

AKTÍV KORONÁRIASZTENTEK BEVONATAINAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA GYÓGYSZERFELVEVŐ ÉS -LEADÓ KÉPESSÉGÜK ALAPJÁN

Szabadits Péter¹, Dobránszky János²

¹ Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem,
Anyagtudomány és Technológia Tanszék

² Magyar Tudományos Akadémia–Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Fémtechnológiai Kutatócsoport

szabadits@freemail.hu

Absztrakt

Az aktív, gyógyszer-hatóanyagot kibocsátó sztentek folyamatosan bővülő családjának fejlődése jellemzi az elmúlt évek orvoslását. Az orvoslás eredményei igazolták az aktív és passzív sztentek használatának létjogosultságát. Egy jelenleg már használt passzív sztentnek, a gyártóval együttműködve, aktív bevonattal való ellátása a kitűzött célunk. A bevonatnak kétféle célja is van, egyrészt a sztent biokompatibilitását fokozza, másrészt mint aktív bevonat, a sztent felhasználásának körét bővíti.

Kísérleteink során a megfelelően előkészített, sztentek felületével megegyező felületű lapkákra felvitt PUR bevonatok (Carbothane[®], Tecothane[®], ChronoFlex[®]) gyógyszermegkötő és időben elhúzódó -leadási képességeit vizsgáltuk.

A PUR bevonatok jól használhatóak a sztentek bevonására, és gyógyszert is képesek tárolni. A PUR bevonatok alaptulajdonságaik szerint – mint hidrofil vagy hidrofób – több vagy kevesebb hatóanyagot tudtak megkötni a felületükön és a mélyebb rétegeikben. A több rétegben felvitt bevonatok nagyobb mennyiségű hatóanyagot tudtak megkötni, mint az egyrétegű bevonatok. A leadási görbék alapján értelmezhető egy, a PUR bevonatok felületről és az anyag belsejéből leadott hatóanyag mennyiség, ez a PUR alaptulajdonságától függően változó az idő függvényében. A legtöbb hatóanyagot a hidrofil tulajdonságú ChronoFlex[®] bevonat tudta felvenni, míg a legkevesebbet a hidrofób Tecothane[®].

A PUR bevonatok megfelelő kiválasztásával a felhasználási területük bővíthető, kombinálásukkal szélesíthető az indikációs területük. Az eredmények alapján a többrétegű bevonatok előnyösebb gyógyszermegkötő képessége látszik az egyrétegűvel szemben, és ezzel bizonyítható a híg oldatok használatának javaslatát a bevonási eljárásban a töménnyel szemben. A kapott eredmények alapján tervezhető a bevonatok gyógyszermegkötő kapacitása, és a bevonatok szendvicsszerkezetű elrendezésével az időbeli leadás szabályozható lehet. A hidrofil PUR bevonatok nagyobb hatóanyag-felvétele az anyag duzzadásával magyarázható, és ez alapján tervezhető a bevonat által bejuttatható hatóanyag mennyisége.

Kulcsszavak: sztent; polimer bevonat; heparin; gyógyszerleadó képesség

Investigation of the polymer coatings of drug eluting coronary stents from the aspect of drug absorbing and eluting

Abstract

Coronary stents are the most important materials in our day's cardiology. The rate of restenosis can be decreased by the usage of drug eluting stents compared to bare metal stents. The aim of this work was to optimize polymer coatings for medical applications and the examination of drug absorbing and releasing properties of these coatings. The examined medical grade polymers were Chronoflex[®], Carbothane[®] and Tecothane[®]. Control groups were bare metal stent models (316 LVM type austenitic stainless steel tube slices). The three medical grade polyurethane granules were applied onto the stent surface. In this paper different techniques were used to cover the samples by polyurethanes then topcoated with heparin. The heparin was injected into the coatings by soaking. The polyurethane coating is an appropriate passive coating. It is expedient to add pharmaceutical agent as a topcoating to prevent the inflammatory reactions and to obtain other pharmaceutical effects. All of the applied polyurethanes were able to bind the heparin, but in different ways depending on their properties. The most bound heparin was found at the three-layer Chronoflex[®] coating, by 48-hour soaking. Tecothane[®] coating bound the least heparin, but this coating had the longest elution time. Based on these results it can be concluded that the applied coatings were swelling and it is possible to set an optimum recovery time and concentration of the solution where the maximum amount of heparin can be dissolved in the coatings.

Keywords: Stent, polymer coating, heparin, drug eluting

Bevezetés

A '90-es évektől folyamatosan elterjedő percutan coronaria intervenció (PCI) fő problémája a relatív gyakori érlumen-visszaszűkülés, a restenosis, amely a coronaria-angioplastica és a sztentimplantáció után kialakuló neointima-hyperplasia és érsimaizomsejt-proliferáció következtében jön létre¹. A sztentek olyan különleges felépítésű szövetbarát fémhálók, amelyeket a különböző okok miatt beszűkült érszakaszba helyezve, az erek falát megtámasztva az érlumen átjárhatóságát biztosítják. A bevonat nélküli sztentek (BMS) bevezetése, az egyszerű ballondilatációhoz képest közel felére, 20–30%-ra csökkentette ennek az ismételt érelzáródások szövődménynek a gyakoriságát². A restenosis számos klinikai formában jelenhet meg, az ezt okozó túlzott sejtproliferáció kivédésére fejlesztették ki a gyógyszerki-bocsátó sztenteket (drug eluting stent – DES)³.

A sztentek anyagukat tekintve készülhetnek rozsdamentes acélból, nitinolból, tantáliból, Co-ötvözetekből, Mg-ötvözetekből, polimerekből, ezek az anyagok mechanikai szempontból megfelelőek. Bizonyos anyagok kiváló mechanikai tulajdonságokat birtokolnak, de a biokompatibilitásuk nem megfelelő, míg más anyagok biokompatibilitása kiváló, de nem alkalmasak sztentek alapanyagának. Ezen ellentmondás feloldására egy alkalmas megoldás a különböző anyagok kombinálása és szendvicsszerkezetű anyagok létrehozása^{4,5}. Ennek a gondolatnak a következő eleme az, amikor a bevonat nem csak passzív módon fedi el az alapanyagot, hanem biológiai szempontból aktív anyagokat juttat a környezetébe, és ezáltal segíti a beültetett sztent beépülését a szervezetbe⁶.

Az Amerikai Egyesült Államokban az FDA (Food and Drug Administration) gyorsított eljárással két ilyen típusú sztentet engedélyezett,

a Cordis sirolimust kibocsátó Cypher sztentjét 2003-ban és a Boston Scientific paclitaxelt leadó Taxus sztentjét 2004-ben⁷. Ezt követően ugrásszerűen megnőtt a költséges gyógyszerkibocsátó sztentek felhasználása, 2004 végére a percutan coronaria intervenciók során 80%-ban ezek kerültek beültetésre az Egyesült Államokban; három év alatt világszerte több millió ilyen típusú sztentet implantáltak⁸. Az utóbbi években számos új hatóanyaggal rendelkező sztent jelent meg, így a zotarolimusz bevonatú Endeavor és az everolimusz bevonatú Xience V és Promus. A Cypher és Taxus sztentek FDA általi engedélyezése randomizált, kontrollált vizsgálatok alapján történt. A relatíve rövid, kilenc hónapos utánkövetés során lényegesen kevesebbszer észleltek restenosiszt, sztent okozta trombózist, valamint az érintett ér működészavarát, és kisebb számban volt szükség revascularisatióra, mint a hagyományos sztentek esetében^{9,10}. Patológiai vizsgálatok azonban kimutatták, hogy a kedvező neointima-proliferációt gátló hatás mellett a gyógyszerkibocsátó sztent felületének endothelisatiója is késedelmet szenved, illetve tökéletlen, amely a sztent thrombogenesisének fokozódásával jár. A sztentek tökéletlen endothelisatiója következtében kialakuló nagyon késői, egy éven túli sztentthrombosis a DES-ekre jellemző^{11,12}.

A DES-ekkel elért jobb eredményeket annak köszönhetik, hogy hatóanyagaik helyileg fejtik ki hatásukat, így agresszív hatóanyagokat is tartalmazhatnak, hiszen a helyi leadás és a kismértékű teljes szervezeti hatás miatt kevesebb a mellékhatásuk, mint per os adagolva az azonos hatóanyagokat⁴.

Jelen fejlesztések során a különböző típusú poliuretán bevonatok összehasonlítása volt a cél többféle szempontból. Előzetes vizsgálatok alapján egyértelműen látható, hogy minél több réteget viszünk fel a felületre, vagy minél tömönyebb poliuretán oldatot alkalmazunk, annál egyenletesebb bevonatot kapunk, de a túl vas-

tag vagy tömény bevonatok már hátrányokat képezhetnek a sztentek bordái között⁶. A bevonatok felületi egyenletessége segíti a sztentek biokompatibilitását, ezért a vastagabb bevonatok elméletileg jobbak. A DES-ek esetében viszont kérdéses, hogy az egyrétegű vagy a több-rétegű bevonat az előnyösebb. Ezt a poliuretán bevonatok hatóanyag-megkötő és -leadó képessége határozza meg.

Módszerek

A vizsgálatokhoz a sztenteknél meghatározott, úgynevezett fémmel fedett felülettel (MSA) megegyező felületű, 316L alapanyagú csőszeleteket használtunk. A csőszeletek előkészítését maratással, majd elektropolírozással végeztük. A minták maratását minden minta esetében kereskedelmi forgalomban kapható maratópáccal és ultrahangos tisztító készülék segítségével végeztük. A maratópác hidrogén-fluorid (HF) és salétromsav (HNO₃) elegye, amelyet 1 : 3 arányban hígítva, 50 ml maratópác és 150 ml desztillált víz keverékékként alkalmaztunk. A maratási folyamat egyenként 5 percig tartott, minden minta esetében. A maratás hatására egyenletes felületi minőség jött létre, megszüntetve a lézeres vágás okozta nagyon kiálló csúcsokat és a jelentősebb felületi érdességbeli különbségeket, valamint az éleket is finomabbá tette.

A maratást követően a mintákat víz és alkohol segítségével megtisztítottuk, majd a száradást követően egyenként elektropolíroztunk (H₂O [desztillált víz] + 88%-os H₃PO₄ [foszforsav] + 96%-os H₂SO₄ [kénsav]).

A három, különböző típusú poliuretán granulátumot (Carbothane[®], Tecothane[®], Chronoflex[®]) tetrahidrofuranban oldottuk fel 24 óra alatt. Az elkészített oldatok mind a három anyag esetében 1 tömegszázalékosak voltak. A rétegeket egyenként vittük fel a lapkákra és

az egyes felvitelek között szárítottuk. A bevonatokat egy vagy három rétegben alkalmaztuk. A bevonatok felvitele után 24 órán keresztül szárítottuk szobahőmérsékleten a mintákat. A heparint a bevonatokba áztatással juttattuk be. A heparinoldatot kétféle koncentrációban használtuk. Ehhez 10 és 3 mg/ml koncentrációjú heparin HEPES oldatát használtuk. A bevonatokat tartalmazó lapkák 24 vagy 48 órán keresztül áztak az oldatban, majd szobahőmérsékleten 24 órán keresztül száradtak.

Az elkészített mintákat bevonatainak és heparin felvitelének adatait az 1. táblázat részletezi.

Minta jelölése	Bevonat		Áztatás	
	típusa	rétegszám	ideje (óra)	heparin/HEPES
Chr1	Chronoflex	1	24	10 mg/ml
Chr3	Chronoflex	3	24	10 mg/ml
Chr48	Chronoflex	3	48	10 mg/ml
Chr0,3	Chronoflex	3	24	3 mg/ml
Tec1	Tecothane	1	24	10 mg/ml
Tec3	Tecothane	3	24	10 mg/ml
Tec48	Tecothane	3	48	10 mg/ml
Tec0,3	Tecothane	3	24	3 mg/ml
Car1	Carbothane	1	24	10 mg/ml
Car3	Carbothane	3	24	10 mg/ml
Car48	Carbothane	3	48	10 mg/ml
Car0,3	Carbothane	3	24	3 mg/ml

1. táblázat. Az elkészített minták jelölése és előkészítési paraméterei

A hatóanyag-leadási meghatározásához SPECORD UV VIS kétsatornás spektrofotométert használtunk 333,3 nm és 186,4 nm hullámhossztartományban ahol az abszorbanciát mértük (1).

$$A = -\lg \frac{I}{I_0} = \lg \frac{I_0}{I} \quad (1)$$

A koncentrációt a Lambert–Beer összefüggés (2) alapján határoztuk meg:

$$\lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot c \cdot d \quad (2)$$

ahol I_0 a megvilágító, I a d vastagságú rétegen áthaladt fény intenzitása, ε az adott anyagra jellemző állandó (extinkció), c a koncentráció.

A mérést 3 ml térfogatú HEPES oldatban végeztük, amely a spektroszkóppal mérhető minimális térfogat. Az oldatok koncentrációját 0', 5', 15' perceknel, valamint 1, 2, 24 óra elteltével határoztuk meg.

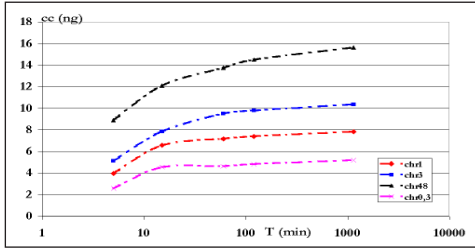
Kontrollcsoportnak a három rétegben felvitt poliuretán bevonatú, de heparint nem tartalmazó HEPES-oldatokban áztatott lapkákat használtunk.

Eredmények

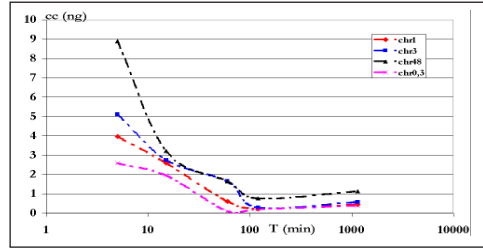
A vizsgálatok során a hidrofil és a hidrofób tulajdonságú bevonatok hatóanyag-megkötő képessége jól elkülönült. A 217 nm elnyelési maximumon mért értékek alapján számított oldatok koncentrációját a különböző típusú bevonatok esetében és az oldatok időegységenkénti koncentrációváltozását az 1–6. ábrák mutatják.

Az 1. ábrán a hidrofil tulajdonságú Chronoflex[®] bevonatok heparinleadása látható, az idő függvényében. A bevonat esetében mindegyik bevonási eljárás esetén megfigyelhető a teljes vizsgálati idő alatt a folyamatos hatóanyag-leadás, a vizsgált HEPES oldat töményedése. A legtöbb heparint a háromrétegű bevonat adta le (15,6 ng), amely 48 órán keresztül volt a heparin 10 mg/ml oldatában. A 2. ábrán az oldatok időegységenkénti koncentrációváltozása látható a Chronoflex[®] bevonatok esetén.

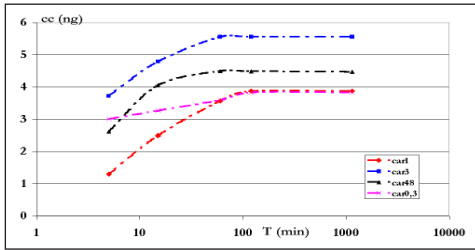
A 3. ábrán a hidrofób tulajdonságú Carbothane[®] bevonatok heparinleadása látható, az



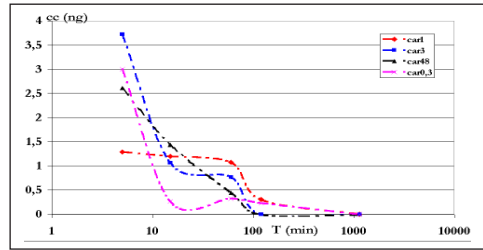
1. ábra. A Chronoflex® bevonatú csőszület heparinleadása az idő függvényében, az oldat összkoncentrációját tekintve



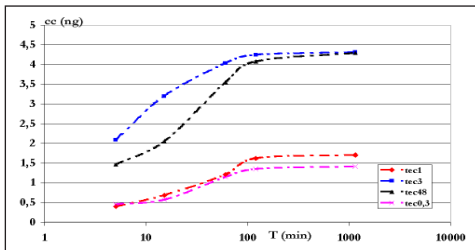
2. ábra. A Chronoflex® bevonat mérési időpontok közötti heparinleadása



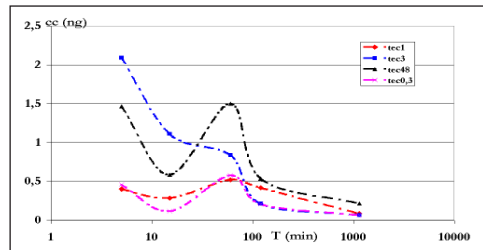
3. ábra. A Carbothane® bevonatú lapka heparinleadása az idő függvényében, az oldat összkoncentrációját tekintve



4. ábra. A Carbothane® bevonat mérési időpontok közötti heparinleadása



5. ábra. A Tecothane® bevonatú lapka heparinleadása az idő függvényében, az oldat összkoncentrációját tekintve



6. ábra. A Tecothane® bevonat mérési időpontok közötti heparinleadása

idő függvényében. A bevonat esetében mind-egyik bevonási eljárás esetén megfigyelhető, hogy a teljes vizsgálati idő alatt nem volt folyamatos a hatóanyag-leadás. A bevonatok 120 perc alatt teljes mértékben leadták a megkötött hatóanyagot. A legtöbb heparint a háromrétegű bevonat adta le (5,5 ng), amely 24 órán keresztül volt a heparin 10 mg/ml oldatában. A 4. ábrán az oldatok időegységenkénti koncentrációváltozása látható a Carbothane® bevonatok esetén.

Az 5. ábrán a hidrofób tulajdonságú Tecothane® bevonatok heparinleadása látható, az idő függvényében. A bevonat esetében mind-egyik bevonási eljárás esetén megfigyelhető a teljes vizsgálati idő alatt a folyamatos hatóanyag-leadás. A legtöbb heparint a háromrétegű bevonat adta le (4,3 ng), amely 48 órán keresztül volt a heparin 10 mg/ml oldatában. A 6. ábrán az oldatok időegységenkénti koncentrációváltozása látható a Tecothane bevonatok esetén.

Megbeszélés

A leadási görbéket elemezve megállapítható, hogy a legtöbb hatóanyagot a hidrofíl Chronoflex® bevonat kötötte meg.

A vizsgálatokkal egyértelmű bizonyítást nyert az a megállapítás, hogy a bevonatok rétegszáma befolyásolja a megkötött hatóanyag mennyiségét. Ennek az oka a bevonatokban keletkező pórusokkal magyarázható, mert a használt híg PUR oldatokkal és a többszöri bevonással az egyes rétegek nagyobb porozitása érhető el, a felület teljes és egyenletes bevonása mellett.

Az eredmények alapján azt is kijelentjük, hogy a töményebb hatóanyagú regeneráló oldatból nagyobb mennyiséget kötöttek meg a háromrétegű bevonatok mind a felületükön, mind a mélyebb rétegekben, a pórusokban. A vizsgálatok során nem érték el az oldatok azt a koncentrációt, amely a thrombocita aggregációt már teljesen gátolja, de a felhasznált hatóanyaggal lényegesen töményebb oldatok is előállíthatóak.

A leadási görbén az oldatok koncentrációváltozása alapján két szakaszt lehet elkülöníteni, egy gyors első fázist és egy lassú másodikat. A gyors fázis a 0'-tól 60'-ig tart, erre a szakaszra

mindhárom bevonat esetében jellemző az oldat gyors koncentrációváltozása, amelyet követ a második szakasz, a lassú koncentrációváltozással jellemezhető 60' utáni elhúzódó leadási görbe. 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.

A Tecothane® bevonat esetében megfigyelt teljes vizsgálati idő alatti hatóanyag-leadás és a 60' után jelentkező másodlagos leadási csúcsok szintén a bevonat porozitásával vannak összefüggésben véleményünk szerint.

Megítélésünk szerint a PUR bevonatok megfelelőek passzív és aktív bevonat kialakítására egyaránt, mert mindegyik alkalmazott PUR bevonat képes volt megkötni a heparint, és a megkötött heparint leadni, valamint a három rétegben alkalmazott bevonatok teljes mértékben befedték a mintadarab felületét. Az elhúzódó leadási görbék alapján arra keletkeztetni, hogy a PUR bevonatok duzzadásra képesek, kifejezetten a hidrofíl bevonatok. Ezen eredmények alapján a többretegű és különböző PUR rétegeket tartalmazó bevonatokkal a felvett hatóanyag mennyisége és időbeli leadása is szabályozható lehet.

IRODALOM

1. *Keltai M.* A gyógyszerkibocsátó coronariastentek alkalmazásának hatásai. Orvosi Hetilap 2007; 148:443–50.
2. *Chen M, John JM, et al.* Bare metal stent restenosis is not a benign clinical entity. Am Heart J 2006; 151:1260–64.
3. *Kotani J, Awata M, Nanto S.* Incomplete neointimal coverage of sirolimus-eluting stents: angioscopic findings. J Am Coll Cardiol 2006;47: 2108–11.
4. *Fülöp G, Berta B, Merkely B.* A gyógyszerkibocsátó stentekkel kapcsolatos legújabb információk. LAM 2008;18(1):39–42.
5. *Maisel WH.* Unanswered questions – Drug-eluting stents and the risk of late thrombosis. N Engl J Med 2007;356:981–4.
6. *Bognár E.* Endoprotézisek passzív és aktív bevonatai és bevonatolási technológiái, 2009. Doktori értekezés.

7. *Wieneke H, Sawitowski T and Wnendt SH et al.* Stent Coating: A New Approach in Interventional Cardiology. s.l.: Herz 2002;Vol. 27:pp. 518–526.
8. *Rzany A and Schaldach M.* Smart Material Silicon Carbide: Reduced Activation of Cells and Proteins on a-SiC:H-coated Stainless Steel. s.l.: Progress in Biomedical Research 2001;Vol. 6: pp. 182–192.
9. *Serruys PW and Gershlick AH.* Handbook of Drug-Eluting Stents. s.l.: Taylor & Francis Group, 2005.
10. *Winslow RD, Sharma SK and Kim MC.* Restenosis and Drug-Eluting Stents. s.l.: Mt Sinai J Med 2005;Vol. 72: pp. 81–89.
11. *Pan CJ, Tang JJ and Shao ZY et al.* Improved blood compatibility of rapamycin-eluting stent by incorporating curcumin. s.l.: Colloids Surf B Biointerfaces 2007;Vol. 59: pp. 105–111.
12. *Tang J, Wang J and Pan C et al.* Anticoagulation and Drug Release Behavior of Curcumin-Loaded PLGA Films. s.l.: Key Engineering Materials 2007;Vols. 342–343: pp. 481–484.

Szabadíts Péter

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Anyagtudomány és Technológia Tanszék
H-1111 Budapest, Bertalan Lajos utca 7.