

На правах рукописи

Хакан Шенгюль

**Экспериментальное обоснование применения
растворимых стентов в лечении окклюзирующих заболеваний
сосудов**

(14.00.06 – Кардиология)

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва 2009

Работа выполнена в Научном Центре сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н.Бакулева Российской Академии Медицинских Наук, Москва (Россия)

Научные руководители:

Доктор медицинских наук,

Профессор, академик РАМН **Бокерия Лео Антонович**

Кандидат медицинских наук **Чигогидзе Николай Автандилович**

Официальные оппоненты:

Самко Анатолий Николаевич - доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории рентгеноэндоваскулярных методов диагностики и лечения Института клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова Российский кардиологический научно-производственный комплекс министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ключников Иван Вячеславович - Доктор медицинских наук, профессор, научный сотрудник отделения хирургического лечения ишемической болезни сердца и миниинвазивной хирургии Научного Центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН.

Ведущая организация: Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины Росмедтехнологий Федерального государственного управления министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита диссертации состоится «____» _____ 2009 года в 14 часов на заседании Диссертационного Совета Д.001.015.01. при Научном центре сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева РАМН (121552, Москва, Рублевское шоссе, 135).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева РАМН)

Автореферат разослан «____» _____ 2009 года.

Ученый секретарь Диссертационного Совета,
доктор медицинских наук

Д.Ш. Газизова

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ACC	Американская Коллегия Кардиологов
АНА	American Heart Association, Американская Ассоциация Сердца
FDA	Food and Drug Administration, комиссия по контролю продуктов и лекарств
NHLBI	Институт сердца, легких и крови США
PCL	поликапронолактон
PDLA	полисополимер
PGA	полигликолевая кислота
PLLA	поли-L-молочная кислота
АКШ	аортокоронарное шунтирование
АТ	антитела
ВСРАт	высокоскоростная ротационная атерэктомия
ВСУЗИ	внутрисосудистое ультразвуковое исследование
ГМК	гладкомышечные клетки
ДНТ	дезоксирибонуклеотид
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
ИМ	инфаркт миокарда
МПА	минимальный просвет артерии
МРТ	магнитно-резонансная томография
КТ	компьютерная томография
НК	нуклеиновые кислоты
ПГБ	полигидроксibuтират
ПКА _т	прямая коронарная атерозэктомия
ПГА	полигидроксиалканоатам
ПМЖВ	передняя межжелудочковая ветвь
ПКА	правая коронарная артерия
КТ	компьютерная томография
МРТ	магнитно-резонансная томография
МПа	мегапаскаль
РВС	рестеноз внутри стента
РНК	рибонуклеиновые кислоты
ТБКА	транслуминальная баллонная коронарная ангиопластика
ТЕС	тромбоэкстракционный катетер
ЧКВ	чрескожное коронарное вмешательство

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Сердечно-сосудистые заболевания занимают ведущее место среди причин смертности населения большинства развитых стран. По разным данным они являются причиной летальных исходов в 40-60% случаев.

Методы профилактики заболеваний сердца до настоящего времени остаются несовершенными. Из-за отсутствия эффективных средств борьбы с атеросклерозом смертность продолжает находиться на высоком уровне. Поэтому не прекращается поиск новых методов борьбы с атеросклерозом. На первый план уже давно вышли методы хирургического лечения заболеваний сосудов. Хирургия в лечении окклюзионных заболеваний сосудов достигла высокого уровня и позволяет сохранить жизни многих пациентов.

Поиски эффективных средств борьбы, а также профилактики рестеноза начались сразу с клинического внедрения метода, и не прекращаются до настоящего времени.

Первым реальным прорывом в проблеме рестеноза стало применение эндопротезов (стентов). Опять же предложение об армировании сосуда было высказано еще Доттером в 1969 году. Но эффективными в клинике оказались модели стентов, которые доставлялись на баллоне и расправлялись им до нужного диаметра. Из доставляемых баллоном стентов, наиболее эффективными оказались матричные стенты, изготавливаемые из цельной стальной трубки. Саморасправляющиеся стенты стали применяться в основном для периферических сосудов и стенозов венозных шунтов.

Следующим направлением в предупреждении рестеноза стала брахитерапия, которая уменьшила рестеноз в стенте на 33-51%. Но краевой рестеноз стента остался бичом для брахитерапии, к тому же, она вызывала «черные дыры» у некоторых больных, значительно истончая сосуды в месте экспозиции радиации. Механическая травма по краям

стента вызывает раздражение, и хроническое воспаление будет провоцировать рестеноз.

С использованием антипролиферативных покрытий удалось снизить частоту рестеноза коронарных артерий до 4 – 9 %, что составляет 80 000 – 180 000 больных при общем ежегодном объеме вмешательств в 2 000 000. Однако, по разным причинам, до сих пор активно применяются обычные непокрытые металлические стенты, что в несколько раз увеличивает количество больных с рестенозом.

Следует отметить ряд ситуаций, когда имплантация биodeградируемых стентов может быть особенно актуальна.

Так саморастворимые стенты могут быть установлены в местах изгибов артерий, и не только коронарных. Например, при атеросклерозированной локтевой артерии постоянно встает вопрос о возможности имплантации стента, а также – насколько это будет безопасно, что делает биodeградируемые стенты незаменимыми в данной ситуации.

Повторная установка стента в настоящее время является актуальной и востребованной процедурой при этом не стоит забывать о том, что применение стента армирует сосуд, делает его жестким и нарушает в различной степени пульсацию кровотока. Это создает ряд проблем при повторной установке стента в место, где уже имплантирован стент. Механическая травма по краям стента при его установке вызывает раздражение и хроническое воспаление, что в свою очередь провоцирует рестеноз.

Необходимость в повторной установке стентов, труднодоступные локализации и многое другое заставило инвазивных кардиологов задуматься о «временных» стентах и получило конкретную практическую нишу.

Во время процедуры чрескожного коронарного вмешательства возникает необходимость поддержать сосуд в расправленном состоянии в течение короткого периода времени, после его дилатации. На это время «временный» эндопротез – стент оправдан и полезен. В дальнейшем, его присутствие вызывает дополнительные реакции со стороны сосуда, как на инородное тело, так и на постоянно травмирующий фактор в изгибе коронарной артерии.

Можно еще отметить, что процедуры магнитно-резонансной терапии обычно противопоказаны лицам, которые имеют стенты в артериальных сосудах, а потребность в проведении МРТ однозначно высока у этой категории больных. Таким образом, биоразстворимые стенты имеют широчайшие перспективы при использовании и, поэтому, их разработке уделяется большое внимание.

В настоящее время исследованию растворимых (биodeградируемых) стентов уделяется большое внимание. Среди соединений, которые способны растворяться через определенный интервал времени, наиболее оптимальными по физико-химическим параметрам считают магний и поли-L-молочную кислоту.

Перед внедрением биodeградируемых стентов в широкую клиническую практику были сформированы следующие актуальные вопросы:

- Целесообразность применения растворимых (биodeградируемых) стентов
- Отдаленные последствия внедрения в сосуд растворимого стента
- Эффективность применения растворимых стентов (оценка временных параметров)
- Частота осложнений в месте имплантации биodeградируемого стента

- Оценка возможности повторного вмешательства в область имплантированного биodeградируемого стента

На данный момент, скорость растворения стентов такова, что сосуд не успевает покрываться вновь растущими клетками интимы и соответственно отсутствует фиксация стента и его фрагментов возникающих в процессе биodeградации. Очевидно реальная опасность дистальной эмболизации. Одним из возможных путей решение этого вопроса может быть разработка полимерных биodeградируемых покрытий.

Исходя из вышеизложенного **Целью настоящего исследования** явилось экспериментальное обоснование возможности применения растворимых стентов в лечении окклюзионных поражений сосудов.

Задачи исследования:

1. Оценить физико-химические свойства биodeградируемых материалов.
2. Изготовить и испытать стенты из биodeградируемого сплава без покрытия и с различными типами покрытий *in vitro*.
3. Определить количественные и качественные параметры растворения биodeградируемых стентов без покрытия и с различными типами покрытий в экспериментальных условиях на животных моделях.
4. Изучить макропрепараты и микропрепараты стентированных сегментов артерий у экспериментальных животных в ранние и отдаленные сроки, после имплантации биodeградируемых стентов.

Научная новизна

Работа является первым отечественным исследованием, демонстрирующим принципиальную возможность применения отечественных растворимых стентов при окклюзионных заболеваниях сосудов. Разрабатываемые принципы безопасного проведения эндоваскулярной опера-

ции имплантации временного стента, строгий контроль процесса растворения стента и деградации его фрагментов позволят определить потенциальные возможности клинического применения этой технологии у больных с окклюзионными поражениями сосудов.

Впервые показано, что существует возможность применения биodeградируемых стентов отечественного производства. При строгом контроле растворения стента, отслеживания процесса деградации фрагментов стента и подборе химического агента, который позволит отслеживать растворение и деградацию, будет возможно рекомендовать биodeградируемые стенты к широкому внедрению в клиническую практику инвазивных кардиологов у больных окклюзионными поражениями сосудов.

Практическая значимость работы

В работе показано, что применение биорастворимых (временных) стентов у больных с окклюзионными поражениями сосудов различных возрастных категорий и с различной локализацией поражения обоснованно. Разработаны принципы безопасного проведения эндоваскулярной операции имплантации временного стента, определены сроки растворения и обозначены перспективы применения биodeградируемых стентов, что дает основу для внедрения этих стентов в клиническую практику.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Механические свойства магниевых биodeградируемых стентов сравнимы с другими типами стентов.
2. Фрагментация магниевых стентов без покрытия при биodeградации в организме происходит в течение 4 дней с образованием крупных фрагментов, способных вызвать эмболию дистальных сегментов сосудов.
3. В результате биodeградируемый магниевый сплав становится в организме фосфатом магния.

4. Применение биосовместимых инертных покрытий способно замедлить распад стента до его эндотелизации.

5. Покрытие из полигидроксibuтирата способно замедлить растворение магниевого стента на срок, достаточный для покрытия неоинтимой и фиксации фрагментов стента после биодеградации.

Апробация работы

Материалы и основные положения диссертации были изложены на: XIII Всероссийском съезде сердечно-сосудистых хирургов (Москва, ноябрь 2007), XI ежегодной сессии НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН с всероссийской конференцией молодых ученых (Москва, май 2007), на совместном заседании: отделения рентгенохирургических электрофизиологических методов исследования лечения и апробации новейших технологий, лаборатории моделирования и изучения патологии сердца и сосудов с оперблоком и виварием, лаборатории патентно-лицензионной, изобретательской и рационализаторской работы, лаборатории патологической анатомии с прозектурой, клинко-диагностического отделения, лаборатории химии и технологии материалов, отдела интеллектуальной собственности, научно-производственного отдела медицинской биотехнологии Научного Центра сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева РАМН.

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ.

Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 109 страницах содержит 18 рисунков и 11 таблиц. Библиографический указатель включает 4 отечественных и 142 зарубежных источников информации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей диссертационной работе анализируются данные, полученные в экспериментах над животными и лабораторно, по установке биорастворимых стентов отечественного производства, а также по процессу их растворения. Для выполнения поставленных задач мы разделили работу на следующие этапы:

1. Оценка физико-химических свойств магниевых сплавов. Изготовление и испытание саморастворимых стентов из магниевого сплава без покрытия и с различными типами покрытий *in vitro* (исследование рабочих характеристик изделия).
2. Эксперименты на беспородных собаках для изучения *in vivo* процесса растворения магниевых стентов без покрытия и с различными типами покрытий.
3. Изучение макропрепаратов стентированных сегментов различных артерий с гистологическим исследованием срезов стенки сосудов в ранние и отдаленные сроки после имплантации растворимых стентов.

Мы использовали пластины на основе магниевого сплава, состоящие из следующего химического состава (%/масс.): Mg (магний) – основа, Nd (неодим) – (2/3,5); Zr (цирконий) – (0,2/0,7); Ta (тантал) – (0,1/0,5); Ti (титан) – (0,1/0,5). Пластины из магниевого сплава, использованные в нашем исследовании были изготовлены в Российском государственном технологическом университете имени К.Э. Циолковского. Для изготовления пластин были выполнены плавки с максимальным содержанием вышеперечисленных компонентов, с последующим получением слитка и изготовлением фольги размером 10/100 мм, толщиной 0,16 мм, в количестве 10 штук. На лазерном аппарате «Квант-66» методом лазерной резки формировалась мультицеллюлярная структура стента и последующее его объемное формирование. Всего был изготовлен 51 стент из магниевого сплава толщиной 150 мкм. Было изготовлено 28 биodeгради-

руемых стентов без покрытия, из них 14 стентов размером 2,5/10; 8 стентов размером 7,0/10 и 6 стентов размером 5,0/10.

Мы исследовали два вида биополимеров - поли-3-гидроксibuтират (ПГБ) и желатин. Поли-3-гидроксibuтират - квалификации «ч», производства Института биохимии им. А.Н.Баха РАН, с молекулярной массой (ММ) - 920 кДа. Желатин - марка К-13, «пищевой», производства Могилёвского желатинового завода, Беларусь. В качестве растворителей для приготовления растворов полимеров для ПГБ использовали хлороформ, «химически чистый» производства ЗАО «Экос-1», Россия, для желатина - дистиллированную воду. Были изготовлены пленки из желатина и ПГБ в количестве 10 штук каждая, толщиной 10 мкм, 25 мкм и 10 мкм, 50 мкм, соответственно.

Из 51 стента 28 штук были без покрытия, 8 стентов были покрыты биополимерами ПГБ и 8 стентов желатином методом макания, соответственно. Кроме непокрытых и покрытых биodeградируемых стентов были изготовлены 7 двухслойных стентов, устройство которых представляло из себя малорастворимый металлический стент на баллоне, обжатый сверху биodeградируемым стентом без покрытия.

В отделении рентгенохирургических электрофизиологических методов исследований и лечения и апробации новейших технологий НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН проведены 22 экспериментальных вмешательства с имплантацией 51 биodeградируемых стентов в артерии разных бассейнов на беспородных собаках обоего пола (n=22), весом от 12 до 25 кг, в возрасте от 2-х до 5-ти лет.

Для изготовления пластин в качестве агрессивной среды, в которую погружалась магниевая пластина, был выбран 0,9% физиологический раствор и вода. После погружения пластин в физиологический раствор (5 штук) и воду (5 штук) проводилось динамическое наблюдение за процессом растворения пластин в течение 10 дней. Были изготовлены

пленки из желатина и ПГБ в количестве 10 штук каждая, толщиной 10 мкм, 25 мкм и 10 мкм, 50 мкм, соответственно. Пленки из данных биополимеров погружались в 0,9% физиологический раствор (5 штук) и воду (5 штук) с динамическим наблюдением за процессом растворения в течение 360 дней.

На лазерном аппарате «Квант-66» методом лазерной резки формировалась мультицеллюлярная структура стента и последующее его объемное формирование. Всего был изготовлен 51 стент из магниевого сплава толщиной 150 мкм.

Покрытые ПГБ толщиной 180 мкм (5 штук) и 200 мкм (5 штук), желатином толщиной 150 мкм (5 штук) и 180 мкм (5 штук) пластины погружались в 0,9% физиологический раствор и воду для динамического наблюдения за процессом растворения в течение 30 дней. Готовое устройство стерилизовали в газовом стерилизаторе в течение 60 мин. при стандартных условиях на аппарате Securimat S 2000.

Во всех случаях стенты без покрытия и с покрытием помещались в емкость 0,9% физиологического раствора и воду с динамическим контролем.

Мы использовали два вида биополимеров - поли-3-гидроксibuтират (ПГБ) и желатин. Для приготовления раствора ПГБ навеску сухого полимера заливали хлороформом и растворяли при перемешивании магнитной мешалкой в течение 3-х часов. Для приготовления раствора желатина навеску сухого полимера растворяли в воде при температуре 40⁰С в течение 2-х часов. Нанесение полимерного слоя на поверхность пластин из магниевого сплава проводили методом макания, в несколько стадий: 1.) Предварительная очистка и обезжиривание (этиловым спиртом) поверхности стента. 2.) Высушивание. 3.) Погружение стента в раствор полимера. 4.) Высушивание стента с нанесенным полимерным

слоем. 5.) Перевод полимерного покрытия в водонерастворимое состояние (только для покрытия на основе желатина).

Изучения поверхности пластин покрытых биополимером проводили на стереомикроскопе MICROS MC 1150 с системой визуализации CAM V.400 в отраженном свете и падающем свете с увеличением x20; x40; x80; x100.

Для испытания магниевых стентов мы применили стандартные методы испытаний образцов на растяжение и определение модулей упругости. Испытания проводили универсальной разрывной машине фирмы ZWICK (Z2.5/TN1S), ФРГ. Для закрепления образцов использовали винтовые захваты с металлической насечкой. Скорость и предельные значения нагрузок выбирали экспериментально: скорость испытаний 50 мм/мин, датчик силы 500 н. Для испытаний были использованы две пластины магниевых сплава, из которых были приготовлены образцы для испытаний.

На втором этапе исследования проводили эксперименты для изучения *in vivo* процесса растворения магниевых стентов без покрытия и с различными типами покрытий. Проведены 22 экспериментальных вмешательства с имплантацией 51 биодеградируемых стентов в артерии разных бассейнов на беспородных собаках обоего пола (n=22), весом от 12 до 25 кг, в возрасте от 2-х до 5-ти лет.

Предоперационная подготовка включала премедикацию, внутримышечным введением 5% раствора кетамина в дозе 150-200 мг и подкожным введением 1 мл 0.1% раствора атропина. Наркоз подопытному животному производили внутривенным введением тиопентала-натрия в дозе 10 мг/кг. Перед внутривенным наркозом животное седатировали внутримышечным введением реланиума (из расчета 0,1 мг/кг). В правую или левую бедренную артерию пункционным способом по методу Sel-

dinger устанавливали интродюсер 5F, для измерения прямого артериального давления с помощью высокочувствительного датчика давления "Spectramed P-23-HL" (США). Продолжительность операции составляла от 30 до 90 минут. Контроль гемодинамических показателей осуществлялся при помощи реанимационного монитора фирмы "Hewlett Packard". Ангиографию проводили на ангиокардиографической установке (INTEGRIS BN3000) фирмы PHILIPS (Голландия). По методу Seldinger выполняли ретроградную катетеризацию аорты правым или левым трансфеморальным доступом с установкой интродьюсера 7-10Fr. Доставляющий катетер устанавливали в устье целевой артерии с последующей имплантацией стента. Использовалось контрастное вещество "Омнипак 300" фирмы NYCOMED (Норвегия), которое вводили вручную в объеме 7-9 мл со скоростью 3-4 мл/сек. и с помощью автоматического шприца в объеме 10-20 мл со скоростью 6-12 мл/сек. Использовались стенты длиной от 8 до 32 мм и диаметром от 2.5 до 7.0 мм. Сохранение ангиокардиографических исследований первоначально осуществлялось в интегрированной компьютерной системе, последующая архивация выполнялась на лазерные компакт-диски в цифровом формате DICOM 3.0.

Одной собаке после имплантации биодеградируемого стента покрытого ПГБ в правую почечную артерию на 7 сутки провели компьютерную томографию на спиральном томографе «Hi Speed/i» без контрастного усиления, в режиме спирального пошагового сканирования с толщиной среза от 1 мм до 5 мм.

Одной собаке после имплантации биодеградируемого стента покрытого ПГБ в правую почечную артерию на 7 сутки проводили исследование почечных артерий на сверхпроводящем МР-Томографе «Sigma» фирмы "GE" напряженностью поля 1 тесла, в базовой комплектации с применением поверхностной катушки.

На 3-ем этапе изучались макропрепараты стентированных сегментов различных артерий с гистологическим исследованием срезов стенки сосудов после имплантации растворимых стентов.

Все трупы беспородных собак подвергнуты секционному вскрытию для получения макропрепаратов в сроки от 7 до 30 дней с момента имплантации стентов. Был получен 51 макропрепарат с имплантированными биodeградируемыми стентами, из них 13 почечных артерий, 10 подвздошных артерий, 9 подключичных артерий и 19 коронарных артерий. Все препараты были изучены на предмет непосредственных и отдаленных результатов. Определялись срок растворения стентов (по наличию количества фрагментированных участков стента) и наличие тромботических масс.

После установки биodeградируемых стентов было также произведен анализ микропрепаратов. Исследования проводились на фотомикроскопе "Axiorpot" фирмы Carl Zeiss, окуляры PI 10x/25; бинокулярная насадка 1x; объективы Plan- NEOFLUAR 2,5x/0,075; 10x/0,30; 20x/0,50; 40x/0,75. Микрофотосъемка осуществлялась в автоматическом режиме.

Методы статистического анализа

Результаты исследований были обработаны при помощи пакетов прикладных программ BioStat (S.Glanz ©, США 1999), Statistica for Windows 6.0 (StatSoft Inc., США 2001).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В настоящей главе будут рассмотрены результаты установки биodeградируемых стентов в экспериментах на животных и после проведения физико-химического анализа процесса растворения стентов. В первой части (3.1) описывается процесс оценки физико-химических свойств магниевых сплавов. Во второй части (3.2) сравнивается растворимость пластин из магниевого сплава, биополимерных соединений и пластин из магниевого сплава покрытых биополимерами. В третьей части (3.3) срав-

нивается растворимость стентов из магниевых сплавов без покрытия и с покрытием биополимерными соединениями. В четвертой части (3.4) показаны стендовые испытания стентов из магниевых сплавов без покрытия и с покрытием биополимерными соединениями, где при детальном микроскопическом изучении поверхности стентов были выявлены локальные скопления материала и значительные неровности на поверхности конструкций. В пятой части (3.5) оцениваются результаты имплантации стентов без покрытия и с покрытием в экспериментальных условиях на животных. В шестой части (3.6) анализируются результаты исследования макропрепаратов стентированных артерий животных. В седьмой части (3.7) представлены результаты гистологических исследований препаратов стентированных артерий.

Оценка физико-химических свойств магниевых сплавов.

был выбран окончательный сплав следующего химического состава (% / масс.)

Mg (магний) - основа.

Nd (неодим) 2 / 3,5

Zr (цирконий) 0,2 / 0,7

Ta (тантал) 0,1 / 0,5

Ti (титан) 0,1 / 0,5

Для изучения свойств магниевых сплавов были выполнены плавки с максимальным содержанием компонентов, получены слитки и изготовлена фольга толщиной 0,15 мм.

Таблица 1. Состав сплава биодеградируемого стента.

Основное вещество	Компоненты сплава, содержание (% , масс)	Эффект воздействия на организм	Драгоценные металлы
Mg - основа	Nd неодим 2,2-2,6 Zr цирконий 0,01-0,8 Mn марганец 0,05-0,5 Sc скандий 0,01-0,25 Cd кадмий 0,05-0,5 Ca кальций 0,05-0,3	Регенерация костной ткани	один из элементов: Au -золото Ag-серебро Pt-платина- 0,01-0,5

Оценка растворимости пластин из магниевых сплавов, биополимерных соединений и пластин из магниевых сплавов покрытых биополимерами.

Результаты исследования растворимости пластин из магниевых сплавов, биополимерных соединений и пластин из магниевых сплавов покрытых биополимерами представлены в таблице 2.

Таблица 2. Сроки растворимости пластин из магниевого сплава, биополимерных соединений и пластин из магниевого сплава покрытых биополимерами.

Исследуемый образец, слой покрытия в мкм	Масса по- крытия, мг	Доля по- крытия, %	Срок растворения, (дни)		Наблюдения процесса растворения
			В воде	В физ. р- ре	
Металлические пластины из сплава магния					
Пластина без покрытия (контроль 1) толщиной 160 мкм.			5	5	Через 5 суток пластина полностью растворилась.
Пластина без покрытия (контроль 2) толщиной 190 мкм.			-	5	Через 5 суток пластина полностью растворилась.
Пленки из биополимерных соединений					
Желатин 10 мкм				40	фрагментация
Желатина 50 мкм				60	фрагментация
ПГБ 10 мкм			90	90	Нет фрагментации
ПГБ 25 мкм			360	360	Нет фрагментации
Пластины с покрытием из желатина					
Пластина с покрытием из желатина толщиной 180 мкм.	4,8	9,9	-	12	На 5 сутки началось растворение . На 12 сутки пластина полностью фрагментировалась до порошка
Пластина с покрытием из желатина толщиной 150 мкм.	5,8	9,79	-	23	растворение началось на 6 сутки
Пластины с покрытием из полигидроксibuтирата					
Пластина с покрытием из полигидроксibuтирата толщиной 180 мкм.	3,3	5,9		13	большая дырка внутри пластины. Полностью пластина растворилась на 13 сутки.
Пластина с покрытием из полигидроксibuтирата толщиной 200 мкм.	4,1	5,2		14	небольшая дырка внутри пластины из-за неоднородности материала полное растворение на 14 сутки.

Оценка растворимости стентов из магниевого сплава без покрытия и с покрытием биополимерными соединениями.

Результаты исследования растворимости в физиологическом растворе стентов из магниевого сплава без покрытия и стентов покрытых биополимерами представлены в таблице 3.

При исследовании растворимости стентов толщиной 150 мкм покрытых ПГБ с массой покрытия 0,3 мг и 1,7 мг полное растворение

стента под пленкой, через процесс фрагментации, произошло на 13 и 23 сутки, соответственно.

Таблица 3. Растворимость магниевых стентов в 0,9% физиологическом растворе.

Исследуемый образец	Масса покрытия, мг	Доля покрытия, %	Срок растворения в физиологическом растворе, дни	Наблюдения процесса растворения
Стенты без покрытия				
Стент без покрытия, толщина стенки 150 мкм			7	К 3 суткам началось незначительное растворение стента, он сохранял свою целостность, но крошился. На 4 сутки стент фрагментировался на 2 части
Стенты с покрытием из желатина				
Стент покрытый желатином, толщина стенки 150 мкм, толщина стенки с покрытием 160 мкм	0,3	3,0	8	На 3 сутки началось растворение стента без его фрагментации. На 5 сутки появилась фрагментация – отделился 1 виток. На 7 сутки стент фрагментировался на 4 части. На 8 сутки весь стент разрушился на множество фрагментов.
Стент покрытый желатином, толщина стенки 150 мкм, толщина стенки с покрытием 160 мкм	0,4	4,8	12	На 5 сутки началось растворение металла под пленкой желатина, края стента размягчились, но целостность стента сохранилась. На 7 сутки растворилась половина площади металла под пленкой, края стента еще более размягчились, но он сохранял свою целостность. На 10 сутки растворилось $\frac{3}{4}$ площади металла под пленкой. На 12 сутки стент фрагментировался и практически растворился под пленкой.
Стенты с покрытием из ПГБ				
Стент покрытый ПГБ, толщина стенки 150 мкм, толщина стенки с покрытием 160 мкм,	1,7	9,0	23	К 6 суткам произошел надлом стента. К 10 суткам стент распался на 2 части. К 23 суткам от стента осталась $\frac{1}{4}$ металла.
Стент покрытый ПГБ, толщина стенки 150 мкм, толщина стенки с покрытием 160 мкм	0,3	3,6	13	К 4 суткам стент распался на 2 части. К 8 суткам стент фрагментировался на части. К 13 суткам произошло полное растворение стента.

Стендовые испытания стентов из магниевого сплава без покрытия и с покрытием биополимерными соединениями.

После проведения испытаний мы подвели итоги:

1. Значения упруго-прочностных характеристик магниевого сплава значительно уменьшаются с увеличением времени экспозиции в стерильном физиологическом растворе.
2. Максимальное время экспозиции составило только 3 суток, и даже в этом временном интервале наблюдалось частичное разрушение образцов (1.7, 2.5, и 2.6). Однако, некоторые образцы сохраняли хорошие упруго-прочностные свойства (1.6, 1.9). Очевидно, что пластины из магниевого сплава были различными по толщине и неоднородными по составу, имели очаги коррозии и т. д.
3. Для получения статистически достоверных результатов необходимо провести исследования на больших выборках образцов из однородного материала.

Результаты имплантации стентов без покрытия и с покрытием в экспериментальных условиях у животных.

Для имплантации стентов в экспериментальных условиях у беспородных собак, основываясь на оптимальных сроках биodeградации имплантов, были отобраны магниевые стенты без покрытия, толщиной 150 мкм; магниевые стенты с покрытием желатином, толщиной 10 мкм, с массой покрытия 0,4 мг; магниевые стенты с покрытием ПГБ, толщиной 10 мкм, с массой покрытия 1,7 мг; двухслойные стенты без покрытия, толщиной 150 мкм.

Всего был имплантирован 51 биodeградируемый стент 22 беспородным собакам. Из них 28 магниевых стентов без покрытия, 8 магниевых стентов с покрытием из желатина, 8 магниевых стентов с покрытием из ПГБ и 7 двухслойных стентов. Количество и локализация имплантированных стентов без покрытия и с покрытием из желатина, ПГБ и двухслойных стентов представлены в таблице 4.

В коронарные артерии было имплантировано 14 стентов без покрытия, 4 стента покрытых желатином (2) и ПГБ (2), 1 двухслойный стент, размерностью 2,5/10 мм. В почечные артерии были имплантированы 6 стентов без покрытия, 4 стента, покрытых желатином (2) и ПГБ (2), 3 двухслойных стента, размерностью 5,0/10 мм.

Таблица 4. Количество и локализация имплантированных биоразтворимых и двухслойных стентов у беспородных собак.

Локализация им- плантированных стентов	Биодегради- руемый мета- лический стент без по- крытия	Биодеградируе- мый металличе- ский стент с по- крытием из же- латина	Биодеградируемый металлический стент с покрытием из ПГБ	Двух- слойный стент
Почечная артерия	6	2	2	3
Общая подвздошная артерия	4	2	2	2
Подключичная артерия	4	2	2	1
Коронарная артерия	14	2	2	1
Всего	28	8	8	7

В подвздошные артерии было имплантировано 4 стента без покрытия, 4 стента с покрытием из желатина (2) и ПГБ (2), 2 двухслойных стента, размерностью 7,0/10 мм. В подключичные артерии было имплантировано 4 стента без покрытия, 4 стента с покрытием из желатина (2) и ПГБ (2), 1 двухслойный стент, размерностью 7,0/10 мм.

Результаты исследования макропрепаратов и гистологических препаратов стентированных артерий животных.

Все беспородные собаки были подвержены секционному вскрытию после имплантации стентов. В таблице 5 представлены данные о количестве макропрепаратов с имплантированными стентами без покрытия, с покрытием, с двухслойными стентами полученных при секционном вскрытии в сроки от 7 до 30 дней. Макропрепараты забирались на 7, 14, 21 и 28 сутки после имплантации стентов. На каждом временном этапе было получено по 13 макропрепаратов.

Таблица 5. Количество макропрепаратов с имплантированными стентами, полученных в сроки от 7 до 30 суток.

Количество дней	Макропрепарат с магниевым стентом без покрытия	Макропрепарат с магниевым стентом покрытый желатином	Макропрепарат с магниевым стентом покрытый ПГБ	Макропрепарат с двухслойным стентом
7 сутки	7	2	2	2
14 сутки	7	2	2	2
21 сутки	7	2	2	2
28 сутки	7	2	2	1

Все макропрепараты исследовались на предмет сроков растворения стентов (определялись наличие и количество фрагментированных участков) и наличие тромботических масс внутри стента. В первую очередь оценено количество и процентное соотношение тромбированных и не-тромбированных стентированных сегментов артерий, что представлено в таблице 6.

Таблица 6. Количество тромбозов имплантированных стентов у беспородных собак.

результаты тип стента	тромбоз стента		без тромбоза	
	n	%	n	%
Магниевый стент без покрытия	10	36	18	64
Магниевый стент покрытый желатином	6	75	2	25
Магниевый стент покрытый ПГБ	6	75	2	25
Двухслойный стент (металлический стент, обжатым биodeградируемым стентом без покрытия)	3	43	4	57

По результатам исследований макропрепаратов с магниевыми стентами без покрытия в 10 случаях был выявлен тромбоз стентированного участка артерии, что составило 36%. При исследовании макропрепаратов со стентами с покрытием желатином и ПГБ в обоих вариантах тромбоз был выявлен в 75%, что достоверно больше по сравнению с тромбозом стентов без покрытия ($p < 0,01$). При тщательном визуальном осмотре макропрепаратов с имплантированными двухслойными стентами тромбоз был выявлен в 3 случаях, что составило 43%. При исследовании отобранных макропрепаратов с

непокрытыми стентами без образования тромботических масс, что составило 64%, на 7 сутки просвет артерии был интактным. При оценке макропрепаратов из этой группы на 14, 21 и 28 сутки просвет всех артерий был проходим, без признаков тромбоза. При исследовании макропрепаратов со стентами покрытыми желатином без образования тромботических масс, что составило 25%, на 7 сутки во всех случаях были обнаружены крупные фрагменты нерастворившегося стента. При оценке макропрепаратов из этой группы на 14, 21 и 28 сутки просвет всех артерий был проходим, без признаков тромбоза. При исследовании макропрепаратов со стентами покрытыми ПГБ без образования тромботических масс, что составило 25%, на 7 и 14 сутки во всех случаях были обнаружены крупные фрагменты нерастворившегося стента. При оценке макропрепаратов из этой группы на 21 сутки в просвете всех артерий были обнаружены множество мелких фрагментов стента. На 28 сутки в макропрепаратах этой группы следов стентов обнаружено не было – полная биодеградация стента.

Гистологическое исследование артерий показало, что при их стентировании растворимыми стентами может произойти тромбоз с последующей организацией тромбов и облитерацией просвета сосуда. Фиброзная ткань в облитерированном просвете артерии представлена в основном коллагеновыми волокнами с небольшим количеством соединительнотканых клеток и мелких сосудов. Внутренняя эластическая мембрана практически не определяется. На границе между медией и фиброзной тканью можно видеть пластинчатые базофильные массы.

После извлечения стента из просвета артерии (необходимо для приготовления гистологических срезов) в ней остаются небольшие фрагменты фиброзированной интимы. Со стороны просвета хорошо различима внутренняя эластическая мембрана сосуда, извитая в разной степени. В медиі отмечаются явления фиброза, дезорганизации гладкомышечных клеток, стенка сосуда в месте стояния стента истончена.

ВЫВОДЫ

1. Магниевые биodeградируемые стенты по механическим свойствам сопоставимы с другими типами стентов.
2. Магниевые стенты при биodeградации образуют в организме фосфат магния – инертное соединение.
3. Магниевые стенты без покрытия в течение 4 дней деградируют в организме с образованием крупных фрагментов, которые потенциально способны вызвать эмболию дистальных сосудов.
4. В связи с быстрым растворением магниевых стентов необходимо применение биосовместимых инертных покрытий, которое замедлило бы распад стента до покрытия его неоинтимой.
5. Покрытие из полигидроксibuтирата может существенно замедлить саморастворение магниевоегo стента более чем на 2 недели, срока достаточного для покрытия неоинтимой этого стента и фиксации фрагментов, образовавшихся в процессе биodeградации.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Все биodeградируемые стенты на основе магния из-за своей рентгенонегативности должны иметь на краях рентгенпозитивные метки-маркеры.
2. Для обеспечения длительной управляемой деградации стента он должен иметь полимерное биосовместимое покрытие со сроком растворимости не менее 30 суток.
3. В связи с ухудшением механических свойств магниевых стентов в процессе деградации целесообразно для удержания максимального просвета сосуда назначение препаратов из группы антагонистов кальция.
4. При установке магниевых стентов подвижном сегменте сосуда возникает опасность досрочно фрагментации стента, поэтому необходимо в этих случаях максимальное ограничение подвижности на период биodeградации стента.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Бокерия, Л.А. Перспективы применения растворимых стентов в лечении атеросклеротических заболеваний сосудов / Л.А. Бокерия, Х. Шенгюл, М.В. Авалиани // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». -2007. -Том 8. -№4. -С. 95-101
2. Бокерия, Л.А. Экспериментальное обоснование применения отечественных растворимых стентов в лечении окклюзирующих заболеваний сосудов / Л.А. Бокерия, М.В. Авалиани, Х. Шенгюл // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». Материалы XI ежегодной сессии НЦССХ им.А.Н. Бакулева РАМН с всероссийской конференцией молодых ученых.- 2007. -Том 8. -№3. -С.203.
3. Бокерия, Л.А. Применение отечественных растворимых стентов в лечении окклюзирующих заболеваний сосудов. / Л.А. Бокерия, М.В. Авалиани, Х. Шенгюл // Бюллетень НЦССХ им. А. Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания» Тринадцатого Всероссийского съезда сердечно-сосудистых хирургов. -ноябрь. -2007. -Том 8. -№6. -С.194.
4. Bokeriya, L.A. Stents which are used with polymer technology and bioabsorbable stents. / L.A. Bokeriya, H. Sengul, E.A. Guseyinov // The Turkish Journal of Invasive Cardiology. Vol.-11. -number 4. - November 2007. - p.156-162
5. Pershukov, I.V. Predictors of early instent restenosis / I.V. Pershukov, Z.A. Niyazova-Karben, H. Sengul // TCT 2003 (TCT-500). The American Journal of Cardiology 2003;92:6:Suppl.1:207L-208L