

Poliuretánbevonatok heparinmegkötő képességének vizsgálata

Pelyhe Liza

BME, Anyagtudomány és Technológia Tanszék. 1111 Budapest, Bertalan L. u. 7. Hungary

liza@t-online.hu

Kulcsszavak: sztent, poliuretánbevonat, heparinmegkötés

Kivonat: Jelen cikkben bemutatom három biokompatibilis poliuretán (Carbothane[®], Chronoflex[®], Tecothane[®]) heparinmegkötő képességének vizsgálatát. A poliuretánokat fém hordozón, bevonatként vizsgáltam. Meghatároztam, hogy a három vizsgált poliuretán bevonat közül melyik köti meg legjobban a heparint, majd összehasonlítottam a sima és a pórusos felületű minták heparinmegkötését. Méréseim során a pórusos felületű, Chronoflex[®] bevonatúak bizonyultak a legjobb heparin megkötőnek. Vizsgáltam továbbá, hogy a különböző ideig heparinban áztatott, pórusos felületű minták esetében az áztatási idő növelésével több heparin kötődik-e meg. Méréseimből kiderült, hogy a heparin áztatási idejének növelésével a megkötött hatóanyag mennyisége is nőtt.

Bevezetés

A halálozási statisztikák élén világszerte a szív- és érrendszeri betegségek állnak. A legfontosabb ismert rizikófaktorok a dohányzás, a hipertónia, a szérumlipid rendellenességek, és az életkor [1].

A koronáriabetegségek kezelésében a '90-es évekig kizárólag szívsebészeti beavatkozások jöttek szóba, de mára elterjedtek a perkután radiológiai intervenciók beavatkozások, megkímélve a betegeket a szívsebészeti műtéteket követő hosszú lábadozási időtől és szövődményeitől [2]. Az 1990-es években fejlesztették ki az értágítóbetéteket (sztenteket), amelyek a szűkült ereket képesek nyitva tartani, illetve megakadályozni annak visszaszűkülését [2,3]. A sztent beültetését követően gyakran előfordult simaizom proliferáció, neointima hiperplázia, és az ér újraszűkülése (resztenózis) [4]. 2002-ben jelentek meg az első hatóanyag-kibocsátó sztentek, megváltoztatva a modern kardiológiát. Az elsőgenerációs hatóanyag-kibocsátó sztenteknél még nőtt a beültetés utáni trombózis előfordulása, de a 2006-2007-es vizsgálatok szerint ennek az előfordulása már elenyésző, köszönhetően a fejlesztéseknek, kutatóintézetek együttműködésének, a jobb utókövetéseknek és az ipar fejlődésének [3]. A hatóanyag-kibocsátó sztentek csökkentik a simaizom proliferációt, és a resztenózis előfordulását [4].

A hatóanyag sztenten való elhelyezésére különféle módszerek léteznek: közvetlenül a sztentre helyeztet, polimer mátrixba ágyazva, speciális hatóanyag-hordozó barázdát kitölteni polimer és hatóanyag keverékével, illetve rezervoárba helyezni [5].

Már az 1990-es években rájöttek, hogy a polimerrel bevont sztentek, és erek csökkenthetik a sérült érszakasz és véralkotó elemeinek interakcióját, sőt 1992-től kezdve fejlesztették a heparinnal bevont sztentek esetén a fémhez való kötést és ebből való lassú kioldódását [6-9].

A fő komponensek, amelyek meghatározzák a hatóanyag-kibocsátó sztentek teljesítményét a sztent váza, a hatóanyag, a polimer és a szállítórendszer. Ezeket mind vizsgálni, fejleszteni kell a megfelelő hatóanyag-kibocsátó sztentek kialakításához [4].

A legújabb kutatások már a lebomló polimer bevonatok kifejlesztéséről szólnak [10,11].

A BME Anyagtudomány és Technológia Tanszéke, a Minvasive Kft. és a fémtechnológiai kutatócsoport közösen dolgozik az értágítóbetétek (sztentek) fejlesztésén immár 15 éve [12]. Megkezdtük a hatóanyag-kibocsátó sztent fejlesztését, amelynek egyik kezdő lépést mutatom be cikkemben.

Kísérletek

A vizsgálati minták előkészítése

Sztentek vizsgálata helyett lemezeket használtam a sztentek nehéz kezelhetősége miatt. A lemezek geometriája eltért a sztentekétől, nem tartalmaznak ugyanis bordákat vagy hidakat, emiatt az áramlási viszonyok és a kioldódás eltérhet a sztenteken mérttől, azonban a bevonatok összehasonlító vizsgálatára megfelelőek. A lemezek mérete 12×3 mm volt. A lemezek alapanyaga a sztentekével megegyező, 316LVM ausztenites korrózióálló acél [13].

Maratással eltávolítottam a lemezek lézeres vágása során keletkezett sorja és oxidréteget, majd a mintákat megtisztítottam nagy tisztaságú etanol segítségével. A száradást követően a mintákat egyenként elektropolíroztam, hogy lekerekítsem a vágási éleket, és simává tegyem a lemezek felületét. Az elektropolírozás paramétereit a sztentekre megadott ajánlások alapján a felület méretével arányosan alkalmaztam a lemezeken [13,14].

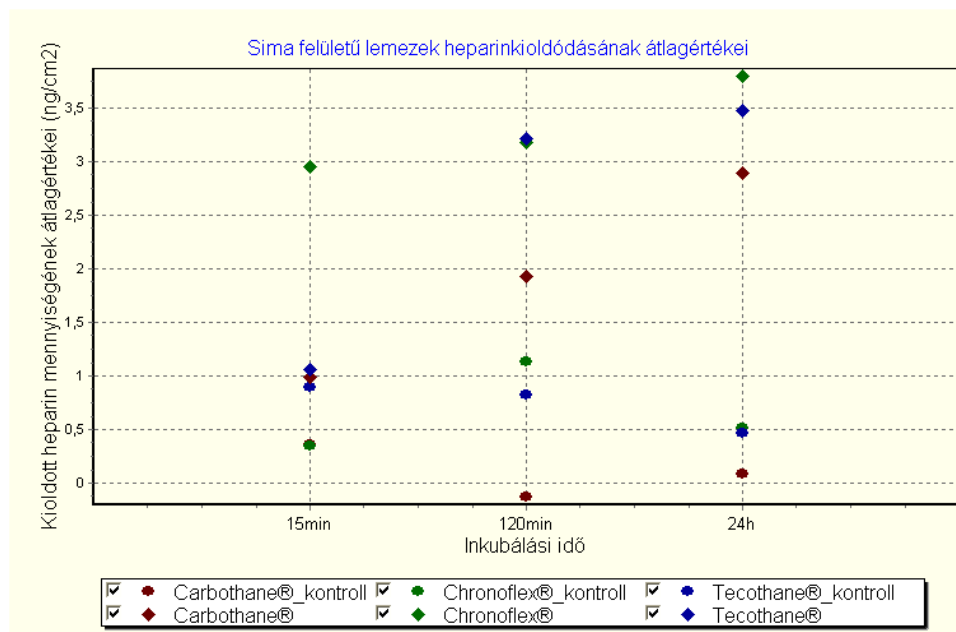
Bevonatkészítés, hatóanyag-felvitel, kioldódásvizsgálat

Bevonatot háromféle, a kereskedelmi forgalomban kapható biokompatibilis poliuretán alapanyag – Carbothane[®], Chronoflex[®], Tecothane[®] – 2 tömegszázalékos oldatából hoztam létre bemártásos technikával. Háromrétegű sima, azaz pórusmentes, illetve pórusos felületű bevonatokat készítettem. A sima felületű bevonatokat szobahőmérsékletű, nem kevert oldatból, egyenletes, lassú szárítással, míg a pórusos felületű bevonatokat hideg oldatból, lamináris áramlásban szárítva állítottam elő.

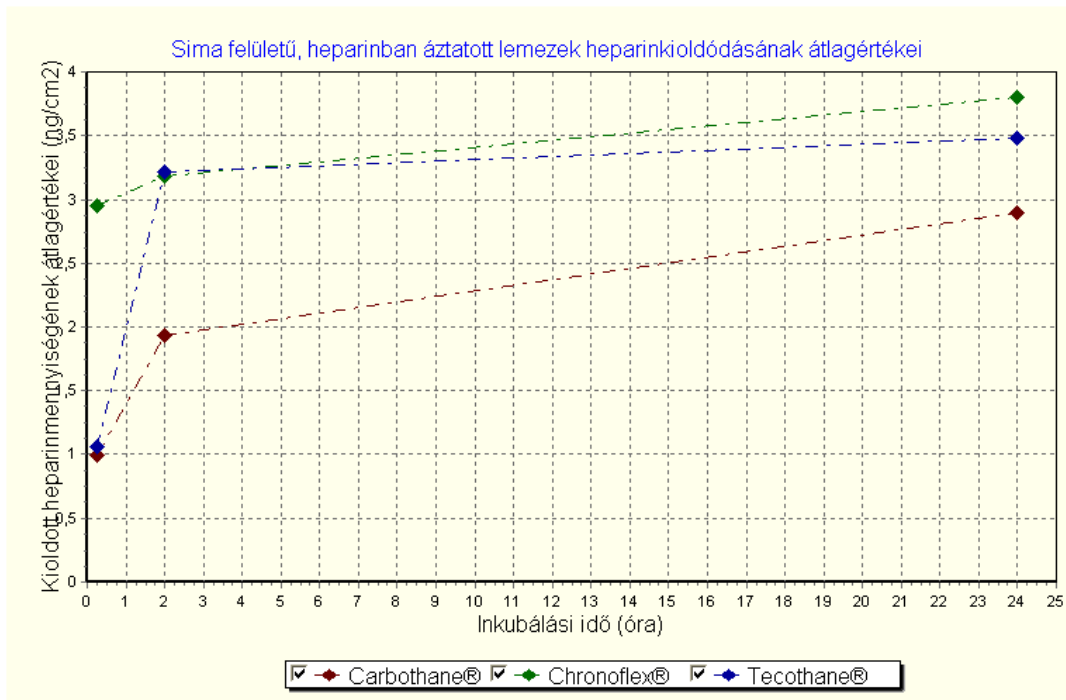
A bevonatolt lemezeket 24, illetve 48 órán keresztül 1 M-os heparinoldatban, míg a kontrollmintákat 10 mM-os Hepes-1 pufferben áztattam. Utána a lemezeket egyenként 420 µL 10 mM Hepes-1 pufferben inkubáltam 15 percig, vagy 120 percig, vagy 24 óráig. Mindegyik mintából hármat készítettem három párhuzamos méréshez. A kioldódott heparint OWLS 120 (Optical Waveguide Lightmode Spectroscopy, vagyis optikai hullámvezető fénymódus spektroszkópia) készülékkel mértem meg.

Eredmények

A sima felületű lemezeknél mindegyik heparinban áztatott minta nagyobb értéket adott, mint a kontroll, azaz a pufferben áztatott minták (1. ábra). A 120 perces inkubálási idő kivételével a Chronoflex[®] bevonatú lemezek adták a legmagasabb értékeket (1. és 2. ábra).

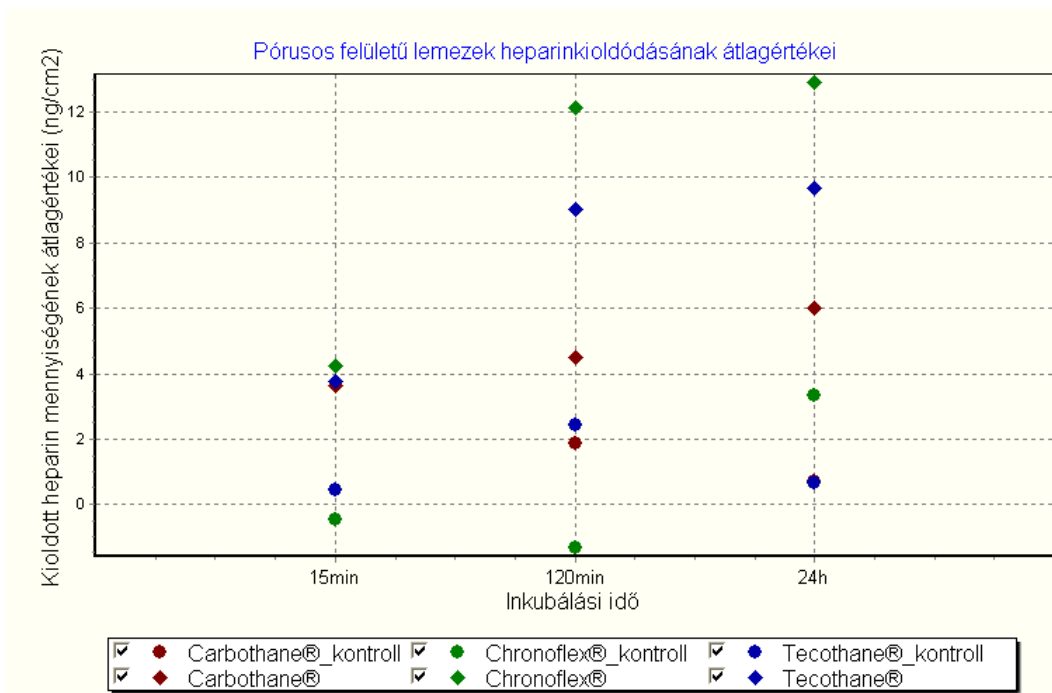


1. ábra – A sima felületű lemezek heparinkiolódásának átlagértékei

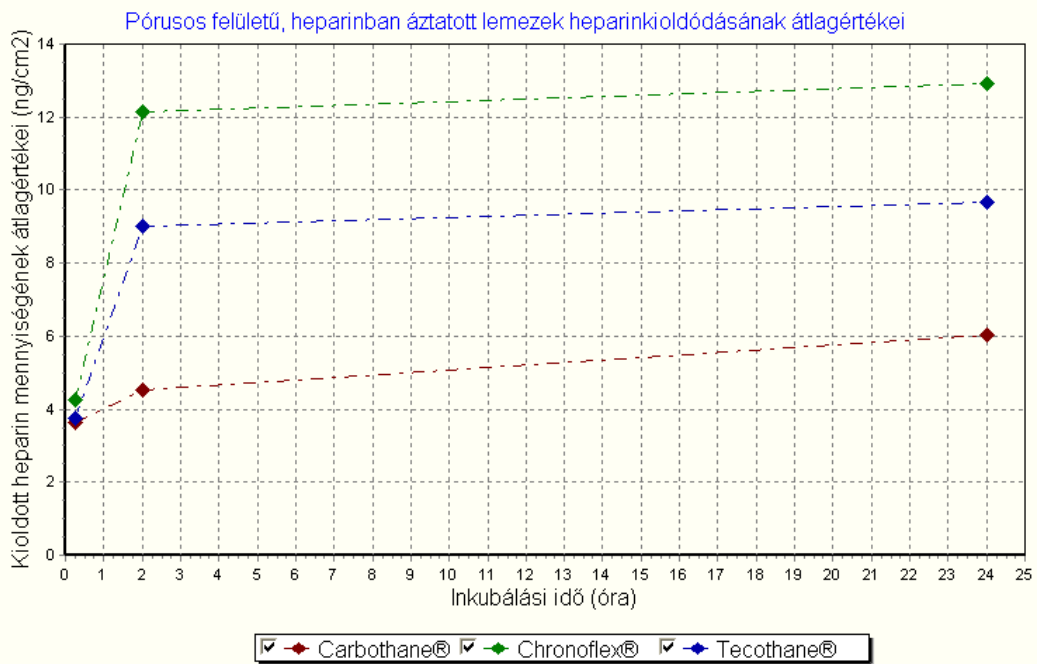


2. ábra – Sima felületű, heparinban áztatott lemezek heparinkiolódásának átlagértékei

A pórusos felületű lemezeknél is mindegyik heparinban áztatott minta nagyobb értéket adott, mint a kontroll, azaz a pufferben áztatott minták (3. ábra). A Chronoflex® bevonatú lemezek adták a legnagyobb értékeket mind a három inkubálási időnél (3., 4. ábra).

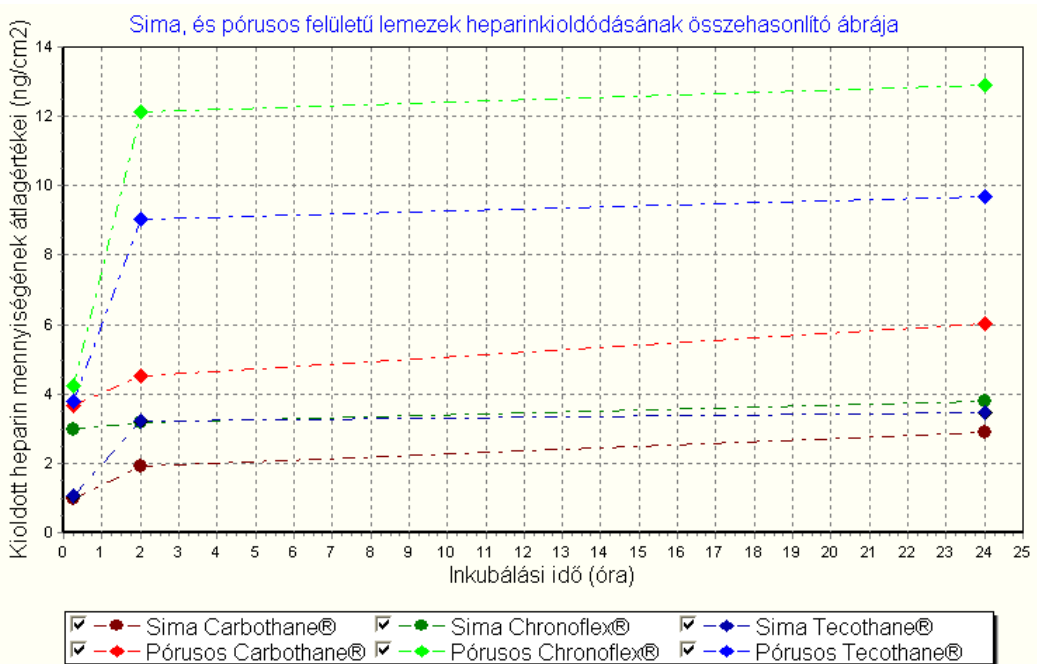


3. ábra – A pórusos felületű lemezek heparinkiolódásának átlagértékei



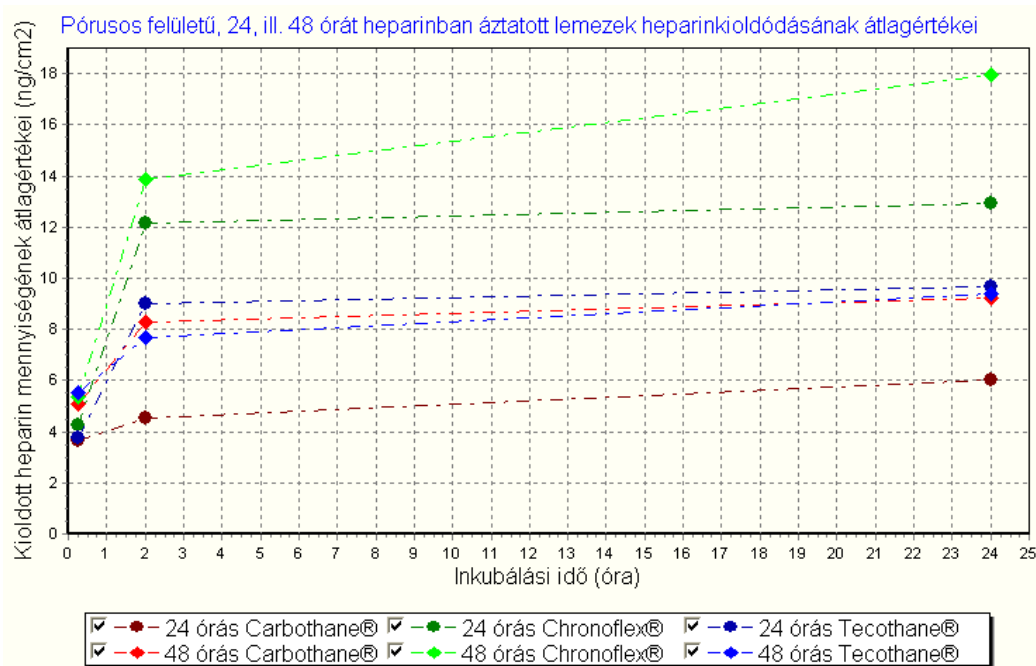
4. ábra – Pórusos felületű, heparinban áztatott lemezek heparinkiolódásának átlagértékei

Összehasonlítva a sima és pórusos bevonatú lemezek heparinkiolódását látható, hogy mindegyik poliuretán bevonat esetében a pórusos felületű lemezek értékei magasabbak a sima felületű lemezek értékeinél (5. ábra).



5. ábra – Sima, és pórusos felületű, heparinban áztatott lemezek heparinkiolódásának átlagértékei

A pórusos felületű lemezek heparinban való áztatás idejét növelve 24 órától 48 órára látható, hogy a Tecothane® bevonatú lemezek kivételével a kioldott heparin mennyiségének átlagértékei magasabbak lettek a 48 órát heparinban áztatott lemezeknél (6. ábra).



6. ábra – Pórusos felületű, 24, ill. 48 órát heparinban áztatott lemezek heparinkiolódásának átlagértékei

Az eredmények elemzése

Az általam használt poliuretán bevonatok (Carbothane[®], Chronoflex[®], Tecothane[®]) mindegyike kötött meg heparint. A kioldódás-görbéken mindhárom bevonatnál a kioldott heparin mennyiségének alapján két szakaszt lehet elkülöníteni, egy gyors első fázist és egy lassú másodikat. A gyors szakaszt a bevonatok felületén megtapadt és onnan leoldott hatóanyag eredményezi, míg a lassú leadásért a bevonat mélyebb rétegeibe, pórusaiba bejutott és onnan kioldódó hatóanyag jellemzi. Az elhúzódó leadási görbék alapján arra lehet következtetni, hogy mind a három poliuretán bevonat duzzadásra képes.

Mind a sima felületű, mind a pórusos felületű lemezeknél is a Chronoflex[®] bevonat adta le a legtöbb heparint.

Összehasonlítva a sima, és pórusos bevonatokat, a pórusos bevonatok több heparint adtak le, mint a sima felületűek. Előzetes vizsgálatok alapján a bevonatok jellege a Carbothane[®]-nál, a Chronoflex[®]-nél, és a Tecothane[®]-nál is hasonlóan alakul. A Chronoflex[®]-é annyiban másabb, hogy a pórusok fala még vastagabb és a besűrűsödött cellák mérete is kevésbé változó [15]. Feltételezésem szerint a pórusok megnövelik a kötőfelületet, nagyobb hatásos felület alakul ki, ezért a pórusos bevonatok több heparint tudnak megkötni.

Ha a bevonatos lemezeket hosszabb ideig áztatom heparinban, esetünkben a 24 óra helyett 48 óráig, akkor a lemezek heparin leadása megnövekszik. Azért választottam a 48 órát, hogy biztosan növekedjen meg a heparin leadás. Elméletem szerint minél tovább áztatjuk heparinban a bevonattal ellátott lemezt, annál több heparint köt meg, de előbb-utóbb a heparin megkötés telítődik. E megnövekedett heparin felvételt is magyarázhatja, hogy a vizsgált poliuretán bevonatok duzzadásra képesek.

Összefoglalás

A Carbothane[®], Chronoflex[®], és a Tecothane[®] bevonat megfelelő aktív bevonat kialakítására, mert alkalmas volt heparin megkötésére és leadására is. A heparin leadása növelhető pórusos felület alkalmazásával, illetve a heparinban áztatás idejének növelésével.

A különböző felületű, különböző poliuretán bevonatokkal a felvett heparin mennyisége, és leadása szabályozható lehet.

Köszönetnyilvánítás

A munka szakmai tartalma kapcsolódik a "Minőségorientált, összehangolt oktatási és K+F+I stratégia, valamint működési modell kidolgozása a Műegyetemen" c. projekt szakmai célkitűzéseinek megvalósításához. A projekt megvalósítását az ÚMFT TÁMOP-4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0002 programja támogatja.

Szakirodalmi hivatkozások

- [1] Hortoványi E, Illyés Gy, Glasz T, Kulka J, Kádár A: Chlamydia pneumoniae fiatal felnőttek koszorúereiben. *Lege Artis Medicinae*, 11 (2001) 542-547.
- [2] Takács T, Bognár E, Dobránszky J: Az újraszűkülést befolyásoló műszaki paraméterek vizsgálata coronariastenteken. *Lege Artis Medicinae*, 20 (2010:3-4) 227-233.
- [3] Stefanadis CI: Are all drug-eluting stents the same? *Hellenic J Cardiol*, 52 (2011:1) 96.
- [4] Wessely R: New drug-eluting stent concepts. *Nat Rev Cardiol*, 7 (2010:4) 194-203.
- [5] Bognár E, Ring Gy, Balázs T, Dobránszky J: Investigation of Drug Eluting Stents. *Materials Science Forum*, 589 (2008) 361-366.
- [6] Nathan A, Nugent MA, Edelman ER: Tissue engineered perivascular endothelial cell implants regulate vascular injury. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92(1995:18) 8130-8134.
- [7] Chronos NAF, Robinson KA, Kelly AB: Thromboresistant phosphorylcholine coating for coronary stents. *Circulation*, 92 (1995) 685.
- [8] Cox D, Anderson P, Roubin G, Chou C, Agrawal A, Cavender J: Effects of local delivery of heparin and methotrexate on neointimal proliferation in stented porcine coronary arteries. *Coron Artery Dis*, 3 (1992) 237-248.
- [9] Serruys PW, Emanuelsson H, van der Giessen W et al: Heparin-coated Palmaz-Schatz stents in human coronary arteries. Early outcome of the Benestent-II Pilot Study. *Circulation*, 93 (1996) 412-422.
- [10] Parker T, Davé V, Falotico R: Polymers for drug eluting stents. *Curr Pharm Des*, 16 (2010:36) 3978-3988.
- [11] Van Der Giessen WJ, Van Beusekom HM: New drug-eluting stents with biodegradable polymers. *Minerva Cardioangiol*, 59 (2011:1) 31-38.
- [12] Bognár E, Ring Gy, Dobránszky J: Koszorúérsztentek anyagvizsgálata. *Anyagvizsgálók Lapja*, 14 (2004:4) 127-132.
- [13] Bognár E, Ring Gy, Marton HZs, Dobránszky J, Ginsztler J: Polyurethane coating on coronary stents. *Key Engineering Materials*, 345-346 (2007) 1269-1272.
- [14] Ozsváth P, Bognár E: Szentbevonatok tapadásának vizsgálata és fejlesztése. *Anyagok világa*, 10 (2010:1) 1-11.
- [15] Bognár E. Koszorúérsztentek passzív és aktív bevonatai és bevonatolási technológiái. PhD. - értekezés BME ATT 2009