

• 实验研究 Experiment research •

国产雷帕霉素洗脱支架和裸支架植入后血管再内皮化实验研究

张琳, 张瑞岩, 朱政斌, 杜润, 沈卫峰

【摘要】 目的 评价国产雷帕霉素洗脱支架与裸支架植入兔腹主动脉后不同时间血管再内皮化差异。**方法** 雄性新西兰大白兔 24 只, 高脂喂养 28 d 后随机分为两组, 分别于腹主动脉植入国产雷帕霉素洗脱支架 Firebird (SES) 和裸金属支架 Mustang (BMS)。每组分别于术后第 3、7、14 和 28 天各处死 3 只动物, 经处理后以扫描电镜观察支架段血管内皮, 应用图像处理系统分析支架植入段血管再内皮化程度。**结果** 支架植入术后第 3 天两组几乎均无新生内皮, 炎症反应较明显。术后第 7、14 和 28 天, SES 组内皮覆盖程度明显低于 BMS 组 (分别为 $15\% \pm 8\%$ 比 $53\% \pm 9\%$; $49\% \pm 16\%$ 比 $83\% \pm 4\%$ 和 $73\% \pm 3\%$ 比 $93\% \pm 4\%$, $P < 0.05$)。**结论** SES 植入后靶血管出现明显的再内皮化延迟。

【关键词】 再内皮化; 雷帕霉素洗脱支架; 裸支架

中图分类号: R73-76 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2009)-08-0616-04

The effect of sirolimus-eluting stent implantation on re-endothelialization: a comparative study with bare-metal stent implantation in rabbits ZHANG Lin, ZHANG Rui-yan, ZHU Zheng-bin, DU Run, SHEN Wei-feng. Department of Cardiology, Ruijin Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China

【Abstract】 Objective To evaluate the effect of sirolimus-eluting stent implantation on the re-endothelialization of abdominal aorta in rabbits, and to compare it with that of bare-metal stent implantation. **Methods** Twenty-four New Zealand male rabbits were randomly and equally divided into two groups after hyperlipemia feeding. Sirolimus-eluting stent, Firebird, or bare-metal stent, Mustang, was implanted in the abdominal aorta in two groups. Every three experimental rabbits from both groups were sacrificed each time at 3, 7, 14 and 28 days after the procedure, and the specimens of aorta were harvested and processed for observing the vascular endothelia with scanning electron microscopy, and the degree of re-endothelialization was analyzed by computed imaging analysis technique. **Results** Three days after the procedure, in both groups neogenetic endothelia could be hardly seen in the treated aorta although inflammatory reaction was rather obvious. At the time of 7, 14 and 28 days after the operation, the covering rate of re-endothelialization in sirolimus-eluting stent group was significantly lower than that in bare-metal stent group ($15\% \pm 8\%$ vs $53\% \pm 9\%$, $49\% \pm 16\%$ vs $83\% \pm 4\%$ and $73\% \pm 3\%$ vs $93\% \pm 4\%$ respectively, $P < 0.05$). **Conclusion** Compared with bare-metal stent, sirolimus-eluting stent will markedly delay the re-endothelialization of the implanted vessels. (J Intervent Radiol, 2009, 18: 616-619)

【Key words】 re-endothelialization; sirolimus-eluting stent; bare-metal stent

与金属裸支架 (bare-metal stent, BMS) 相比, 雷帕霉素洗脱支架 (sirolimus-eluting stent, SES) 通过抑制血管平滑肌细胞增殖和迁移, 减少内膜增生, 显著降低了再狭窄的发生率^[1,2]。然而这种非选择性的抑制作用同时也影响了支架植入后血管内皮细胞的修复, 造成血管内膜延迟愈合 (delay healing)^[3] 和

晚期血栓 (late stent thrombosis, LST) 发生率的显著增加^[4]。本研究旨在通过动物实验观察 SES 植入对血管再内皮化的影响, 并与 BMS 比较。

1 材料与方法

1.1 实验动物

24 只 3 月龄雄性健康新西兰大白兔, 购自上海农业大学实验动物中心, 体重 2.0 ~ 2.5 kg。动物饲

养和手术均在上海交通大学医学院动物实验室进行。普通饲料(上海松联良种饲养场提供)适应性喂养 7 d 后进行高脂喂养,每只实验动物每天给予胆固醇 1 g,猪油 10 g 及基础饲料拌匀后喂养,持续 28 d 后将动物随机分为 BMS 组和 SES 组。

1.2 方法

1.2.1 手术方法 术前 3 d 实验动物开始喂服阿司匹林(10 mg/d)和抵克立得(125 mg/d),之后行支架植入术。2.5%戊巴比妥按照 1.0 ml/kg 经耳缘静脉注射麻醉。固定头部和四肢,常规消毒,用手触摸确定右股动脉搏动明显处,沿股动脉走向剪开皮肤和皮下组织,解剖并钝性分离右股动脉,12 G 套管针穿刺血管,送入 0.014 英寸导引导丝 30 cm,沿导丝推送 3.0 mm × 13 mm SES 支架输送系统™或是 3.0 mm × 13 mm BMS 支架输送系统[微创医疗器械(上海)有限公司],使支架位于肾动脉下方腹主动脉处,充盈球囊至 16 atm,使球囊血管直径比为 1.1 ~ 1.2 : 1,持续 10 s,待支架完全贴壁后撤出球囊。结扎右股动脉,逐层缝合皮下组织和皮肤,待动物清醒后送回笼中。术后持续高脂喂养,喂服阿司匹林(10 mg/d)和抵克立得(125 mg/d)直至处死;常规庆大霉素 4 万 u/d 肌注,共 3 d。

1.2.2 标本制备和形态学观察 于术后 3、7、14 和 28 d 两组每次各处死 3 只实验动物,取其支架覆盖段腹主动脉,将支架植入段血管纵向剪开后完全浸泡于 2%戊二醛溶液中固定。经过梯度乙醇脱水、临界点干燥和镀膜后(上海交通大学医学院电镜室完成),Kuantu Inspect 扫描电镜(FEI 公司 美国)下观察靶血管内皮化程度。应用专业图像分析软件 Image-Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics 美国)进行图像分析,测算内皮覆盖率。

1.3 统计学方法

采用 SPSS11.0 统计软件,比较采用方差分析(ANOVA)。所有指标用均数±标准差表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物一般情况

所有实验动物均顺利植入支架并存活至终点。实验结束前后,记录动物体重,并分别比较两组动物手术前后的体重,经统计学分析显示各组动物术前、术后体重差异均无统计学意义(表 1)。靶血管取出后未发现支架贴壁不良和支架内血栓形成,手术侧下肢无缺血坏疽。

表 1 兔腹主动脉 Mustang 支架和 Firebird 支架植入后各时间点实验动物体重变化

(kg)

组 别	支架置入后							
	0 d	3 d	0 d	7 d	0 d	14 d	0 d	28 d
BMS组	3.10 ± 0.17	3.18 ± 0.20	2.95 ± 0.14	3.19 ± 0.12	3.05 ± 0.14	3.49 ± 0.15	2.98 ± 0.18	3.83 ± 0.21
SES组	2.98 ± 0.06	3.06 ± 0.06	3.21 ± 0.09	3.32 ± 0.08	3.11 ± 0.21	3.55 ± 0.06	3.01 ± 0.10	3.83 ± 0.08

每个时间点的两组动物手术前后的体重分别进行比较, $P > 0.05$

2.2 靶血管再内皮化程度

扫描电镜结果显示术后 3 d 两组几乎均无新生内皮覆盖支架小梁之间区域,炎症反应较明显,在血管内表面和支架小梁上都有大量的炎症细胞和纤维素沉着。术后 7 d,BMS 组在支架小梁间大部分区域,新生内皮细胞呈连续分布,新生内皮覆盖部分支架小梁,但较薄弱,支架与血管易分离;炎症反应已明显减轻,但仍可在新生内皮细胞不连续处见少量炎症细胞。SES 组内皮生长稀疏,呈不连续片状分布,很少覆盖支架小梁,在无新生内皮覆盖区域有纤维素沉积。14 d 时与 SES 组相比,BMS 组支架小梁基本都已有连续的内膜组织覆盖,而且内皮细胞覆盖率也明显地高于 SES 组。两组新生的内皮细胞呈椭圆形态,且内皮细胞的长轴沿血流方向。制备标本时撕裂处见内皮下为纤维素层。28 d 时两组标本的支架小梁基本都被连续的内膜组织覆盖。

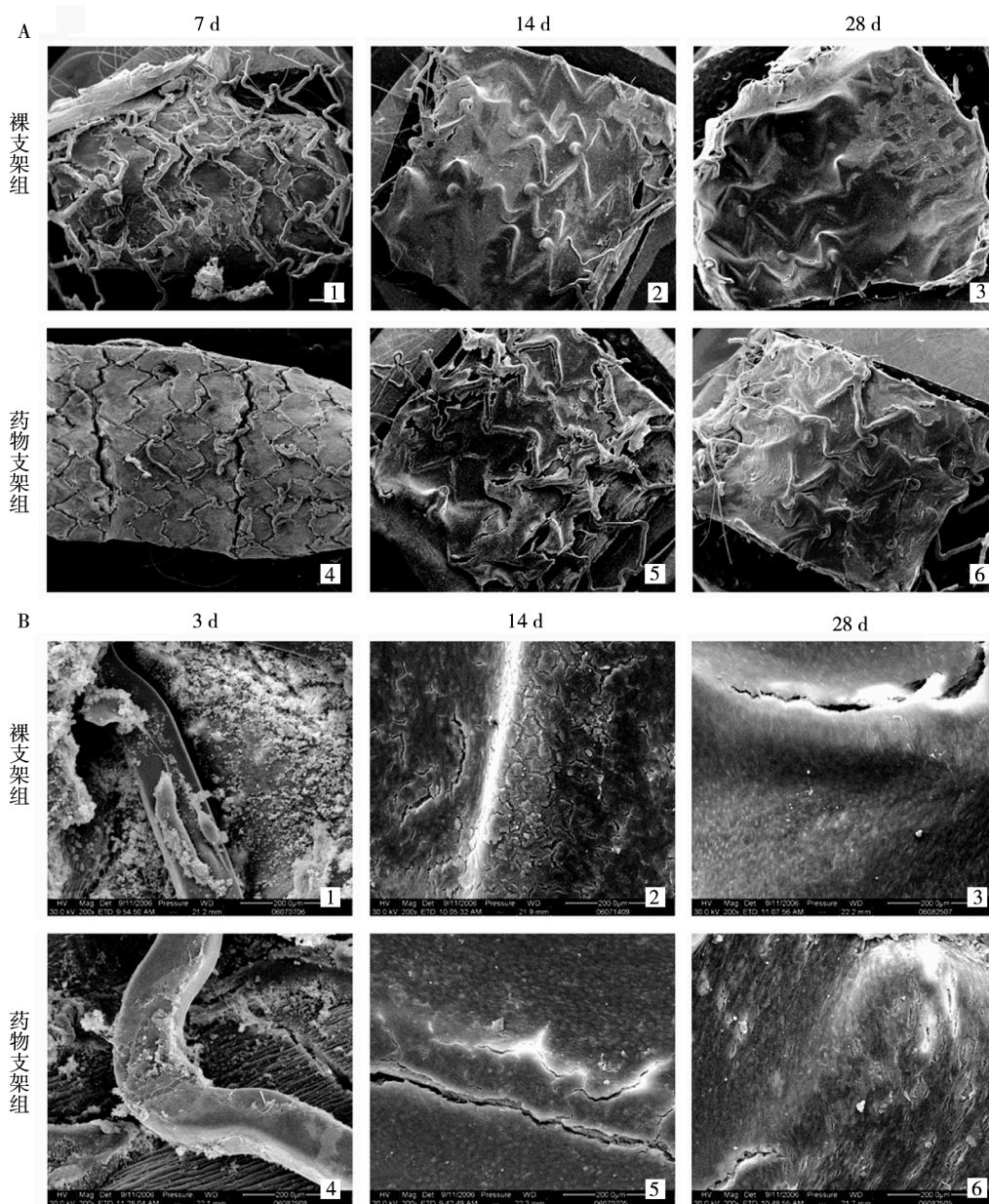
BMS 组血管内皮覆盖较完整,内皮细胞排列整齐,SES 组内皮覆盖仍不完全,部分支架暴露,有一定的血小板黏附于内皮和裸露支架(图 1)。图像分析结果显示,SES 组内皮覆盖率在术后第 7、14 和 28 天均明显低于 BMS 组,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 2)。

表 2 两组兔腹主动脉支架植入后不同时间点血管再内皮化程度

术后时间(d)	BMS组	SES组
7	53% ± 9%	15% ± 8% ^{ab}
14	83% ± 4%	49% ± 16% ^{ab}
28	93% ± 4%	73% ± 3% ^{abc}

a 为 $P < 0.05$,SES 组与 BMS 组相同时间点之间的比较;b 为 $P < 0.05$,本组各时间点之间比较;c 为 BMS 组 14 d 和 SES 组 28 d 的比较, $P > 0.05$

3 讨论



A1、A2 和 A3 分别是 BMS 组 7、14 和 28 d 的图像；A4、A5 和 A6 分别是 SES 组 7、14 和 28 d 的图像（SEM $\times 15$ 标尺：1mm）。B1、B2、B3 和 B4、B5、B6 分别是 BMS 组和 SES 组 3、14 和 28 d 电镜下局部放大图像。B1 和 B4 显示术后早期（3 d），两组未覆盖内皮细胞的支架小梁和血管内表面大量炎症细胞和纤维素沉着，BMS 组的炎症反应更明显。术后 14 d BMS 组新生内皮细胞层连续，抗外力性好，内皮覆盖程度相当于药物支架 28 d 水平。

图 1 扫描电镜拍摄的不同时间点支架部位血管图像

完整的血管内皮对维持血管正常生理功能具有重要作用。任何动脉介入治疗均伴有内皮细胞损伤。内皮细胞的再生修复开始于相邻内皮细胞接触抑制的消失^[5]。本研究结果显示在支架术后 3 d，SES 组和 BMS 组的血管炎症反应都比较明显，在血管内表面和支架小梁上都有大量炎症细胞和纤维素沉着。随着内膜形成，新生内皮细胞的覆盖，炎症细胞和纤维素已经逐渐减少，仅在新生内皮细胞不连续处见少量炎症细胞，与报道人体内植入 BMS 血管修复过程一致^[6-8]。

本研究结果表明 DES 植入后靶血管出现明显的再内皮化延迟。DES 引起再内皮化延迟的机制包括：支架上药物的特性、剂量和分布，聚合物的生物相容性；支架小梁挤入坏死的脂核；偏心斑块使得支架未完全展开造成局部药物浓度过高等^[9]。本实验的支架植入对象是持续高脂喂养 28 d 后的新西兰大白兔，在造成可能高脂血症的共同前提下，SES 组再内皮化明显延迟考虑主要是支架上的雷帕霉素对内皮修复的抑制作用。内皮自我修复的能力取决于成熟内皮细胞的迁移和对循环中内皮祖细胞

(endothelial progenitor cells, EPC)的吸引。成熟的内皮细胞增殖潜力小,因此内皮修复主要依赖后一种途径。雷帕霉素可通过减少 EPC 的数目、增殖活性和加速其衰老从而抑制支架置入后再内皮化的发生^[10,11]。雷帕霉素为脂溶性,易于穿过细胞膜,其与 FKBP12 蛋白结合,抑制雷帕霉素靶蛋白(target of rapamycin, TOR)的蛋白酶活性,抑制视网膜细胞瘤蛋白磷酸化(PRB),阻止细胞周期 G1 向 S 的转化,从而抑制血管平滑肌细胞增殖、迁移和细胞外基质的合成,同时对内皮细胞的增殖也产生抑制作用,造成内皮细胞对支架置入部位的覆盖延迟^[12]。

对植入支架的靶血管进行病理研究发现,SES 术后以再内皮化不全和(或)持续纤维素沉积为主要特点的延迟修复,增加了发生支架内晚期血栓的风险^[3,13]。在未内皮化的同时,附加另外的一些因素,如抗血小板治疗中断、抗血小板药物抵抗、血栓体质或者高脂血症、冠脉血流减慢等,将触发晚期支架内血栓^[14]。所以本研究中对实验动物按照临床通行的方法进行抗血小板及抗凝治疗,避免抗血小板治疗不足触发血栓的形成。SES 组 28 d 时内皮和裸露支架仍有一定的血小板黏附,提示置入 SES 后应该执行更为严格的抗血小板治疗。新生的单层内皮细胞从形态上看为功能恢复的内皮细胞^[15],但 SES 组新生内皮可能与术前及 BMS 组在结构和功能上仍有一定的差异,本研究未对内皮功能进行探讨。

在植入支架造成血管损伤后,及早形成完整的内皮层,对血管功能的恢复,防止血栓形成至关重要^[16-18]。本研究为评价支架植入后靶血管再内皮化建立了稳定的实验动物操作模型,而且表明 SES 植入该实验动物后靶血管出现明显的再内皮化延迟,为深入研究如何促进药物支架植入后再内皮化提供了初步的实验基础。

[参 考 文 献]

- [1] Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, et al. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization[J]. N Engl J Med, 2002, 346: 1773 - 1780.
- [2] Moses JW, Leon MB, Popma JJ, et al. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery[J]. N Engl J Med, 2003, 349: 1315 - 1323.
- [3] Finn AV, Kolodgie FD, Harnek J, et al. Differential response of delayed healing and persistent inflammation at sites of overlapping sirolimus or paclitaxel-eluting stents[J]. Circulation, 2005, 112: 270 - 278.
- [4] Daemen J, Wenaweser P, Tsuchida K, et al. Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents in routine clinical practice: data from a large two-institutional cohort study[J]. Lancet, 2007, 369: 667 - 78.
- [5] Tsimikas S. Drug-eluting stents and late adverse clinical outcomes lessons learned lessons awaited[J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 47: 2112 - 2115.
- [6] Farb A, Burke AP, Kolodgie FD, et al. Pathological mechanisms of fatal late coronary stent thrombosis in humans[J]. Circulation, 2003, 108: 1701 - 1706.
- [7] Grewe PH, Deneke T, Machraoui A, et al. Acute and chronic tissue response to coronary stent implantation: pathologic findings in human specimen[J]. J Am Coll Cardiol, 2000, 35: 157 - 163.
- [8] 王春宁, 高润霖, 程树军, 等. 聚一消旋乳酸-乙醇酸涂层支架置入小型猪冠状动脉后损伤处愈合过程的观察[J]. 中国循环杂志, 2003, 18: 57 - 60.
- [9] Finn AV, Joner M, Nakazawa G, et al. Pathologic correlations of late drug eluting stent thrombosis: strut coverage as a marker of endothelialization[J]. Circulation, 2007, 115: 2435 - 2441.
- [10] Imanishi T, Kobayashi K, Kuki S, et al. Sirolimus accelerates senescence of endothelial progenitor cells through telomerase inactivation[J]. Atherosclerosis, 2006, 189: 288 - 296.
- [11] 张 坡, 黄 岚, 朱光旭, 等. 雷帕霉素对内皮祖细胞增殖、黏附及迁移能力影响的实验研究 [J]. 中华心血管病杂志, 2006, 34: 1021 - 1025.
- [12] 赵慧强, 郭文怡, 贾国良, 等. 雷帕霉素洗脱支架置入动物体内后的支架内皮化进程[J]. 中国医师杂志, 2006, 8: 45 - 46, 51.
- [13] Joner M, Finn AV, Farb A, et al. Pathology of drug-eluting stents in humans: delayed healing and late thrombotic risk[J]. J Am Coll Cardiol, 2006, 48: 193 - 202.
- [14] Takano M, Yamamoto M, Xie Y, et al. Serial long-term evaluation of neointimal stent coverage and thrombus after sirolimus-eluting stent implantation by use of coronary angiography [J]. Heart, 2007, 93: 1353 - 1356.
- [15] Light JT, Belle JA, Chen IL, et al. Angiopeptin enhances acetylcholine-induced relaxation and inhibits intimal hyperplasia after vascular injury[J]. Am J Physiol, 1993, 265: H1265 - H1274.
- [16] Kunz GA, Liang G, Cuculi F, et al. Circulating endothelial progenitor cells predict coronary artery disease severity[J]. Am Heart J, 2006, 152: 190 - 195.
- [17] George J, Herz I, Goldstein E, et al. Number and adhesive properties of circulating endothelial progenitor cells in patients with in-stent restenosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23: e57 - e60.
- [18] Banerjee S, Brilakis E, Zhang S, et al. Endothelial progenitor cell mobilization after percutaneous coronary intervention [J]. Atherosclerosis, 2006, 189: 70 - 75.

(收稿日期:2009-03-24)

作者: 张琳, 张瑞岩, 朱政斌, 杜润, 沈卫峰, ZHANG Lin, ZHANG Rui-yan, ZHU Zheng-bin, DU Run, SHEN Wei-feng
作者单位: 上海交通大学医学院附属瑞金医院心脏科, 200025
刊名: 介入放射学杂志 ISTIC PKU
英文刊名: JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY
年, 卷(期): 2009, 18(8)
被引用次数: 0次

参考文献 (18条)

1. Morice MC, Serruys PW, Sousa JE A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard atent for coronary revascularization 2002
2. Moses JW, Leon MB, Popma JJ Sirolimus-eluting stems versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery 2003
3. Finn AV, Kolodgie FD, Harnek J Differential response of delayed healing and persistent inflammation at sites of overlapping sirolimus or paclitaxel-eluting atents 2005
4. Daemen J, Wenaweser P, Tsuchida K Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus--eluting and pachtaxel-eluting stents in routine clinical practice:data from a large two-institutional cohort study 2007
5. Tsimikas S Drug-eluting stents and late adverse clinical outcomes lessons learned lessons awaited 2006
6. Farb A, Burke AP, Koledgie FD Pathological mechanisms of fatal late coronary stent thrombosis in humans 2003
7. Grewe PH, Deneke T, Machraoui A Acute and chronic tissue response to coronary stent implantation:pathologic findings in human specimen 2000
8. 王春宇, 高润霖, 程树军 聚一消旋乳酸一乙醇酸涂层支架置入小型猪冠状动脉后损伤处愈合过程的观察[期刊论文]-中国循环杂志 2003
9. Finn AV, Joner M, Nakazawa G Pathologie correlations of late drug eluting stent thrombosis:strut coverage as a marker of endothelialization 2007
10. Imanishi T, Kobayashi K, Kuki S Sirolimus accelerates senecence of endothelial progenitor cells through telomerase inactivation 2006
11. 张坡, 黄岚, 朱光旭 雷帕霉素对内皮祖细胞增殖、黏附及迁移能力影响的实验研究[期刊论文]-中华心血管病杂志 2006
12. 赵慧强, 郭文怡, 贾国良 雷帕霉素洗脱支架置入动物体内后的支架内皮化进程[期刊论文]-中国医师杂志 2006 (08)
13. Joner M, Finn AV, Farb A Pathology of drug-eluting stents in humans:delayed healing and late thrombotic risk 2006
14. Takano M, Yamamoto M, Xie Y Serial long-term evaluation of neointimal stent coverage and thrombus after sirolimus-eluting stent implantation by use of coronary angiography 2007
15. Light JT, Belle JA, Chen IL Angiopeptin enhances acetylcholine-induced relaxation and inhibits intimal hyperplasia after vascular injury 1993
16. Kunz GA, Liang G, Cuculi F Circulating endothelial progenitor cells predict coronary artery disease severity 2006
17. George J, Herz I, Goldstein E Number and adhesive properties of eiroulating endothelial progenitor cells in patients with in-stem restenosis 2003
18. Banerjee S, Brilakis E, Zhang S Endothelial progenitor cell mobilization after percutaneous coronary intervention 2006

相似文献 (7条)

1. 学位论文 张琳 人SDF-1 α 的原核表达、纯化及其促进雷帕霉素洗脱支架植入后血管再内皮化的实验研究 2009

基质细胞衍生因子1(SDF-1)在特异性受体CXCR4介导下参与机体多种生理和病理过程,尤其在干/祖细胞动员、迁移、募集和归巢等方面发挥重要作用。内皮祖细胞(EPCs)是一类能循环、增殖并可直接分化为血管内皮细胞的前体细胞。在胚胎发育过程中其参与血管发生,出生后还具有促进新生血管形成和内皮损伤后修复等作用。EPCs表面高表达SDF-1特异受体CXCR4,因此增强SDF-1/CXCR4轴可有效提高循环中EPCs数量并改善其功能。本研究拟制备hSDF-1 α ,研究其对药物支架植入后靶血管再内皮化的作用。

利用分子克隆技术,构建hSDF-1 α 原核表达载体,应用离子交换层析蛋白质纯化技术纯化载体表达蛋白,得到高纯度目的蛋白,采用T淋巴细胞体外趋化实验和显色基质试剂盒分别对纯化得到的目的蛋白生物学活性和内毒素含量进行检测。将合格的蛋白应用于动物体内,评价其系统给药对于雷帕霉素洗脱支架(SES)植入兔腹主动脉后靶血管再内皮化(re-endothelialization)的效果。

本研究主要结果如下:(1)BSA蛋白定量法测定目的蛋白浓度最高为1.7mg/mL,BandScan 5.0软件分析SDS-PAGE电泳结果表明重组蛋白纯度大于99%,2L初始菌液获得了20mg的重组蛋白。趋化实验显示蛋白具有生物学活性,且检测内毒素含量为0.02EU/ug。(2)国产SES和BMS植入后血管再内皮化的实验研究发现SES植入后靶血管出现明显的再内皮化延迟。(3)将重组蛋白作用于植入SES的实验动物后发现,术后第7天、14天和28天试验组内皮覆盖程度明显高于对照组(分别为45% \pm 15%比23% \pm 7%;75% \pm 7%比57% \pm 3%和84% \pm 7%比68% \pm 4%)。28天时试验组新生内膜面积和厚度以及管腔狭窄率较对照组均明显减少。

以上的实验和研究,不仅改进hSDF-1 α 蛋白制备流程,明显提高蛋白制备的效率,而且在动物体内实验证明了hSDF-1 α 蛋白可有效促进SES植入术后靶血管再内皮化过程,同时可显

著减轻支架植入后血管内膜增生。一方面为hSDF-1 α 蛋白的应用提供了制备技术上的保证, 另一方面为临床促进SES植入术后靶血管再内皮化过程提供潜在的新方法。

2. 期刊论文 [罗启剑](#). [刘宗军](#). [李中东](#). [于文](#). [施孝金](#). [钟伟](#). [钟明康](#). [金惠根](#). [Luo QJ](#). [Liu ZJ](#). [Li ZD](#). [Yu W](#). [Shi XJ](#). [Zhong W](#). [Zhong MK](#). [Jin HG](#) [雷](#)

[帕霉素/雌二醇复合洗脱支架体外释放度及体内对猪冠状动脉内膜增生的抑制效应](#) -中国组织工程研究与临床康复2007, 11(43)

目的: 目前认为雷帕霉素等药物抑制血管内皮细胞引发的血管再内皮化延迟是引起晚期支架内血栓的主要原因. 将促内皮化药物雌二醇与雷帕霉素联合应用, 制备复合洗脱支架, 初步考察其体外释放度及体内抑制猪冠状动脉内膜增生的效果. 方法: 实验于2006-05/12在复旦大学附属华山医院临床药理学研究室及解放军第二军医大学附属长海医院心内科实验室完成. ①考察雌二醇在10-10~10⁻⁵ mol/L剂量区间对10-8/10⁻⁷mol/L雷帕霉素抑制血管内皮细胞增殖行为的影响. ②采用气体喷涂法依次喷涂2 mL雷帕霉素涂层液和1 mL雌二醇涂层液制备得到雷帕霉素/雌二醇复合洗脱支架, 并用10 mL体积分数为0.2的甲醇在37℃100 r/min水浴振荡器中对支架进行体外释放度考察. ③在猪冠状动脉球囊扩张模型中, 植入雷帕霉素/雌二醇复合洗脱支架、雷帕霉素洗脱支架和裸支架, 术后28 d考察支架血管段新生内膜面积、内膜平均厚度及支架内皮化程度. 结果: ①雌二醇在剂量为10⁻⁸mol/L时对雷帕霉素的抑制作用最强, 使10⁻⁸/10⁻⁷ mol/L雷帕霉素对血管内皮细胞的增殖抑制率从50.33%, 90.88%分别下降到18.45%, 73.01%. ②制备的雷帕霉素/雌二醇复合洗脱支架体外持续释放1个月, 30 d时雷帕霉素和雌激素的释放百分数分别为41%和97%. ③植入小型猪冠状动脉28 d后, 雷帕霉素/雌二醇复合洗脱支架和雷帕霉素洗脱支架的内膜面积和平均厚度均较裸支架明显减少, 而两组比较无明显差异; 复合洗脱支架再内皮化程度明显优于雷帕霉素洗脱支架. 结论: 雷帕霉素/雌二醇复合洗脱支架有改善雷帕霉素洗脱支架内皮化延迟的临床前景.

3. 期刊论文 [陈明](#). [彭红玉](#). [霍勇](#). [郑博](#). [王新刚](#). [张晓燕](#). [黄光银](#). [CHEN Ming](#). [PENG Hongyu](#). [HUO Yong](#). [ZHEN Bo](#). [WANG Xingang](#). [ZHANG Xiaoyan](#).

[HUANG Guangyin](#) 一种新型可降解聚合物涂层-雷帕霉素洗脱支架对猪冠状动脉新生内膜增生的影响 -心肺血管病杂志2010, 29(4)

目的: 评价可降解高分子材料聚丙交酯-乙交酯 (PLGA) 作为支架药物载体的可行性及携带雷帕霉素的PLGA涂层支架的抗内膜增生作用. 方法: 在14头微型猪的3支冠状动脉分别植入钴铬合金裸支架 (CoCr-BMS)、不载药的PLGA涂层支架 (PCOS) 和PLGA涂层雷帕霉素洗脱支架 (PLGA-SES). 分别在支架植入后1个月和3个月时, 复查冠状动脉造影, 然后分离支架段血管行组织病理学分析. 结果: 共有12头动物存活, 其余2头动物可能因麻醉剂相关的呼吸抑制而死亡. 支架植入后1个月和3个月, 不载药的PLGA涂层支架新生内膜面积和晚期管腔丢失与CoCr-BMS组相近, 而PLGA-SES组则明显低于CoCr-BMS组. 组织形态学示3组支架段血管损伤积分、炎症积分及再内皮化积分差异无统计学意义. 结论: 在猪冠状动脉支架模型中, PLGA涂层的支架设计具有良好的生物相容性和安全性; 携带雷帕霉素的这种支架可抑制新生内膜形成, 预防支架再狭窄的发生.

4. 期刊论文 [彭红玉](#). [陈明](#). [王皓正](#). [吴铮](#). [郑博](#). [王新刚](#). [张良](#). [侯桂华](#). [胡灏](#). [霍勇](#). [PENG Hongyu](#). [CHEN Ming](#). [WANG Haozheng](#). [WU Zheng](#). [ZHENG Bo](#).

[WANG Xingang](#). [ZHANG Liang](#). [HOU Guihua](#). [HU Hao](#). [HUO Yong](#) 聚丙交酯-乙交酯涂层-钴基合金雷帕霉素洗脱支架对猪冠状动脉新生内膜增生

[的影响](#) -临床心血管病杂志2008, 24(5)

目的: 评价钴基合金支架平台、聚丙交酯-乙交酯 (PLGA) 聚合物作为携带雷帕霉素涂层的新型支架的抗内膜增生的有效性及安全性. 方法: 随机在7头微型猪的3支冠状动脉置入钴基合金PLGA涂层支架 (Cob-POS组)、钴基合金PLGA涂层雷帕霉素洗脱支架 (Cob-SES组)、不锈钢雷帕霉素药物洗脱支架 (gen1-SES组), 记录支架释放前后的冠状动脉造影图像. 3个月后, 冠状动脉造影复查后处死动物, 分离支架段血管行组织病理学分析. 结果: 6只动物存活, 1只动物于支架释放过程中死亡, 死因可能为麻醉剂所致的呼吸抑制. 3组 (n=6) 支架段血管组织学评价示, 与gen1-SES组比较, Cob-SES组新生内膜面积和最大内膜厚度均明显减少. Cob-POS和Cob-SES组支架内狭窄程度与gen1-SES组比较, 均差异有统计学意义 (P<0.05). 组织形态学示3组支架段血管损伤积分、炎症积分、再内皮化积分差异无统计学意义. 结论: 在猪冠状动脉支架模型中, 钴基合金平台、PLGA涂层的支架设计显示出良好的生物相容性和安全性; 携带雷帕霉素的这种支架显示出比第一代雷帕霉素支架更佳的抑制内膜增生的能力.

5. 学位论文 [陈鹏](#) [三氧化二砷药物洗脱支架预防血管PTA术后再次狭窄的实验研究](#) 2006

第一部分

三氧化二砷诱导犬动脉平滑肌细胞凋亡的体外实验研究

目的明确三氧化二砷诱导犬平滑肌细胞凋亡的作用, 进一步探讨三氧化二砷体外诱导犬动脉平滑肌细胞凋亡的最佳有效浓度。

材料和方法

1. 体外原代培养犬动脉平滑肌细胞。
2. 毗染色光学显微镜观察及 α -平滑肌肌动蛋白免疫组化染色鉴定平滑肌细胞。
3. MTT法观察不同浓度三氧化二砷对平滑肌细胞增殖的抑制作用。
4. 绘制不同浓度三氧化二砷对平滑肌细胞增殖的生长抑制曲线。
5. 透射电镜观察三氧化二砷诱导平滑肌细胞凋亡超微结构的变化。

结果体外实验表明

1. 在三氧化二砷作用下平滑肌细胞生长受到抑制, 抑制作用随浓度的提高和时间的延长而更加明显。
2. 平滑肌细胞随三氧化二砷浓度增加, 细胞凋亡明显, 细胞增殖速度明显降低, 存活细胞数减少。
3. 透射电镜发现: 凋亡平滑肌细胞的形态学变化, 平滑肌细胞呈椭圆形或不规则型, 带有长的胞质突起, 细胞表面有少量短小的微绒毛, 细胞核偏于细胞的一端, 核仁明显, 胞质内有大的空泡状结构, 为线粒体空泡化和脂滴空泡, 细胞核染色质溶解, 密斑密体形成高电子密度的颗粒, 肌丝溶解, 线粒体肿大空泡变性, 细胞基质电子密度低下, 少量细胞质膜脱落, 形成凋亡小体。

结论

1. 三氧化二砷对犬髂动脉平滑肌细胞增殖有明显抑制作用; 作用机制为诱导平滑肌细胞发生凋亡, 从而遏止再狭窄的发生。
2. 三氧化二砷使犬动脉平滑肌细胞的DNA合成和分裂的细胞逐渐减少, 静止期和凋亡期的细胞逐渐增多, 使细胞增殖阻滞于DNA合成期和DNA合成后期, 减少平滑肌的增殖。
3. 三氧化二砷诱导平滑肌细胞凋亡最低有效浓度为2.0 μ mol/L, 4.0 μ mol/L三氧化二砷对血管平滑肌细胞有明显促凋亡作用, 5.0 μ mol/L三氧化二砷有明显促血管平滑肌细胞死亡作用, 上述作用有浓度及时间依赖性。

综上所述, 三氧化二砷对再狭窄形成的主要原因平滑肌细胞过度增殖、有明确的抑制作用, 使细胞的增殖与凋亡重新达到平衡, 为三氧化二砷洗脱支架的动物实验提供重要实验室依据。

第二部分

三氧化二砷药物洗脱支架的制作

目的制作丙交酯-吗啉二酮聚合物涂层材料, 利用涂层制作三氧化二砷药物洗脱支架, 测量支架涂层质量及药物载药量。

材料与方法

1. 自行合成丙交酯-吗啉二酮聚合物涂层材料。
2. 制作三氧化二砷、雷帕霉素及无药洗脱支架。
3. 测量三氧化二砷、雷帕霉素洗脱支架的涂层和药物载药量, 测量无药洗脱支架的涂层质量。

结果

1. 合成获得丙交酯-吗啉二酮聚合物涂层材料。
2. 制作三氧化二砷洗脱支架12个, 涂层平均质量186 μ g, 平均载药量46.58 μ g; 雷帕霉素支架6个, 涂层质量178.5 μ g, 载药量402.7 μ g; 无药洗脱支架6个, 涂层质量187.7 μ g。

结论

1. 成功合成丙交酯-吗啉二酮聚合物涂层材料。
2. 制成三氧化二砷药物洗脱支架及无药洗脱支架。

第三部分

三氧化二砷。一、砷药物洗脱支架预防PTA术后再次狭窄的动物实验研究目的通过动物实验, 评价三氧化二砷药物洗脱支架预防PTA术后再次狭窄的效果。以验证课题设想: 1. 三氧化二砷洗脱支架能否预防PTA术后再次狭窄的发生; 2. 三氧化二砷洗脱支架与雷帕霉素洗脱支架预防PTA术后再次狭窄疗效有无不同。材料与将12条犬的24条髂动脉血管行球囊扩张术后, 植入支架。支架分组情况如下: 镍钛合金编织无药洗脱支架6枚, 雷帕霉素洗脱支架6枚, 三氧化二砷洗脱支架12枚。分别于术后4, 12周各组抽取一定数支架血管, DSA造影观察通畅情况及内支架再狭窄情况, 随后处死实验犬, 取出支架所在段血管, 切片HE染色显微镜观察。评价: 血管造影支架血管段是否狭窄及程度, 支架血管壁的慢性排斥反应, 支架的内膜覆盖情况, 定量分析新生内膜增生程度。结果支架血管造影表现: 4周, 三氧化二砷洗脱支架组, 无药洗脱支架组, 雷帕霉素支架组三组支架均未发生再狭窄, 血管通畅。12周, 无药洗脱支架组可见明显再狭窄, 雷帕霉素及三氧化二砷洗脱支架组可见轻微狭窄, 与无药洗脱支架组有显著性差异 (P<0.05); 病理切片示, 12周时, 三氧化二砷及雷帕霉素洗脱支架组可见轻度血管新生内膜增生, 无药洗脱支架组新生血管内膜明显增生。增生血管内膜厚度及面积, 三氧化二砷与雷帕霉素组之间无显著性差异, 三氧化二砷及雷帕霉素组与无药洗脱支架组之间, 增生血管内膜厚度及面积有显著性差异。

结论

1. 球囊扩张犬髂动脉后植入三氧化二砷支架的实验方法是安全可行的。
2. 三氧化二砷支架, 雷帕霉素支架, 无药洗脱支架植入后4周时血管造影均未见明显狭窄。
3. 三氧化二砷及雷帕霉素洗脱支架可有效降低新生内膜增生, 12周时预防再狭窄的效果明显优于无药洗脱支架。
4. 三氧化二砷及雷帕霉素洗脱支架12周时对支架所在段血管的再内皮化无明显影响。

6. 期刊论文 [武清敏](#). [乔钦增](#). [赵卫林](#). [王立峰](#). [张永红](#). [郭全合](#). [常增义](#). [Wu Qing-min](#). [Qiao Qin-zeng](#). [Zhao Wei-lin](#). [Wang Li-feng](#). [Zhang](#)

目前用于临床的药物洗脱支架包括雷帕霉素洗脱支架和紫杉醇洗脱支架,雷帕霉素和紫杉醇在抑制血管平滑肌增殖和迁移的同时,也抑制了内皮细胞的正常恢复.抑制支架植入后剥脱内膜的再内皮化过程,中药川芎嗪和大蒜素既能抑制新生内膜增生,又能促进损伤动脉内皮化.成为目前研究较多的涂层药物.由于血管内膜及血管内皮细胞受损在再狭窄中起到至关重要的作用,以血管内皮细胞为靶向的干预措施成为人们研究的重点,在支架表面种植内皮细胞或内皮祖细胞,通过细胞释放的活性因子可以抑制血栓的形成及平滑肌细胞的过度增生.光滑的材料表面对药物涂层和内皮细胞的种植非常不利,主要表现为细胞的脱落、涂层不均匀等,材料表面粗糙度的研究在提高细胞黏附率,预防支架植入后血栓形成和再狭窄中起着重要的作用.

7. 学位论文 刘宗军 曲尼司特洗脱支架的研制及其预防猪冠状动脉新生内膜增殖的作用 2006

第一部分:曲尼司特对VSMC和EC生长及分子机制的影响目的:观察曲尼司特对血管平滑肌细胞(VSMC)和内皮细胞(EC)生长的影响及其分子机制,为曲尼司特应用于药物支架提供生物学基础.

方法:以培养的猪髂动脉平滑肌细胞和内皮细胞株为模型,应用活细胞计数进行细胞增殖和迁移检测,计算半数抑制浓度(IC50),以雷帕霉素作为对照.以流式细胞仪分析曲尼司特作用24小时后VSMC细胞周期的变化和细胞凋亡率(FITC标记的Annexin-V),以western-blotting检测细胞p21和p53蛋白的表达.

结果:10%的胎牛血清条件下,曲尼司特显著抑制VSMC的增殖和迁移(在3.125mg/L~100mg/L范围内与剂量正相关),半数抑制浓度(IC50)为75.6μmol/L.曲尼司特(75.6μmol/L)作用VSMC24h后,G1期细胞数显著减少(24%vs51%,P<0.01),细胞凋亡率36.7%.western-blotting检测表明曲尼司特(75.6μmol/L)使VSMC的p21和p53蛋白显著表达,而在对照组无表达.曲尼司特对VSMC增殖的抑制作用较雷帕霉素弱,而曲尼司特对EC增殖的抑制作用较雷帕霉素更弱.二者(IC50)对VSMC的迁移抑制作用无显著性差异;半数抑制浓度雷帕霉素(36.9nmol/L)较曲尼司特(75.6μmol/L)更显著地抑制了EC迁移数目.

结论:曲尼司特浓度依赖性抑制VSMC的生长,阻滞细胞在G1期,其抑制作用主要通过细胞凋亡的方式.曲尼司特抑制平滑肌细胞增殖与细胞周期蛋白p21和p53的表达有关.与雷帕霉素比较,曲尼司特对VSMC增殖的抑制作用虽较雷帕霉素弱,但其对EC增殖和迁移的抑制作用更弱,有助于曲尼司特洗脱支架再内皮化的过程.

第二部分:支架涂层聚合物材料的体外生物相容性研究目的:观察支架涂层聚合物材料对血管EC生长和血液相容性的影响.方法:将TES涂层材料(PLGA)和RES的涂层材料(PEB和PBS)均匀喷涂在培养皿底层制成聚合物膜,将PIEC接种于聚合物膜和316L不锈钢片上.培养24小时,光镜和扫描电镜观察细胞形态学,以活细胞计数试剂测定细胞增殖和迁移.扫描电镜观察PRP在聚合物膜上作用1小时后血小板形态学的改变,测定健康人血液在聚合物膜上作用1小时后的红细胞溶血率,凝血活酶时间(APTT),凝血酶原时间(PT),纤维蛋白原测定(Fib)和凝血酶时间(TT).

结果:1.动脉内皮细胞在涂层材料膜上生长良好,细胞形态正常.EC在涂层材料PEB膜和PLGA膜上生长24小时的细胞增殖率分别为69.5%和69.3%,而316L不锈钢片仅为10.8%;PEB较PBS和316L不锈钢片的细胞增殖和迁移数目显著增加.2.吸附在外涂层聚合物膜表面的血小板保持了良好的自然形态,没有出现伪足或团聚等被激活的现象.3.涂层材料对红细胞溶血率均小于5%,表明上述材料对红细胞相容性均良好.4.APTT在外涂层材料PEB膜较内涂层材料PBS膜和316L不锈钢片均显著延长(P<0.01),这表明外涂层材料具有良好的抗凝血作用.

结论:PEB和PLGA对血管内皮细胞具有较好的相容性.相对于316L不锈钢片和单纯的内涂层材料,涂层材料PEB具有优良的抗血小板黏附能力和抗凝血作用.提示了涂层材料PLGA和PEB具有优良的生物相容性.

第三部分:曲尼司特涂层支架的制备及体外释放度研究

目的:探索曲尼司特涂层支架的制备方法,考察药物涂层在体外的释放行为和物理化学性能,为曲尼司特涂层支架的进一步动物试验和临床研究提供基础.

方法:1.将制备的曲尼司特涂层支架,以37℃磷酸缓冲液(pH7.4)为释放介质,在恒温台式水浴振荡器中,进行曲尼司特涂层支架(片)体外释放度测定.2.考察PLGA中LA/GA比例、控释层厚度、含药率等因素对药物体外释放行为的影响.3.考察涂层在FTIR和X-ray方面行为、丙烯酸树脂对涂层液接触角以及涂层结合力方面的影响.

结果:1.曲尼司特涂层支架中曲尼司特的释放速度随控释层厚度增加而减慢,随PLGA中GA比例的增加以及含药层中曲尼司特的含量增加而加速,曲尼司特在涂层中以扩散方式释放.2.曲尼司特未与PLGA发生化学作用,在涂层中两者为物理混合;曲尼司特在含药层中主要是以晶体的形式分散,无定型形式曲尼司特少;丙烯酸树脂预涂层可以增加药物涂层液在不锈钢表面的润湿程度和铺展性,可以增加药物涂层液在不锈钢表面的剥离力以及结合强度;扫描电镜发现支架表面药物涂层光滑/平整,支架扩张后未发现支架涂层有翘起、开裂和剥脱现象.

结论:制备的曲尼司特涂层支架具有较理想的物理化学性能,在体外药物主要是以扩散的方式进行,且涂层的体外释放行为可以通过控释层厚度、聚合物类型以及含药层药物含量等因素的调节加以控制.

第四部分:曲尼司特洗脱支架对猪冠状动脉新生内膜增殖的影响

目的:评价TES和IRES在小型猪冠状动脉模型的有效性和生物相容性.

方法:制备曲尼司特洗脱支架,涂层包埋曲尼司特药物剂量为300μg或600μg.将15只微型猪随机分为5组:裸支架组(n=3,6枚支架),聚合物涂层支架组(n=3,6枚支架),曲尼司特洗脱支架组[低剂量(300μg)组:n=3;600μg剂量(600μg)组:n=3各6枚支架]和雷帕霉素洗脱支架组(载Rap200μg,n=3,6枚支架).在小型猪冠状动脉分别植入过度扩张(支架血管直径比为1.2-1.3:1)的裸支架,聚合物涂层支架、曲尼司特涂层支架和雷帕霉素洗脱支架形成冠状动脉损伤模型.术后第30天复查冠状动脉造影术,并比较五组支架:支架血管段的损伤积分、支架内皮化、支架内面积、管腔面积、内膜面积和内膜平均厚度(同时观察支架边缘段5mm以内组织).

结果:1、五组冠状动脉大小和血管损伤积分程度无显著差异.2、术后30天300μg剂量组和600μg剂量组的内膜面积及内膜平均厚度均显著小于裸支架组和聚合物涂层支架,600μg剂量组显著小于300μg剂量组,而600μg剂量组和雷帕霉素组无显著差异.曲尼司特洗脱支架300μg剂量组和600μg剂量组的新生内膜面积分别较裸支架减少了41%和53%,新生内膜平均厚度分别减少了56%和65%.300μg剂量组曲尼司特洗脱支架组的支架内皮化较雷帕霉素组显著改善.3.改进涂层材料的雷帕霉素洗脱支架表面被纤维组织和内皮细胞覆盖,未发现支架内血栓和支架周围炎症反应.

结论:1.曲尼司特洗脱支架在小型猪冠状动脉模型植入是安全可行的,显著减少了30天支架内新生内膜的增殖,支架内皮化较雷帕霉素洗脱支架改善;2.而雷帕霉素洗脱支架在有效抑制支架内再狭窄的同时,具有较好的生物相容性.

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200908015.aspx

授权使用: qknfy(qknfy), 授权号: 7b796755-abbb-48bf-a503-9df7016ab447

下载时间: 2010年9月20日