

• 基础研究 •

雷帕霉素和巴曲酶复合药物涂层支架的生物相容性实验研究

陈丹,吕安林,张薇,苑媛,刁繁荣,李军杰

[摘要] 目的 了解雷帕霉素和巴曲酶复合药物涂层支架(rapamycin batroxobin eluting stent, RBES)的生物相容性。方法 采用微喷法制备聚合物及雷帕霉素和巴曲酶复合药物涂层支架组,聚合物及雷帕霉素涂层支架作为对照组。支架置入小型猪冠状动脉,每组 8 只猪,每只猪置入上述 1 枚支架。支架置入前、后即刻及终点时行冠状动脉造影。分析支架置入前及终点时的全血细胞计数、生化指标、血压、心率、体重、全程的行为状态;处死动物后取出支架置入段冠状动脉,行扫描电子显微镜观察及组织学观察测量;取肺、胃、小肠、大肠、肝、肾以及支架血管段供血的心室壁行组织学观察。结果 两组均未发现骨髓抑制、溶血、对肝、肾功能及代谢无明显影响,两组中心率、血压、体重的变化差异无显著性,对行为状态无影响。结果 所有支架置入成功。实验期(28 d)内两组中冠状动脉无狭窄,内膜面积及内膜面积与中膜面积的比率两组间无显著性差异,未见明确的炎症反应细胞。未发现肺、胃、小肠、大肠、肝、肾以及支架血管段供血的心室壁与 RBES 涂层支架有关的病理损害。结论 RBES 置入小型猪冠状动脉后 28 d 的血液相容性及组织相容性良好。

[关键词] 支架;组织相容性;雷帕霉素;巴曲酶

Biocompatibility of Rapamycin Batroxobin Eluting Stent in Porcine Coronary Artery CHEN Dan, Lü An-lin, ZHANG Wei, et al.
Department of Cardiology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China

[Abstract] **Objective** To illustrate the biocompatibility of rapamycin batroxobin eluting stent (RBES). **Methods** Stent made with rapamycin batroxobin and polymer were implanted in the coronary artery of experimental group and the rapamycin with the polymer in the control group, which including 8 miniature pigs in each group. Coronary arteriographies were taken before, exactly after implanting the stent and before sacrificed the pigs. The whole blood cell counts, biochemical indexes, blood pressures, heart rates, body weights before implantation and sacrifice, together with the behavior states during the observation were analyzed. The coronary arteries of the implantation segment were observed under the scanning electron microscope and histologically. Lungs, stomachs, intestines, bowels, livers, kidneys and the ventricular walls which infused by the stents supported arteries were also observed histologically. **Results** Bone marrow suppression, hemolysis, liver and kidney disfunction had not been found in the 2 groups. There was no significant difference in heart rate, blood pressure and body weight between 2 groups. Behavior was not influenced. All stents were implanted successfully. And there was no stenosis in coronary artery in both group during the 28-day period. There were no significant differences in endothelium square and the ratio of endothelium square to tunica media square. No definite inflammatory cell was found. There were no pathological damages related to RBES in lungs, stomachs, intestines, bowels, livers, kidneys and the ventricular walls infused by the stent supported arteries. **Conclusion** The blood compatibility and histocompatibility were good after RBES were implanted in coronary arteries of miniature pigs.

[Key words] stent; histocompatibility; rapamycin; batroxobin

中图分类号: R541.4 文献标识码: A 文章编号: 1006-9771(2006)05-0399-02

[本文著录格式] 陈丹,吕安林,张薇,等.雷帕霉素和巴曲酶复合药物涂层支架的生物相容性实验研究[J].中国康复理论与实践,2006,12(5):399-400.

经皮冠状动脉内支架置入术使得经皮冠状动脉介入治疗(PCI)的临床疗效明显提高,但支架内再狭窄依然是 PCI 面临的巨大挑战。药物洗脱支架的研究是近年来预防再狭窄的最重要进展。为此,我们研制了雷帕霉素和巴曲酶复合药物涂层支架(rapamycin batroxobin eluting stent, RBES)。本研究的主要目的在于评估 RBES 的生物相容性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康微型猪 16 头,体重 20~35 kg,中国农业大学提供。

1.1.2 冠状动脉支架的制备 由北京乐普公司完成。支架为直径 2.5 mm、长度 18 mm 的 316 不锈钢金属支架。涂层材料是聚乙醇酸(PLGA)生物降解材料,

为生物惰性高分子材料,在生物体内不产生任何降解产物;采用微喷法制备聚合物及雷帕霉素、聚合物及雷帕霉素和巴曲酶的复合药物涂层支架,载药量为分别携带雷帕霉素 1.2 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 、雷帕霉素 1.2 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ 和巴曲酶 0.4 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$,涂层厚度约为 5~10 μm ,应用封装型(Reservoir)载药方式,即在最外层涂覆一层不可降解的控制释放层。药物洗脱支架预装在球囊导管上。

1.2 方法

1.2.1 动物预处理 普通饮食饲养。再狭窄模型采用微型猪冠状动脉过度扩张的再狭窄模型。

1.2.2 支架置入 冠状动脉狭窄模型建立后,实验动物被随机分成对照组 8 只和实验组 8 只。所有动物肌注地西洋 0.25 mg/kg 和盐酸氯胺酮 15 mg/kg 麻醉;固定、消毒后,穿刺股动脉(多为右侧),送入引导钢丝,经引导钢丝插入 6 F 鞘管。静脉给予肝素 150~250 U/kg,再沿鞘管送入引导导管,用 6 F JL3.5 引导导管进行冠状动脉造影,将 16 枚支架分别置入 16 只小

作者单位:第四军医大学西京医院心血管内科,陕西西安市 710032。作者简介:陈丹(1975-),女,吉林吉林市人,硕士研究生,主治医师,从事心脏内科临床工作。通讯作者:吕安林。

型猪的目标血管,其中对照组置入单纯雷帕霉素涂层支架,实验组置入雷帕霉素和巴曲酶复合药物涂层支架,球囊扩张压为 12~16 atm (1 atm=101.325 kPa),单次扩张 10~20 s。支架置入后再次行冠状动脉造影,显示支架置入位置满意后,撤出鞘管,穿刺部位压迫止血 10~20 min。肌肉注射青霉素 8×10^5 U。

1.2.3 术后处理 待动物苏醒后送回动物室,普通饮食喂养。其中实验组术前 3 d 至术后 7 d 每天口服氯吡格雷(泰嘉,深圳信立泰药业有限公司) 75 mg 和乙酰水杨酸(巴米尔) 0.3 g;此后改为每天口服巴米尔 0.3 g,直至术后 28 d;对照组术前 3 d 起每天口服氯吡格雷 75 mg 和巴米尔 0.3 g,直至术后 28 d 天。

1.2.4 观察指标 术中用 8 道生理记录显示仪监测记录动脉血压、心率,采血用全自动血细胞计数仪测全血细胞计数及用全自动生化分析仪测生化 27 项,比较支架置入前与实验终止前即刻的心率、血压变化;于支架置入前、实验终止前测量体重。术后第 1、3、5、7、14、21、28 天抽取血标本,测定凝血系列、血常规、肝肾功能、心肌酶。

术后 28 d 重复冠脉造影。处死动物,取出心脏,用生理盐水灌注左冠状动脉,待引流液清澈后,用 0.4% 中性多聚甲醛溶液 100 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa) 加压灌注 30 min,分离支架血管段。根据造影结果选择最狭窄的 1/3 血管段用 4% 多聚甲醛溶液固定,塑料包埋,形态学观察。取支架血管段供血区域心肌以及肺、胃、小肠、大肠、肝、肾标本用生理盐水冲洗,4% 多聚甲醛固定,组织学检查。

1.2.5 血管观察 带支架标本塑料包埋后,用骨科切片片机切片,HE 和弹力纤维染色制备光镜标本。应用 Leica LA 显微微机图像处理系统测定支架血管段的管腔面积、内弹力板围绕面积、外弹力板围绕面积、新生内膜面积、面积再狭窄百分比(新生内膜面积/支架置入术后管腔面积 $\times 100\%$ = 内膜面积/内弹力板内面积 $\times 100\%$)^[1]和支架内再狭窄发生率(面积狭窄百分比 $\geq 50\%$)。

1.2.6 组织学观察 石蜡包埋心肌、肺、胃、小肠、大肠、肝、肾组织,切片、HE 染色,观察并比较其病理改变、病变类型及损伤范围。

1.3 统计学方法 数据均采用($\bar{x} \pm s$)表示。两组间用独立样本 *t* 检验。用 SPSS 10.0 统计软件进行分析。*P* < 0.05 为有显著性差异。

2 结果

2.1 一般情况 微型猪共 16 头,全部完成试验研究。共置入支架 16 枚:对照组 8 枚,实验组 8 枚;2 枚支架置入左回旋支(LCX),14 枚置入左前降支(LAD)。

术后 28 d 内,动物心率、血压、体重的变化两组间无显著性差异;也无行为异常及饮食、大小便异常。

2.2 血液生化 术后第 1、3、5、7、14、21、28 天反映

肝、肾功能、糖代谢、脂代谢等的参数两组间及每组于支架置入前后之间均无显著性差异;凝血系列、血常规、肝肾功能、心肌酶学的各项指标也显著性差异;全血细胞计数于术后第 1、3、5 天,两组与置入前比较,红细胞计数减少、白细胞计数及血小板计数增加(*P* < 0.05);第 28 天时,两组与置入前比较,只有血小板计数增加(*P* < 0.05)。

2.3 组织学检查 术后 28 d 复查血管造影,各动物支架两端均未见狭窄,支架两端及支架内均未见血栓形成,无假性血管瘤发生。支架段血管组织学测量结果,两组管腔面积、新生内膜面积及面积狭窄百分比无统计学差异,见表 1。心肌、肺、肝、肾、胃、小肠、大肠组织未见损害。

表 1 支架面积学测量

组别	管腔面积(mm ²)	新生内膜面积(mm ²)	面积狭窄百分比(%)
对照组	3.65 ± 0.83	0.98 ± 0.76	18 ± 12
实验组	4.03 ± 0.65	0.92 ± 0.72	16 ± 11
<i>P</i>	0.33	0.87	0.77

3 讨论

冠脉内球囊成形术和支架置入术已经成为治疗冠心病的常规治疗^[1]。这一治疗的主要局限性就是支架内再狭窄(ISR)^[2-3],全身给药预防再狭窄的效果并不理想。为了减少支架内再狭窄率,减少术后口服氯吡格雷剂量和持续时间,我们研制了 RBES 支架。

大量研究已经证实了单纯雷帕霉素涂层支架的血液相容性及组织相容性良好^[4-5],本研究表明,在术后 28 d 内,RBES 支架对实验动物影响与单纯雷帕霉素涂层支架相似,与置入前比较,除血细胞计数外,也无显著变化。血细胞计数的变化可能与支架置入术的创伤有关。

因对 RBES 涂层支架的生物相容性的完全了解应将观察终点期延长至 3 个月。本实验观察的时间较短,未能观察到 RBES 支架生物相容性的远期效果,尚待后期的研究。

[参考文献]

[1] 杨淑莲,李彦娣.冠状动脉内支架治疗老年急性心肌梗死的临床研究[J].中国康复理论与实践,2004,10(9):557.
[2] Williams DO, Holubkov R, Yeh W, et al. Percutaneous coronary intervention in the current era compared with 1985 - 1986: the National Heart, Lung, and Blood Institute Registries[J]. Circulation, 2000,102(24):2945 - 2951.
[3] Moses JW, OShaughnessy C, Caputo R, et al. The US multicenter, randomized, double blind study of the sirolimus eluting stent in coronary lesions: safety outcomes at 9 months[J]. Eur Heart J, 2002, 23(Supp 1): 264.
[4] Suzuki T, Kopia G, Hayashi S, et al. Stent based delivery of sirolimus reduces neointimal formation in a porcine coronary model[J]. Circulation, 2001, 4: 1189 - 1193.
[5] 郭钧岩.雷帕霉素药物洗脱支架的临床疗效[J].中国康复理论与实践,2004,10(11):715.

(收稿日期:2006-03-10)