

## ·实验研究 Experimental research·

## 镁合金支架植入兔腹主动脉后降解时间及血管内膜增生观察

陈 亮, 丁 健, 王永利, 王征宇, 谢 科, 彭志清, 刘 强

**【摘要】** 目的 观察新型可降解镁合金支架——MPM 植入兔腹主动脉后降解时间及血管内膜增生。方法 24 只新西兰大白兔随机分为 4 组, 每组 6 只, 分别于距左肾动脉水平下 1 cm 腹主动脉处植入 MPM 支架各 1 枚。术后 30、60、90、180 d 分别复查腹主动脉造影, 分离支架段血管进行观察。采用 SPSS20.0 软件对数据进行分析。结果 24 只实验兔在随访期间存活良好。植入支架逐渐降解, 180 d 时基本降解; 血管内膜增生, 90 d 时达峰值, 整个降解过程血管通畅。结论 可降解镁合金支架 MPM 完全降解时间为 182 d, 可满足血管正性重塑。

**【关键词】** 可降解镁合金支架; 腹主动脉; 降解时间; 血管内膜增生

中图分类号: R692.5 文献标志码: A 文章编号: 1008-794X(2017)-05-0443-04

**The degradation time and the intimal hyperplasia of biodegradable magnesium alloy stent implanted in the abdominal aorta of experimental rabbits** CHEN Liang, DING Jian, WANG Yongli, WANG Zhengyu, XIE Ke, PENG Zhiqing, LIU Qiang. Department of Interventional Radiology, South Branch of Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201499, China

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

**【Abstract】 Objective** To observe the degradation time and the intimal hyperplasia of biodegradable magnesium alloy stent (MPM) implanted in the abdominal aorta of experimental rabbits. **Methods** A total of 24 New Zealand white rabbits were randomly divided into four groups (30 d, 60 d, 90 d and 180 d) with 6 rabbits in each group. In each rabbit one MPM stent was implanted in the abdominal aorta at the level of one cm below the left renal artery. Reexamination of abdominal aortography with DSA was separately performed at 30, 60, 90 and 180 d after stent implantation to check the stent condition. The rabbits of each group were sacrificed at the corresponding scheduled day, the stenting segment of aorta of each rabbit was removed and the specimen was sent for microscopic examination. The experimental results were analyzed with SPSS20.0 software. **Results** All the 24 experimental rabbits survived. During the follow-up period the stent showed gradual degradation changes, and basically complete degradation was not observed until to 180 days. Meanwhile, the intimal hyperplasia reached its peak at 90 days after implantation. The abdominal aorta remained unobstructed during the whole process of degradation. **Conclusion** The time of complete degradation for MPM stent is 182 days, which is long enough to meet the needs of vascular positive remodeling. (J Intervent Radiol, 2017, 26: 443-446)

**【Key words】** biodegradable magnesium alloy stent; abdominal aorta; degradation time; intimal hyperplasia

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2017.05.015

基金项目: 上海市科委医学引导类项目(124119b1200)、上海市卫生局科研项目(20124175)

作者单位: 201499 上海交通大学附属第六人民医院南院介入科(陈 亮、王永利、王征宇、谢 科、彭志清、刘 强); 浙江省嘉兴市第一医院放射科(丁 健)

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

血管支架已成为临床治疗血管狭窄及闭塞性疾病的主要方式,但相关临床问题也逐渐显现,尤其是术后支架内再狭窄(ISR)发生率,最高达 50%。相关研究发现支架植入后长时间刺激血管壁是 ISR 主要原因,可降解材料成为研究热点。镁合金因其优良特性,受到临床广泛关注。一些可降解镁合金支架目前仍然存在有效支撑时间不足、晚期重塑引起 ISR 等问题。为此,我们联合上海微创医疗器械有限公司共同研究开发出一款新型可降解镁合金金属支架——MPM,该支架体外实验参数较优,体内作用机制尚不明确。本研究对 MPM 植入兔腹主动脉后降解时间及血管内膜增生体内效应进行研究,现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及器材

取体重( $2.2 \pm 0.2$ ) kg 健康新西兰大白兔 24 只,雌雄不限。根据 MPM 支架植入后处死实验兔不同时间点,随机分为 30 d 组、60 d 组、90 d 组和 180 d 组,每组 6 只,分别标记。

实验器材包括 AXIOM Artis dTA 型 DSA 机(德国 Siemens 公司)、4 F 穿刺系统(日本 Terumo 公司)、0.018 英寸微导丝(美国 ev3 公司)、TP1020 型半自动脱水机、EG1150 型全自动石蜡包埋机、RM2235 型全自动石蜡切片机(德国 Leica 公司)、Eclipse 50i 型显微镜、H500S 图像处理软件、Image-Pro Plus 7.0 版图像分析软件(日本 Nikon 公司)、 $-20^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱(中国海尔公司)。MPM 支架(上海微创医疗器械公司)由镁金属中添加其它无毒或低毒性合金激光雕刻而成,为 By-Pass 型球囊扩张支架,完全扩张后为长度为 23 mm,外径为 3 mm(图 1)。

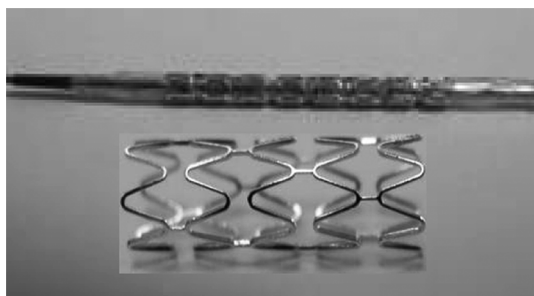


图 1 可降解镁合金支架 MPM 形态

### 1.2 实验方法

术前实验兔称重,术前 3 d 给予口服阿司匹林( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )及氯吡格雷( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )。

实验兔消毒、麻醉、固定后,于右下肢股动脉搏

动最强处切开、钝性分离,显露股动脉,采用改良 Seldinger 技术引入 4 F 导管鞘作造影,经微导丝引入 MPM 支架(DSA 不显影,可通过观察支架球囊两端金属标记点确定支架情况),直至球囊近心端标记点到达左肾动脉之下 1 cm 处,扩充并释放球囊支架,造影无异常后退出血管鞘,结扎远心端股动脉,缝合皮下等组织。

术后 3 d 耳缘静脉内注入青霉素 G 钠(80 万 U/d),给予口服阿司匹林( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )和氯吡格雷( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )连续 28 d,随后长期口服阿司匹林( $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ )。

术后 30 d,取 30 d 组动物,经耳缘静脉留置针推入过量气体处死,解剖并取出支架段血管,冲洗后用 4%甲醛液中固定 24 h;60 d 组、90 d 组、180 d 组动物分别于各时间点作上述处理。将标本置于乙二胺四乙酸(EDTA)溶液中溶解未降解支架,再作标本脱水、去脂、包埋处理。每个标本取近、中、远血管 3 段 6 个切片作测量,参数取均值;切片厚度  $4 \mu\text{m}$ ,再作苏木精-伊红(HE)染色及免疫组化;显微镜下观察并记录支架支杆溶解后管腔内遗留空洞数,每枚支架剩余支杆取其平均数,观察血管内膜增生面积。

### 1.3 统计学处理

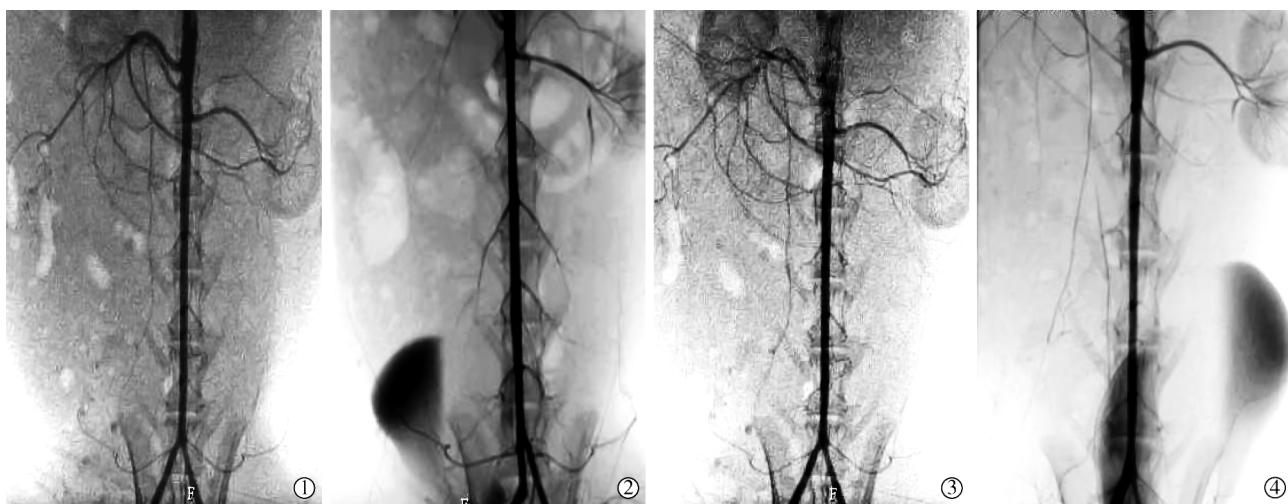
采用 SPSS 20.0 软件,分别对 MPM 支架降解过程中降解时间、血管内膜增生面积作线性回归分析及单因素方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

术后即刻血管造影显示实验兔无支架内急性血栓形成,无穿孔、血管撕裂等,各组各时间点(30、60、90、180 d)复查造影显示腹主动脉均通畅,支架段血管无狭窄,无血栓、溃疡或动脉瘤等征象(图 2)。

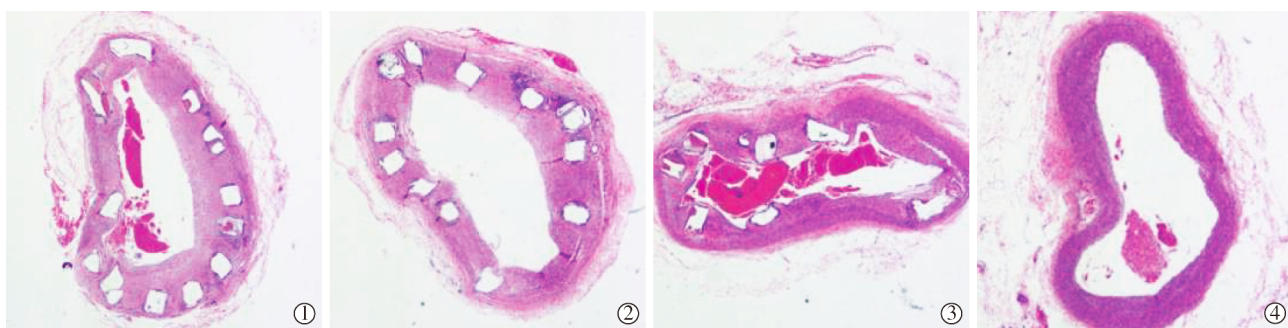
标本 HE 染色后观察显示不同时间点血管通畅,管腔狭窄情况不一。90 d 组血管内膜增生最为明显,管腔剩余面积最少。血管内膜上空洞数(支架在 EDTA 中溶解后残留)逐渐减少,至 180 d 组时已基本无空洞,即随着支架植入时间延长,血管壁内支架杆数由 30 d 时( $11.45 \pm 0.76$ )个逐渐减少为 60 d 时( $9.53 \pm 0.84$ )个,90 d 时( $6.08 \pm 0.92$ )个,180 d 时( $1.09 \pm 0.34$ )个,支架基本完全降解(图 3);线性回归分析评估支架完全降解时间为 182 d。

肉眼直观标本见血管管腔占整个血管横断面积比例逐渐降低,30 d 组、60 d 组、90 d 组血管内膜增生逐渐增加,180 d 组较 90 d 组内膜增生减少。



①术后 30 d;②术后 60 d;③术后 90 d;④术后 180 d

图 2 术后不同时间点复查造影结果



①术后 30 d;②术后 60 d;③术后 90 d;④术后 180 d

图 3 支架降解过程中各组标本 HE 染色结果

测量 30 d 组、60 d 组、90 d 组、180 d 组血管增生内膜面积均值分别为  $(0.96 \pm 0.54) \text{ mm}^2$ 、 $(0.80 \pm 0.42) \text{ mm}^2$ 、 $(1.52 \pm 0.54) \text{ mm}^2$ 、 $(0.93 \pm 0.38) \text{ mm}^2$ 。90 d 组与其它 3 组相比,差异有统计学意义 ( $P=0.004$ 、 $0.000 1$ 、 $0.034$ );30 d 组、60 d 组、180 d 组间相比,差异无统计学意义 ( $P=0.865$ 、 $0.690$ 、 $0.743$ )。

### 3 讨论

支架植入成形术旨在使本已发生狭窄、血流截断或不通畅的血管腔扩张,建立新通路,使血流通畅。但由于机体特性,支架植入后会发生 ISR,需长期给予抗血小板聚集药物辅助治疗。研究显示支架植入后在“必要时间”内提供足够支撑,其后支架存在已无必要<sup>[1-2]</sup>。因此,生物可降解支架应运而生。许多研究提示生物可降解支架能否使狭窄管腔扩张且不发生 ISR,主要取决于支架植入后降解阶段支撑力与降解时间的平衡。目前生物可降解支架大多能满足在“必要时间”内提供支撑,扩张血管<sup>[3]</sup>,但降解大多在该“必要时间”后仍未完成,这为 ISR 发生提供了条件。可见,降解时间是控制 ISR 的决定因

素。与永久性支架相比,生物可降解支架具可降解特性,理论上存在降解时间可控的可能<sup>[4]</sup>。

根据支架植入后 ISR 发生阶段,主要分为早期急性血栓形成和晚期血管重塑。早期血栓多发生于支架植入后 24 h,主要由支架“撕裂”狭窄管腔,损伤血管壁,引起血栓附着及因支架支撑力不够,血管弹性回缩引起<sup>[5-7]</sup>,可通过给予合适规格支架以提供合适支撑力及术后给予一段时间抗血小板聚集药物防止。晚期重塑多发生于支架植入后 90 d 左右,而 6~12 个月后血管正性重塑基本完成,ISR 较少发生<sup>[5,8]</sup>。因此,上述“必要时间”即支架植入后至血管完成正性重塑时间,其后支架存在已无必要;若此时支架仍未完全降解,即产生持续刺激血管作用,引起 ISR。正因为这一特性,在“必要时间”内能提供足够支撑的无毒性可降解支架才是临床上理想支架<sup>[9-11]</sup>。

与其它可降解支架相比,镁合金材料以其优良特性,存在达到理想支架的潜在可能。目前文献报道的可降解镁合金支架降解时间均偏短,一般为 2~3 个月<sup>[5,12-14]</sup>,此时血管正性重塑尚未完全完成,



支架无法提供支撑作用,血管狭窄必然发生 ISR。我们在前期研究中对 MPM 支架进行的体外实验显示各参数均较优良。本实验分别从血管通畅、支架降解、血管内膜诸方面观察 MPM 支架降解过程,发现支架植入 30 d 时支杆完整,“波浪形”支杆连续,未见中断,外力作用下未见断裂,支撑力良好,表明早期因血管弹性回缩不可能形成 ISR;60 d 时支杆部分断裂,“波浪形”支杆偶见中断,支撑力较前减弱,表明存在发生 ISR 可能;90 d 时支杆剩余数较 60 d 时更少,血管支撑力较前更弱,形成 ISR 可能较 60 d 时增加;180 d 时支杆大部分完成降解,支撑力基本消失,发生 ISR 可能性更大。然而在支架降解过程中血管复查造影提示各组腹主动脉均通畅,支架段血管无明显狭窄,无血栓、溃疡或动脉瘤等征象;病理切片检查提示各组血管内膜虽有不同程度增生,但管腔剩余面积基本保持未变(30 d 组与 180 d 组管腔剩余面积无明显差异,90 d 组管腔剩余面积虽与其它 3 组存在差异,但血管仍通畅,无血栓形成);支架植入后各项降解参数评估分析显示 MPM 支架完全降解时间长于 180 d 组相应时间点,即 182 d。MPM 支架降解速度明显较慢,即相应降解时间点支撑力长于其它支架,在支架植入成形术后 3 个月重塑高峰期仍可提供部分支撑,可避免 ISR;术后 6 个月支架基本降解,此时血管重塑完成,可避免晚期 ISR。总之,本研究显示可降解镁合金支架——MPM 在降解过程中血管全程通畅,未发现支架植入后早晚期 ISR,表明降解时间较理想,能有效避免 ISR。

#### [参 考 文 献]

- [1] 尹铁英,王亚洲,王贵学. 血管支架内再狭窄机制的研究现状[A]. 第一届全国介入医学工程学术会议论文集[C]. 2007 年.
- [2] 卢 旺,刘建民. 支架植入后再狭窄防治的研究进展[J]. 介入放射学杂志, 2003, 12: 230-232.
- [3] 肖健勇,刘 寅. 镁合金可吸收金属支架的研究进展[J]. 天津医药, 2011, 39: 285-287.
- [4] 丁 健. 可降解镁合金支架 MPM 置入兔腹主动脉后的实验研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2014.
- [5] 陈 亮,丁 健,王永利,等. 镁合金支架植入兔腹主动脉后降解时间观察[J]. 介入放射学杂志, 2015, 24: 994-997.
- [6] 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.
- [7] 张春晓. 冠状动脉支架内再狭窄的相关因素分析[D]. 天津: 天津医科大学, 2012.
- [8] Moravej M, Mantovani D. Biodegradable metals for cardiovascular stent application: interests and new opportunities[J]. Int J Mol Sci, 2011, 12: 4250-4270.
- [9] Garg S, Serruys PW. Coronary stents: looking forward[J]. J Am Coll Cardiol, 2010, 56: S43-S78.
- [10] Bowen PK, Gelbaugh JA, Mercier PJ, et al. Tensile testing as anovel method for quantitatively evaluating bioabsorbable material degradation[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2012, 100: 2101-2113.
- [11] 谭志刚,周 倩,蒋宇钢. 生物可降解镁合金血管支架: 缺点及未来研究趋势[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19: 1284-1288.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.

(收稿日期:2016-09-06)

(本文编辑:边 伟)