

·实验研究 Experimental research·

镁合金支架植入兔腹主动脉后降解时间观察

陈 亮, 丁 健, 王永利, 王征宇, 刘利珍, 陈锦琼, 彭志清, 刘 强

【摘要】 目的 观察新型可降解镁合金支架——MPM 植入兔腹主动脉后的降解时间, 评估其对血管壁作用特性。**方法** 取新西兰大白兔 12 只, 分为 4 组, 每组 3 只。每只实验兔腹主动脉距肾动脉水平下 1 cm 处植入 MPM 支架 1 枚, 术后 30、60、90、180 d 分别对一组实验兔行腹主动脉 DSA 检查, 评估血管情况并分离支架段血管作病理学分析。**结果** 术后随访期间, 12 只实验兔均存活良好。病理检查显示 30 d 时支架形态完整, 扩张完全; 60 d 时少部分支架支杆降解断裂, 支撑力较前减弱; 90 d 时部分支架支杆断裂; 180 d 时支架几乎完全被吸收, 血管内膜稍有增生。取标本肉眼观察, 180 d 时仅见少量残留支架。根据直线回归分析, 计算出支架完全降解天数为 182 d。**结论** 可降解镁合金支架 MPM 在兔主动脉中失去支撑作用的时间为 182 d, 可防止晚期血管再狭窄。

【关键词】 可降解镁合金支架; 兔腹主动脉; 降解

中图分类号: R692.5 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2015)-11-0984-04

Observation of the degradation time of biodegradable magnesium alloy stent implanted in the abdominal aorta of experimental rabbits CHEN Liang, DING Jian, WANG Yong-li, WANG Zheng-yu, LIU Li-zhen, CHEN Jin-qiong, PENG Zhi-qing, LIU Qiang. Department of Radiology, Third Clinical Medical College, Nanfang Medical University, Guangzhou, Guangdong Province 510515, China

Corresponding author: WANG Yong-li, E-mail: yongliwang2008@163.com

【Abstract】 Objective To observe the degradation time of a newly-developed biodegradable magnesium alloy stent, MPM, which is implanted in the abdominal aorta of experimental rabbits, and to evaluate its effect on the vascular wall. **Methods** A total of twelve New Zealand white rabbits were equally divided into four groups with three rabbits in each group. Under fluoroscopic guidance, implantation of MPM stent in the abdominal aorta at the level one cm below renal artery was carried out in all experimental rabbits. DSA examination was separately performed for the rabbits of every group each time at 30, 60, 90 and 180 days after the implantation to evaluate the vascular condition, and the vascular stenting segment was removed and sent for pathological study. **Results** During the follow-up period, all the 12 experimental rabbits lived well. Pathological study showed that 30 days after the implantation the stent morphology was complete and its expansion was full; at the time of 60 days after the implantation a small part of the stent support rod became degradation and broken, its support force being weaker than before; at the time of 90 days after the implantation part of the stent support rod were ruptured; and at the time of 180 days after the implantation the stent was almost completely absorbed and slight hyperplasia of vascular intima was observed. Macroscopically, at the time of 180 days after the implantation only small amount of residual stent could be found. Linear regression analysis indicated that the time of complete degradation of the stent was 182 days. **Conclusion** The time of losing supporting effect of magnesium alloy stent, MPM, in rabbit's abdominal aorta is 182 days, it can prevent the occurrence of late vascular restenosis. (J Intervent Radiol, 2015, 24: 984-987)

【Key words】 biodegradable magnesium alloy stent; rabbit abdominal aorta; degradation

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2015.11.013

基金项目: 上海市科委科研计划项目(124119b1200)、上海市卫生局科研项目(20124175)

作者单位: 510515 广州 南方医科大学第三临床医学院(陈 亮); 浙江嘉兴市第一医院放射科(丁 健); 南方医科大学附属上海市奉贤区中心医院介入科(陈 亮、王永利、王征宇、刘利珍、陈锦琼、彭志清、刘 强)

共同第一作者: 陈 亮、丁 健

通信作者: 王永利 E-mail: yongliwang2008@163.com

支架植入是目前治疗血管狭窄和闭塞常用方法之一,但术后易发生支架内再狭窄,影响远期疗效。生物可降解支架可在病变血管扩张并重塑后全部降解,避免长期刺激血管造成内膜过度增生而形成再狭窄,但仍存在远期重塑引起血管再狭窄问题,且有效支撑时间不足。因此,如何延长支架有效支撑时间并解决支架植入后血管再狭窄问题仍为研究热点。本研究将一种新型生物可降解镁合金支架——MPM 植入兔腹主动脉,观察该支架降解时间,评估其对血管壁的作用特性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验选择健康新西兰大白兔 12 只(上海松联实验动物场提供),雌雄不限,体重 1.8~2.2 kg,平均 2 kg。分为 4 组,每组 3 只。可降解镁合金 MPM 球囊扩张支架 12 枚,由微创医疗器械(上海)有限公司提供,尺寸为 3.0 mm×23 mm。该支架由镁合金激光镂空而呈网格状,表面经抛光及化学防护处理。

实验设备及器械包括德国 Siemens C 形臂 DSA 机、4 F VER 造影导管(美国 Cook 公司)、0.018 英寸微导丝(美国 ev3 公司)、4 F 血管鞘(日本 Terumo 公司)、碘海醇(江苏泰州扬子江药业有限公司)、压力泵、小儿静脉型切开包、无菌纱布、手术缝合线(3/0)、缝合针(3 号圆针)、剪刀、透明敷帖。

1.2 实验方法

术前连续 3 d 给予实验兔口服阿司匹林(10 mg/kg)和氯吡格雷(10 mg/kg)。以 1.5%戊巴比妥钠(1 ml/kg)经兔耳缘静脉注射麻醉(初次剂量 5 ml,随后根据情况追加剂量),右侧后肢内侧备皮、消毒铺巾,触摸股动脉搏动最明显处,沿股动脉切开皮肤及皮下组织,显露和钝性分离出股动脉,于股动脉近心端与远心端分别引入手术缝线,结扎远端,用线拉法阻断近端血流;采用改良 Seldinger 技术逆行穿刺两线间右侧股动脉血管壁,成功后引入 4 F 导管鞘并固定;经 0.018 英寸微导丝将 4 F VER 导管置入腹主动脉中上段,注入对比剂,观察主动脉及两侧肾动脉位置,退出导管后引入球囊扩张支架,透视下根据球囊两端金属标记点进行定位,使其位于左侧肾动脉之下 1 cm 处,完全扩张球囊(压力为 4 atm),继续维持 5 s 后释放压力,透视下确定球囊缩瘪后退出球囊,支架完全释放;VER 导管注入对比剂证实支架贴附处血管形态正常,无狭窄、穿孔、夹层形成或撕裂,结扎右侧股动脉并逐层缝

合手术切口。术后 3 d 连续耳缘静脉内注入青霉素 G 钠 80 万 U,并给予口服阿司匹林(10 mg/kg)和氯吡格雷(10 mg/kg)连续 28 d。

支架植入术后 1、2、3、6 个月分别采用腹主动脉 DSA 复查随访一组实验兔(3 只),观察血管是否通畅,有无发生支架植入后相关并发症。DSA 复查后采用耳缘静脉注射过量气体致肺栓塞方法处死实验兔,外科分离并获取支架段腹主动脉(包括支架两端各 1 cm),肝素水冲洗后放入 10%甲醛液固定 24 h,随后将标本置于乙二胺四乙酸(EDTA)溶液中浸泡 20 min 溶解未降解支架,再将标本脱水、去脂、包埋处理。每个标本参数均取近、中、远 3 段血管 6 个切片测量数值的平均值,切片厚度 5 μ m,再行苏木精-伊红(HE)染色,显微镜下观察并记录支架支杆溶解后管腔内遗留的空洞个数,每个支架剩余支杆数取其平均数及观察血管内膜增生情况。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 软件对所得数据作直线回归分析,估算出植入支架降解时间。

2 结果

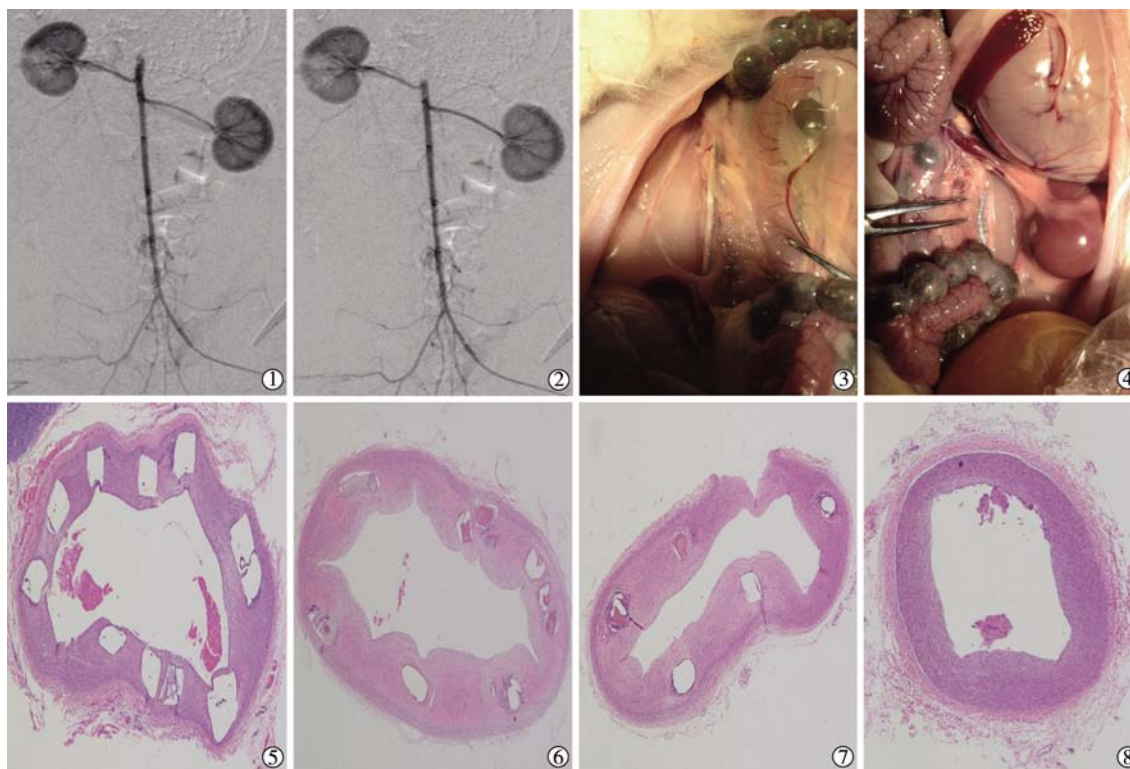
12 只新西兰大白兔腹主动脉各一次性成功植入 1 枚支架,技术成功率为 100%,术后造影无血管急性闭塞、穿孔、夹层形成或撕裂。所有实验兔饮食、活动正常,复查随访期间均存活良好。

支架植入后即刻腹主动脉 DSA 复查未见血管急性血栓等并发症,各观察时间点(1、2、3、6 个月)造影均示腹主动脉通畅,支架段血管畅通,未见边缘效应、血栓及动脉瘤等表现;血管内支架不可见。各时间点取标本肉眼观察见,30 d 时支架结构完整,外力轻压支架未见断裂;60 d 时支架结构基本完整,较少处支架支杆存在断裂,相同外力作用下支架易发生断裂;90 d 时无外力下血管内见部分支架断裂;180 d 时仅见部分支架残留碎片。HE 病理图像显示,血管壁内支架支杆数随支架植入时间延长逐渐减少。(图 1)

将各观察时间点所得剩余支架支杆数与时间(d)作 Pearson 检验,直线相关系数为 $r=-0.971$, $P=0.00$,呈明显直线相关;直线回归方程斜率 $=-0.072$,即支架支杆降解为 0.072 个/d。根据直线回归分析,计算出支架完全降解天数为 182 d(图 2)。

3 讨论

生物可降解支架的作用是使狭窄血管持久扩



①②支架植入 30 d 和 180 d 时,腹主动脉 DSA 复查示腹主动脉均开通,支架段血管畅通,无明显狭窄,未见边缘效应、血栓及动脉瘤等表现,且支架不可见;③支架植入 30 d 时肉眼见支架结构完整,但支撑强度稍降低;④180 d 时仅见部分支架残留碎片;⑤支架植入 30 d 时,HE 染色见残留支架空洞,周边可见少量炎性细胞浸润;⑥60 d 时,残留支架空洞较 30 d 时少;⑦90 d 时,残留支架空洞明显减少,支架吸收后残留炎性细胞浸润;⑧180 d 时,支架几乎完全被吸收,血管内膜稍有增生(注:⑤⑧管腔中团块状红染物质在高倍镜下显示为红细胞团,考虑系取标本时血液未冲洗干净所致,并非血栓形成)

图 1 术后各观察时间点腹主动脉 DSA 复查、肉眼及 HE 染色所见

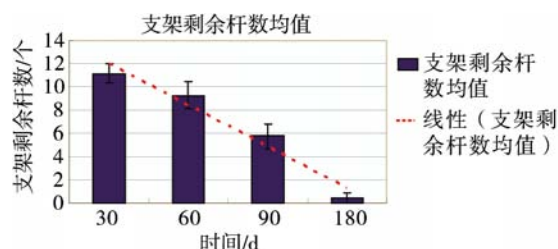


图 2 直线回归分析支架支杆降解时间

张而又不发生再狭窄,这主要取决于支架的支撑力和降解时间,降解时间是血管是否发生再狭窄的决定性因素。生物可降解支架作为一种支撑装置在完成使命后自动消失,这种“使命”的时间长短理论上取决于血管再狭窄时间。血管狭窄主要分为早期急性闭塞和晚期重塑形两个时期,血管急性闭塞一般出现在血管成形术中和术后 24 h 内,主要源于早期血管壁被动扩张和主动弹性回缩^[1],此时支架刚被植入血管内,通过获得更大最初管腔、抑制血管弹性回缩,加之使用抗血小板药物抑制血小板聚集,可明显降低支架植入后早期狭窄发生,此后支架则作为内皮细胞附着模板成为内皮细胞修复的基础。相

关文献报道显示,血管晚期重塑形绝大多数发生于 90 d 内,而 6~12 个月后血管重塑形及修复已完成,再狭窄很少发生^[2],支架的支撑作用已无需要。因此,如何使支架的有效支撑时间与血管晚期狭窄时间相互切合,成为生物可降解支架亟待解决的问题。

目前研究的生物可降解镁合金支架,一般降解吸收时间为 2~3 个月^[3-5],这样在血管晚期重塑形完成前支架硬度已明显降低,不能够完全为晚期管腔重构提供足够的径向支撑力,随之发生血管狭窄。本实验在 HE 染色光镜下观察不同时间节点 MPM 支架逐渐降解吸收过程,30 d 时肉眼观察支架结构完整,外力作用下未发生断裂,可提供足够的径向支撑力,以便防止早期急性狭窄;60 d 时支架仅少数支杆断裂,在相同外力作用下支架可发生断裂,说明其硬度较 30 d 时有所降低,对血管的径向支撑力减弱;90 d 时血管内支架较多支杆断裂或消失,导致部分支架发生断裂,说明其硬度较 60 d 时进一步下降,对血管的支撑力较前明显下降,而此时正值血管晚期重塑形高峰,若无法提供足够径向支撑力,晚期重塑形必然导致管腔狭窄甚至闭塞。本研

究在 90 d 观察节点经血管 DSA 复查发现管腔通畅,未发生明显管腔狭窄及血栓形成;病理检查显示管腔内膜轻度增厚,血管基本维持原有管腔面积,未对血流动力学造成明显影响;180 d 取材时发现支架大部分吸收,仅有少量碎片残留。本研究表明,MPM 支架完全降解时间为 182 d,降解速度较慢于既往报道;血管晚期重塑形高峰期,支架尚存部分支撑作用,可为血管提供一定的支撑力,而 90 d 晚期重塑形高峰期完成后已无需支架支撑作用,此时支架逐渐降解吸收,支撑力随之进一步降低并消失;整个实验过程中 DSA 复查均显示血管通畅,并未见支架段血管明显狭窄。因此,我们认为可降解镁合金支架 MPM 能为血管重塑期管壁提供一定的支撑作用,防止晚期血管再狭窄。

MPM 可降解支架主要成分为镁合金,与永久性金属支架相比性质活泼,较易与周围发生反应,尤其是在氯化物存在情况下会加快其降解进度,而人体体液恰为氯离子所在环境,金属镁快速降解使体内短时间内聚集大量镁金属降解产物,高浓度镁对机体的影响尚未得到证实。因此,减慢镁合金支架降解速度不仅是评价支架对血管作用的要素,更是对机体的保护性要求,延长降解时间是镁合金支架的重要研究内容。目前主要通过改变支架基材及其表面处理降低镁合金支架活性来延长降解时间。很多研究报道在纯镁中加入锌(Zn)、锰(Mn)、铝(Al)、钙(Ca)、锂(Li)、锆(Zr)、钇(Y)、铼(Re)等元素来改变镁合金支架成分组成,从而改变其物理性能及力学性能,延长有效支撑时间^[6-9],而本实验所研究 MPM 支架则是在镁合金支架基础上添加一定的微量元素来改变其降解速度。影响镁合金生物材料降解吸收的因素很多,如组成支架各成分比例、支架表面处理改变表面结构等。MPM 支架表面由激光雕刻而成,这样在血管降解过程中可减少对血管内膜的刺激,减弱血管内膜晚期增生程度,从而可改善管腔通畅情况。此外,支架内再狭窄是支架植入后动脉愈合反应被过度激活,是血管重建失控的病理反应,而血管内皮细胞损伤是支架内再狭窄始动因素,新生内膜最终以内皮细胞晚期再生而告终,即加快支架表面内皮化可有效降低血栓发生,同时可通过抑制血管平滑肌增生和迁移降低再狭窄发生。2003 年就有学者提出将促进恢复血管内皮功能完整性作为预防支架植入后再狭窄策略^[10],近期相关对照研究也验证了促血管内皮化可降低血管腔内支架植入术后再次狭窄发生^[11]。近年针对延长支架

降解时间、减少血管晚期重塑形的研究提示,通过支架涂层载体对病变局部释放高浓度紫杉醇、雷帕霉素等抗细胞增殖药物,可抑制血管内膜(主要为平滑肌细胞)增生,适当减慢镁合金支架降解,从而为血管重塑形提供足够长支撑时间。因此,MPM 支架仍需进一步实验研究,通过抗细胞增殖药物涂层来进一步延长降解时间。

未来有关血管晚期重塑形机制研究将使用生理反应上更接近人体的大型哺乳类动物,以血管内超声及时观察血管重塑形过程。

[参考文献]

- [1] Moscucci M, Ricciardi M, Eagle KA, et al. Frequency, predictors, and appropriateness of blood transfusion after percutaneous coronary interventions[J]. *Am J Cardiol*, 1998, 81: 702-707.
- [2] Moravej M, Mantovani D. Biodegradable metals for cardiovascular stent application: interests and new opportunities[J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12: 4250-4270.
- [3] Ghimire G, Spiro J, Kharbanda R, et al. Initial evidence for the return of coronary vasoreactivity following the absorption of bioabsorbable magnesium alloy coronary stents[J]. *EuroIntervention*, 2009, 4: 481-484.
- [4] Curcio A, Torella D, Indolfi C. Mechanisms of smooth muscle cell proliferation and endothelial regeneration after vascular injury and stenting: approach to therapy[J]. *Circ J*, 2011, 75: 1287-1296.
- [5] 李海伟, 徐克, 杨柯, 等. 可降解 AZ31 镁合金支架在兔腹主动脉的降解性能研究[J]. *介入放射学杂志*, 2010, 19: 315-317.
- [6] Pollock TM. Materials science[J]. *Science*, 2010, 328: 986-987.
- [7] Wang HX, Guan SK, Wang X, et al. In vitro degradation and mechanical integrity of Mg-Zn-Ca alloy coated with Ca-deficient hydroxyapatite by the pulse electrodeposition process[J]. *Acta Biomater*, 2010, 6: 1743-1748.
- [8] Huan ZG, Leeftang MA, Zhou J, et al. In vitro degradation behavior and cytocompatibility of Mg-Zn-Zr alloys[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2010, 21: 2623-2635.
- [9] Wang J, Wang L, Guan S, et al. Microstructure and corrosion properties of as sub-rapid solidification Mg-Zn-Y-Nd alloy in dynamic simulated body fluid for vascular stent application[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2010, 21: 2001-2008.
- [10] Losordo DW, Isner JM, Diaz-Sandoval LJ. Endothelial recovery: the next target in restenosis prevention[J]. *Circulation*, 2003, 107: 2635-2637.
- [11] 李景雷, 王晓白, 乔宏宇, 等. 小肠黏膜下层促进经皮血管腔内支架植入术后内皮化的实验研究[J]. *介入放射学杂志*, 2013, 22: 403-408.

(收稿日期:2015-06-01)

(本文编辑:边 倩)