

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.00764

新型带瓣膜主动脉瓣球囊扩张支架的研制及测试

陈翔[△], 谭洪文[△], 张志钢[△], 朱玉峰, 赵仙先, 秦永文, 马丽萍*

第二军医大学长海医院心血管内科, 上海 200433

[摘要] **目的** 通过体外测试评价新型带瓣膜主动脉瓣球囊扩张支架及输送装置的各项性能, 为下一步动物体内实验提供依据。 **方法** 支架材料采用钴基合金, 设计成圆柱形网状结构。人工瓣膜取材于经处理的新鲜牛心包, 将人工瓣膜缝合在支架上制成带瓣膜主动脉支架。使用人工心脏瓣膜脉动流测试仪和人工心脏瓣膜加速疲劳测试仪, 分别对带瓣膜支架瓣叶材料脉动流和人工瓣膜耐疲劳情况进行测试。将带瓣膜支架压缩至自行研制的输送装置的球囊上, 取离体羊心脏标本, 经升主动脉将支架直视下置入羊主动脉瓣位置, 扩张球囊释放支架, 注水观察瓣膜功能。 **结果** 人工瓣膜瓣叶脉动流测试结果表明人工瓣膜启闭良好, 无明显反流, 符合生理需求。人工瓣膜耐疲劳测试结果表明瓣膜耐疲劳性能良好。带瓣膜支架经压缩后可通过输送鞘管送入离体羊主动脉瓣, 支架释放后可牢固地置于羊主动脉瓣位置, 人工瓣膜启闭功能良好。 **结论** 带瓣膜支架设计合理, 性能良好, 可用于动物经导管主动脉瓣置入实验。

[关键词] 带瓣膜支架; 球囊扩张支架; 主动脉瓣置入术; 经导管

[中图分类号] R 542.52 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2013)07-0764-05

A novel balloon-expandable valved stents for transcatheter aortic valve implantation: preparation and testing

CHEN Xiang[△], TAN Hong-wen[△], ZHANG Zhi-gang[△], ZHU Yu-feng, ZHAO Xian-xian, QIN Yong-wen, MA Li-ping*

Department of Cardiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To evaluate the functions of a new balloon-expandable valved stent for transcatheter aortic valve implantation and the delivery system, so as to provide evidence for future animal study. **Methods** A new tube-like balloon-expandable valved stent was designed and made of cobalt-base alloys. Bovine pericardium was sutured by hand into the stent to prepare valved aortic stent, which was placed on the instrument to test the pulsating flow and fatigue property of prosthetic valve. The valved stent, which was compressed on a balloon catheter and pulled into a delivery sheath, was placed in the native aortic valve of isolated goat heart via the ascending aorta, and water was injected into the ascending aorta by a silicon tube to evaluate the competence of the prosthetic heart valves. **Results** Pulsating flow examination showed that the artificial valve opened and closed well, without noticeable reflow, and accorded with human physiology. The prosthetic heart valves also performed well in the testing of fatigue property. The valved stent could be stably placed in the native valves of goat heart by delivery sheath, and the prosthetic heart valves showed satisfactory function. **Conclusion** The aortic valved stent is well-designed and has satisfactory function. It can be used for animal study of transcatheter aortic valve implantation.

[Key words] valved stent; balloon-expandable stent; aortic valve implantation; transcatheter

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(7): 764-768]

主动脉瓣退行性狭窄是老年人最常见的心血管病之一^[1]。主动脉瓣置换术是严重主动脉瓣狭窄的有效治疗手段, 但很多严重主动脉瓣狭窄患者因为高龄以及多种合并症等原因无法进行外科手术^[2]。

自从2002年首例经导管主动脉瓣置入术(transcatheter aortic valve implantation, TAVI)取得成功^[3], 近10年来该技术得到迅猛发展, 现已成为手术高危主动脉瓣狭窄患者的可替代治疗方法^[4-5]。

[收稿日期] 2012-12-10 **[接受日期]** 2013-05-24

[基金项目] 上海市科技攻关项目(10441902103)。Supported by Project for Science and Technology Development of Shanghai(10441902103)。

[作者简介] 陈翔, 博士, 主治医师。E-mail: cxflyer@tom.com; 谭洪文, 博士, 主治医师。E-mail: tanhw321@163.com; 张志钢, 博士, 主治医师。E-mail: zhangzgfj@163.com

[△]共同第一作者(Co-first authors)。

* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81870540, E-mail: mlp-125@163.com

我国 TAVI 术尚处于起步阶段^[6],目前使用的仍为国外进口的支架系统。国内多家机构正在进行 TAVI 术相关器械的研制,以自膨胀支架居多^[7-8]。我们通过与北京乐普医疗器械有限公司合作,研制出国产带瓣膜球囊扩张支架及其输送系统。本研究检测了该系统人工瓣膜防钙化性能和耐疲劳性能、带瓣膜支架人工瓣叶脉动流性能等一系列性能,并完成了离体动物心脏经导管主动脉瓣带瓣膜支架的置入实验,为下一步进行动物体内实验提供依据。

1 材料和方法

1.1 带瓣膜支架的研制

支架材料采用钴基合金,经激光雕刻成圆柱形网状结构。根据羊的主动脉瓣区解剖,设计支架高 20 mm,直径有 20 mm、23 mm、26 mm 三种型号。人工瓣膜取材于新鲜的牛心包并进行防钙化处理。牛心包经反复冲洗后分离去除表面脂肪组织,先在 0.01% 胰蛋白酶溶液中震荡脱细胞处理 24 h,然后在 4℃ 的 0.6% 戊二醛溶液中浸泡 36 h,用生理盐水反复冲洗后,在 2% L-谷氨酸溶液中浸泡 24 h 去除戊二醛毒性,最后保存于 60% 的乙醇溶液。将处理好的牛心包裁剪后缝合在支架上,组成三个瓣叶。支架下 1/3 段外周裹以纤维密封套囊以防止瓣周漏,即制成带瓣膜支架(图 1)。带瓣膜支架制备完成后,放置在 60% 乙醇溶液中保存备用。使用前用 75% 乙醇溶液消毒灭菌,再用 0.9% 氯化钠液冲洗后压缩至输送鞘管的球囊上。

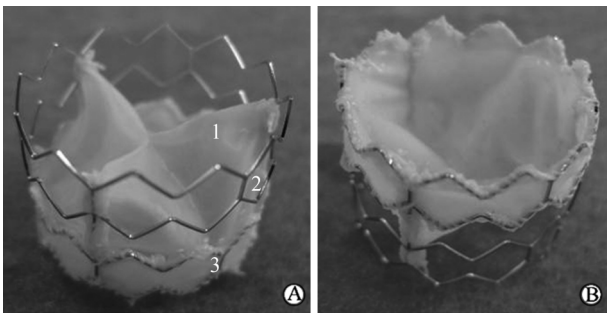


图 1 带瓣膜支架实物图

Fig 1 Prosthetic aortic valved stent

A: Aortic view; B: Left ventricle view. 1: Bovine pericardium; 2: Cobalt-base alloys; 3: Polyester fibre cloth

1.2 支架输送系统的研制

TAVI 术主要有两条置入途径,经外周血管和经心尖途径,针对两种途径分别设计相应的支架输送装置。

1.2.1 经外周血管途径支架输送系统

外周血管

入路的装置由辅助短鞘、扩张鞘、外鞘、支架输送鞘管 4 部分组成(图 2)。外鞘与扩张鞘连接紧密,在加硬导丝引导下可逐步扩开外周皮肤和动脉。辅助短鞘的功能是帮助支架输送鞘管通过外鞘末端的止血阀。支架输送鞘尾端为操控装置,当预载鞘进入主动脉弓时可旋转操控输送鞘的头端弯曲以利于通过弯曲的主动脉弓和保持支架与升主动脉同轴,以减少支架移位的发生。输送鞘管头端为球囊,带瓣膜支架压缩至球囊后可以通过 22F 外鞘输送,支架到位后注射造影剂撑开球囊后可充分打开支架。

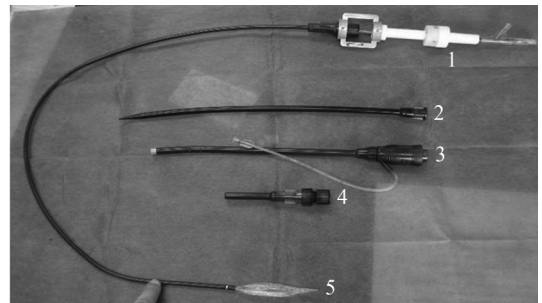


图 2 经外周动脉输送装置

Fig 2 Delivery sheath of trans-peripheral vascular

1: Delivery sheath; 2: Divergent tube; 3: External sheath; 4: Short sheath; 5: Preloading balloon

1.2.2 经心尖途径支架输送系统

经心尖途径输送系统为独创性设计,因为经左室心尖穿刺途径置入主动脉瓣途径距离较短,该输送装置设计较为简易,仅由外鞘和支架输送鞘管两部分组成(图 3A)。外鞘与支架输送鞘一体相连,带瓣膜支架压缩至输送鞘管的球囊后直接后退输送鞘将球囊回收至外鞘中(图 3B),而输送鞘管的头端设有圆锥形平滑过渡,便于输送鞘管从心尖穿刺口置入(图 3C)。

1.3 带瓣膜支架的性能测试

1.3.1 经处理后的人工瓣膜观察

天然牛心包组织中含有大量纤维细胞、浆细胞等细胞成分,残留细胞引起瓣膜钙化衰败是决定瓣膜寿命的主要原因,所以天然牛心包组织的细胞必须彻底去除。将处理后的人工瓣膜与处理前的人工瓣膜分别进行 H-E 染色,以观察人工瓣膜去细胞处理的效果。

1.3.2 人工瓣膜防钙化测试

人工瓣膜衰败的最主要原因是体内环境中的钙化,我们将未经处理的瓣膜与经过防钙化处理后的瓣膜置入动物体内,检验防钙化处理的效果。分别将未经防钙化处理的瓣膜和经防钙化处理的瓣膜置入大鼠皮下,分别于

置入后 30 d 和 60 d 取出两种瓣膜检测。将瓣膜组织样品由皮下取出后用去离子水洗 3 次,去除表面水分。将烘干后的样品于 25 mL 玻璃烧杯中,加入 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4(4:1)$ 混合液 5 mL,盖上表面皿置通风橱内过夜浸泡。次日在电热板上低温消化至样品透明,升高温度,继续消化至样品无碳化,等待酸溶液蒸发完时止。取下加适量 0.1 mol/L HCl,使样品溶解,待样品残液完全溶解后转入 10 mL 容量瓶中定容。使用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-AES)测定钙含量。

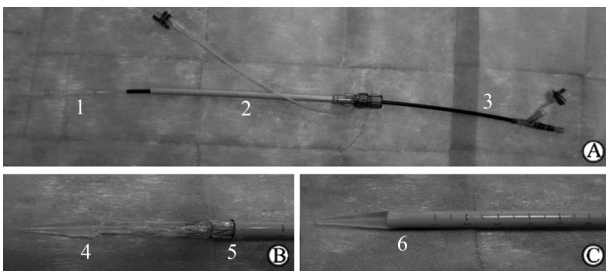


图 3 经心尖输送装置

Fig 3 Trans-apical delivery sheath

A: Delivery sheath; B: The valved stent was compressed into balloon; C: The valved stent was withdrawn into the sheath. 1: Preloading balloon; 2: External sheath; 3: Delivery sheath; 4: Conical head; 5: Valved stent; 6: Seamless transition

1.3.3 瓣叶材料脉动流的测试 使用人工心脏瓣膜脉动流测试仪(清华大学工程力学系生物力学研究室研制),测试条件:模拟心输出量为 2~7 L/min,循环心率为 $(70 \pm 0.5)/\text{min}$,平均主动脉压 $\geq 85 \text{ mmHg}$ ($1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$),搏出前向流阶段应占整个循环时间 $\leq 35\%$ 。脉动流试验在脉动发生器产生近似生理条件下的脉动压力和流量波形情况下进行,室温环境,试验液体使用 0.9%生理盐水,添加适量的苯甲酸钠以防腐。将人工心脏瓣膜进行脉动流试验,获得平均瓣膜跨瓣压差、回流百分比和有效瓣口面积。

1.3.4 人工瓣膜耐疲劳测试 将缝制好的带瓣膜支架置于人工心脏瓣膜加速疲劳测试仪(清华大学生物力学研究所)上做耐疲劳测试。瓣膜测试仪模拟人心脏瓣膜工作原理,利用水流冲击形成瓣膜闭合开启状态。使用液体为 0.9%生理盐水,水温设置为 37℃。将疲劳台的频率调为每分钟启闭 600~800 次,检验人工瓣膜经长时间启闭(约 2 亿次)后

性能是否仍然良好。

1.4 离体羊心脏经导管主动脉瓣置入实验 取 5 个完整新鲜的成年羊心脏标本,保留升主动脉段。测量主动脉瓣环大小,根据瓣环大小选择不同型号的支架,使用支架压缩机将支架压缩至相应大小的输送鞘管的球囊上。在直视下通过升主动脉将支架送至主动脉瓣环处,撑开球囊,扩张支架,使支架紧贴主动脉瓣区,人工瓣膜代替原瓣膜工作。退出输送鞘管,在主动脉离心端和近心端分别结扎连接与其直径相匹配的 PVC 软管,分别在近心端、远心端连接的软管内灌满水,水面达 100 cm 高度时放开冲水,观察人工瓣膜开放及关闭情况,人工瓣膜有无反流,有无瓣周漏,是否影响冠状动脉开口,是否影响左房室瓣。

2 结果

2.1 带瓣膜支架的性能测试

2.1.1 人工瓣膜脱细胞处理结果 天然牛心包组织 H-E 染色图中可见蓝色深染颗粒,即为牛心包的细胞成分(图 4A)。经过处理的牛心包组织切片中没有蓝染的细胞存在,说明瓣膜经组织处理后,细胞完全去除干净(图 4B)。

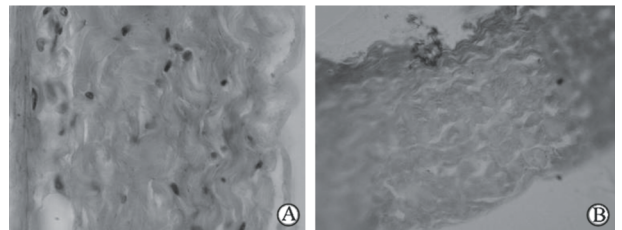


图 4 牛心包组织的 H-E 染色图

Fig 4 H-E staining of bovine pericardium

A: Before treatment; B: After treatment

2.1.2 人工瓣膜防钙化测试结果 将瓣膜置入大鼠皮下 30 d 后,未经防钙化处理的瓣膜和经防钙化处理的瓣膜的钙化程度分别为 $(79.83 \pm 8.39) \mu\text{g}/\text{mg}$ 和 $(0.55 \pm 0.08) \mu\text{g}/\text{mg}$;置入 60 d 后,未经防钙化处理的瓣膜和经防钙化处理的瓣膜的钙化程度分别为 $(87.88 \pm 51.01) \mu\text{g}/\text{mg}$ 和 $(0.62 \pm 0.26) \mu\text{g}/\text{mg}$ 。经处理后的人工瓣膜防钙化能力明显增强。

2.1.3 瓣叶材料脉动流的测试结果 人工瓣膜瓣叶脉动流测试模拟循环心率设为 70/min。测试结

果:心输出量为 (5.11 ± 0.19) L/min,平均主动脉压为 (97.26 ± 5.85) mmHg,跨瓣压差为 (13.28 ± 5.35) mmHg,前向流持续时间与循环周期之比为 $(39.98 \pm 5.51)\%$,回流百分比为 $(6.94 \pm 5.4)\%$,有效瓣口面积为 (1.82 ± 0.87) cm²。结果表明人工瓣膜启闭良好,性能稳定。

2.1.4 人工瓣膜耐疲劳测试结果 在人工心脏瓣膜加速疲劳测试仪中可见瓣膜在疲劳试验循环中能够完全开放与闭合,测试经总共2亿次左右的循环启闭后,人工瓣膜形态完整,无明显损伤、破裂,瓣膜的瓣叶间对合严密,无肉眼可见的缝隙(图5)。

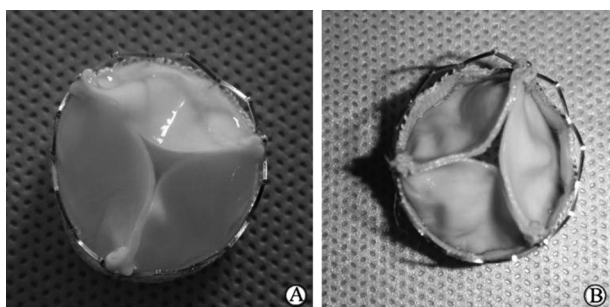


图5 耐疲劳测试前后人工瓣膜观察

Fig 5 Prosthetic valve before and after fatigue test

A: Before fatigue test; B: After fatigue test

2.2 离体心脏主动脉瓣置入结果 在5个离体羊心脏上,经输送鞘管将带瓣膜支架送至羊心脏主动脉瓣处,撑开球囊扩张支架,见带瓣膜支架完全打开,固定牢固,人工瓣膜形态恢复良好(图6)。观察冠状动脉开口及左房室瓣均未受影响。分别在近心端、远心端连接的软管内灌满水,水面达100 cm的高度时放开冲水,远心端灌水时见瓣膜支架在管道内固定好、无滑动、瓣膜关闭好、无反流、无明显瓣周漏。近心端灌水后发现人工瓣膜完全开放,为中心水流。

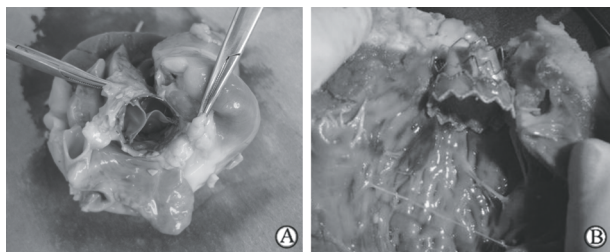


图6 带瓣膜支架置入羊主动脉瓣区

Fig 6 Implantation of the valved stent into goat heart *in vitro*

A: Aortic side; B: Lateral view

3 讨论

国内多家机构正在进行TAVI术相关器械的研制,其中自膨胀支架已完成动物实验^[7-8]。我们研制了主动脉瓣带瓣膜球囊扩张支架及其输送系统,将TAVI器械的国产化又向前推进了一步。主动脉瓣区血流快,压力大,主动脉根部结构复杂,上靠近冠状动脉开口,下靠近左房室瓣和传导束,这对TAVI术的人工带瓣膜支架和输送系统的性能提出了很高的要求。主动脉瓣要在承受约80 mmHg的舒张压下每分钟启闭近100次,其支架和瓣膜使用的耐久性是人们最关心的。本研究采用的支架材料为钴基合金,经激光雕刻成圆柱形网状结构。钴基合金具备生物相容性好、抗腐蚀性强、耐磨损、质轻等特点,是制作支架的理想材料。人工瓣膜取材于牛心包,其身处体内的环境易出现钙化变性而影响其性能,必须经防钙化处理。本研究通过测试评估了我们研制的主动脉瓣带瓣膜球囊扩张支架的性能,结果显示人工瓣膜防钙化性能测试、人工瓣膜耐疲劳性能测试、带瓣膜支架人工瓣叶脉动流性能检测等一系列性能检测均达到了国家标准^[9]。

支架的输送装置是保证TAVI术成功实施的重要环节。整套输送装置应该具备通过顺畅、操作方便、释放准确、使用安全等特性。TAVI术主要有经外周血管和经心尖途径两条置入途径,因此我们研制了两种支架输送装置。经外周血管输送系统材料为聚四氟乙烯,涂有亲水涂层,表面超滑,进入血管后不易对血管造成损伤。支架输送鞘中层有极细的钢丝螺纹层,可防止鞘管在体内通过主动脉弓弯曲时打折。输送鞘管顶端导引头设计为圆锥型,有利于逆行通过主动脉瓣进入左心室。支架输送鞘尾端为操控装置,当预载鞘进入主动脉弓时可旋转操控输送鞘的头端弯曲以利于通过弯曲的主动脉弓和保持支架与升主动脉同轴,以减少支架移位的发生。预载鞘管的头端球囊的折叠方式为五层折叠技术,这样设计的好处在于可以提供更细小的折叠后外径,另外当球囊扩张后抽瘪时球囊可以自动回卷成原来的五层折叠形状,也称为球囊的再回抱能力,这有利于球囊顺利后撤。

经心尖途径支架输送系统为独创性设计,同国外同类的经心尖输送系统不同。其外鞘与支架输送

鞘一体相连,带瓣膜支架压缩至输送鞘管的球囊后直接后退输送鞘将球囊回收至外鞘中,当输送外鞘进入左心室后,固定外鞘并送输送鞘管向前即可将带支架球囊送至主动脉瓣位置,完成主动脉瓣的置入。这样就不需要扩张鞘管,省去了退出扩张鞘管再次送入输送鞘管的步骤,方便了操作、减少了出血并发症的发生。输送鞘管的头端是硅胶材料制成的圆锥形,柔软且具备一定的韧性,可以很顺利地穿过心尖进入左室。头端与外鞘管之间是一个平滑过渡,便于输送鞘管从心尖穿刺口送入。

TAVI系统装置检测和体外心脏支架释放等实验表明我们研制的自制带瓣膜支架性能良好、整套TAVI装置操作方便,在体外可以顺利完成TAVI手术,为下一步进行动物体内实验打下了基础。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] Nkomo V T, Gardin J M, Skelton T N, Gottdiener J S, Scott C G, Enriquez-Sarano M. Burden of valvular heart diseases: a population-based study[J]. *Lancet*, 2006, 368:1005-1011.

[2] Bach D S, Siao D, Girard S E, Duvernoy C, McCallister B D Jr, Gualano S K. Evaluation of patients with severe symptomatic aortic stenosis who do not undergo aortic valve replacement: the potential role of subjectively overestimated operative risk[J]. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2009, 2:533-539.

[3] Cribier A, Eltchaninoff H, Bash A, Borenstein N, Tron C, Bauer F, et al. Percutaneous transcatheter implantation of an aortic valve prosthesis for calcific aortic stenosis: first human case description [J]. *Circulation*,

2002, 106:3006-3008.

[4] Holmes D R Jr, Mack M J, Kaul S, Agnihotri A, Alexander K P, Bailey S R, et al. 2012 ACCF/AATS/SCAI/STS expert consensus document on transcatheter aortic valve replacement: developed in collaboration with the American Heart Association, American Society of Echocardiography, European Association for Cardio-Thoracic Surgery, Heart Failure Society of America, Mended Hearts, Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society of Cardiovascular Computed Tomography, and Society for Cardiovascular Magnetic Resonance[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2012, 144: e29-e84.

[5] Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology (ESC), European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS); Vahanian A, Alfieri O, Andreotti F, Antunes M J, Barón-Esquivias G, Baumgartner H, et al. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012)[J]. *Eur Heart J*, 2012, 33:2451-2496.

[6] 葛均波,周达新,潘文志,王 箴,葛 雷,潘翠珍,等. 经皮主动脉瓣植入术一例及其操作要点[J]. *中国介入心脏病学杂志*, 2010, 5:243-246.

[7] 王建铭,杨 剑,杨丽芳,张学昕,胡 运,刘金城,等. 应用新型介入瓣膜行经导管主动脉瓣置入术的实验研究[J]. *中华心血管病杂志*, 2011, 39:1005-1010.

[8] 姜海滨,黄新苗,白 元,陈 翔,宗书峰,吴 弘,等. 经导管镍钛合金自膨式主动脉人工瓣膜支架植入的实验研究[J]. *介入放射学杂志*, 2011, 20:631-636.

[9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 心血管植入物人工心脏瓣膜[S]. GB 12279-2008/ISO 5840:1996.

[本文编辑] 孙 岩