приблизително една четвърт от десните вентрикуларни ендомиокардиални биопсии бяха получени повече от 10 години след НТХ.

След събирането на допълнителните стойности от биопсията, групата пациенти без MCS (механична циркулаторна поддръжка преди сърдечното трансплантиране НТХ) надвишаваше по брой групата пациенти, при които бе направен / осъществен мост към трансплантация с помощна терапия (MCS групата n= 82 пациента, група без MCS механична циркулаторна поддръжка n= 138 пациенти, p = 0.04).

MCS групата се състоеше от следните видове устройства: Excor (n=39), HeartMate II(n=11), HeartWare (n=11), Incor (n=16) и Novacor (n=5). Устройствата HeartMate II, HeartWare, Incor и Novacor бяха използвани само да поддържат левия вентрикул, докато при 18 пациенти Excor системата бе използвана да облекчи работата на двата вентрикула (BVAD). Средната продължителност на MCS лечението преди самата трансплантация беше 298 дни, като варираше от 7 до 1.177 дни. Събраното общо време на MCS помощни устройства на цялата MCS група възлезе на 24.422 дни.

Като се анализира времето между сърдечната трансплантация и ендомиокардиалната биопсия с помощта на теста Wilcoxon Rank Sum, тъй като времето между НТХ сърдечната трансплантация и процедурата на биопсията не беше нормално разпределено между всички проби, пациентите подпомогнати с помощно устройство преди трансплантация претърпяха

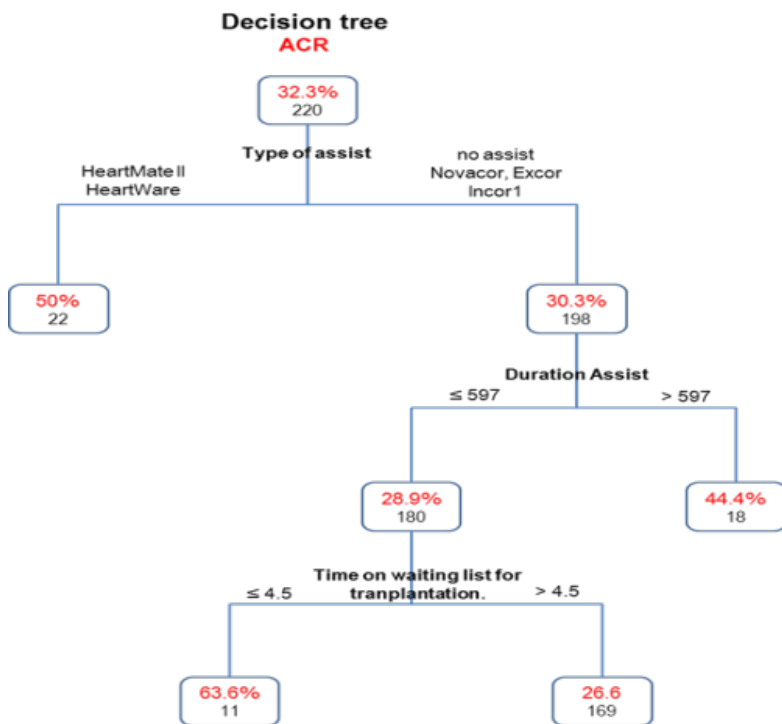
биопсия с цел наблюдение средно 1340 дни по-рано от неподпомогнатите от MCS помощни устройства ( $p < 0.001$ ). Средно EMBs на MCS пациенти с лява вентрикуларна механична поддръжка бяха проведени 1600 дни след НТХ, а биопсии от Excor пациенти с бивентрикуларна подкрепа бяха взети средно 3750 дни след НТХ, подобно на EMBs от пациенти без MCS подкрепа (средно 3500 дни след НТХ). Ето защо изследваните параметри трябваше да бъдат оценени спрямо индекса „време след сърдечната трансплантация”.

Не бе открита статистически значима разлика между двете изследвани групи по отношение на времето между НТХ и датата на EMB за повечето изследвани параметри [мурално капилярен C3d и C4d депа, ниво на макрофаги (CD68), разширяване на ендотелните клетки, остро клетъчно отхвърляне (ACR), пълна фиброза и чиста фиброза] с изключение на присъствието на трансплантна васкулопатия (TVP) за период по-голям от 10 години след НТХ ( $p < 0.05$ ).

#### **4.2. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху остро клетъчно отхвърляне на сърдечните алографти**

Преди събирането на допълнителните стойности от биопсията остро клетъчно отхвърляне бе диагностицирано в почти всяка трета ендомиокардна биопсия (102/350). Леко/слабо остро целуларно отхвърляне (88/102) бе диагностицирано при болшинството от ACR-позитивни EMBs. Умерено остро целуларно отхвърляне ( $n$  от EMBs = 12//, брой биопсии -12) и сериозно/силно остро целуларно отхвърляне ( $n$  от EMBs = 2//, брой биопсии - 2) бяха диагностицирани при изключително редки случаи.

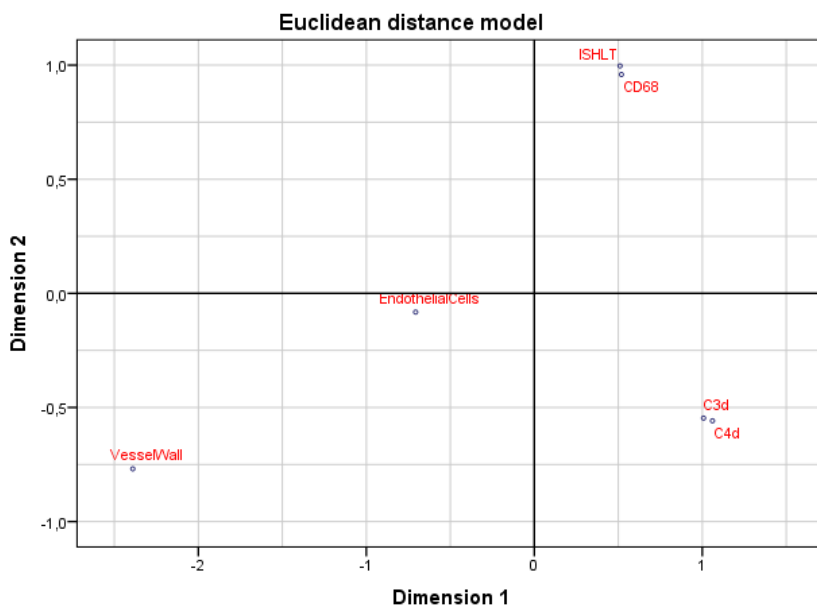
След събирането на допълнителните стойности от биопсията, остро клетъчно отхвърляне бе диагностицирано при почти всеки трети пациент (71/220). Нямаше статистически релевантна разлика между пациенти, подпомогнати с MCS помощни средства и лечение, насочени към трансплантация, и пациенти неподпомогнати с MCS преди сърдечна трансплантация (при 36.6% от MCS групата,  $p = 0.300$ ). Статистическия анализ откри, че нито един от изследваните параметри, извън разглежданите стойности, не бе въздействал върху ACR. Анализът с многовариантни отговори разкри, че 71 ACR-позитивни EMBs са равни на 12.7% от всички позитивни реакции при 34.1% от всички пациенти.



MCR лечението преди сърдечна трансплантация и видът устройства не оказаха влияние на резултата от сърдечния алографт по отношение на ACR. Когато се настройват статистически да делят реакциите на ниво вид устройство, пациентите без MCS лечение включително и онези които ползват Novacor, Excor и Incor устройства показаха по-малко ACR –позитивни биопсии в сравнение с пациентите с HeartMate II и HeartWare устройства. Тази разлика не успя да достигне статистическа значимост.

Двуизмерното отношение между ACR и нивото на макрофаги показано с модела на Евклидовото разстояние по-долу бе потвърдено в сравнителния анализ на двете групи ( $p=0.000$ ). При анализа на подгрупата горепосочената информация бе върна в двата случая LVAD и BVAD. Не бе намерен друг параметър освен този за нивото на макрофагите, който корелира с ACR.

#### 4.3. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху отхвърлянето на сърдечните алографти, медирано от антитела



Двуизмерно отношение по-скоро между капилярните C3d и C4d депозиции отколкото между капилярните C4d депозиции и възпалението на ендотелните клетки е демонстрирано чрез модела на Евклидовото разстояние

Данните от модела на Еклидовото разстояние се потвърждават и от анализа на многовариантните отговори. Този анализ разкри, че 69-те C4d-позитивни EMBs са равни на 12.3% от всички позитивни реакции при 33.2% от всички пациенти и 77 C4d-позитивни EMBs отговарят на 13.8% от всички позитивни реакции при 37% от всички пациенти. От друга страна имаше 108 позитивни реакции за ендотелни клетки, които се равняваха на 19.3% от всички позитивни реакции при 51.9% от пациентите. Ендотелното клетъчно подуване доказва, че е свързано с C4d депа при модела на простата линейна регресия, но не и при анализа на многовариантните отговори. В допълнение, ендотелното клетъчно подуване не корелира с комбинираните C3d/C4d депа. Конкретно, възпалението на ендотелните клетки не бе повлияно от механичната циркулаторна поддържаща терапия ( $p=0.628$ ) или който и да е специфичен вид MCS. Само донори с BMI над 20.62 бяха асоциирани с повишено разпространение на ендотелно клетъчно възпаление ( $p=0.058$ ). В тази подгрупа свързаха възрастта на донора над 46.7 години с повишения брой позитивни случаи ( $p=0.033$ ).

Механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация не оказва влияние върху броя на позитивни реакции, но имаше значителна корелация между лечението с механично циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация и C4d допълнителни депа ( $p=0.0241$ , при коефициент/съотношение на вероятност 0.524). Анализът на резултатите на подгрупата разкриха, че първоначалното изчислено разделение при сепарация на C4d реакцията отразява разликата между видовете устройства. Всички останали устройства за механично циркулаторно поддържане освен Excor ( $n=39$ ), които бяха имплантирани при 43 от 82 пациенти с MCS ( $p=0.838$ , при коефициент/съотношение на вероятност =1.11) наистина доказаха корелация с по-високо разпространение на C4d депа при сърдечния алографт (Heart Mate II, HeartWare, Novacor, Incor,  $p=0.003$ , при коефициент/съотношение на вероятност = 2.97). Степента на корелация между двете изследвани групи (Excor сравнен с другите видове MCS устройства) доказаха, че имат значителна разлика, което бе контролирано със стъпаловиден логистичен регресионен анализ по отношение на всички налични параметри (диагноза, BMI, възраст, пол, отношение към пола, и др.,  $p=0.006$ ).

Групата пациенти на MCS устройства с неблагоприятни резултати на сърдечния алографт по отношение на капилярните депа на C4d (Heart Mate II, HeartWare, Novacor, Incor) бяха използвани само и единствено да облекчат

механично левия вентрикул. Ето защо, сравнителен статистически анализ с разликите между LVAD и BVAD пациенти за тези видове устройства не можеше да бъде направен.

Продължителността на MCS лечението изглежда не оказваше влияние на резултатите от сърдечния алографт по отношение на активиране на допълнителната пътека, което води до капилярни C4d и C3d депа ( $p=0.8742$  и съответно  $0.8592$ ).

Резултатите за C4d/C3d корелацията бяха стратифицирани при MCS лечението. По-нататъшен анализ, използващ Chi-square тест, разкри по-значителна корелация между депата на наличните C3d и C4d при 82 пациенти само от групата на MCS, което бе валидирано с Mantel-Haenszel теста ( $p=0.005$ ).

С други думи, 64% от 220-те пациента наистина показаха същия имунохистохимичен резултат за C3d и C4d. Степента на корелация между двата параметъра при двете изследвани групи пациенти (MCS групата и тази без MCS помощни устройства) доказаха, че са значително различни ( $p=0.009$ ).

		all patients (n=220)		no Assist (n=138)		with Assist (n=82)	
odds-ratio = 2,23 p-value = 0,009		C4d		C4d		C4d	
		negative	positive	negative	positive	negative	positive
C3d	negative	107	36	70	22	37	14
	positive	44	33	32	14	12	19

Противно на C4d депозициите механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация, MCS лечение, не оказва въздействие върху броя на позитивните C3d случаи. Данните не доказаха корелация между C3d депозициите и възпалението на ендотелните клетки ( $p=0.235$ , разлика между MCS групата и тази без MCS устройства  $p=0.245$ ).

#### **4.4. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху ремоделирането на интерстициума на сърдечните алографти**

В рамките на една година след сърдечната трансплантация НТХ бе наблюдавана тенденция по отношение нивото на интерстициалните

макрофаги установяващи се на най-висока стойност една година след НТХ. Впоследствие, нивото на макрофаги намаляваше постоянно, като достигна най-ниско ниво при повече от 10 години след НТХ. Това наблюдение не бе повлияно от механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация/MCS лечение. Най-малка разлика между двете групи бе наблюдавана една година след сърдечната трансплантация НТХ ( $p=0.447$ ). Тази тенденция е показателна за двете фази на сърдечно ремоделиране – едната в рамките на една година след НТХ като индикатор за пост-исхемични адаптивни промени след НТХ, а втората една година след НТХ през целия живот на алографтите като индикатор за сърдечно ремоделиране. Анализът с многовариантни отговори разкри, че 80-те CD68-позитивни ЕМВs са равни на 14.3% от всички позитивни реакции при 38.5% от всички пациенти.

В съответствие с намаляващата тенденция при нивото на макрофагите една година след НТХ, нивото на измерената пълна фиброза почти се върна до своето първоначално ниво измерено близо около времето на НТХ при MCS групата при биопсиите направени по-късно от една година след НТХ. Обратната тенденция бе наблюдавана при пациенти без механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация/MCS терапия. Статистическа разлика между двете групи бе достигната в периода между 2 месеца и една година след НТХ ( $p=0.025$ ). Това неравновесие при нивото на пълната фиброза между MCS групата и групата без MCS просто се изравнява към края на периода на изследване.

Наблюденията върху пълната фиброза бяха верни за чистата фиброза, отчетеното отклонение беше най-ясно проявено в рамките на първата година след трансплантацията ( $p=0.005$ ).

Нивата и на двата вида фиброза: чиста и пълна бяха независими от характеристиките на донора или реципиента, или от времето на MCS терапията. При анализиране на MCS групата отделно изглеждаше, че основната сърдечна патология оказва влияние върху сърдечното ремоделиране. Пациентите с вродени сърдечни малформации и придобити валвуларни сърдечни заболявания действително показаха по-високи нива на фиброза от тези на пациентите с коронарна болест на сърцето.

Разликата между дивергентните патологии не достигна статистическа значимост. Цялостният статистически модел с тези метрични променливи параметри не бе значим. Ето защо те бяха изчислени на базата на

статистически приемлива дихотомизирана извадка; цялостна фиброза при обем 6.00%, чиста фиброза при обем 4.00%. Сравнителен анализ вече на изчислени променливи разри тясна връзка между нивото на макрофаги и нивото на чиста фиброза в общата група пациенти и след това при анализа и на двете подгрупи, тази с пациенти на MCS и тази с пациенти без MCS ( $p=0.001$ ,  $p=0.001$  и  $p=0.002$  съответно). Разликата между MCS групата и тази без MCS лечение в тази дадената извадка е сама по себе си значима ( $p=0.002$ ). Същата близка корелация бе открита за нивото на макрофаги и цялостна фиброза включително и при анализа на подгрупите ( $p=0.004$ ,  $p=0.006$ ,  $p=0.005$ ). По-нататъшен анализ на подгрупите не разкри корелация с други характеристики на донорите и пациентите. Анализ на риска по метода „ствол на решенията” с подчертано разделение за видовете MCS устройства разкри повече положителни реакции за макрофаги при пациенти с HeartWare, отколкото при останалите пациенти (81.8 % срещу 34 %).

При последните възрастта на донора корелира с над 56 години по-големи числа от позитивните реакции (61.9% срещу 30.9%).

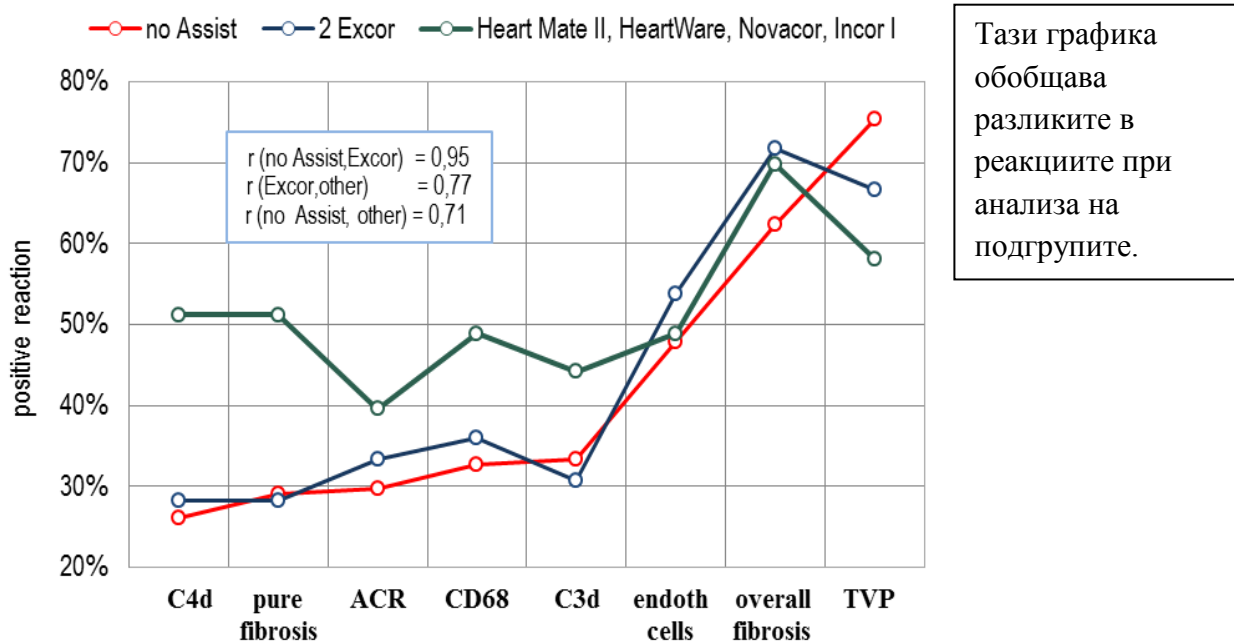
Интересното е, че се оказва, че ACR няма директно въздействие върху чистата или пълна интерстициална фиброза ( $p=0.749$ ,  $p=0.760$ ), въпреки тясната си връзка с нивото на макрофаги.

#### **4.5. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху развитието на трансплантната васкулопатия на сърдечните алографти**

Имаше съществена разлика в присъствието на трансплантна васкулопатия при 62% от MCS групата сравнена със 75% от пациентите без MCS поддръжка ( $p=0.03$ , при коефициент/съотношение на вероятност =0.45). Тази разлика бе най-изявена в рамките на първия месец и в периода по-късно, 10 години след НТХ ( $p=0.078$  и  $p=0.000$  съответно), като по този начин индикира важността на терапията преди сърдечната трансплантация НТХ по отношение на резултатите в краткосрочен и дългосрочен план от сърдечния алографт. Анализът с многовариантни отговори разкри, че 155-те TVP-позитивни EMBs отговарят на 27.7% от всички положителни реакции при 74.5% от всички пациенти, като по този начин се представя най-често срещаната патология, последвана от ендотелно клетъчно подуване (при 51.9% от пациентите). Ехсог пациентите (39/82) не показаха редуциране на трансплантната васкулопатия ( $p=0.31$ , при коефициент/съотношение на

вероятност 0.66), а тъкмо обратното на останалите видове MCS ( $p=0.03$ , при коефициент/съотношение на вероятност = 0.45). Ограничено въздействие на Excor MCS устройството бе открито само при пациенти с LVAD. Пациентите, които се нуждаеха от бивентрикуларна поддръжка имаха подобно разпределение на TVP като на пациентите от групата без MCS устройства. Когато бе наложен анализ на риска по метода „ствол на решенията” за променливата „MCS вид устройство” бе демонстрирано, че устройствата Novacor и HeartWare действително корелират с развитието на TVP на терминалната васкуларна мрежа при по-малко на брой пациенти отколкото останалата група пациенти (37.5% срещу 73%). Моделът на Евклидовото разстояние не разкри тясна връзка с никоя друга числена променлива.

Съответна разлика между  $p$ -стойностите бе открита за нивото на макрофагите и TVP на терминалната васкуларна мрежа [ $p=0.049$ ;  $p=0.361$  (при MCS групата)] когато бе анализирана разликата по отношение на съвпадения между MCS групата и групата пациенти без MCS във връзка с другите номинални променливи.





		p - стойност			
		(1)	(2)	(3)	(4)
Параметър		Всички пациенти	MCS пациенти	Пациенти без MCS	Разлика
C4d	C3d	0.007	0.002	0.410	0.009 <sup>1</sup>
C4d	CD68	0.238	-	-	0.333
C4d	TVP	0.607	-	-	0.833
C4d	ACR	0.694	-	-	0.580
C4d	Ендотелно клетъчно възпаление	0.230	-	-	0.256
C4d	Чиста фиброза	0.856	-	-	0.770
C4d	Пълна фиброза	0.835	-	-	0.950
C3d	CD68	0.003	0.416	0.002	0.004
C3d	TVP	0.245	-	-	0.207
C3d	ACR	0.119	-	-	0.132
C3d	Ендотелно клетъчно възпаление	0.235	-	-	0.245
C3d	Чиста фиброза	0.573	-	-	0.559
C3d	Пълна фиброза	0.783	-	-	0.748
CD68	TVP	<b>0.083</b>	0.304	<b>0.085</b>	<b>0.051</b>
CD68	ACR	0.000	0.000	0.000	0.000
CD68	Ендотелно клетъчно възпаление	0.030	0.069	0.609	0.034
CD68	Чиста фиброза	0.001	0.001	0.002	0.002
CD68	Пълна фиброза	0.004	0.006	0.005	0.005
TVP	ACR	0.116	-	-	0.084

Тази таблица подчертава значимите разлики по отношение на целевите параметри като отчита разликата между цялата група пациенти, групата, която ползва MCS и групата без MCS group.

<sup>1</sup> Относно разликите в корелацията между групи с и без MCS поддържащи системи

<sup>1</sup> Общ Cochran-Mantel-Haenszel тест

TVP	Ендотелно клетъчно възпаление	0.389	-	-	0.351
TVP	Чиста фиброза	0.560	-	-	0.628
TVP	Пълна фиброза	0.374	-	-	0.548
ACR	Ендотелно клетъчно възпаление	0.116	-	-	0.084
ACR	Чиста фиброза	0.749	-	-	0.788
ACR	Пълна фиброза	0.760	-	-	0.814
Ендотелно клетъчно възпаление	Чиста фиброза	0.603	-	-	0.587
Ендотелно клетъчно възпаление	Пълна фиброза	0.678	-	-	0.655

		p - стойност			
		(1)	(2)	(3)	(4)
Параметър		Всички пациенти	MCS пациенти	Пациенти без MCS	Разлика <sup>2</sup>
C4d	C3d	0.009	0.005	0.418	0.009 <sup>3</sup>
C3d	CD68	0.005	0.492	0.003	0.004
CD68	TVP	0.093	0.361	0.096	0.049
CD68	ACR	0.000	0.000	0.000	0.000
CD68	Ендотелно клетъчно възпаление	0.036	0.079	0.275	0.034
CD68	Чиста фиброза	0.017	0.001	0.43	0.002
CD68	Пълна фиброза	0.001	0.144	0.009	0.005

„MCS група” сравнена с група пациенти без MCS, използван тест Cochran Mantel Haenszel CD68

<sup>3</sup> bzgl. des Unterschieds des Zusammenhangs mit bzw. ohne Assist

		MCS вид устройство p - стойност		
Параметър		Пациенти без MCS	BVAD	LVAD
C3d	C4d	0.004	1	0.0009
C3d	CD68	1	0.114	0.128
CD68	TVP	0.096	0.314	1
CD68	ACR	0.000	0.000	0.000
CD68	Ендотелно клетъчно възпаление	0.275	0.152	0.315
CD68	Чиста фиброза	0.432	0.013	0.128
CD68	Пълна фиброза	0.009	0.114	0.422

Таблицата описва значимите разлики между основните данни на LVAD и BVAD подгрупи аналогично на таблицата по-горе.

## 5. ЗАКЛЮЧЕНИЯ

Относно основните характеристики, повече жени пациентки получиха сърдечен алографт от донор от различен пол в сравнение с мъжете реципиенти поради неравномерно разпределение по пол на донорската група в полза на мъжете с приблизително равен брой разпределение на мъже и жени реципиенти. Нито пола на донора или този на реципиента, нито несъответствието в пола на донора и реципиента оказаха влияние върху резултата на сърдечния алографт. При пациентите със сърдечен алографт най-често срещаната основна патология довела до развитието на остра сърдечна недостатъчност, при която пациентът се нуждае от НТХ трансплантация на сърце бе дилатативна кардиомиопатия.

### 5.1. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху остро кетъчно отхвърляне на сърдечните алографти

След сбора на допълнителните стойности от биопсията, остро кетъчно отхвърляне бе диагностицирано при приблизително всеки трети пациент (71/220).

## **5.2. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечната трансплантация върху отхвърлянето на сърдечни алографти, медирано от антитела**

Докато имаше значителна разлика при C4d депозицията/отлагането между цялата MCS група и групата без MCS поддръжка, пациентите на Excor не показаха повишение на C4d. Този резултат предполага, че не самото MCS лечението като такова, а и видът устройство, което се използва, може да повлияе на резултата от сърдечните алографти по отношение на AMR. Този извод се подкрепя и от факта, че пациентите ползвали останалите видове MCS устройства показаха признаци на отхвърляне, медирано от антитела (AMR), под формата на C4d депа при значително повече случаи отколкото групата без MCS лечение.

Рестриктивен ефект на Excor MCS системата върху развитието на AMR е вярно само за LVADs и се неутрализира когато се използва да разтовари/облекчи и двата вентрикула.

Само при пациентите с MCS устройство преди трансплантацията на сърце C3d действително корелира с капилярните C4d депа. Това обстоятелство може ползотворно да допълни съществуващите диагностични критерии за AMR.

Така също резултатите предполагат, че не самото MCS лечение като такова, а вида устройство може да окаже влияние върху резултата на сърдечните алографти по отношение на AMR.

## **5.3. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху ремоделирането на интерстициума на сърдечните алографти**

Освен това, резултатите предполагат, че както плътността на тъканните макрофаги, така и макрофагите на инфламаторния инфилтрат при резорбтивния процес на ACR са важни предсказващи фактори за ремоделирането при сърдечните алографти. Нормалните стойности за пълната фиброза достигат обем 6%, а за чистата фиброза 4% на qmm.

#### **5.4. Въздействие на механичното циркулаторно поддържане преди сърдечна трансплантация върху развитието на трансплантната васкулопатия на сърдечните алографти**

Резултатите предполагат, че LVAD лечението преди сърдечна трансплантация, с изключение на Excor MCS системата, може да окаже рестриктивно въздействие върху развитието на трансплантната васкулопатия, въпреки че са необходими по-нататъшни проучвания за да се потвърдят тези данни.

### **6. РЕСТРИКЦИИ**

Съществуват няколко рестрикции на това проучване. Те са свързани с факта, че пациентите са от един единствен център по сърдечна трансплантация, тъй като случаите с направление трябваше да бъдат изключени от по-нататъшен анализ поради непълни комплекти от налична информация за донорите.

Най-често срещаната причина за терминалната сърдечна недостатъчност бе дилатативната кардиомиопатия. Други форми на кардиомиопатия не бяха достатъчно представени, което може би се е отразило на резултатите в анализите на подгрупата.

В допълнение, неравномерното разпределение на пациентите между двете изследвани групи (MCS срещу пациенти без MCS) може да е повлияло върху резултатите на изследваните параметри. Освен това, компанията Berlin Heart, производител на повечето използвани MCS системи при изследваните пациенти (Excor и Incor), бе по-добре представена в сравнение с другите видове изследвани MCS устройства.

В допълнение, ендомиокардните биопсии бяха направени според изискванията за наблюдение след определен пост трансплантационен период, но последователно, което може да е ограничило възможността за обобщаване на представените резултати в тази научна разработка.

Така също възможно е и да е станала „грешка при вземане на пробите“, тъй като биопсиите може да не са били представителни за патологични промени в целия миокард.

Това се отнася конкретно до изследваните параметри: ниво на фиброза и остро клетъчно отхвърляне, за които се знае че имат по фрагментарно разпределение между вентрикулите и в рамките на венстрикулярната стена.

Освен това, въпреки перспективния дизайн на това проучване, в него има едно ограничение, а именно липсва клинична информация по-специално относно метаболитните заболявания като инсулино-зависимия диабет мелитус или артериалната хипертензия и терминалната бъбречна недостатъчност, които представляват често срещани съпътстващи заболявания при НТХ пациенти с трансплантация на сърце.

Всички гореупоменати болести може да са повлияли на резултатите, тъй като е известно, че се отразяват на патологията на стените на кръвоносните съдове и количеството (тъканни) макрофаги и заедно с това на ремоделирането на интерстициума на органите. Също така, като се има предвид относително напредналата възраст на донорите не е възможно напълно да се изключат случаи на трансплантирани леки атеросклеротични промени, които засягат терминалната миокардна васкуларна мрежа, въпреки негативните резултати на сърдечните катетри и/или палпация за атеросклеротични промени на епикардиалните коронарни съдове по време на сърдечна трансплантация.

## **7. ОБСЪЖДАНЕ**

Приносът на това проучване се състои в наблюдаваната значителна разлика в резултатите между пациентите, подпомогнати към трансплантация с MCS терапия в сравнение с пациенти без MCS лечение преди сърдечната трансплантация pre-НТХ. Хистопатологичните данни потвърждават хипотезата, че първо самото MCS лечение и второ видовете устройства наистина оказват въздействие върху пост трансплантационния резултат от сърдечния алоглафт относно прояви на отхвърляне медирано от антитела.

При това, доколкото ни е известно за първи път стана възможно да се демонстрира, че при пациенти с MCS лечение преди трансплантация C3d наистина корелират с капилярните C4d депа. Това обстоятелство би могло благоприятно да допълни съществуващите диагностични критерии за AMR, тъй като използването на C3d при диагнозата на сърдечен AMR е все още спорно.

Като допълнение, силната корелация между MCS терапията и C4d депа, което е диагностичен маркер за AMR при сърдечните алографти, който бе съпоставен, както и успешно демонстриран, че интрамиокардните капилярни C4d депа са свързани с pre-HTX MCS терапия преди сърдечна трансплантация на конкретни видове MCS устройства. Това подкрепя първоначалната хипотеза, че допълнителните депа при сърдечния алографт може да се дължат на алоксензитизация към различните материали на устройството. В това отношение резултатът от настоящото изследване, че pre-HTX Excor MCS лечение изглежда не провокира повишаване на C4d депа и съвпада с данните от литературата, при които пациенти подготвени към трансплантация с Novacor система са показали по-добри резултати от сърдечния алографт. Интересното е, че рестриктивното въздействие на Excor MCS системата върху развитието на AMR действително се неутрализира когато се използва за механично разтоварване на двата вентрикула. Що се отнася до възможните основни патофизиологични механизми за това наблюдение, причината вероятно е продължителното и непрекъснато активиране и на двете пътеки: класическа и лектин коплементарна, тъй като пациентите, които имат нужда от бивентрикуларна механична поддръжка са обикновено с по-влошено здрасловно състояние от пациентите, които се нуждаят от механично облекчаване на единия вентрикул и са съответно склонни да развиват инфекции.

В съответствие с медицинската литература не бе възможно да се демонстрира налична корелация между pre-HTX MCS терапията и развитието на остро клетъчно отхвърляне. Освен това, връзката между остро клетъчно отхвърляне и нивото макрофаги бе потвърдена в това проучване, тъй като макрофагите са ключови клетки при резорбтивния процес на ACR. В допълнение, плътността на макрофагите наистина корелира и с двата вида фиброза: чиста IF и пълна IF, за които бяха калкулирани изключващи стойности. В това отношение, ACR не показва, че има директно въздействие върху чистата и пълна фиброза IF. Нашите резултати предполагат, че ACR като инфламаторна реакция отключва/провокира прогресиране или сърдечно ремоделиране чрез задействане на тъканни макрофаги и засилва ефекта на макрофагите на инфламаторния инфилтрат, който поддържа непрекъснато хронично възпаление. Ето защо нивото на макрофаги е важен, предсказващ фактор за ремоделиране на сърдечните алографти.

Бе наблюдавана нежелана корелация между MCS-лечението и трансплантната васкулопатия на миокардната терминална мрежа.

Резултатите предполагат, че MCS лечението, с изключение на Excor MCS системата, може да предпазва от развитието на трансплантната васкулопатия, въпреки че са необходими още проучвания за да потвърдят наличните данни.

## **8. ПУБЛИКАЦИИ на автора свързани с темата:**

**“Въздействието на вентрикуларните помощни устройства преди трансплантация върху морфологичните параметри при сърдечните алографти”**

“The impact of ventricular assist device prior to transplantation on morphological parameters in cardiac allografts”

1. Wassilew K. Pathologisch-anatomisches Verständnis der Koronarwandveränderungen. *Herzmedizin* 2012;29(1):12-18.
2. Arndt AK, Schäfer S, Drenckhahn JD, Sabeh MK, Plovie ER, Caliebe A, Klopocki E, Musso G, Werdich AA, Kalwa H, Heinig M, Padera RF, Wassilew K, Bluhm J, Harnack C, Martitz J, Barton PJ, Greutmann M, Berger F, Hubner N, Siebert R, Kramer HH, Cook SA, Macrae CA, Klaassen S. Fine Mapping of the 1p36 Deletion Syndrome Identifies Mutation of PRDM16 as a Cause of Cardiomyopathy. *American Journal of Human Genetics* 2013;93(1):67-77.
3. Saito T, Potapov E, Wassilew K, Gorodetski B, Krabatsch T, Hetzer R. Aortic Valve Pathology in Patients Supported by a Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device. 34th Annual Meeting of the International Society of Heart and Lung Transplantation, San Diego, California, USA, 10.-13.04.2014. *Journal of Heart and Lung Transplantation* 2014;33(4 Suppl):S195.
4. Wassilew K, Potapov E, Schmuttermaier C, Gratchev A, Hetzer R, Kzhyshkowska J. Stabilin-1: A Possible Functional Biomarker for Pro-Fibrotic Alternative Macrophage Activation in Dilatative Cardiomyopathy Patients With Left Ventricular Assist Device Implantation. 34th Annual Meeting of the International Society of Heart and Lung Transplantation, San Diego, California, USA, 10.-13.04.2014. *Journal of Heart and Lung Transplantation* 2014;33(4 Suppl):S62.



5. Wassilew K, Potapov E, Kemper D, Krabatsch T, Drews T, Kzhyshkowska J, Hetzer R. Capillary complement deposition in myocardium – An unspecific finding? American Heart Association 2013 Scientific Sessions, Dallas, Texas, 16.-20.11.2013. *Circulation* 2013; 128 (Suppl 2): A14113.
6. Wassilew K, Potapov E, Krabatsch T, Dandel M, Song B, Mickley A, Schmuttermaier C, Gratchev A, Hetzer R, Kzhyshkowska J. Effect of unbalanced immune reactions on myocardial remodeling of dilatative cardiomyopathy patients with left ventricular assist device implantation. 25th European Congress of Pathology, Lisbon, Portugal, 31.08.-04.09.2013. *Virchows Archiv* 2013;463(2):103.
7. Wassilew K, Potapov E, Krabatsch T, Dandel M, Song B, Mickley A, Schmuttermaier C, Gratchev A, Hetzer R, Kzhyshkowska J. Evidence for the predictive role of alternatively activated macrophages for the outcome of mechanical circulatory support. *Heart Failure* 2013. Annual Meeting of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology (ESC), Lisbon, Portugal, 25.-28.05.2013. *European Journal of Heart Failure* 2013;12(Suppl 1):S49-50.
8. Wassilew K, Potapov E, Krabatsch T, Dandel M, Song B, Mickley A, Schmuttermaier C, Gratchev A, Hetzer R, Kzhyshkowska J. Evidence for the predictive role of alternatively activated macrophages for the outcome of mechanical circulatory support. American Heart Association 2013 Scientific Sessions, Dallas, Texas, 16.-20.11.2013. *Circulation* 2013;128(Suppl 2):A16718.
9. Wassilew K, Potapov E, Krabatsch T, Knosalla C, Hetzer R. The impact of ventricular assist device on acute cellular rejection and antibody-mediated rejection in cardiac allografts – a prospective study. 97. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V., Heidelberg, 23.-26.05.2013. *Der Pathologe* 2013;34(Suppl 1):69.
10. Wassilew K, Potapov E, Schmuttermaier C, Mickley A, Gratchev A, Hetzer R, Kzhyshkowska J. The role of stabilin-1 as a marker for alternative macrophage activation in development of fibrosis in myocardium of dilatative cardiomyopathy patients with left ventricular assist device implantation. 79. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung e.V., Mannheim, 03.-06.04.2013. *Clinical Research in Cardiology* 2013;102(Suppl 1):V1546.

11. Hiemann NE, Kemper D, Wassilew K, Hetzer R. Correlation between endomyocardial IgA deposition and antibody-mediated rejection in cardiac transplant recipients. 96. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V., Berlin, 31.05.-01.06.2012. Der Pathologe 2012;33(Suppl 1):121.
12. Hiemann NE, Wassilew K, Kemper D, Hetzer R. Antibody-mediated rejection in cardiac transplant recipients is a seasonal disease. 32nd Annual Meeting of the International Society for Heart and Lung Transplantation, Prague, Czech Republic, 18.-21.4.2012. Journal of Heart and Lung Transplantation 2012;31(4 Suppl):S275.
13. Wassilew K, Hiemann NE, Kemper D, Hetzer R. Antibody-mediated rejection in cardiac transplant recipients is a seasonal disease. 96. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V., Berlin, 31.05.-01.06.2012. Der Pathologe 2012;33(Suppl 1):40.
14. Wassilew K, Potapov E, Knosalla C, Krabatsch T, Hummel M, Hetzer R. The impact of ventricular assist device prior to transplantation on acute cellular rejection and antibody-mediated rejection in cardiac allografts with due consideration of seasonal behaviour: A prospective study. 24th European Congress of Pathology, Prague, Czech Republic, 08.-12.09.2012. Virchows Archiv 2012;461(Suppl 1):S38.

## **9. ДЕКЛАРАЦИЯ ЗА ОРИГИНАЛНОСТ**

Аз, д-р Катарина Василева, живееща в Берлин 10437, Германия, тържествено заявявам и утвърждавам, че съм разработила и написала така приложената Докторска теза напълно самостоятелно и не съм използвала източници или средства без да са цитирани в текста. Каквито и да е мисли на други или буквални цитати са ясно отбелязани. Докторската теза не е била използвана в същата или подобна версия за постигане на академично оценяване и не е била публикувана на друго място.

Декларирано пред Медицински университет Варна, ул. Марин Дринов 55, България

## **Благодарности:**

Във връзка с представената дисертационна работа изказвам своята благодарност на проф. Кр. Методиев, доц. П. Генев и родителите ми - доц. Г. Василев и Юта Василева, за подкрепата в съставянето на научната работа, както и на екипа на отделението по сърдечна патология на Deutsches Herzzentrum Berlin за изпълнението на някои от поставените в работата задачи.

Необходимо е да се упомене, че тази работа е напълно самофинансирана от самия изследовател и автор д-р Катарина Василева, д.м., като не са използвани никакви спонсори или други финансови източници.

**Уточнение:** преводът от английски на български език на автореферата е извършен от сътрудниците на Международния отдел и Департамента по чужди езици на МУ-Варна, а редактирането и предпечатната подготовка са дело на проф. Кр.Методиев. Изразявам благодарността си за тяхната работа.

Д-р Катарина Василева, д.м ..... м.август 2014 г.