## Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

Міністерство Охорони здоров'я України

Національна медична академія післядипломної освіти

імені П.Л.Шупика

## Лазаренко Олег Миколайович

# УДК: 616.13+616.14]- 083.843

**РОЗРОБКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ НОВИХ ТРОМБОРЕЗИСТЕНТНИХ ТА АНТИПРОЛІФЕРАТИВНИХ ПОКРИТТІВ СТЕНТІВ**

#### **ДЛЯ ІМПЛАНТАЦІЇ У СУДИНИ МАЛОГО ДІАМЕТРА**

(експериментальне дослідження)

**14.01.03 - хірургія**

**АВТОРЕФЕРАТ**

#### дисертації на здобуття наукового ступеня

доктора медичних наук

Київ - 2008

# Дисертація є рукописом.

# Робота виконана в Національній медичній академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, Національному інституті хірургії та трансплантології імені О. О. Шалимова АМН України, Національному науковому центрі “Інститут кардіології імені М. Д. Стражеско” АМН України, Інституті металофізики імені В. Г. Курдюмова НАН України, Інституті хімії високомолекулярних сполук НАН України, Інституті фізики напівпровідників імені В. Е. Лашкарьова НАН України, Інституті електрозварювання імені Е. О. Патона НАН України, Фізичному факультеті Національного Університету імені Т. Г. Шевченко, School of Pharmacy and Biomolecular Sciences, University of Brighton (Англія).

# Наукові консультанти:

Член-кореспондент НАН і АМН України, доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України, **Бобров Володимир Олексійович,** завідувач кафедрою кардіології та функціональної діагностики Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України.

##### Доктор медичних наук, професор Сморжевський Валентин Йосипович, кафедра хірургії та трансплантології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, Лауреат Державної премії України.

##### Офіційні опоненти:

##### Доктор медичних наук, професор Мішалов Володимир Григорович, завідувач кафедрою госпітальної хірургії з курсом торокальної та судинної хірургії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, Лауреат Державної премії України.

Доктор медичних наук, професор **Руденко Анатолій Вікторович**, завідувач відділенням хірургії ішемічної хвороби серця Національного інституту серцево-судинної хірургії імені М. М. Амосова, АМН України, Лауреат Державної премії України.

Доктор медичних наук, професор **Лісайчук Юрій Сергійович**, кафедра хірургічних хвороб Медичного інституту Української асоціації народної медицини МОН України, Лауреат Державної премії України.

Захист дисертації відбудеться 26 травня 2008 року о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.613.08 при Національній медичній академії післядипломної освіти імені П.Л.Шупика МОЗ України (04112, м. Київ, вул. Дорогожицькая 9).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л.Шупика МОЗ України (м. Київ, вул. Дорогожицькая 9).

Автореферат розісланий 26 квітня 2008 р.

Вчений секретар

спеціалізированої вченої ради Д 26.613.08

кандидат медичних наук, доцент Гвоздяк М. М.

# ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

# *Актуальність теми.* За даними ВООЗ у світі в 2003 році було проведено близько 3 мільйонів імплантацій стентів пацієнтам з різною патологією серцево-судинної системи. Тільки в США було встановлено близько 1,5 мільйона коронарних стентів з нержавіючої сталі марки 316 L.

# Імплантація стентів у судини малого діаметра (СМД) вимагає повторних втручань у 40-60% хворих [Mintz G.S., et al. 1998, Соколов Ю. Н., та співавт. 2002]. Покриття, які наносяться фірмами виробниками стентів, для зниження реакції організму на сторонній матеріал, дуже різноманітні: Jomed – імпрегнація гепарину, BioDiamond – діамантоподібний вуглець (DLC), Sorin Biomedica – вуглецева плівка, InFlow Dynamics, Medinol – золото, Biocompatible– фосфохолін, Biotronik – карбід кремнію.

# Використання покриттів у клініці не зменшило розвиток рестенозів у просвіті стенту (РуС), які спостерігаються у 15 - 35% хворих, тобто в більше як у одного мільйона пацієнтів за рік [Giri S., et al. 2001]. Найбільш ефективними покриттями для стентів, виявилися покриття з використанням цитостатиків на поверхні імплантів - драг-елютинг стенти (ДЕС). Нове покоління покриттів - це полімери з вбудовними у них цитостатичними агентами природного походження, які здатні блокувати проліферацію гладком’язевих клітин (ГМК) медії судини на стадії G0 та таким чином, знижувати розвиток рестенозу в стенті до 2 - 10% [Hehrlein C., Arab A., Bode C. 2002]. На початок 2006 року біля вже 11 компаній пропонували свої розробки покриттів ДЕС. На Об'єднаному Всесвітньому та Європейському з'їзді Кардіологів 2006 року у мета аналізах з методики лікування ішемічної хвороби серця (ІХС) за допомогою імплантації ДЕС, доповідалося про розвиток відстрочених тромбозів у просвіті імплантованих стентів. Частота смертельних випадків через вірогідний або задокументований тромбоз у стенті складала 20 - 45% [Otsuka Y., et al. 2007, Virmani R., et al. 2004, McFadden E.P., et al. 2004, Farb A., et al. 2003]. У пацієнтів були зафіксовані відстрочені тромбози просвіту коронарних стентів з фатальними наслідками [McFadden E.P., et al. 2004, Eisenberg M.J. 2004]. Причиною цього є дуже повільне вкривання ендотелієм поверхні стенту, міграція стента в просвіті артерії або деградація артеріальної стінки з утворенням аневризм у місці знаходження стенту [Nilsen D.W., et al. 2006, Ripen K. Gupta., et al. 2006]. Останні дослідження засвідчили, що у периферічному руслі судини після імплантації ДЕС відзначається прогресування розвитку атеросклеротичних бляшок, яке пояснюють персистуючим запаленням, яке викликають полімерні покриттям ДЕС [Kotani J., Tsimikas S. 2006, Sabate M. 2006]. До кінця 2006 року, за даними ВОЗ у світі було вже встановлено понад 4 мільйона ДЕС хворим з ІХС.

Зазначимо, що насьогодні внутрісудинні стенти не задовольняють вимогам адаптації до судинної стінки, а їхня поверхня має низьку тромборезистентність [Barragan P. 2006, Colombo A., et al. 2003]. Цей факт змушує лікарів призначати на тривалий строк після проведення імплантації стентів антитромбоцитарні та дезагрегуючі препарати, що може призводитиь до розвитку толерантності пацієнта до цих препаратів, а їхнє скасування або погрішність у прийомі - до розвитку тромбозу в просвіті стенту з фатальними результатами [Urban P., et al. 2007, Daemen J., et al. 2007, Schofer J., et al. 2003].

Актуальність теми випливає з вищевикладених фактів. Проблема полягає у тому, що дотепер не знайдені оптимальні покриття для стентів у судини малого діаметру, які б не викликали відповідної реакції на імплант і запалення в стінці судини. Розглядати взаємодію між тканинами організму та поверхнею стенту необхідно на рівні молекул, а саме на нанорівні, що може дозволити знайти пояснення біосумісності імплантів до певного організму. Подібні дослідження необхідно проводити в співдружності із представниками інших спеціальностей, що дозволить побачити проблему з різних ракурсів при мультидисциплінарному підході. Все це й визначило напрямок, предмет та методи, що використовувались у данній роботі для вирішення зазначеної проблеми.

## Зв'язок з науковими програмами й темами.

Автор був керівником Європейських проектів з боку України у програмах:

1. “Development and assessment of novel biocompatible stents for angioplastic surgery” INTAS-Ukraine 95-0038 (1997-2000);
2. “Advanced biocompatible endovascular stents'” GR/R1584/01 UK (2001-2004);
3. “Polymer-coated stent for cardiovascular surgery” INTAS 03-56-173 (2003-2004).

Відповідальним виконавцем біологічного напрямку тематик НАН України:

1. “Розробити нові сплави та вивчити фізико-механічні та корозійні характеристики біосумісних матеріалів для виготовлення стентів та кава-фільтрів нового покоління” 144 002/2001 (2001-2006);
2. “Фторовмісні поліуретани як тромборезистентні плівкотворні матеріали для коронарних стентів” 0104U003911(2003-2006);
3. “Досліджувати фізико-металургійні процеси формування нанокристалічної структури покриттів, розробити способи одержання та склад покриттів з нанокристалічною фазою” 1.6.1.73.10 (2003-2006).

Насьогодні автор є експертом у складі Української команди, на базі Інституту електрозварювання імені Е. О. Патона НАН України, з розробки покриттів для імплантів у 6ій Європейській Рамковій Програмі “Integrating and strengthening the European Research Area” INCOMAT. “Creating international cooperation teams of excellence in the field of emerging biomaterial surface research” NMP3-CT-2007-032918 за контрактом FP6-032918 на період 2007-2009 роки.

Проведені міждисциплінарні дослідження та застосування ціх результатів на Україні, а також рівень розробок, відповідає розпорядженню Кабінету Міністрів України від 21 березня 2007 року № 102-р “Про схалення Концепції Державної програми розвитку виробництва медичної техніки на 2008-2012 роки”.

## Мета дослідження й завдання дослідження.

Розробити нові покриття для стентів з підвищеними тромборезистентними та антипроліферативними властивостями поверхні, які здатні попередити розвиток рестенозов у судинах малого діаметра, обґрунтувати застосування цих імплантатів у клініці для поліпшення якості лікування хворих.

## Завдання дослідження.

1. Визначити причини розвитку рестеноза в стенті після імплантації в судини малого діаметру.
2. Розробити технічні умови нанесення нових неорганічних, синтетичних та аутопокриттів на стенти.
3. Вивчити особливості поведінки поверхні стентів, із традиційними та новими покриттями, при їх функціонуванні в просвіті судин експериментальних тварин.
4. Порівняти вплив традиційних та нових покриттів стентів на зміни у складі крові експериментальних тварин і людини *in vitro.*
5. Дослідити вплив відомих (традиційних) та нових покриттів стентів на схильність їх до тромбоутворення й розвитку рестенозу у стенті.
6. Провести оцінку впливу стентів із традиційними та новими покриттями на морфологічні зміни стінки судин експериментальних тварин.
7. Обґрунтувати застосування в клініці стентів з новими покриттями для поліпшення якості лікування хворих.

*Об'єкт дослідження.*

* Експериментальні тварини (пацюки й кролі) при імплантації їм пластин та стентів із традиційними й новими покриттями.
* Динаміка змін поверхні імплантованих стентів та пластин із традиційними й новими покриттями під час знаходження у організмі експериментальних тварин.

*Предмет дослідження.*

* Зміна рівня холестерину, С-реактивного білку (CRP) та факторів згортання крові у експериментальних тварин на різних етапах дослідження.
* Морфологічна реакція стінки судини й оточуючих тканин експериментальних тварин (пацюків і кролів) у місці імплантації пластин та стентів.
* Поверхня пластин і стентів до та після імплантації у організм експериментальних тварин.

*Експериментальні дані отримані у результаті:*

* Імплантації внутрісудинних стентів різних конструкцій із традиційними покриттями та новими неорганічними, синтетичними й аутопокриттями **142** кролям.
* Імплантації металевих пластин із традиційними та новими неорганічними, синтетичними й аутопокриттями **74** пацюкам.
* Системного аналізу показників крові експериментальних тварин на різних етапах дослідження та динаміки їх змін.
* Морфологічного аналізу **1354** гістологічних препаратів, отриманих після видалення імплантів (пластин та стентів) з організму експериментальних тварин;
* Фізико-хімічного вивчення змін стану **23** неорганічних та **8** синтетичних покриттів.

## Методи дослідження.

*Визначення реакції організму й тканин після контакту з імплантами:*

1. Біохімічні показники крові (рівень холестерину та С-реактивного білку сироватки крові) експериментальних тварин;
2. Показники факторів згортання крові (плазменийй лізис, протромбіновий індекс, фібриноген, кількість тромбоцитів, зміна функціональної активності тромбоцитів) експериментальних тварин та людин;
3. Турбодиметричний метод визначення С-реактивного білку;
4. Імуноферментний метод визначення С-реактивного білка в сироватці крові експериментальних тварин;
5. Гістологічний та гістохімічний аналіз препаратів тканин експериментальних тварин із проведенням морфометрії.

*Фізико-хімічні методи:*

1. Еліпсометрія (ЕМ);
2. Скануюча електронна мікроскопія (СЕМ);
3. Атомно-силова мікроскопія (АСМ).

***Наукова новизна отриманих результатів.*** Вперше на Україні розроблені неорганічні та синтетичні покриття для внутрісудинних стентів, які викликають мінімальну реакцію судинної стінки.

Вперше розроблені біологічні покриття для імплантів, а саме, стентів для судин малого діаметра, які дозволяють виключити реакцію судинної стінки на покриття.

Вперше розроблена інструментальна система із застосуванням фізичних методів вимірів, на основі нанотехнологій, з визначення сумісності певного виду покриття до певного реципієнта.

Розроблено корисні моделі з модифікування поверхні імпланту для надання їм біосумісності з організмом певного реципієнта.

***Практичне значення отриманих результатів.*** Вперше розроблена система тестування фізичними методами на нанорівні покриттів стентів і визначення на них реакції певного реципієнта, з визначенням оптимального покриття для цього реципієнта.

Уперше розроблений спосіб модифікації поверхні стентів для певного реципієнта, що дозволяє виключити, або мінімізувати відповідь тканин судинної стінки на нього.

Знайдено й вивчені дві причини розвитку рестенозу у стенті.

Запропоновано сучасний алгоритм розвитку рестенозу в стенті в залежності від морфології атеросклеротичної бляшки.

Обґрунтовано застосування в клініці стентів з новими неорганічними, синтетичними та аутопокриттями для поліпшення якості лікування хворих та розроблено алгоритм їх застосування в клініці з огляду на стан реципієнта.

***Особистий внесок здобувача.*** Основні дані, що викладені в дисертації, отримані автором особисто, а також у співдружності з фахівцями: архітекторами, фізиками, металофізиками, хіміками синтетиками, фармакологами й морфологами.

Здобувач уперше:

* Висунув гіпотезу однієї з головних причин виникнення рестенозу в стенті при імплантації його у судини малого діаметру, обґрунтував і довів шляхи його розвитку.
* Розробив біологічне покриття стентів для імплантації в судини малого діаметру, що дозволяє виключити реакцію судинної стінки на покриття.
* Розробив спосіб модифікації поверхні стентів з огляду на стан певного реципієнта, що дозволяє виключити, або мінімізувати відповідь тканин на імплант.
* Розробив та застосував систему інструментального тестування покриттів стенту на нанорівні з визначенням реакції певного реципієнта на них.

Здобувач самостійно розробив план досліджень, особисто провів практично усі операції, вивчив і обробив отримані результати за допомогою методів параметричної статистики та аналізу розподілу за Максвелом. Вивчив сучасні інструментальні методи фізико-хімічних досліджень, які й були застосовані при виконанні дисертаційної роботи.

Розробив у співдружності з хіміками синтетиками полімерні покриття для внутрісудинних конструкцій. Розробив разом з архітекторами сучасні принципи комп'ютерного моделювання архітектоніки стентів для судин малого діаметру. Ідеї, гіпотези й розробки співавторів публікацій у роботі не використовувалися. Матеріали кандидатської дисертації здобувача в роботі не використовувалися.

***Апробація результатів дослідження.*** Основні положення та матеріали за темою дисертації викладені на: IV Наукової конференції асоціації серцево-судинних хірургів України (Київ, 1996); I - IX Франкомовних конгресах інтервенційних кардіологів (Франція, Париж, 1997, 1999, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007), на V Конгресі доповідь автора була визнана кращою; XII Всесвітньому конгресі Міжнародного суспільства з штучних органів (Великобританія, Лондон, 1999); I Європейському симпозіумі з судинної біології й медицині (Німеччина, Нюренберг, 1999); Міжнародних симпозіумах “Ендоваскулярна біомеханіка й рестенози” (Франція, Марсель, 2000, 2002, 2006); XI Української конференції з високомолекулярних сполук (Київ, 2000); Заключному засідані Європейської тематичної групи “Матеріали в медицині (Mat*Med*)” (Греція, Родос, 2001); I Російському з'їзді інтервенційних кардіологів (Москва, 2002); З'їзді “Проблеми оптики й науки високотехнологічних матеріалів” (Україна, Київ, 2002); Х Міжнароднії конференції “Геометрія й графіка” (Україна, Київ, 2002); Домбровських хімічних читаннях (Україна, Черкаси, 2003); Конференції “Природні науки на границі сторіч” (Україна, Ніжин, 2004); VII Міжнародному симпозіумі “Біоматеріали й біомеханіка, фундаментальні та клінічні дослідження” (Німеччина, Ессен, 2004); V та VII Національному конгресі кардіологів України (Київ 1997, Дніпропетровськ 2004); Конгресі “Артерії 5” (Франція, Париж, 2005); Конференції з міжнародною участю “Актуальні питання абдомінальної й судинної хірургії. Клінічні проблеми трансплантації органів” (Україна, Київ, 2006).

***Публікації по темі дисертації.*** Матеріали дисертації опубліковані в 63 наукових працях, серед яких 1 монографія, 1 учбово-методичний посібник, 24 статті (5 самостійних), у тому числі 21 у періодичних виданнях, рекомендованих ВАК, 1 збірнику наукових праць, 2 статтях у спеціалізованих журналах, 31 матеріалі міжнародних симпозіумів, з'їздів і спеціалізованих конференцій, 1 методичних рекомендаціях. Новітні розробки захищені 5 патентами України.

***Обсяг і структура дисертації.*** Дисертація викладена на 315 сторінках друкованного тексту, складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 7 розділів власних досліджень, заключення й висновків. Текст ілюстрований 142 малюнками, 28 таблицями й 3 діаграмами. Список використаної літератури містить 559 джерел, 54 з яких кирилицею.

Автор висловлює глибоку й щиру вдячність усім співробітникам всіх організацій, що допомогали йому виконати цю працю й без допомоги яких провести заплановані роботи було просто б не можливо.

### ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали й методи дослідження.** В основу роботи покладеноі результати міждисциплінарних досліджень.

*Розробка технології нанесення неорганічних та синтетичних покриттів на поверхню неіржавіючої сталі (SS).* В якості основи для нанесення покриттів була обрана SS марки 316L. Технологічні зразки SS завтовшки 6 мм та діаметром 13 мм, перед плазменним напиленням підгодовувались шляхом піскоструйної обробки електрокорундовим піском фракції 0,3-0,6 мм, що подавався під тиском повітря Рвиб = 3-5 атм. Плазмове напилення оксидних покриттів проводилось в Інституті металофізики імені В.Г.Курдюмова НАНУ, Київ. Напилення керамічних покриттів з нітридів та оксидів Ti, Zr (Ti/TiN/Ti; TiC/Ti; ZrO/Ti) відбувалося на апараті УПУ-ЗД (СРСР) та виконувалось при наступних режимах: Icв= 250-300 A, Uд= 45-50 B, QAr = 40 л/хв, Q N2 = 6 л/хв, V = 30 об/хв, що був заповнений відповідним газам при електричному розряді 2000 вольт. Грануляція напилених порошків - 40-80 мкм. Підшар – термореагируючий порошок ПТНА-01 фракції 50-63 мкм. Вуглецева плівка у вигляді аморфного вуглецю та діамантоподібного вуглецю (DLC), наносилась по за тією ж методою - при електричному розряді у 2000 – 2500 вольт.

Товщину 22 покриттів визначали за шліфами відповідно до вимірювальної шкали металографічного мікроскопу Versamet (США). Визначення конденсатів на наявність крапельної проводили на косих шліфах (300) на металографічному мікроскопі при 400 кратному збільшенні, а їх захисні властивості - методом анодно-поляризаційного ініціювання дефектів. Метод полягає у збудженні у покриттях механічної напруги за рахунок електрострикційних сил. Завдяки ефекту електрострикції, накладання на покриття електричного поля приводить до виникнення у ньому поля механічної напруги, що супроводжується його катастрофічним руйнуванням. Для створення у покриттях електричного поля високої напруги його піддавати анодній поляризації в середовищі 10 % розчину CaCl2. Найвища якість покриття відповідала випадку коли случаю, коли у всьому інтервалі поляризації струм був рівний нулю (К =1), а при найгіршій якості покриття (К=0) струм поляризації відповідав струму поляризації підкладки без покриття. Рентгенструктурний аналіз покриттів проводили на дифрактометрі ДРОН-3М (СРСР) в монохроматизованному мідному випромінюванні, а аналіз хімічного складу межі розділу покриття/підкладка - методом електронної ОЖЕ-спектроскопії на спектрометрі JAMP-10S (США).

В Інституті хімії високомолекулярних сполук НАНУ, Київ, зразки 8 синтетичних покриттів розчиняли в діметилформаміді і наносили на диски SS марки 316L. Для видалення залишкового розчинника зразки висушували у вакуумі (1-2 гПа) протягом доби. Вказані зразки синтетичних покриттів захищені Патентами України 6С08G18/00, A61L33/00 від 15.02.2001р. та 76351, 7А61L33/00 від 17.07.2006р.

На СЕМ Dimension 3000 NanoScope III (США) у School of Pharmacology and Bimolecular Sciences, University of Brighton (Великобританія), була проведена зйомка поверхонь із збільшенням у 1.000 - 2.000 разів після нанесення відповідних неорганічних покриттів: TiO…/SS, TiC…/SS, ZrO…/SS, DLC та вісьми синтетичних покриттів.

*Визначення тромборезистентності досліджуваних покриттів in vitro.* Проводилось на дисках з 22 неорганічними та 8 синтетичними покриттями, які оброблялися у суміші Никіфорова. Зразки занурювалися в рідину на 5 хв. Потім висушували на чистому фільтрувальному папері і розташовували в біологічному розчини. В якості біологічних розчинів використовували модельний розчин бичачого фібриногену, з концентрацією 300 мг/л, який був люб’язно надан відділом Структури білку Інституту біохімії НАНУ імені О.А. Палладіна та суцільну кров волонтерів. Забір цілісної крові проводився у 8 волонтерів, чоловіків у віці 41-52 років, які впродовж останніх трьох років отримували терапію препаратами антагоністів Са 2+ та інгібіторів АПФ для лікування основного захворювання. Забір крові волонтерів проводили з *v. basilica* в пластмасову пробірку, що містіла 3,8 % розчину цитрату натрію в співвідношенні 9:1. Кров відразу перемішували, не струшуючи пробірку. При центрифугуванні (7 хвилин при 1000 об/хв.) отримували збагачену тромбоцитами плазму, плазму центрифугували (15 хвилин при 3000 об/хв.). Дослідження проводилися за допомогою коагулометра KG-4 фірми TECO (Німеччина) з відповідними наборами для визначення фібриногену FIB Kit фірми TECO (Німеччина). Зниження концентрації фібриногену вимірювали у разі модельного розчину після 4 годин експозиції з відповідним покриттям при температурі 37°С. Визначення кінетики тромбоутворення донорської крові після контакту з покриттям проводилося за методиками [Cohn E.J., Gurd F.R.N., Surgenor D.M. 1950, Soffer A., Toribara T. 1995]. Зразки покриттів витримували 2 години при 370С. Функціональний стан тромбоцитів оцінювали на агрегометрі Chrono-Log (США).

*Дослідження висадження білків з розчинів на поверхню SS.* Дослідження проводили на Фізичному факультеті, Національного Університету імені Т.Г.Шевченко, Київ. Досліджували зразки аустенітної SS 04Х16Н15М3Б, яка містить 16% Cr, 15% Ni, 3% Мо і менше 1 % Nb (вказані вагові відсотки) і практично ідентична, сталі 316L. Перед осадженням білків зразки сталі шліфували та полірували діамантовими пастами. Фінішне полірування здійснювали діамантовою пастою з найменшим розміром зерен 0,1 мкм. Після механічної обробки зразки промивали 60 хвилин етіловим спиртом та 120 хвилин дистильованою водою. Для досліджень використовували розчин альбуміну сироватки крові людини (ЧСА) та розчини стандартних білків, які входять у пул основних білків крові в пропорціях, в яких вони зустрічаються у організмі людини. Вимірювання виконували на спектрометрі SPEKORD (США), в якому використовується двупроменева система. Досліди з осадження альбуміну виконували при температурі 200С, рН розчину складав 7,4. У разі дослідів *еx situ* зразки SS, інкубували впродовж 45 хвилин та 3 годин в розчині альбуміну. Після цього зразки виймали і просушували на повітрі 60 хвилин, після чого виконували методом еліпсометрії (ЕМ), дослідження при декількох кутах падіння світла. При виконанні експериментів *in situ* визначали тимчасові залежності еліпсометричних параметрів при одному куті падіння і при одній довжині світлової хвилі. Для інтерпретації даних еліпсометрії *еx situ* визначили показник заломлення розчину альбуміну на рефрактометрі Аббе. Було отримано, що при довжині хвилі =632.8 нм n=1.336 (0.001). Тривалість *in situ* досліду складала 360 хвилин.

*Виготовлення стентів для імплантації у судини малого діаметру.* У Інституті металофізики, з прута SS 316L, методом холодного волочіння через діамантові філь’єри з послідовним зменшенням діаметру, був отриманий дріт з пружно-динамічними властивостями, діаметром 0, 2-0,18 мм. Потім з дроту були виготовлені Z-образні стенти, здатні саморозширюватись, завдовжки 10 мм і діаметром 8 мм в розкритому стані. Кінці стентів закріплювалися в муфті, з сталі тієї ж марки. Стенти (Малюнок 1) в зібраному вигляді піддавалися електрополіровці. Потім проводилося їх очищення від механічних забруднень шляхом обробки на протязі 10 хвилин у дистильованій воді, при 44 кГц в ультразвуковій мийці “Піранія” (МЦ “Ендомед” м. Київ, Україна). Стенти пройшли випробування і наказом Міністерства охорони здоров'я України від 04.05.1999 року № 110 внесені до Державного реєстру виробів медичного призначення, які дозволені в медичній практиці в Україні під № 767/99. (Реєстраційне посвідчення Серія МЗ №767/99 №000762 вихідний №542-В від 04.05.99).

Мал. 1. Z-стент для імплантації у судини малого діаметру.

Надалі, у в Інституті металофізики імені В.Г.Курдюмова НАНУ, Інституті електрозварювання імені Е.О. Патона НАНУ та Tiers Coating LTD (Великобританія), на ці конструкції були нанесені аморфний вуглець, DLC, керамічні покриття на основі Ti і Zr.

***Фізико-хімічні методи***

*Методи нанесення неорганічних та полімерних покриттів на імпланти.* У Інституті електрозварювання проводили дослідження процесу осадження найбільш прогресивних покриттів з Zr-Ti-Ni і Zr-Co на дріт SS марки 316L за допомогою планарної магнетронної розпилювальної системи (МРС). Одним із завдань даної роботи було дослідження процесу магнетронного нанесення покриттів на поверхню тонкого дроту. Оскільки вона надалі може бути використана для виготовлення різних моделей стентів для судин малого діаметру. Для проведення таких експериментів було розроблено пристрій для установки дротяних зразків в камері МРС. В попредніх експериментах покриття Zr–Ti–Ni осідало на нерухомі відрізки дроту SS 316L діаметром 0,3 і 0,15 мм, які закріплювалися в рамці, встановленій на відстані 65 мм від поверхні мішені. Було виявлено, що обчислена товщина покриття на дроті d=0,15 мм більша ***δ*** покриття d=0,3 мм на 16-20 %. Збільшення діаметру від 0,15 до 0,3 мм веде до зниження змісту Ni (з 19,7 до 17,5 ат. %) при зростанні кількості Ti (з 41,6 до 43,1 ат.%) і Zr (з 38,7 до 39,4 ат.%).

В Інституті хімії високомолекулярних сполук плівки з ізомерними фторвмісними подовжувачами полімерного ланцюга (ФПУМ) отримували і наносили, на стенти з SS 316L поливом з 20 % розчину полімерів в діметілформаміде, а для дослідження різних властивостей на тефлонові підкладки. Сушили при температурі 50°С. Залишки діметилформаміду відганяли у вакуумі до постійної маси зразків. Міцності характеристики визначалися швидкістю деформації (510-2 с-1) при температурі 18-20°С на установці РМ-30 (СРСР) у режимі розтягування, при постійному поверхневому напруженні (γтг) плівок ФПУМ. Оцінку характеристик проводили за краєвими кутами змочування. В якості стандартної рідини була використана бідистільована вода. Ступінь набухання полімерних плівок визначали при 36оС протягом 24 годин у дистильованій воді, як відношення збільшення ваги плівок до її початкової ваги.

*Еліпосметричні методи дослідження поверхні металів.* Дослідження проводили на Фізичному факультеті, Національного Університету імені Т.Г.Шевченко Київ. Вимірювання кутових залежностей еліпсометричних параметрів здійснювалися за нульовою методикою за допомогою еліпсометра ЛЕФ-ЗМ-1 (Санкт Петербург, Росія) з робочою довжиною хвилі **=632.8** нм та в діапазоні кутів падіння світла **=65-800**, оскільки головний кут **/2)** для більшості досліджуваних металевих систем знаходиться в ціх межах. Для сформульованих завдань дослідження достатньо було вимірювань в двох зонах, які відповідають положенню компенсатора C=C0+ 450 ЕМ параметри **Δ** та **Ψ** визначатимуться наступними співвідношеннями: **Δ = - (P1+P2-2P0)** та **Ψ =⎟A1-A2⎥/2.** Для дослідження осадження білків на межі розділу “SS/розчин білку” використовували сконструйовану комірку (Малюнок 2). Комірка була виготовлена з плексигласу, вікна для пропуску лазерного променя еліпсометра були виготовлені з плавленого кварцу. Кут між нормалями до поверхні зразка і до поверхні вікна складав 700. Об'єм комірки рівний 4 мл. Цей пристрій дозволяє виконувати дослідження з осадження білків в стаціонарних умовах і за умов ламінарного потоку. Для проведення оптичних досліджень в комірці, зразок неіржавіючий стали, приклеювали на утримувач зразка клеєм на кремнієвій основі, після склеювання, утримувач загвинчували у комірку.

Мал. 2. Комірка для дослідження осадження білків.

*Методи скануючої електронної мікроскопії.* У новітніх технологічних напрямах, як мікромеханіка, наносенсоріка і інших нанотехнологіях значну роль грають електронопроменеві методи дослідження поверхні і зокрема СЕМ.

Мал. 3. Схема роботи СЕМ. Відбиті від зразка 1 електрони аналізуються по енергіях спектрометром 2 та реєструються кільцевим детектором 3.

Вимірювання СЕМ (10 різновидів стентів і 12 пластин) до початку експерименту і після перебування 8 тижнів в організмі експериментальної тварини, проводилися на приладі JEOL-100 (Японія) в Інституті електрозварювання імені Е.О. Патона НАНУ Київ (Малюнки 3, 4).

У лабораторії був розроблений принципово новий метод діагностики багатошарових структур – мікротомографія у відбитих електронах.

Мал. 4. Реконструкція 3D зображення елемента поверхні зразка сплаву.

Даний науково-дослідний метод базується на визначенні в растровому електронному мікроскопі відображених електронів, що мають певний вузький інтервал енергій, адекватний глибині шару під поверхнею, на якій вони відбилися. Прилад дозволяє з прийнятним для мікротомографії енергетичним дозволом (порядка 0,5%) візуалізувати підповерхневі твердотільні структури з субмікронним дозволом і проводити аналіз глибинної будови за спектрами електронів, що знімаються.

*Методи атомної силової мікроскопії.* Вимірювання АСМ (Малюнок 6) проводилися в Інституті фізики напівпровідників імені В.Е. Лашкарьова НАНУ, Київ, на АСМ Dimension 3000 NanoScope IIIa (США). Серії силових кривих (залежностей величини силової взаємодії від відстані зонд-поверхня) реєструвалися за кімнатних умов в атмосфері і в рідині (0,9% розчин хлориду натрію). Швидкість реєстрації кривих була постійною і складала 400 кГц. У вимірюваннях використовувався стандартний SiN3 АСМ зонд виробництва фірми NanoSensors (США) марки DNP-20 з номінальною жорсткістю консолі 0.06 Н/м (Малюнок 5 A). У другому випадку (Малюнок 5 B) поверхневе натягнення конденсованої рідини, відсутнє. Сила взаємодії визначається за виміряною АСМ величиною пружної деформації консолі зонда Δ d як F= Δ dk, де k – постійна пружності консолі зонду.

Мал. 5. Схема силових вимірів в атмосфері (A) та в рідині (B).

В якості матеріалів для визначення взаємодії імуноглобулінів (IgG) з антитілами (АТ) були обрані Au, стекло, слюда і Si. Для функционалізації зонда застосовували поліклональні АТ осла проти Альбуміну кроля (специфічність 1/256), які були надані відділом Молекулярної імунології Інституту біохімії. АТ наносилися з розчину концентрацією 0,1 μг/мл. Альбумін сироватки кроля (САК) наносився на підкладки з 0,1 μг/мл розчину в хлориді натрію (0,9%). Препарати на зонди і підкладки наносилися без попередньої обробки їх поверхонь (зонд занурювався до мікрокраплі препарату за допомогою системи підведення АСМ; краплі препаратів наносилися на підкладки, висушені після очищення сумішшю Никіфорова (Сірчаний ефір : Спирт-1:1). Проводилося по три серії вимірювань силових взаємодій в атмосферних умовах і в рідині:

1. Чистий зонд і чистий підкладковий матеріал АСМ;
2. Функционалізірованний зонд і чистий підкладковий матеріал;
3. Функционалізірованний зонд з білком на підкладковому матеріалі.

У дослідженні вивчалися 28 зразків поверхонь. Для отримання статистично достовірних результатів реєструвалося не менше як 150 кривих в кожному випадку вимірювання.

***Біологічні методи.***

*Експериментальні методи дослідження на тваринах.* Експериментальні дослідження на тваринах проводилися на базах віваріїв Національного наукового центру “Інститут кардіології імені Н.Д. Стражеско” АНМ, Київ і Національного інституту хірургії і трансплантології імені О.О. Шалімова АМН, Київ. Ліцензія Академії Наук України видана після сертифікації експериментальної бази відповідно нормам Європейського Суспільства (Інституту Кардіологи на роботу по проведенню експериментів з тваринами № ПТ 0343/01 від 28.12.2001, Реєстраційний Сертифікат віварія № 03/АА00470 від 22.01.2003, Інституту Хірургії і Трансплантології на роботу по проведенню експериментів з тваринами № ПТ 01-76-09/2175 від 02.09.2003, Реєстраційний Сертифікат на віварій № 4479/АА001754 від 26.01.2003).

Для вивчення морфологічних змін у СМД 24 білим безпородним щурам, обох статей, вагою 200-350 гр, під внутрішньочеревним намбуталовим наркозом з розрахунку 0,5-1 мл розчину на 1кг маси тварини, виконували мікровенозне протезування *in situ* ділянки стегневої вени, судинний шов накладався атравматичною ниткою 10-0 “ETHICON” фірми Ethicon, Inc., (Великобританія). Операції виконувалися під оптичним збільшенням операційного мікроскопа фірми “Karl Zeiss” (Німеччина), модель 310. На 14-у (8 щурів), 30-у (8 щурів) і 90-у (8 щурів) добу, після операції, проводилось вилучення матеріалу для морфологічних досліджень.

Для імплантації 118 металевих пластин SS з 23 неорганічними, 8 полімерними і 2 біологічними покриттями, було відібрано 50 білих безпородних щурів обох статей, вагою 200-350 гр. Перед імплантацією пластини з металу стерилізувалися в 1% розчині BODENPHEN-№125 (Bode Chemie, Hamburg 54, Німеччина) впродовж 15 хвилин. 12 кролям-самцям, породи “Сірий велетень”, вагою 2,5-3,5 кг були імплантовано розширювані балоном стенти, дозволені для застосування у клінічній практиці, моделей: Gianturco-Roubin, RX ML Pixel “Sengewald”, Bx Sonic “Cordis” та “BiodivVsio”. По 3 стенти кожної моделі які, були люб'язно надані для імплантації у експерименті School of Pharmacy and Biomolecular Sciences, University of Brighton (Великобританія).

Для дослідження нових і традиційних покриттів для експерименту було відібрано 130 кролів-самців, породи “Сірий велетень”, вагою 2,5-3,5 кг. Тварини відсаджувалися в стандартні клітки поодинці. Температура в приміщенні складала 24 ± 1ºС, з відносною вологістю 30-70 % та 12:12 годинним світловим циклом. Тварини отримували стандартне живлення для тваринних відповідно до правил МОЗ України. Тварини мали доступ до води *ad libitum*. Для імплантації стентів тварини були поділені на 5 груп по 12 тварин у кожній, відповідно до кількості неорганічних покриттів (аморфний вуглець, DLC, керамічні покриття на основі Ti і Zr) і контрольна група з 10 тварин з ендопротезами виготовленими з неіржавіючої сталі марки 316L. Тварини для імплантації стентів з полімерними покриттями були поділені на 3 групи по 12 тварин в кожній, відповідно до кількості полімерних покриттів нанесених на стенти.

Для імплантації стентів з ауто покриттями тварини були поділені на 2 групи по 12 тварин в кожній, відповідно до нанесення на стенти ауто покриття або покриття альбуміном бичої сироватки (БСА). Усім кролям імплантували Z-подібні стенти, що саморозширювались (дозвіл Мінохоронздоров'я України для клінічного застосування № 767/99 від 04.05.99). До імплантації стенти стерилізувалися в 1% розчині BODENPHEN-№125 (Bode Chemie, Hamburg 54, Німеччина) на протязі течія 15 хвилин. Потім стенти знаходилися в стерильному фізіологічному розчині. Всі 142 стенти імплантували тваринам в просвіт аорти через ендоваскулярний доступ в загальній стегновій артерії із застосуванням збільшення під час операції у 10 разів. При проведенні операцій використовувалися операційні бінокулярні окуляри фірми “Karl Zeiss” (Німеччина). Анестезія, яка застосовувалася експериментальним тваринам під час операцій з імплантації стентів і пластин була загальною. Тваринам перед операцією вводили седативний препарат кетамін (2 мл/кг ваги) внутрим'язево. Через 5-10 хвилин (залежно від часу початку дії премедикації) щурам вводили розчин тіопенталу натрію у концентрації 8 міліграм/кг внутрим'язево, кролям у концентрації 15 міліграм/кг внутривенно.

Для створення атерогенної моделі відповідно до розробленої методики, кролям, внутрим'язево вводили розчин пірогеналу по 1,25 мікрограм через день протягом 2-х тижнів. Потім у післяопераційному періоді, по 1,25 мікрограм один раз у тиждень впродовж 8-х тижнів. Запальна модель була вибрана для експерименту на підставі робіт [Lassila R. 1993, Талаева Т.В. 1998, Быць Ю.И., Атаман А.В. 1989]. На прикінці експерименту виконувалось вилучення матеріалу для морфологічних дослідженнь. Кролів та щурів виводили з експерименту шляхом премедикациї внутрим'язево кетаміну (2 мл/кг ваги). Потім, внутривенно струменевого кролям і внутрим'язево щурам, вводили розчин тіопенталу натрію по 50 міліграм/кг до повної зупинки дихання і серцебиття.

*Морфологічні та біохімічні методи дослідження тварин.* Ліцензія Академії Медичних Наук України видана після сертифікації експериментальної бази відповідно нормам Європейського Суспільства (Інституту Кардіологи на роботу з кров'ю і проведення біохімічних аналізів № ПТ 0343/01 від 28.12.2001, Інституту Хірургії і Трансплантології на проведення патоморфологічних досліджень № ПТ 0290/03 от 24.03.2003).

Зразки тканин щурів з імплантами, ділянки аорти щурів із швами та аорти кролів із стентами вилучали для морфологічних досліджень. Вилучення матеріалу проводили по наступній схемі. Із стінки аорти через усю товщу, в місці знаходження швів, стентів і з умовно інтактної зони, одноманітно у всіх випадках, були циркулярно відокремлені шматочки матеріалу. Зразки його фіксувалися протягом 24 годин у 10% розчині формаліну на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4), дегідратували матеріал за стандартизованою схемою у спиртах зі зростаючою міцністю та заливалися у парафін. З тканин виготовлялися зрізи товщиною 5 мкм.

Для адекватної оцінки процесів альтерації, регенерації і склерозування судинної стінки був виконаний комплекс імуногістохімічних і гістологічних досліджень за допомогою оглядового фарбування гематоксиліном і еозіном, забарвлення по Ван Гізону, для ідентифікації колагенових волокон і гладком'язових клітин, забарвлення комбінованими методами по Вейгерту–Ван Гизону, для виявлення різних структурних компонентів сполучної тканини і судинної стінки, забарвлення по Хочкиссу-Мак Манусу, що дозволяє оцінити накопичення в судинній стінці глікозогліканов при плазматичному просоченні, або деструкції сполучної тканини і забарвлення альдегід фуксином, для виявлення наявності еластичної тканини. Так само були застосовані флюорісцентне барвники для верифікації процесу запалення в місці встановлення стентів [Скопичев В.Г., Шумилова Б.В. 2004, Лилли Р. 1969, Histopathology Kits 1997].

Морфометрія всіх досліджуваних 1354 гістологічних препаратів [Автандилов Г.Г. Яблучанский Н.И., Губенко В.Г. 1981] проводилася на мікроскопі Olympus ВХ-41 (Японія) за допомогою програмного забезпечення DP-Soft (Японія). У ході дослідження тричі проводився забір крові для підтвердження наявності змін в організмі кроля. Для виконанні біохімічних досліджень кров кроля набирали з вушної вени по 2 мл в пластикові пробірки, які містили 50 мкл гепарину (5000 од/мл) і 50 мкл фізіологічного розчину. Зібрану кров швидко перемішували і центрифугували 5 хвилин при 4000 об/хв. Плазму обережно відбирали в епендорфи і зберігали при –20ºС [Lizana J., Hellsing K. 1974, Chernecky C.C., Krech R.L., Berger B.J. 1993].

Визначення біохімічних параметрів крові (рівень холестерину та С-реактивного білку сироватки крові) тварин проводилось на автоматичному аналізаторі BS 2000 (BioSystem, Іспанія) відповідними наборами реактивів тієї ж фірми. С-реактивний білок визначали турбодіметрчним імуноферментним методами. Показники чинників згортання крові (плазмовий лізис, протромбіновий індекс, фібриноген, кількість тромбоцитів, зміна функціональній активності тромбоцитів) експериментальних тварин були отримані на коагулометре KG-4 фірми TECO (Німеччина) з наборами для реагентів FIB Kit фірми TECO (Німеччина). Функціональний стан тромбоцитів оцінювали на агрегометрі Chrono-Log (США).

Всі результати досліджень піддавалися обробці статистичними методами за допомогою програм Microsoft Excel 2003 і STATISTICA 6.0, а також виконанням математичного аналізу розподілу отриманих результатів за Максвелом.

###### РАЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Розглянемо отримані результати по розділах:

***Визначення предикторів розвитку рестенозу у стенті, після імплантації його у судини малого діаметру.***На 1308 гістологічних препаратах аорти кролів після імплантації стентів всіх зазначених вище моделей були відзначені виражені явища склерозу у адвентиції (А) з наявністю великої кількості коллагенових волокон. Медія (М) в місцях розташування елементів стенту була значно стоншена внаслідок атрофії ГМК, простежувалося зменшення кількості й витончення еластичних волокон, аж до їх зникнення на окремих ділянках. Гіперплазія клітинних елементів інтими (І) над елементами стенту та між ними, була виражена по різному, залежно від моделі стенту та виду покриття, нанесеного на нього. Послідовні фази реконструкції стінки аорти у кролів після імплантації стенту та вшивання венозног шунту представлені на (Мал. 6, частина “стент-реципіент-донор”). 1. *Vv* (a) ще не піддані змінам і всі складові стінки аорти нормально представлені; в адвентиції відзначене зменшення кількості *vv*. 2. У шарі медії (б) починається міграції ГМК, відзначається подальше зменшення кількості *vv* (a), що викликає зниження харчування медії й продовження міграції ГМК під інтиму. 3. Починається фаза відновлення ушкодженої судинної стінки; 4. Новий шар ендотеліальних клітин (с) утворюється шляхом проліферації та міграції ендотеліоцитів здорової частини аорти, починаючи з країв стенту. 5. Визначається гіперплазія (с) ГМК у подендотеліальному шарі та їх міграція у зону стику (б).

Мал. 6. Схема розвитку рестенозу у стенті та венозному шунті. Зміни у стінці артерії (реципієнт) після імплантації стенту (стент) та при вшиванні венозного шунта (донор) в артерію.

Ці явища пояснюються тим, що стент надає радіальний тиск на стінку судини, перетворюючи її у ригідну трубку, і не дозволяє скорочуватися м'язовому шару. Все це веде до зниження притоку крові по *vv*, тому що немає необхідності живити малоактивний м'язевий шар. Через погіршення притоку крові по *vv*, відбувається міграція ГМК у неоінтиму, ближче до магістрального кровотоку й там вже відбувається їх проліферація, що й приводить до розвитку рестенозу в стенті.

При аналізі результатів досліджень з розвитку РуС у СМД, знайдена ще одна причина його виникнення в залежності від стану атеросклеротичної бляшки (АБ) та частини КА, що призначєтся для проведення черезшкірного коронарноого втручання (ЧКВ), яка приведена у розробленному для впровадження у клініці алгоритмі (Мал. 7).Мал. 7.

Алгоритм розвитку РуС залежно від морфології АБ.

***Геометричні особливості конструкцій стентів для судин малого діаметру.*** Залежно від причин, що викликали ураження судин, визначаються й вимоги до конструкції стентов, що імплантуються у судини. У випадках, коли такі функціональні властивості стінок судин як еластичність та пружність, поздовжня ї поперечна розтяжність помітно не знижуються, найбільш перспективними для збереження площі просвіту судини є стенти, що саморозширюються. Вони є найбільше патофізіологічно обґрунтованими. У деяких випадках, коли ураження судин обумовлено розвитком атеросклерозу з вираженим порушенням ліпідного обміну, що супроводжується появою осередкових сполучно-тканних ущільнень стінки судини й розвитком АБ, у цей час перевага може бути надана стентам із примусовим балоним розширенням конструкції.

Геометричний аналіз форм стентов дає можливість стверджувати, що стенти, які розширюються самі, можуть бути створені для усіх патофізіологічних станів судин. Робочий діаметр стенту визначається вихідним діаметром артерії в ураженій ділянці її. Насьогодні для стентування поки що доступні артерії діаметром до 2,0 мм. Автиром розроблено нові вимоги до геометрії “ідеального стента” і до властивостей матеріалу, з якого виготовляють імплант, та які визначаються умовами його доставки в уражену частину артерії, а так само умовами функціонування стенту після імплантації:

1. стент повинен мати певні пружні-динамічні властивості та у робочому стані давати можливість звужуватися судині, не більше, ніж на 20-25% просвіту. Відсутність можливості скорочення м'язового шару судини внаслідок пульсуючего току крові призводить до деградації медії;
2. У будь-якому поперечному перерізі елемент стенту повинен мати форму кола, щоб не викликати турбулентних потіків крові;
3. Елементи конструкції не повинні при розширенні стенту наближатися, щоб запобігти травмі (защимленню) стінки судини між ними;
4. стент повинен мати площу контакту зі стінкою судини не більше як 20% від площі останньої, щоб забезпечити необхідне живлення внутрішньої стінки судини (ендотелія);
5. Скорочення стенту повинні бути синхронними із скороченнями стінки судини при проходженні пульсової хвилі;
6. стент повинен забезпечувати максимально можливу рівномірність напруги у стінці судини, щоб не повинна викликати місцевих концентраційних зусиль.

На підставі цих положень ми вважали доцільним провести аналіз артерій серця дорослої людини як приклад СМД із метою визначення номенклатури стентів, що необхідні для проведення ангіопластики. Тим більше, що КА мають більш складну просторову механіку, у порівнянні з іншими артеріями. Такий аналіз наведений нами у таблиці 1 та малюнках 8 і 9.

Таблиця 1

Геометричні характеристики необхідної номенклатури коронарних стентов.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| №п/п | Розміри стенту, мм. | Ділянки артерій малюнок 9. |
| *D*1 | *D*2 | *l* | *R* |
| 1 | 4,5 | 4,0 | 20-25 | 40-80 | 6 |
| 2 | 4,5 | 3,5 | 30-35 | 50-60 | 7 |
| 3 | 4,0 | 3,5 | 20-25 | 15-20 | 1 |
| 4 | 3,5 | 3,0 | 25-30 | 120-140 | 2 |
| 5 | 3,5 | 3,0 | 30-35 | 50-60 | 11 |
| 6 | 3,5 | 3,0 | 35-40 | 45-50 | 10 |
| 7 | 3,5 | 2,5 | 40-50 | 20-25 | 8 |
| 8 | 3,0 | 2,5 | 15-20 | 60-70 | 14,15 |
| 9 | 3,0 | 2,5 | 25-30 | 60-70 | 3,12 |
| 10 | 2,5 | 2,5 | 15-20 | 50-60 | 13 |
| 11 | 2,5 | 2,5 | 20-25 | 15-20 | 5 |
| 12 | 2,5 | 2,5 | 30-35 | 20-25 | 4 |
| 13 | 2,5 | 2,5 | 40-45 | 55-60 | 9 |
| У зв'язку з підвищеними вимогами надійності та складним сполучним навантаженням, що діють на стент, а також агресивністю середовища, вибір матеріалу для виробництва стентов є не простим завданням. стенти з матеріалу з низькою межею пружності (до них належать усі чисті метали) за досить малий час будуть руйнуватися. Це змусило нас звернути увагу на сплави, з яких дріт у деформованому стані має високу межу міцності. Як наслідок цього вони мають підвищену стійкість в умовах малокутових циклічних навантажень. |

Мал. 9. Зменшення нерівномірності зусиль уздовж осі стента.

Нами була розроблена структура системи автоматизованого проектування стентов, що повинна включати наступні блоки:

* *Конструювання геометрії стентов.* Блок повинен дозволяти одержати будь-яку інформацію про розміри, форму як самого стенту, так і будь-якого його фрагмента. При цьому необхідно мати можливість відслідковувати зміну форми стента під впливом різних навантажень;
* *Розрахунок міцносних характеристик стентов.* Блок повинен дозволяти одержувати характеристики напруженого стану всіх елементів стенту внаслідок різного сполученного навантажень. При цьому повинна враховуватися втома матеріалу від часу;
* *Моделювання роботи серця та артерій****.*** Блок повинен дозволяти відслідковувати зміну геометричних параметрів серцево-судинної системи у процесі її роботи та пов'язане з цим зміну зусиль у артеріях;
* *Моделювання роботи стентів у віртуальних артеріях.* Блок повинен дозволяти розміщувати моделі стентів у віртуальні артерії та одержувати необхідну інформацію про зміни геометричних і міцносних характеристик стенту під час роботи серця;
* *Візуалізації процесів.* Блок повинен дозволяти спостерігати на моніторі комп'ютера будь-який етап проектування, розрахунку й віртуальної роботи стенту.

***Розробка технічних умов нанесення нових неорганічних і синтетичних покриттів на стенти.***Для одержання рівномірного покриття Zr–Ti–Ni на дроті, було виготовлено пристрій, що забезпечує обертання мірних відрізків дроту довжиною до 100 мм зі швидкістю 10 об/хв. на відстані 65 мм від поверхні планарної МРС. Товщина покриття обчислювалася за формулою:

***δ*** = ****.

У таблиці 2 показані основні параметри осадження покриття Zr–Ti–Ni та зміна його хімічного складу. У таблиці 2 також, для порівняння, наведені дані покриття Zr–Ti–Ni, нанесеному на нерухомий дріт (зразок 12пZr2) та покриття чистим Zr, отриманому на обертовому дроті (зразки 3пZr і 4пZr). З метою зниження небезпеки утворення тріщин товщина покриттів у порівнянні з першим етапом була змешена до 2-3 мкм. Дослідження поверхні покриттів, виконані за допомогою СЕМ і мікрорентгеноспектрального аналізу, продемонстрували, що виникненню тріщин сприяє здійснення процесу в режимі постійного зсуву (зразок 14пZr2-2). Не було виявлено тріщин на всіх інших досліджених зразках на прямолінійних ділянках і ділянках з вигином дроту. Вцілому з отриманих даних треба визнати доцільність нанесенні покриттів на тонкий дріт при магнетронному використання параметрів процесу з обмеженням часу напилювання в режимі зсуву (2 хв), питомої щільності потужності (менш 20 Вт/см2) і товщини покриття (не менш 3 мкм), що буде сприяти зниженню небезпеки утворення тріщин і забруднення матеріалу покриття залізом. Параметри процесу осадження та склад покриття Zr-Ti-Ni, нанесенного на дріт, що обертається, методом магнетронного розпилення.

Таблиця 2.

Основні параметри осадження покриття Zr–Ti–Ni та зміна його хімічного складу.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №зразка | Параметри процесу напилювання | Склад покриття,(атом. %) | Діаметрдроту(мм) |
| Питома щільність потужності (Вт/см2) | Напр-уження зсуву(В) | Час напилювання у режимі зсуву(хв.) | Щільністьтокупідложки(мА/см2) | Швидкістьосадження(мкм/хв) | Тов-щина покри-ття,(мкм) | **Zr** | **Ti** | **Ni** | **Fe** |
| Мішень |  |  |  |  |  |  | 55,3 | 37,0  | 7,5 | - |  |
| 12пZr2 | 16 | -100 | 2 | 5,2 | 0,21 | 4,4 | 39,5 | 42,6 | 17,9 | - | 0,5нерухома |
| 14пZr2-2 | 8,3 | -100 | Tзміщення=tосадження | 2,2 | 0,047 | 3,1 | 36,7 | 43,5 | 19,8 | - | 0,5 |
| 16пZr2-2 | 14,5 | -100 | 2 | 3,5 | 0,077 | 3,1 | 34,8 | 42,3 | 22,9 | **-** | 0,5 |
| 18пZr2-2 | 20,2 | -100 | 2 | 18,2 | 0,11 | 2,1 | 29,7 | 35,3  | 24,9  | 9,9 | 0,5 |
| 19пZr2-2 | 14,5 | -100 | 2 | 3,5 | 0,077 | 2,3 | 30,4 | 42,6 | 25,1 | 1,9 | 0,5 |
| 20пZr2-2 | 8,3 | -100 | 2 | 2,2 | 0,047 | 2,3 | 34,2 | 40,6 | 22,9 | 2,2 | 0,5 |
| 3пZr | 17,2 | - 100 | 2 | 5,1 | 0,13 | 3,2 | 99,7 | **-** | **-** | 0,3 | 0,5 |
| 4пZr | 17,2 | - 100 | 2 | 5,1 | 0,13 | 2,1 | 96,6 | 0,7 | 0,06 | 2,7 | 0,5 |

У роботі були вивчені ФПУМ, що були отримані на основі ароматичних діізоціанатів: толуїлендіізоціанату (2,4-, 2,6- (65/35), 4,4`-діфенілметандиізоціанату; олігоефіирів: олігооксіпропіленгліколя молекулярні маси 1500, олігооксітетраметиленгліколя, ММ 1000. Подовжувачами полімерного ланцюга використали фторвмісні ароматичні діаміни, у яких амінні групи перебували в ізомерному (*пари-, мета-*) положенні: 4,4`-біс-(*п*-амінофеніловий) ефір тетрафторгідрохінону (*п*‑ БАФЕТФГ) і 3,3`-біс(*м*-амінофеніловий)ефір тетрафторгідрохінону (*м*‑ БАФЕТФГ). Синтез ФПУМ проводили за форполімерним способом який описано у патентах. На першій стадії, взаємодією відповідного діізоціанату та олігоефиру, одержували макродіізоціанат, олігомер з кінцевими ізоціанатними групами. Потім, на другій стадії, проводили реакцію поліконденсації макродіізоціанат з відповідним фторованним подовжувачем макроланцюга. Загальна хімічна структура отриманих полімерів представлена на малюнку 10. Деякі властивості синтезованих ФПУМ наведені у таблиці 3. Плівки ФПУМ одержували та наносили на стент із нержавіючої сталі 316L поливом 20 % розчину полімерів у діметилформаміді, а для дослідження різних властивостей знаходилися на тефлонові підложки. Сушили при температурі 50 °С. Залишок діметилформаміду вакуумували до постійної маси зразків. Міцносні характеристики визначалися за швидкістю деформації (510-2 с-1) при температурі 18-20°С на приладі РМ-30 у режимі розтягування, при постійній поверхневого натягу (γ,тг) плівок ФПУМ. Оцінку характеристик проводили за крайовими кутами змочування. Як стандарт була використана бідистилльована вода. Ступінь набрякання полімерних плівок визначали при 36ос протягом 24 годин у дистильованій воді, як відношення збільшення ваги плівок до її вихідної ваги. Насьогодні встановлено, що полімери медичного призначення повинні відповідати певним фізико-хімічним критеріям, а також основним вимогам медико-біологічного характеру. Згідно даним механічних випробувань встановлено, що значення міцності при розриві плівок ФПУМ становлять 15,7 - 103,0 Мпа, модул пружності 16 - 67 Мпа з відносним подовженням 346 - 1240 %. Результати досліджень показали, що, незважаючи на різний хімічний склад сегментованих ФПУМ, міцносні характеристики полімерів лежать у межах значень міцності природних судин людини. Також одним з важливих критеріїв сумісності полімерних матеріалів із кров'ю є їх поверхневий натяг.









Мал. 10. Елементарна ланка ФПУМ.

Таблиця 3

Хімічний склад і властивості ФПУМ.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Зразок | Склад | [η],дл/г  | Міцність при розриві, Мпа | Ефективний модуль пружності, МПа | Відносне подовження при розриві, % | γтг,мн/м |
| ФПУМ-1 | ТДИ, ОПГ, *м*-БАФЕТФГ | 0,18 | 15,7 | 17,0 | 346 | 33,2 |
| ФПУМ-2 | ДФМДИ, ОТМГ, *п*-БАФЕТФГ | 0,26 | 77,7 | 67,0 | 620 | 41,5 |
| ФПУМ-3 | ДФМДИ, ОТМГ, *м*-БАФЕТФГ | 0,24 | 103,0 | 16,0 | 1240 | 37,6 |

Як видно з даних таблиці 3, для зразків ФПУМ величини γтг  становлять 33,2 - 41,5 мН/м. Аналіз результатів крайових кутів змочування полімерів показав, що значення поверхневого натягу плівок ФПУМ перебувають у межах достатньої гемосумісності для поліуретанів.

*Розробка технічних умов нанесення нових аутопокритій на стенти.* Два види поведінки адсорбції білка визначали дві основні моделі процесу:

* Рівномірна кінетика визначає повністю оборотний механізм адсорбції без взаємодії між адсорбованими молекулами. В цьому випадку процес повторює закон ізотерми Ленгмюра [Γг(С/С0)]/[1+(С/С0)], де Γ та Γг - адсорбовані масси, С - концентрація білків, С0 - початкова концентрація.
* Друга модель кінетики з багатьма максимумами відображає процес адсорбції, де молекули білка адсорбуються в одній формі, але можуть змінювати її на іншу *незворотню* граничну форму. Ця форма потребує більшої контактної площі поверхні, таким чином викликає сильну десорбцію первинно адсорбованих макромолекул.

Мал. 11. Залежність елліпсометрічеського параметру від часу інкубації для зразка SS у розчині ЧСА.

Елліпсометрія дозволяє визначати характеристики плівок завтовшки у 0,01 нм. Ця методика має декілька особливостей, корисних при вивченні тонких біологічних шарів. Перш за все, вона не потребує флуоресцентної або радіоімунної маркіровки молекул. По-друге, цей метод може використовуватися в рідких середовищах та на повітрі на поверхні твердих тіл. Це дозволяє спостерігати кінетику адсорбції у часі (малюнок 11). Таким чином, впродовж перших 5 хвилин адсорбується моношар альбуміна. Зменшення товщини адсорбованого шару до значень менших, за товщину моношару означає десорбцію білків і зменшення відносної площі покриття поверхні неіржавіючий стали (SS). Еволюція адсорбованого шару білків указує на поступове нелінійне зменшення товщини адсорбованого шару, і отже ї кількості адсорбованих молекул по досягненню насичення при завершенні експерименту впродовж 340 хв. З малюнка 12 видно, що максимальна кількість адсорбованого альбуміна складала близько 7,4±0,8 мг/м2 (5 хв) і впродовж експерименту ця величина не лінійно падала до ~2±0,8 мг/м2 (340 нм). Отримана кінетика адсорбції альбуміна вказує на переваження десорбції білка при тривалому періоді інкубації внаслідок руху розчину. Була вивчена динаміка адсорбції альбуміна методом *in situ* елліпсометрії впродовж 340 хв. та отримана залежність значення маси адсорбованої речовини від часу інкубації.

Мал. 12. Залежність адсорбованої маси альбуміна на одиницю площі для поверхні SS. Концентрація розчину складала ~8 мг/мл.

На підставі проведених робіт нами була розроблена адаптуюча композиція (АК). Вона дає абсолютно інший підхід: замість неспецифічного втручання в імунну систему реципієнта іммуннодепресантів, наш метод дозволяє забезпечити підвищення біосумісності за рахунок дії на донорський трансплантат, імплантат органічної або неорганічної природи, який в результаті такої обробки буде розглядатися як “свій” певними компонентами імунної системи реципієнта.

Таким чином, на відміну від способів запобігання процесу відторгнення імпланта, що передбачають дію на організм реципієнта, наш метод базується на модифікації самого імпланту органічної або неорганічної природи до появи імунологічної сумісності з тканинами реципієнта. Дія АК була перевірена на декількох об'єктах. З цією метою проводили попередню обробку АК внутрішньосудинних стентів протягом 10 хвилин при температурі 370С перед введенням у черевну аорту кролям. Тварини для імплантації стентів з ауто покриттям були розподілені на 2 групи по 12 тварин у кожній, відповідно до нанесення на стенти покриття: ауто- чи і покриття бичачим сироватковим альбуміном (БСА). В якості контролю використовували кролів, яким вводили стенти з неіржавіючої сталі 316L без попередньої обробки (10 тварин).

Таблиця 4.

Показники морфометрії стінки аорти кроля після імплантації стентів р<0,006.

|  |  |
| --- | --- |
| **Групи** (n = 32) | **Умовні одиниці** |
| Норма | 123,89 ± 31,6 |
| Без обробки (n = 10) | 304,72 ± 82,2 |
| Обрабобка БСА (n = 12) | 232,28 ± 34,61 |
| Обрабобка АК (n = 12) | 140,24 ± 27,94 |

Товщину утворенної неоінтими оцінювали на стандартізованних зрізах в умовних одиницях. Середні значення вимірювань у 3 груп тварин представлені у таблиці 4.

Як показали результати досліджень, метод, що передбачає попередню обробку стентів АК, забезпечує зменшення реакції навколишніх тканин завдяки модифікації поверхні імплантов та зменшення товщини розростання неоінтими, що свідчить про відсутність процесів запалення і утворення фіброзної тканини навколо імпланту. Для підтвердження модифікації поверхні АК були проведено ще ряд досліджень.

Метод АСМ, дозволяє за допомогою фізичних величин визначити якість поверхні (малюнок 13) та щільність нанесення покриття на нанорівні. У роботі для верифікації біомлекули на поверхні SS за допомогою АСМ, зонд був функционалізован IgG осла проти сироваткого альбуміну кролів (САК) у концентрації 1 мкг/мл IgG. Потім на поверхню зразка окремими ділянками наносили:

1) Розчин САК в концентрації 1 мкг/мл;

2) Розчин альбуміна сироватки миші в концентрації 1 мкг/мл;

3) Розчин IgG осла проти САК в концентрації 1 мкг/мл IgG.

Мал. 13. Вимірювання фізичної взаємодії “антиген-антитіло” із застосуванням функционалізованного зонду АСМ. Розмірність сили взаємодії – нано Ньютон - nN (10-9N), відстань - Мікрометри μm (10-6м).

На цьому етапі досліджень було вивчено взаємодію між вихідною поверхнею SS та зондом, який був функционалізован IgG, потім поверхня зразка піддавалася обробці розчином САК та миші на різних ділянках поверхні. Потім, проводили вимірювання сили, що утримує зонд (сила взаємодії “антиген-антитіло”). Як видно з наведеного малюнка 13, у випадках, коли вихідна поверхня оброблялася розчинами сироваткового альбуміну миші або САК, сили утримування чистого зонда були без особливостей і складали від 17-22 нН (10-9 ньютона). При функционалізациі зонду IgG реєструвалося значне збільшення сил утримування на ділянці обробленому розчином САК – до 45 нН. Сила утримання функционалізованного зонда на ділянці, обробленій сироватковим альбуміном миші, не мінялася у порівнянні з чистим зондом.

Ці дані свідчать про те, що адсорбовані на поверхні молекули сироваткового альбуміну кролика зберігають свої поверхневі детермінанти. Іншими словами, на поверхні не відбувається конформаційна зміна адсорбованої біомолекули, що могла б викликати відповідь на екзогенний білок. Надалі, стенти оброблені таким чином імплантувалися до аорти кролив.

***Вивчення особливості зміни поверхні стентів, що використовують в ендоваскулярній хірургії при їх функціонуванні в просвіті судини експериментальних тварин і людини.*** З отриманого матеріалу видно, що практично всі зразки поверхонь з неорганічними покриттями піддалися різному ступеню та видам корозії. Зокрема спостерігалася піттінговая корозія, поверхні стали 316L, через 8 тижнів після імплантації. У разі покриття Zr, спостерігалися елементи руйнування покриття з утворенням окисних сполук.

Через 8 тижнів після імплантації на пластинах вкритих аморфним вуглецем спостерігалось злущування покриття з порушенням його цілісності, яке могло служити причиною тромбоутворення. Полімерні покриття тетрафторетиленом через 8 тижнів після перебування в організмі мали всі ознаки біодеструкції. Морфологічно були досліджені тканини при використанні неорганічних та синтетичних покриттів. В цілому, спостерігалася типова реакція на чужорідні тіла, яка мала деякі особливості залежно від типу покриття. Морфологічне дослідження тканин, що оточували імплантовані пластини сталі 316L без покриття або з покриттями, свідчили про типову запальну реакцію організму з утворенням гранулем навколо чужорідних тіл. У гранулемах та в гігантських клітинах в тканинах навколо “чужорідних тіл” у всіх спостереженнях виявлені чужорідні тіла. Частинки корродованной сталі 316L спостерігалися в капсулі, що утворилася навколо пластини, та була представлена грубими фіброзними волокнами з різними товщинами. У порожнині капсули клітинний детрит - тіні лімфоцитів, еритроцити, фібрин. У товщі капсули та у зовнішнього її краю визначалися численні фіброзні порожнини різних розмірів з таким же клітинним детритом. Капсула навколо пластини була пронизана численними дрібними капілярами. Тканини мали темні чужорідні зернисті, пластинчасті і напівпрозорі “мереживні” включення з щільним центром. Іноді ці включення з чужорідних тіл виявлялися в цитоплазмі гігантських кліток, як прояв фагоцитозу та ендоцитозу. Іноді вони лежали в тканині вільно. Були також помічені довгі чужорідні пластинчасті тіла і напівпрозорі “мереживні” включення. У крупних макрофагах містилися прозорі піняві маси. У деяких зразках була присутня велика кількість еозинофілів, тучних клітин та плазмоцитів, що відображало індивідуальні особливості реакції.

У разі покриття цирконієм капсула навколо пластини була досить широка. На внутрішній поверхні спостерігалися залишкові структури грануляційної тканини і невеликі фрагменти чужорідних тіл аморфного вигляду. Фіброзна частина капсули була широка, з ознаками активного фібропластичного процесу, за клітинними характеристиками близького до фіброматозу. Структура фіброзу була комірчастою. У осередках – дрібні розширені капіляри, гемосидерін, чужорідні фрагменти з незначною гигантоклетинною реакцією. За межами капсули із зовнішнього її боку – різко виражена судинна реакція, ангіоматоз. Капсула пластин з частками полімеру тетрафторетілена мала неоднакову товщину. Покривна частина була тонша, за ту, що підлягає із залишковою грануляцією і розширеними судинами, але, вцілому, тонка. У зовнішньому рихлому шарі визначалися елементи гранулем чужорідних тіл, з макрофагами, що містять матеріал пластинок. Ми спробували знайти кореляцію між будовою поверхні і тропностю тканин судинної стінки до відповідного покриття на підставі вивчення поверхні сплавів і покриттів стентів до їх імплантації кроликм при допомозі СЕМ на нанорівні, і порівняти з результатами гістохімічних досліджень тканин судинної стінки. Покриття стента з окису титану мали лускову кристалічну будову поверхні, з напрямом осі кристалу паралельно основі зразка, розмір лусок складав 10 - 30 нм. Покриття з окису цирконію мали розвинену поверхню, на зразок пористої губки. Розміри кратерів на поверхні сполук Zr складав 30 - 80 нм. Відомо, що імплант, у якого більш розвинена поверхня, з порами рівними або більше розмірів молекули альбуміна, має більшу спорідненість до тканин організму. Якщо зіставити розміри сироваткового альбуміну в розчині – 15 Х 4 нм - очевидь, що рівень первинної незворотної адсорбції альбуміну на поверхні вкритою сполуками Zr (кратер 30 - 80 нм), буде вищий за рівень незворотної адсорбції альбуміну на поверхні покриття сполуками Ti (луска 10 - 30 нм). Отже, можна чекати агресивнішу реакцію стінки судини на стенти вкриті сполуками Ti.

Всі стенти, що використовувались в клініці і вивчались у роботі, імплантували експериментальним тваринам за одним протоколом, без виключень. У проведених дослідженнях продемонстровані зміни безпосередньо на поверхні конструкцій і в навколишніх тканинах. Необхідно відзначити, що після імплантації стентів з SS, покритих аморфним вуглецем і DLC відбулася загибель тварин в ранішні терміни, ніж планувалося завершення експерименту. Дані випадки можна пов'язати з тим, що в групах з цими покриттями у 3 тварин з 12 та 2 з 12, відповідно, при розтині загиблих кроликів не було виявлено стентів. Хоча на гістологічних препаратах аорти у загиблих тварин видно місця знаходження стентів, і навіть відмічена реакція судинної стінки на їх установку. Ці спостереження можна розцінювати як результат завершення запального процесу, посиленого операційним втручанням і імплантацією чужорідного матеріалу, що призвело до повного руйнування металевих конструкцій. У згаданих випадках можна думати про надшвидку корозію стенту на тлі утворення гальванічного процесу, або корозії при істотній зміні рН середовища. Агресія може виражатися в корозії металу, або покриття, або фрагментації ділянок синтетичних покриттів.

При проведенні СЕМ, що дозволяє визначити характер структури неорганічних покриттів, сполук металів поверхні стентів, представляється можливим прогнозувати реакцію тканин організму на імплант. Покриття цирконієм практично не змінювалися при знаходженні в просвіті судини за 8 тижнів, а зміни, які демонструвала стінка судині можна віднести до впливу безпосередньо самого покриття. За 8 тижнів не відмічено змін поверхні стентів з синтетичними покриттями ФПУМ № 7, 9 і поверхні стентів з SS обробленої адаптуючої композиції.

***Порівняння впливу традиційних і нових покриттів стентів на зміну складу крові експериментальних тварин і людини*** *in vitro*. Усі 23 зразка неорганічних покриттів та 8 полімерних покриттів було протестовано у модельному розчині фібріногена. Отримані дані мають р > 0,05, що вказує на достовірну відмінність у порівнянні з початковими показниками, як модельного розчину, так і з цілісної крові чоловіків волонтерів (таблиці 5, 6). Потім за наслідками тестування покриттів в умовах модельного розчину фібріногена, нами були відібрані 15 найбільш перспективних неорганічних і полімерних покриттів для подальших досліджень з цілісною кров'ю волонтерів, які отримували терапію препаратами, зазвичай призначають хворим на ІХС. Це були різні варіанти покриттів TiN3 і ZrN3, окисами цирконію і ФПУМ (таблиця 6).

Таблиця 5.

Концентрація фібриногена у модельному розчині після контакту з різними покриттями.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Матеріал | % фібриноген у р-ні | рН поверхні |
|  | Zr-ZrN/ Нержавіюча сталь | 87% | 6 |
|  | Zr-ZrO/ Нержавіюча сталь | 89.6% | 5.5 |
|  | Ti-Ti2N-Ti-TiN/Ti | 93% | 6,0 |
|  | TiO/Ti (t-1000 Co) | 76% | 7.0 |
|  | Сплав Al-Cu-Mg | 78.8% | 6.5 |
|  | TiN-Ti2N/ Нержавіюча сталь | 91.3% | 7.0 |
|  | TI(CO)/Ti (t-1030 Co;τ-60') | 87% | 6.5 |
|  | Ti-TiN/Ti (Uопор 100 v) | 94% | 7.0 |
|  | Ti-TiN/ Нержавіюча сталь (Uопор100 v) | 97.1% | 6.5 |
|  | Ti-TiN/ Нержавіюча сталь (Uопор320 v) | 76.3% | 6,5 |
|  | Углеродная пленка/ Нержавіюча сталь | 85.3% | 7.0 |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-C/ Нержавіюча сталь | 85.5% | 6,5 |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-…- TiCxNy-C/Ti | 83% | 7,0 |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-C3N4/ Нержавіюча сталь | 76.1% | 6,5 |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-/ Нержавіюча сталь (Uопор200 v) | 75% | 6,5 |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-/Ti (Uопор 300 v) | 78% | 6,0 |
|  | Al2O3+ZrO2/ Нержавіюча сталь | 79.1% | 7,0 |
|  | Zr | 67.2% | 6.5 |
|  | Al2O3 | 41.8% | 6.5 |
|  | Al2O3+TiO2+ZrO2 (без подслоя) | 43.6% | 5.5 |
|  | Al2O3+TiO2 | 45% | 7.0 |
|  | Al2O3+TiO2+ZrO2 (з підслоєм) | 76.2% | 7.0 |
|  | ФПУМ № 1 | 90% | 6,5 |
|  | ФПУМ № 2 | 92% | 6,5 |
|  | ФПУМ № 3 | 10% | 6,5 *Полімер знявся* |
|  | ФПУМ № 4 | 89% | 6,5 |
|  | ФПУМ № 5 | 17% | 6,5 *Полімер знявся* |
|  | ФПУМ № 6 | 78% | 6,5 |
|  | ФПУМ № 7 | 25% | 6,5 *Полімер знявся* |
|  | ФПУМ № 9 | 49% | 6,5 |
|  | Нержавіюча сталь (SS) | 93% | 5,5 |

Таблиця 6.

Зміни параметрів суцільної крові волонтерів після контакту з різними покриттями.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** |
| **а** | **б** | **а** | **б** |
| **А** | **Вихідні показники** | ++ | 130” | 90% | 3,50 | 388 | 11% | 5% | 40% | 40% |
|  | Zr-Zr / Нержавіюча сталь | +++ | 180” | 100% | 3,25 | 86 | 6% | 6% | - | - |
|  | Ti-Ti2N-Ti-Ti/Ti | ++ | 160” | 100% | 3,25 | 217 | 10% | 5% | 46% | 46% |
|  | Ti-Ti/Ti (Uопор100 v) | ++ | 190” | 90% | 3,50 | 144 | 14% | 10% | 37% | 37% |
|  | Ti-Ti/ Нержавіюча сталь (Uопор 100 v) | ++ | 160” | 90% | 3,00 | 220 | 7,5% | 5% | 28% | 28% |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-…-TiCxNy-C/Ti | ++ | 180” | 100% | 3,25 | 187 | 14% | 9% | 19% | 19% |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-C3N4 / Нержавіюча сталь | ++ | 160” | 95% | 3,25 | 192 | 6% | 2,5% | 20% | 20% |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-C3N4 / Нержавіюча сталь | ++ | 160” | 95% | 2,75 | 181 | 6% | 4% | 15% | 9% |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-/Ti (Uопор 300 v) | ++ | 170” | 105% | 3,00 | 208 | 7,5% | 5% | 31% | 31% |
|  | Al2O3+Zr2/ Нержавіюча сталь | ++ | 180” | 100% | 3,25 | 260 | 9% | 5% | 32% | 32% |
|  | Al2O3+Ti2 | ++ | 160” | 100% | 3,50 | 181 | 11% | 9% | 31% | 31% |
|  | ФПУМ №3 | ++ | 190” | 100% | 3,50 | 176 | 7,5% | 5% | 25% | 25% |
|  | ФПУМ №4 | ++ | 260” | 100% | 3,50 | 212 | 6% | 4% | 30% | 30% |
|  | ФПУМ №7 | ++ | 170” | 90% | 3,75 | 158 | 11% | 10% | 40% | 40% |
|  | ФПУМ №9 | ++ | 180” | 95% | 3,5 | 150 | 10% | 7,5% | 31% | 31% |
|  | Нержавіюча сталь (SS) | ++ | 170” | 100% | 3,25 | 198 | 11% | 6% | 14% | 7,5% |

Примітки: **А** - середні показники параметрів крові волонтерів. **1.** Зразок металу та покриття з таблиці 5. **2.** Розчинний фібрин. **3.** Плазменний лізис (N = 130-140''). **4.** Протромбіновий індекс (N = 80-100%). **5.** Фібриноген (N = 2-4 г/л). **6.** Кількість тромбоцитів (N = 150.00-350.00). **7.**Концентрації тромбоцитів і фібриногену в суцільній крові та фібриногену в модельному розчині після контакту з покриттями в присутності 1 ммоль АТФ **а)** агрегація тромоцитів; **б)** СІАТ. **8.**Концентрації тромбоцитів і фібриногену в суцільній крові й фібриногену в модельному розчині після контакту з покриттями в присутності 5 ммоль АТФ **а)** агрегація тромоцитів; **б)** СІАТ. Експозиція при тестуванні становила 1 годину, всі реакції відбувалися при 370С.

Як видно з наведених у таблиці 6 даних, найбільш інформативними для характеристики поводження зразків покриттів у суцільній крові *in vitro* є зміни показників фібриногену, кількості тромбоцитів та реакції тромбоцитів на різні концентрації індукторів (АДФ). Зміна інших показників крові *in vitro* не давали можливість рівнозначно судити про біосумісність покриттів, що проходили тестування. Покриття Ti, чистим Zr та три полімерні ФПУМ № 4, 7 і 9 покриття були нами відібрані як найбільш перспективні, і які придатні для нанесення на стенти, з можливістю імплантування у СМД.

***Оцінка впливу стентів з традиційними та новими покриттями на морфологічні зміни стінки судин експериментальних тварин.*** На протязі усіх досліджень проводили у динаміці вимір біохімічних показників крові тварин: у момент взяття тварини в експеримент, перед імплантацією стенту та перед виведенням тварини з експерименту. Було встановлено, що показники крові істотно відрізнялися у залежності від виду покриття, що було нанесено на імплант. Приводимо таблицю середніх показників холестерину й С-реактивного білку (CRP), як найбільше патогенетичних параметрів у оцінці розвитку та динаміки запального процесу, а також підвищення атероматозності плазми крові експериментальних тварин на трьох стадіях експерименту (таблиця 7).

### Таблиця 7.

Показники холестерину та CRP крові експериментальних тварин у ході експерименту для вивчення впливу різних покриттів на організм тварин.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Групи** **покриттів** | **CRP** (mg/l) | **Холестерин** (mg/dl) |
| % від вихідного значення перед операцією  |  % від вихідного значення перед виведенням з експерименту | Вихідне значення | Перед операцією |  % від вихідного значення перед операцією | % від вихідного значення перед виведенням з експерименту |
| № 1 | 465,42 | 405,5 | 29,92 | 43,01 | 144 | 87 (26,13) |
| № 2 | 438,17 | 366,22 | 28,84 | 46,68  | 162 | 141 (65,99) |
| № 3 | 1060,25 | 272,12 | 39,52 | 40,13 | 102 | 138 (54,53) |
| № 4 | 309,64 | 135,28 | 35,92 | 46,46 | 129 | 199 (71,51) |
| АК | 423,46 | 142,21 | 34,82 | 38,12 | 109 | 128 (44,57) |
| SS | 476,43 | 606,18 | 35,77 | 46,28 | 129 | 178 (63,71) |
| ФПУМ \* | 436,52 | 234,98 | 32,84 | 42,35 | 115 | 96 (40,66) |

Примітка: \* Показники крові у групах тварин зі стентами, вкритими ФПУМ 3, 4, 7, та 9 практично не відрізнялися і тому були зведені до однієї групи.

Зміна рівня CRP у сироватці крові експериментальних тварин дозволяє зробити висновок, що покриття № 1 та нержавіюча сталь викликає найбільш потужні запальні реакції, а покриття № 3, 4, АК та ФПУМ практично не подразнюють стінку судини.

На сьогоднішній день не існує стандартизованого протоколу виміру розростання неоінтими після імплантації стенту. Для визначення розвитку рестенозуа у стенті істотним є зміна площі поперечного переріза просвіту судини. У першому наближенні стінку судини можна уявляти собі як дві концентричні окружності. Зменшення діаметра внутрішньої окружності буде відповідати ступеню розвитку рестеноза. Звідси маємо, що визначення площі кільця, утвореного концентричними окружностями, буде наочно відображати звуження просвіту самої судини або просвіту усередині стента. Площа поперечного перерізу просвіту судини розраховується по формулі **S = *π* r2**, де **r** – радіус перерізу просвіту судини. Площа кільця, утвореного концентричними окружностями, визначається за формулою **S = *π (*R2-r2)**, де **R** – радіус зовнішнього кільця й відповідає зовнішньому розміру судини, а **r** – радіус перерізу просвіту судини.

Як видно з формули, для визначення зміни площі поперечного переріза просвіту судини важливим є різниця між внутрішніми й зовнішніми розмірами судини, що і є у нашому уявленні товщиною стінки судини. Зміна внутрішнього радіуса навіть на невелику величину є істотною, тому що при розрахунках має характер геометричної прогресії. Наприклад, збільшення товщини стінки судини у 2 рази призводить до зменшення площі поперечного переріза у 4 рази. Особливо істотний вплив ця прогресія має при розвитку рестенозу у СМД. Рівень рестенозу у нашому дослідженні визначали за обсягом зменшенням просвіту судини, за рахунок стовщення його стінки. З огляду на це проводили аналіз даних морфометрії усіх дослідженнених 1308 гістологічних препаратів (таблиця 8).

З метою одержання найбільш об'єктивних результатів, приймали до уваги відношення сумарної товщини стінки судини, стосовно товщини стінки судини в інтактній зоні (таблиці 9, 10 та діаграма 1). Сумарне значення показників складалося з товщини стінки судини під ніжкою стенту й над нею. Окремо порівнювали значення товщини стінки судини між елементами стенту та значення товщини стінки судини у інтактній зоні. Останні значення дозволяли більш точно уявляти собі вплив різних покриттів на зміни у шарах клітин стінки судини.

### Таблиця 8.

Зведена таблиця результатів реакції тканин організму експериментальних тварин на імплантацію стентів з різними покриттями.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Покриття** | **Коментарі морфолога**  | CRPмг/л | Морфометрія мкм | **Аналіз гістолога** | **\_**тканина | **+** тканина | **Оцінка покриття** |
| Середнє значенняр>0,001 |
| **№ 1** | Стент вкритий неоінтимою, важко відділяється. Ніжки щільно фіксовані. | 10,30±3,09 | 323,19±21,6 | Атрофія структур стінки у місцях розташування ніжок стенту. Проліферація значна, гіперплазія виражена добре. |  **\_** | **+ + +** | дуже погано |
| **№ 2** | Стент вкритий неоінтимою, крововилив у стінці. | 9,12±2,39 | 389,82±18,61 | Дистрофія виражена значно, більше гіпертрофія, чім атрофія у місцях розташування ніжок стенту. |  **\_ \_** | **+ + +** | погано |
| **№ 3** | Стент вкритий неоінтимою, глибоко занурений у стінку судини. | 11,0±2,94 | 187,36± 10,13 | У порівнянні з інтактною зоною дистрофія стінки у місці ніжок добре виражена. | **\_ \_**  | **+** | добре |
| **№ 4** | Стент покритий неоінтимою, занурен у стінку судини. | 4,58±1,28 | 197,49± 13,06 | Дистрофія й атрофія у місцях знаходження ніжок стенту сполучна. | **\_ \_** |  | дуже добре |
| **SS** | Ніжки стента умуровані. Видаляються разом з неоінтимою. | 17,75±4,82 | 284,76±19,24 | Значна гіперплазія у місці знаходження ніжок стенту. |  | **+ +** | погано |
| **ФПУМ** **№ 7, 9** | Стент вкритий неоінтимою, важко відділяється | 2,8±0,51 | 157,56± 13,21 | Дистрофія виражена незначно, атрофія у місцях знаходження ніжок. | **\_ \_**  |  | дуже добре |
| **АК** | Стент покритий тонким шаром неоінтими, занурений у стінку. | 1,75±0,61 | 169,47± 15,06 | Дистрофія не виражена, невелика атрофія у місцях знаходження ніжок. | **\_**  |  | дуже добре |

### Таблиця 9.

Таблиця середніх значень товщини стінки черевної аорти кролів у місцях знаходження ніжок стентів з різними покриттями (p > 0,001).

|  |  |
| --- | --- |
| Групипокриттів | Товщина стінки аорти в мкм |
| Під ніжкою стенту | Над ніжкою стенту | Між ніжками стенту | Інтактна зона |
| № 1 | 150,72 ± 21,6 | 219,40 ± 18,61 | 275,98 ± 74,61  | 176,54 ± 13,06 |
| № 2 | 215,44 ± 19,84 | 213,22 ± 22,31 | 292,99 ± 53,42 | 234,12 ± 11,02 |
| № 3 | 99,81 ± 11,54 | 68,25 ± 10,32 | 205,64 ± 38,97 | 150,03 ± 8,29 |
| № 4 | 127,85 ± 10,33 | 81,10 ± 11,45 | 186,03 ± 22,13 | 202,61 ± 10,02 |
| АК | 139,54 ± 7,56 | 29,07± 8,42 | 146,50 ± 22,01 | 139,54 ± 11,02 |
| SS | 168,38 ± 25,32 | 144,65 ± 15,06 | 256,50 ±21,69 | 184,48 ± 12,05 |
| ФПУМ №7, 9 | 129,84 ± 21,06 | 58,34 ± 9,52 | 150,76 ± 32,06 | 210,31 ± 10,56 |

Таблиця 10.

Таблиця відносних середніх значень товщини стінки черевної аорти кролів у різних місцях знаходження ніжок стентів з різними покриттями (p < 0,001).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Групи покриттів | NТовщина інтактної зони судини | С Товщина над ніжкою стенту + під ніжкою стенту | C/N Х 100% | С1Товщина стінки судини між ніжками стенту | С1/N X 100% |
| **№ 1** | 176,54 | 370,13 | 209,65 | 275,97 | 156,3 |
| **№ 2** | 234,12 | 428,66 | 183,09 | 292,99 | 125,6 |
| **№ 3** | 150,03 | 168,06 | 112,00 | 205,64 | 137,06 |
| **№ 4** | 202,61 | 208,95 | 103,00 | 186,03 | 92,01 |
| **АК** | 139,54 | 142,61 | 102,15 | 146,50 | 105,03 |
| **SS** | 184,48 | 213,03 | 115,48 | 256,51 | 139,02 |
| **ФПУМ №7, 9** | 210,31 | 188,18 | 89,48 | 150,76 | 71,68 |

Діаграма 1.

Проведено математичний аналіз результатів морфометрії усіх покриттів, що брали участь у дослідженні. Наведені гістограми вказують на те, що покриття №4 (цирконій) ФПУМ та АК приводять до найменшого зростання товщини неоінтими.

***Визначення сумісності (тропності) організму певного реципієнта до різних видів покриттів за допомогою АСМ.*** У роботі проведені серії модельних експериментів з метою оцінки можливості застосування АСМ для прогнозування ступені біосумісності матеріалів з організмом реципієнта. У ході роботи був вивчен процес окремих міжмолекулярних взаємодій, при якому реєструвалися сили взаємодії функионализованого зонду АСМ із об'єктом, що досліджували, залежно від відстані між зондом та поверхнею об'єкта (малюнок 14).

Мал. 14. Визначення сили відриву Fc за даними АСМ.

У початковий момент зонд перебував далеко від поверхні зразка (точка 1), але зонд наближався до поверхні під впливом дальнодіючих молекулярних сил, аж до утворення контакту (точка 2). У момент, коли зонд безпосередньо торкався поверхні (точка 3) починався зворотний рух консолі, аж до певного моменту (точка 4), коли адгезійний зв'язок руйнувався, і консоль знову ставала вільною. Адгезійнийю зв'язок можна охарактеризувати силою відриву Fc(малюнок 14), що відповідає величині стрибка на кривій від мінімуму до нуля при збільшенні відстані “зонд/поверхня”. Для зручності порівняння різних даних вертикальне положення Δd сканера АСМ завжди буде відлічуватися щодо положення точки 4. Силові криві (залежності сили взаємодії від відстані “зонд/поверхня”) реєструвалися в дослідженні при кімнатній температурі (250 С). Сила взаємодії визначалася за визначенням величини пружної деформації консолі зонду АСМ Δ d як F = k Δ d, де k – пружна постійна консолі зонда. Отримані результати вивчення взаємодії зразків з модифікованим зондом за допомогою АСМ мають підтвердження у експериментах *in vivo*. У таблиці 11 представлені середні значення сил взаємодій між досліджуваними поверхнями та зондом АСМ, модифікованим антитілами (АТ). По 150 вимірів на кожний зразок поверхні.

Таблиця 11.

Сили притягування/утримання зонду, модифікованого АТ, різними поверхнями (p < 0,001).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Зразок** | **Сила притягання (нН)** | **Сила утримання (нН)** |
| **Au** | 4. 776 | 34. 758 |
| **Аморфний вуглець** | 5. 183 | 32. 074 |
| **ПУМ** | 2. 396 | 26. 283 |
| **АК** | 1. 292 | 9. 632 |
| **Zr** | 1. 591 | 10. 629 |
| **DLC** | 1. 017 | 21. 724 |
| **Ti** | 1. 338 | 20. 846 |
| **SS** | 3. 858 | 23. 838 |
| **ФПУМ** | 1. 927 | 13. 102 |

Як можно побачити з результатів, зразки за здатністю утримувати зонд розташовуються у наступній послідовності: Au, вуглець, ПУМ, SS, DLC, Ti, ФПУМ, Zr та АК. За силами притягування зразки мають дещо інший вигляд: аморфний вуглець, Au, SS, ПУМ, ФПУМ, Ti, Zr, АК і DLC. Ці результати корелюють з результатами біохімічних, гістологічних та фізичних досліджень. Виключенням є покриття аморфним вуглецем. Значення сили притягування модифікованного АСМ зонду, було нижче, ніж для АК (1,017 нН проти 1,292 відповідно). У всіх інших випадках у дослідах *in vitro* та *in vivo* зроблені нами положення збігалися. Близькі дані у випадку модифікації поверхонь антигену (АГ), у нашому випадку САК, свідчать про те, що активні центри поверхні зразків модифікуються за рахунок адсорбції молекули альбуміну, що приводить до їх блокади, та проявляється в зниженні сил утримання зонду поверхнею.

***Обґрунтування застосування у клініці стентів з новими покриттями для поліпшення якості лікування хворих.***Стент розглядається як сторонній матеріал, отже, необхідно запроваджувати картування на сумісність даного матеріалу стента до організму певного пацієнта. У роботі розроблені принцип та механізм тестування матеріалу на сумісність до організму реципієнта за допомогою АСМ. В результаті досліджень був розроблений алгоритм.

**Хворий з показанням для імплантації стенту у СМД**

Картування спектру матеріалів, що дозволені для виготовлення стентів, на біосумісність з організмом реципієнта за величиною утримання зонду методом АСМ (нН)

Визначення рівня

CRP у сироватці крові пацієнта пациента

Підвищений рівень CRP

Позитивнй результат (≤20 нН), рекомендація імплантації певного стенту

Негативний результат

(>45 нН)

Використання АК для модифікації поверхні стенту перед імплантацією

Проведення протизапальної ї антигістамінної терапії

**Попередження розвитку РвС СМД**

Мал. 15. Алгоритм проведення обстеження у клініці пацієнта перед імплантацією стенту.

**ВИСНОВКИ**

1. На основі міждисциплінарних комплексних досліджень, розроблені нові покриття для стентів з підвищеної тромборезистентністю та антипроліферативними властивостями поверхні, які здатні попередити розвиток рестенозів при імплантації у судини малого діаметру, та обґрунтовано застосування цих імплантів у клініці для поліпшення якості лікування хворих;
2. Встановлено, що причинами розвитку рестенозів в просвіті стенту у судинах малого діаметра є:
* ригідність судинної стінки у місці імплантації стенту;
* циліндрична форма конструкції стенту, що призводить до нерівномірного навантаження на стінку судини, механічному подразненню її структур і підвищеній відповіді тканин;
1. Показано, що покриття стентів, які застосовуються на цей час, являють собою активні подразники організму реципієнта, а поверхні стентів піддаються різним видам корозії або деструкції полімерного покриття, що є наслідок прояв захисної реакції організму. Це підтверджується підвищенням рівня С-реактивного білку у сироватці крові кролів у період знаходження стенту у організмі (8 тижнів);
2. Встановлено, що показником тромбогеності покриттів є зниження концентрації фібриногену більш ніж на 30%, зменшення на 35% кількості тромбоцитів у суцільній крові та зміна їх функціональної активності у присутності різних концентрацій індуктора агрегації тромбоцитів (аденозин дифосфата). Показано, що тромборезистентність покриття є необхідною, але не достатньою вимогою до матеріалу для виготовлення стентів;
3. Встановлені закономірності зміни товщини стінок судини при використанні покриттів різної природи. Показано, що голий стент із нержавіючої сталі 316L дає збільшення товщини стінки судини на 40%,. покриття стенту цирконієм приводить до атрофії стінки судини на 9%, а нанесення фторвмісних поліуретан сечовин на 15%, у порівнянні з інтактним сегментом судини (р<0,001);
4. Показано, що нанесення на стент із нержавіючої сталі 316L покриттів фторсумісних поліуретан сечовин з ароматичними подовжувачами ланцюга, з атомами фтору в орто- і пара- положенні і покриттів на основі цирконію перешкоджають виникненню корозії металу. Нанесення композиції, що адаптує до організму реціпіента, на поверхню стенту також перешкоджає виникненню корозії металу й сприяє утворенню мінімального шару неоінтими, що становить не більше 2% стосовно інтактного сегменту судини (р<0,001);
5. Уперше запропонований метод визначення біосумісності матеріалів з живим організмом, заснований на визначенні сили адгезії високо специфічної аффинної пари “антиген-антитіло” за допомогою атомно-силової мікроскопії. Метод може бути застосований у клініці для експрес тестування матеріалу імпланту з метою прогнозування його сумісності з організмом певного реципієнта;
6. Запропоновано метод розробки стентів, що саморозширюються, для судин будь-якого діаметра, та створення конструкцій, близьких до індивідуальних вимог пацієнта, заснований на геометричному аналізі архітектоніки стенту, що змінюється, які були проведені за допомогою комп'ютерного моделювання.

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.**

1. При розробці моделі стентів для судин малого діаметра, необхідно враховувати силу тиску елементів конструкції імпланту на стінку судини, для запобігання її регідності. стент повинен мати певні пружні-динамічні властивості та у робочому стані давати можливість звужуватися судині, не більше, ніж на 20-25% просвіту;
2. Стент необхідно імплантувати у судини малого діаметра, по можливості прецизійно, без захоплення ділянок судини, не уражених атеросклерозом;
3. Найбільш інформативними для прогнозування поведінки у крові покриттів, нанесенних на стенти *in vitro* є зміни показників фібриногену, кількості тромбоцитів, функціональної активності тромбоцитів при різних концентраціях аденозин дифосфату в суцільній крові, хоча тромборезистентність покриття є необхідною, але не достатньою характеристикою для судинного стенту;
4. При виготовленні стентів необхідно застосовувати покриття, які не піддаються агресії з боку організму пацієнта, тобто сполук цирконію, нанесеними за допомогою магнетронної распилюючої системи або фторовмісними поліуретан сечовини з добрими адгезійними властивостями до металевої поверхні;
5. Проведення обстеження пацієнтів перед імплантацією стентів у судини малого діаметра за розробленим алгоритмом, дозволить уникнути розвитку рестенозу у стенті та необхідності зворотної госпіталізації з рецидивом захворювання, значно зменшить вартість оперативного втручання й поліпшить якість лікування хворих.
6. Найбільш простим засобом модифікації поверхні стенту для судин малого діаметра, є розроблена автором адаптуюча композиція, що дозволяє нівелювати, або повністю усунути реакцію стінки судини на імплант.

**СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Бобров В.А., Лазаренко О.Н., Сморжевский В.И. Нанотехнологии в разработке и исследовании новых тромборезистентных и антипролиферативных покрытий стентов для сосудов малого диаметра; под ред. Бобров В.А. – К: Издательский Дом “Здоров’я України”, 2007. – 164 с. (Здобувачем написані усі розділи досліджень у монографії, проведена підготовка видання до друку).
2. Синкопальные состояния детерминанты развития, возможности диагностики, лечения и профилактики / В.А. Бобров, А.П. Степаненко, В.И. Боброва, В.И. Паламарчук, Е.В. Боброва, О.Н. Лазаренко, Н.В. Бортняк. - Учебно-методическое пособие, МЗ Украины, Киевская медицинская академия последипломного образования им. П.Л.Шупика. – К.: 2006. – 70с. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, написання свого розділу у підручнику, підготовка до друку).
3. Лазаренко О.Н. Влияние ингибиторов АПФ на развитие рестенозов после ЧТКА // Изд. Республики Беларусь. Журнал Медицина. - 2002. - № 3 (38). - С. 27-28.
4. Лазаренко О.М. Реакція судинної стінки на різні види покриттів стентів // Галицький лікарський вісник. – 2002. - Т.9. - № 3. - С. 178-179.
5. Лазаренко О.Н. Причина возникновения рестеноза в стенте // Журнал Клінічна хірургія.- 2004. - №.1. - С. 34-36.
6. Лазаренко О.Н. Черезкожные коронарные вмешательства: история и борьба с осложнениями // Журнал Практична ангіологія. – 2007. - № 1(7). – Стр. 42-49.
7. Лазаренко О.Н. Влияние применяемых покрытий стентов на склонность их к тромбообразованию и развитию рестенозов // Журнал Практична ангіологія. – 2007. - № 2(8). – Стр. 37-41.
8. Шекера О.В., Бородин А.Є., Алексєєва Т.А., Лазаренко О.Н., Ошкадеров С.П. Фторсодержащие полиуретанмочевины в качестве покрытий коронарных стентов // Доклады НАНУ. - 2005. - №5. - С. 149-154. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, запроваджено аналіз результатів дослідження, виконана статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
9. Бобров В.А. Лазаренко О.Н. Развитие рестеноза после установки стента в зависимости от состояния атеросклеротической бляшки // Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім.П.Л.Щупика 2004. - книга 2 (випуск 13). - С. 347-353. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, висунута гіпотиза розвитку рестенозу, виконана статистична обробка данних, розроблен алгоритм обстеження та лікування паціентів, написання статті та підготовка її до друку).
10. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Ошкадеров С.П., Скиба И.А., Дэниер С., Фарайер Р., Михаловский С. Новые неорганические покрытия для коронарных стентов // Журнал Український медичний часопис. - 2004. - № 4/42. - С.109-113. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка до друку).
11. Шекера О.В., Алексеева Т.А., Бородин А.Е., Лазаренко О.Н. Синтез и тромборезистентные свойства фторированных полиуретанмочевин // Украинский химический журнал.- 2004. - Т. 70.- № 4.- С. 212-216. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконано аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
12. Лазаренко О.Н., Сергиенко О.В., Алексеева Т.А., Ошкадёров С.П., Скиба И.А., Шекера О.В., Дениер С., Михаловский С. Изменения структуры стенки аорты кролика при установке стентов с различными покрытиями // Украинский кардиологический журнал. - 2003. - № 1. - С. 96 -98. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконано аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
13. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Ошкадеров С.П., Шекера О.В., Пасечный С.В. Реакція ендотелію на різні види імплантатів // Журнал Практична медицина. - 2003.- № 1 (том IX). - С. 129-130. (Здобувачем проведено усі оперативні втручання, відслідковані морфологічні зміни на препаратах та зроблен їх аналіз, написання статті та підготовка її до друку).
14. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Шекера О.В., Ошкадеров С.П. Реакция стенки артерии у кроликов с повышенной атерогенностью плазмы крови на имплантацию стентов, покрытых фторсодержащими полиуретанмочевины // Журнал Экспериментальная и клиническая медицина. - 2003. - №3-4.- С. 106-109. (Здобувачем проведено усі оперативні втручання, відслідковані морфологічні зміни на препаратах та зроблен їх аналіз, написання статті та підготовка її до друку).
15. Лазаренко О.Н., Ошкадёров С.П., Алексеева Т.А., Скиба И.А. Изменения в аорте кроликов после установки стентов с новыми неорганическими покрытиями // Журнал Экспериментальная и клиническая медицина. - 2002. - №3. - С. 123-125. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
16. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Шекера О.В., Скиба И.А. Морфология аорты кроликов после установки стентов с полимерными покрытиями // Журнал Экспериментальная и клиническая медицина. - 2002. - №2. - С. 19-21. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
17. Алексеева Т.А., Лазаренко О.Н., Ошкадёров С.П., Скиба И.А. Морфологические изменения в аорте кроликов после установки стентов с неорганическими покрытиями на фоне введения пирогенала // Журнал Буковинский медичний вісник. - 2002. - №2. - С. 171-173. (Здобувачем проведено аналіз літературних даних, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
18. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Ошкадеров С.П., Скиба И.А., Denyer S., Mikhalovski S. Вплив структури поверхні стентів на їх біосумісність із судинною стінкою // Журнал Практична медицина. - 2002. - № 2 (том VIII). - С. 107-109. (Здобувачем проведено аналіз літературних даних, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
19. Лазаренко О.Н., Шекера О.В., Алексеева Т.А., Демидюк Д.В., Скиба І.А. Покриття для коронарних стентів на основі фторованих поліуретанів // Журнал Шпитальна хірургія. - 2001. - № 1. - С. 118-120. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, статистичної обробки данних лабораторніх аналізів, написання статті та підготовка до друку).
20. Лазаренко О.М., Алексеева Т.А., Демидюк Д.В., Скиба І.А., Сердюк Г.И., Пасічний С.В. Тестування неорганічних покриттів для коронарних стентів // Журнал Шпитальна хірургія. - 2001. - № 1. - С. 64-67. (Здобувачем проведено аналіз літературних даних, виконана статистична обробка данних лабораторніх аналізів, написання статті та підготовка її до друку).
21. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Шекера О.В., Скиба И.А. Разработка новых покрытий для коронарных стентов // Журнал Шпитальна Хірургія. - 2000. - № 1. - С. 75-77. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, статистична обробка данних лабораторніх аналізів, написання статті та підготовка її до друку).
22. Алексеева Т.А., Карпенко Г.Ф. Лазаренко О.Н. Повышение биосовместимости активированных углеродных сорбентов, модифицированных белками // Украинский кардиологический журнал. - 1998.- № 7-8, С. 74-77. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, статистична обробка данних лабораторніх аналізів, написання статті та підготовка її до друку).
23. Белоножко А.Г., Степаненко А.П., Лазаренко О.Н., Демидюк Д.В. Поражение ствола левой коронарной артерии у пациентов ишемической болезнью сердца // Украинский кардиологический журнал. - 1997. - № 4, С. 17-20. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, статистична обробка данних та підготовка статті до друку).
24. Соколов Ю.Н., Соколов М.Ю., Костенко Л.Н., Грабов С.А., Терентьев В.Г., Лазаренко О.Н., Гершкович И.В., Тарапон И.В., Цыж А.В Применение перкутанной транслюминальной коронарной ангиопластики при лечении ишемической болезни сердца // Украинский кардиологический журнал. - 1996. - № 5-6, С. 23-29. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовка статті до друку).
25. Соколов Ю.Н., Соколов М.Ю., Костенко Л.Н., Грабов С.А., Лазаренко О.Н., Гершкович И.В., Цыж А.В., Демидюк Д.В. Перкутанная транслюминальная коронарная ангиопластика у больных стабильной стенокардией с различным морфофункциональным состоянием коронарного русла и миокарда // Украинский кардиологический журнал. - 1996. - № 1. - С. 9-15. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовка статті до друку).
26. Lazarenko O., Alekseyeva T., Bobrov V., Litvin P., Oshkaderov S. Application de la MFA pour prédire le taux de réaction de la paroi de vaisseau au stent // IX Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2007. - P. 54. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
27. Lazarenko O., Alekseyeva T., Shekera O., Gomolyako I., Mikhalovskiy S. Revetement optimal des stents destines aux vaisseaux de petit diametre // VIII Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2006. - P. 105. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
28. Lazarenko O., Yanchenko V., Alekseyeva T., Bobrov V., Litvin P., Litvin O., Oshkaderov S. Méthode physique de détermination de la biocompatibilité des matériaux pour les implants intravasculaires // VIII Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris.- 2006. - P. 114. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання роботи).
29. Лазаренко О.Н., Дроботун И.В., Гомоляко И.В., Алексеева Т.А., Ошкадёров С.П., Шекера О.В. Влияние различных покрытий стентов на пролиферацию неоинтимы в эксперименте // Материали Конференции с международным участием “Актуальные вопросы абдоминальной и сосудистой хирургии. Клинические проблемы трансплантации органов”. - Журнал Клінічна хірургія. - 2006. - №.4-5. - С. 82-83. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання работи, підготовка її до друку).
30. Lazarenko O., Aleksyeyva T., Ochkaderov S., Homolyako I., Borisov Yu. Zirconium coating for coronary stents // “Endovascular Biomechanics Research”. - France, Marseille. - 2006. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконано аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
31. Lazarenko O., Aleksyeyeva T., Homolayko I., Lazarenko A. The alteration of CRP level after experimental implantation of stent as a prognostic index of the development of restenosis in stent // “Artery 5”. - France, Paris. - 2005. - P. 19. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконано аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
32. Lazarenko O., Aleksyeyeva T., Homolayko I. Taux eleves de CRP et de glucose lors de l’implantation d’un stent comme signe pronostique de l’evolution de restenose // VII Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2005. - P. 115. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, підготовка роботи до друку).
33. Lazarenko O., Aleksyeyeva T. Le revetement des constructions endovasculaires par le plasma sanguin previent leur destruction dans l’organisme // VII Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2005. - P. 130. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
34. Lazarenko O., Aleksyeyeva T., Homolayko I., Lazarenko A. Un changement du CRP niveaux apres l`implantation d`un stent dans une experince comme indicateur prongnostique du developpement de la restenose dans un stent // VI Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2004. - P. 124. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
35. Lazarenko O., Mikhalovsky S., Santin M., Terr D., Field S. Reaction de la paroi aortiqe a differentes couvertures inorganiques. Experimentation animale // VI Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2004. - P. 123. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
36. Aleksyeyeva T., Lazarenko O., Mikhalovsky S., Santin M., Terr D., Field S. The corrosion stents stability after implantation (experimental study) // VI Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2004. - P. 110. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
37. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Гомоляко И.В., Ошкадеров С.П., Янченко В.В. Адаптаген для коронарных стентов // Матеріали VII національного конгресу кардіологів України.- 21-24 вересня, 2004.- С. 270. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
38. Лазаренко О.Н., Сергейчук С.В. Геометрические вопросы моделирования коронарных стентов // Матеріали VII національного конгресу кардіологів України.- 21-24 вересня, 2004. - С. 107. (Здобувачем зроблен аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
39. Shekera O., Kozak N., Alekseeva T., Lazarenko O., Nizelskii Yu. Tromboresistant Fluorocontaining Poly(urethane urea)s: Synthesis, Properties and Application // 7th Essen Symposium on Biomaterials and Biomechanics: Fundamentals and Clinical Applications. - October, 6th –8th, 2004. - P. 90-91. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
40. Aleksyeyeva T., Lazarenko O., Mikhalovsky S., Homolyako I., Mikhalovska L. Various inorganic coatings for modification of the metal stent`s surface // 7th Essen Symposium on Biomaterials and Biomechanics: Fundamentals and Clinical Applications. - October, 6th –8th, 2004.- P. 88. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
41. Шекера О.В., Алексеева Т.А., Лазаренко О.Н., Козак Н.В., Бородин А.Е. Фторовмісні поліуретансечовини: синтез та властивості // Матеріали конференції “Природні науки на межі століть”. - 2004. - м. Нежин, 23-25 березня 2004 р.- С. 132-133. (Здобувачем прооперовані усі тварини, проведен аналіз результатів дослідження, статистична обробка отриманих даних).
42. Шекера О.В., Тарасенко К.В., Лазаренко О.Н., Мужев В.В., Алексеева Т.А., Бородін А.Е. Фторвмісні ароматичні діаміни як мономери для синтизу поліуретаносечовин медичного призначення // Матеріали конференції “Домбровські хімічні читання 2003”. - 2003. - м. Черкаси, 26-28 травня 2003 р. С. 59. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних).
43. Lazarenko O. L’adaptogen pour des stents aortiques “Catyusha” // “V Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle”. - France, Paris. - 2003.- P. 152. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання роботи).
44. Lazarenko O. One if the causes of in-stent restenosis development // “IV Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle”. - France, Paris. - 2002.- P. 152. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання роботи).
45. Lazarenko O.N., Alexeeyva T.A., Ochkaderov S.P., Skiba I.A. The influence of the stent`s surface on restenosis development // “IV Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle”. - France, Paris.- 2002.- P. 129. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
46. Vinnichenko M., Alexeeyva T., Tsiolko V., Lytvyn P., Lazarenko O., Shama N., Ochkaderov S., Poperenko L., Kulish M. Investigation of human serum albumin adsorption on the austenitic stainless steel surfaces treated in oxygen glow discharge // “Problems of Optics & High Technology Material Science SPO 2002”. - October 24-26. - Kiev, Ukraine. - 2002. - P. 210. (Здобувачем проведен аналіз результатів дослідження, статистична обробка отриманих даних).
47. Alexeeyva T.A., Lazarenko O.N., Ochkaderov S.P., Skiba I.A. Inorganic coatings for intravascular construction // III Symposium Endocoronary Biomechanics and Restenosis. - France, Marselle. - 2002. - Р. 34. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання роботи).
48. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Шекра О.В., Скиба И.А. Новое покрытие стентов из производных полиуретан флуорина // Матеріали “I Российский Съезд Интервенционных Кардиологов”. - Россия. - Москва. - 2002 - С. 116-117. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання роботи).
49. Lazarenko O.N., Alexeeyva T.A., Shekera O.V., Skiba I.A. New coatings for coronary stents based on fluorine derivatives // III Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2001. - P. 34. (Здобувачем проведено аналіз та статистична обробка данних лабораторніх аналізів, підготовка до друку роботи).
50. Лазаренко О.Н., Шекера О.В., Бородін А.Є., Алексєєва Т.А., Ліпатов Ю.С. Фторовмісні гемосумісні поліуретани медичного призначення // XI українська Конференція з Високомолекулярних Сполук.- м. Київ.- 26-28 вересня 2000 р.- C. 124. (Здобувачем проведено аналіз та статистична обробка данних лабораторніх аналізів, підготовка роботи до друку).
51. Lazarenko O.N., Alexeeyva T.A., Shekera O.V. New bio-compatible coatings for intravascular stents based on polyurethane fluoride derivatives // II Symposium Endocoronary Biomechanics and Restenosis. - France, Marselle. - 2000. - P. 88. (Здобувачем проведено аналіз та статистична обробка данних лабораторніх аналізів, написання та підготовка роботи до друку).
52. Lazarenko O.N., Alexeeyva Т.A., Mikhalovsky S.V., Shekera O.V., Serdyuk G., Faragher R.G.A. In vitro biocopatibility of intravascular stent coatings // Журнал Artificial Organs. - 1999. - Vol. 23. - № 7. - Р. 684. (Здобувачем проведено аналіз та статистична обробка данних лабораторніх аналізів, написання та підготовка роботи до друку).
53. Lazarenko O.N., Alexeeyva T.A., Shekera O.V., Skiba I.A. Biocompatibility of different intravascular stent coatings with whole blood // Журнал Basic Research in Cardiology. -1999. - Vol. 94. - № 5. - P. 379. (Здобувачем проведено аналіз та статистична обробка данних лабораторніх аналізів, підготовка роботи до друку).
54. Lazarenko O., Alexeeyva T., Kostenko L., Guershkovich I., Tretjak I. The prevention of restenosis after successful PTCA in patients with angina pectoris // I Congres Francophone de Cardiologie Interventionnelle. - France, Paris.- 1997.- P. 134. (Здобувачем проведено аналіз клнічних даних, аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання та підготовка роботи до друку).
55. Соколов Ю.Н., Соколов М.Ю., Костенко Л.Н., Грабов С.А., Терентьев В.Г., Лазаренко О.Н., Гершкович И.В., Демидюк Д.В. Оценка эффективности коллатерального кровотока в защите миокарда от ишемии при проведении перкутанной транслюминальной коронарной ангиопластики // Тезисы докладов IV научная конференция ассоциации сердечно – сосудистых хирургов Украины. - Киев. - 1996. - С. 150. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, підготовка роботи до друку).
56. Лазаренко О.Н., Соколов Ю.Н., Соколов М.Ю., Костенко Л.Н., Грабов С.А., Терентьев В.Г., Гершкович И.В., Демидюк Д.В. Профилактика рестенозов после проведения ПТКА // Тезисы докладов IV научная конференция ассоциации сердечно – сосудистых хирургов Украины. - Киев. - 1996.- С. 151. (Здобувачем проведено аналіз літературних даних, аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання та підготовка роботи до друку).
57. Лазаренко О.Н., Третяк И.В., Братусь В.В. Функциональные особенности сосудистого эндотелия после баллонной ангиопластики // Матеріали V національного конгресу кардіологів України. - Украинский кардиологический журнал. - 1996. - Додаток № 3, С. 87-88. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання та підготовка роботи до друку).
58. Бобров В.О., Тріщинсктй А.І., Шлапак І.П., Глумчер Ф.С., Жарінов О.Й., Степаненко А.П., Лазаренко О.М., Білоножко О.Г., Лісний І.І., Кудіна Ю.В., Ліфантьєва Н.О., Наконечна І.В., Клименко Л.В. Фактори ризику несерцевих хірургічних втручань при супутній ішемічній хворобі серця // Методичні рекомендації. - МОЗ України, Український центр наукової медичної інформації і патентно-ліцензійної роботи. - Київ. - 2005. – 15с. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, написання рекомендації, підготовка роботи до друку).
59. Шекера О.В., Бородін А.Є, Алексєєва Т.А., Мужев В.В., Лазаренко О.М., Ярова Н.В. поліуретаносечовини як плівкотворні полімерні матеріали та покриття на їх основі медичного призначення // Патент України 6С08G18/00, A61L33/00 15.02.2001. Бюл. №1. (Здобувачем прооперовані усі тварини, зроблен аналіз результатів медико-біологічних дослідженнь, статистична обробка даних, зроблен патентний пошук та написання патенту).
60. Янченко В.В., Алексеева Т.А., Лазаренко О.М., Ошкадёров С.П., Речовина для підвищення біосумісності імплантантів з організмом реципіента // Патент України 56960 7А61К33/14 15.05.2003. Бюл.№5, 2003 р. (Здобувачем прооперовані усі тварини, зроблен аналіз результатів дослідженнь, статистична обробка усіх данних, зроблен патентний пошук та написання патенту).
61. Шекера О.В., Бородин А.Є., Алексєєва Т.А., Козак Н.В., Лазаренко О.М., Нізельський Ю.М. Фторовмісні поліуретани як плівкотворні полімерні матеріали медичного призначення // Патент України 76351 7А61L33/00 17.07.2006. Бюл.№7, 2006p. (Здобувачем прооперовані усі тварини, зроблен аналіз результатів медико-біологічних дослідженнь, статистична обробка даних, зроблен патентний пошук та написання патенту).
62. Лазаренко О.М., Лазаренко А.О. Композиція для надання біосумісності імпланту з організмом реціпієнта // Патент України на корисну модель №20638 7А61К33/14 15.02.2007. Бюл.№2, 2007p. (Здобувачем прооперовані усі тварини, зроблен аналіз результатів усіх дослідженнь, статистична обробка отриманних даних, зроблен патентний пошук та написання патенту).
63. Лазаренко О.М., Лазаренко А.О. Композиція для надання біосумісності імпланту з організмом реціпієнта та підвищення васкуляризації тканин навколо імпланту // Патент України на корисну модель 20639 7А61К33/14 15.02.2007. Бюл.№2, 2007p. (Здобувачем прооперовані усі тварини, зроблен аналіз результатів усіх дослідженнь, статистична обробка отриманних даних, зроблен патентний пошук та написання патенту).

**АНОТАЦІЯ**

#### Лазаренко О.Н. Розробка та дослідження нових тромборезистентних і антипроліферативних покриттів стентів для імплантації в судини малого діаметру. Експериментальне дослідження. – Рукопис.

#### Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за фахом 14.01.03 - хірургія. Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика МОЗ України, Київ, 2008.

На основі міждисциплінарних комплексних досліджень встановлено, що практично всі покриття, на цей час наносяться на стенти, зазнають агресивної реакції з боку організму реципієнта, яка проявляється в корозії елементів конструкції стентів.

Виявлено, що причинами розвитку рестенозу в просвіті стенту в судинах малого діаметра є ригідність судинної стінки в місці імплантації стенту, циліндрична форма конструкції стенту, що приводить до нерівномірного навантаження на стінку судини, механічному подразненню її структур і підвищеній реакції тканин.

Встановлено, що показником тромбогеності покриттів є зниження концентрації фібриногену більш ніж на 30%, зменшення на 35% кількості тромбоцитів у цільній крові та зміна їх функціональної активності в присутності різних концентрацій індуктора агрегації тромбоцитів (аденозин дифосфата). Показано, що тромборезистентність покриття є необхідною, але не достатньою вимогою до матеріалу для виготовлення стентів.

Встановлено закономірності зміни товщини стінок судини при використанні покриттів різної природи. Показано, що стент із нержавіючої сталі 316L без покриття дає збільшення товщини стінки судини на 40%,. покриття стенту цирконієм приводить до атрофії стінки судини на 9%, а нанесення фторовмісних поліуретан сечовин на 15%, у порівнянні з інтактним сегментом судини (р<0,001).

Показано, що нанесення на стент із нержавіючої сталі 316L покриттів фторовмісних поліуретан сечовин з ароматичними подовжувачами ланцюга, з атомами фтору в орто- або пара- положенні та покриттів на основі цирконію перешкоджають виникненню корозії металу. Нанесення адаптуючої композиції на поверхню стента також перешкоджає виникненню корозії металу і сприяє утворенню мінімального шару неоінтими, що становить не більше як 2% в порівнянні до інтактного сегменту судини (р<0,001).

У дисертації вперше запропонован метод визначення біосумісності матеріалів з живим організмом, заснований на визначенні сили адгезії високо специфічної афіної пари “антиген-антитіло” за допомогою атомно-силової мікроскопії. Метод може бути впроваджен у клініці для експрес тестування матеріалу імпланту з метою прогнозування його сумісності з організмом певного реципієнта.

Проведення в клініці обстеження пацієнтів перед імплантацією стентів у судини малого діаметру за розробленим алгоритмом, дозволить уникнути розвитку рестенозу в стенті і необхідності зворотної госпіталізації з рецидивом захворювання, значно зменшить вартість оперативного втручання і поліпшить якість лікування хворих.

**Ключові слова:** *стенти, судини малого діаметру, нові покриття, рестеноз у стенті, нанотехнології, прогноз, експеримент.*

**АННОТАЦИЯ**

#### Лазаренко О.Н. Разработка и исследование новых тромборезистентных и антипролиферативных покрытий стентов для имплантации в сосуды малого диаметра. Экспериментальное исследование. – Рукопись.

#### Диссертация на соискание научной степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.03 – хирургия. Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л.Шупика МЗ Украины, Киев, 2008.

#### Диссертация посвящена проблеме разработке и создания новых покрытий для стентов с повышенной тромборезистентностью и антипролиферативными свойствами поверхности, способных предупредить развитие рестенозов в сосудах малого диаметра и обоснованию применения этих имплантатов в клинике для улучшения качества лечения больных.

На основе междисциплинарных комплексных исследований установлено, что практически все покрытия, наносимые в настоящее время на стенты подвергаются агрессии со стороны организма реципиента, выражающаяся в коррозии элементов конструкции.

Выявлено, что причинами развития рестеноза в просвете стента в сосудах малого диаметра является ригидность сосудистой стенки в месте имплантации стента и цилиндрическая форма конструкции стента, которая приводит к неравномерной нагрузке на стенку сосуда, механическому раздражению её структур и повышенному ответу тканей.

Показано, что применяемые в настоящее время покрытия стентов, являются активными раздражителями организма реципиента и поверхности стентов подвергаются различным видам коррозии или деструкции полимерного покрытия как следствие проявление защитной реакции организма. Это подтверждается повышением уровня С-реактивного белка в сыворотке крови экспериментальных животных в период нахождения стента в организме (8 недель);

Установлено, что показателем тромбогенности покрытий являются снижение концентрации фибриногена более чем на 30%, уменьшение на 35% количества тромбоцитов в цельной крови и изменение их функциональной активности в присутствии различных концентраций индуктора агрегации тромбоцитов (аденозин дифосфата). Показано, что тромборезистентность покрытия является необходимым, но не достаточным свойством материала для изготовления стентов.

Установлены закономерности изменения толщины стенок сосуда при использовании покрытий различной природы. Показано, что непокрытый стент из нержавеющей стали 316L даёт увеличение толщины стенки сосуда на 40%,. покрытие стента цирконием приводит к атрофии стенки сосуда на 9%, а нанесение фторсодержащих полиуретан мочевин на 15%, по сравнению с интактным сегментом сосуда (р<0,001).

Показано, что нанесение на стент из нержавеющей стали 316L покрытий фторсодержащих полиуретан мочевин с ароматическими удлинителями цепи, с атомами фтора в орто- и пара- положении и покрытий на основе циркония препятствуют возникновению коррозии металла. Нанесение адаптирующей композиции на поверхность стента также препятствует возникновению коррозии металла и способствует образованию минимального слоя неоинтимы, которое составляет не более 2% по отношению к интактному сегменту сосуда (р≤0,001).

В диссертации впервые предложен метод определения биосовместимости материалов с живым организмом, основанный на определении силы адгезии высоко специфичной аффинной пары “антиген-антитело” с помощью атомно-силовой микроскопии. Метод может быть применен в клинике для экспресс тестирования материала импланта с целью прогнозирования его совместимости с организмом определенного реципиента.

Так же предложен метод разработки саморасширяющихся стентов для сосудов любого диаметра, и создания конструкций, близких к индивидуальным требованиям пациента основанный на геометрическом анализе изменяющейся архитектоники стента, проведенного при помощи компьютерного моделирования и указано, что разрабатывая модели стентов для сосудов малого диаметра, необходимо учитывать силу давления элементов конструкции импланта на стенку сосуда, которые не будут делать ее ригидной. стент должен обладать определенными упруго-динамическими свойствами и в рабочем состоянии давать возможность суживаться сосуду, не больше, чем на 20-25% просвета и его необходимо имплантировать в сосуды малого диаметра, по возможности прецизионно, без захвата участков сосуда не пораженных атеросклерозом.

Определено, что наиболее информативными для прогнозирования поведения покрытий стентов *in vitro* являются изменения показателей фибриногена, количества тромбоцитов и функциональной активности тромбоцитов при различных концентрациях аденозин дифосфата в цельной крови, хотя тромборезистентность покрытия стента является необходимой, но не достаточной характеристикой сосудистого стента.

При изготовлении стентов необходимо применять покрытия, которые не подвергаются агрессии со стороны организма пациента, т.е. соединениями циркония, нанесенными с помощью магнетронной распылительной системы или фторсодержащими полиуретан мочевины с хорошими адгезивными свойствами к металлической поверхности, а наиболее простым средством модификации поверхности стента для сосудов малого диаметра, является адаптирующая композиция, разработанная авторами, которая позволяет нивелировать, или полностью устранить реакцию стенки сосуда на имплант.

Проведение в клинике обследования пациентов перед имплантацией стентов в сосуды малого диаметра по разработанному алгоритму, позволит избежать развития рестеноза в стенте и необходимости повторной госпитализации с рецидивом заболевания, значительно уменьшит стоимость оперативного вмешательства и улучшит качество лечения больных.

**Ключевые слова:** *стенты, сосуды малого диаметра, новые покрытия, рестеноз в стенте, нанотехнологии, прогноз, эксперимент.*

#### **SUMMMARY**

#### **Lazarenko O.M. Development and investigation of new thromboresistance and antiproliferative stent’s coatings for implantation into the vessels of small diameter. Experimental study. – Manuscript.**

#### The dissertation on competition of the Doctor of Medical Science degree in the specialty 14.01.03 - surgery. National medical academy of postgraduate education by P.L.Shupika Ministry of Health of Ukraine, Kiev, 2008.

On the base of complex interdisciplinary study there was find that practical all coatings which are in use today, are aggressively effected by recipients body and resulted in stents elements corrosion.

Also there was find that the causes of in-stent restenosis development in small vessels is the vessels wall rigidity at the site of stent implantation, the cylinder stents construction which results in the uneven loading on the vessel wall, its mechanical irritation by stents struts that promoted the tissue reaction.

It was stated that the index of coatings trombogenity is the decreasing fibrinogen concentration more than 30%, diminishing about 35% of platelets amount in whole blood and changing of their functional activity in the presence of different concentrations of platelets aggregation inductor (adenozin diphosphate). It is shown that coatings tromboresistance is a necessary, but not sufficient requirement to material stents manufacture.

There was determined the correlation between the changes in vessels wall thickness and the coatings of different nature. It was shown that stent from 316L stainless steel without coating results multiplying the vessel wall thickness by 40%. The stents coating by zirconium compounds leads to vessel walls atrophy over 9%, and using of fluorine polyurethane urea gives the 15% reduction in comparison of intact vessel part (р<0,001).

It was shown that coating stents made of 316L stainless steel by fluorine polyurethane urea with the aromatic extending of chain, with the atoms of fluorine in orto- or para- position and coatings on the basis of zirconium compounds prevents the metal corrosion. Treating the stents surface with adaptive composition also prevents the metal corrosion and evokes the formation of minimum layer of neointima which is about 2% in comparison to the intact vessels segment (р<0,001).

It was proposed for the first time the method of material compatibility determination with living body, based on evaluation adhesion force of between affinity pair “antigen-antibody” by an atomic-power microscopy. This method can be use in a clinic for express testing of implants material for prognosis its compatibility with the body of certain recipient.

Implementation in clinic the developed algorithm of patients examination before stents implantation into the vessels of small diameter, will allow to avoid development of in stent restenosis and necessity of repeated hospitalization with the disease recurrence, will noticeably decrease the hospital costs and will improve quality of patients treatment.

**Key words:** *Stent, vessels of small diameter, new coatings, in-stent restenosis, nanotechnology, prognosis, experimental****.***

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

|  |  |
| --- | --- |
| CRP - С-реактивний білок крові | ІХС - Ішемічна хвороба серця; |
| DLC - Покриття діамантоподібним вуглецем; | КА - Коронарна артерія; |
| Ig - Імуноглобуліни; | ЛКА - Ліва коронарна артерія; |
| SS - Нержавіюча сталь; | МРС - Магнетронна распилювача система; |
| *vv - Vasa vasorum*; | ПМШГ - Передняміжшлункова гілка; |
| АБ - Атеросклеротична бляшка; | РуС - Рестеноз у стенті; |
| АГ - Антиген; | САК - Альбумін сироватки крові кролів; |
| АК - Адаптуюча композиціяє; | СЕМ - Сканируючий електронний мікроскоп; |
| АСМ - Атомно-силовий мікроскоп; | СМД - Судини малого діаметру; |
| АТ - Антитіла; | ФПУМ - Фторовмісні подовжувачі полімерного ланцюга; |
| БСА - Бичачий сироватковий альбумін; | ЧКВ - Черезшкірне коронарне втручання; |
| ГМК - Гладком’язеві клітини; | ЧСА - Альбумін сироватки крові людини; |
| ДЕС - Драг-елютинг стент; | ЧТКА - Чрезшкірна транспросвітна коронарна ангіопластика. |
| ЕМ - Еліпсометрія; |  |

Міністерство Охорони здоров'я України

Національна медична академія післядипломної освіти

імені П.Л.Шупика

## Лазаренко Олег Миколайович

# УДК: 616.13+616.14]- 083.843

**РОЗРОБКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ НОВИХ ТРОМБОРЕЗИСТЕНТНИХ ТА АНТИПРОЛІФЕРАТИВНИХ ПОКРИТТІВ СТЕНТІВ**

#### **ДЛЯ ІМПЛАНТАЦІЇ У СУДИНИ МАЛОГО ДІАМЕТРА**

(експериментальне дослідження)

**14.01.03 - хірургія**

**АВТОРЕФЕРАТ**

#### дисертації на здобуття наукового ступеня

доктора медичних наук

Київ - 2008

# Дисертація є рукописом.

# Робота виконана в Національній медичній академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, Національному інституті хірургії та трансплантології імені О. О. Шалимова АМН України, Національному науковому центрі “Інститут кардіології імені М. Д. Стражеско” АМН України, Інституті металофізики імені В. Г. Курдюмова НАН України, Інституті хімії високомолекулярних сполук НАН України, Інституті фізики напівпровідників імені В. Е. Лашкарьова НАН України, Інституті електрозварювання імені Е. О. Патона НАН України, Фізичному факультеті Національного Університету імені Т. Г. Шевченко, School of Pharmacy and Biomolecular Sciences, University of Brighton (Англія).

# Наукові консультанти:

Член-кореспондент НАН і АМН України, доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України, **Бобров Володимир Олексійович,** завідувач кафедрою кардіології та функціональної діагностики Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України.

##### Доктор медичних наук, професор Сморжевський Валентин Йосипович, кафедра хірургії та трансплантології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика МОЗ України, Лауреат Державної премії України.

##### Офіційні опоненти:

##### Доктор медичних наук, професор Мішалов Володимир Григорович, завідувач кафедрою госпітальної хірургії з курсом торокальної та судинної хірургії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, Лауреат Державної премії України.

Доктор медичних наук, професор **Руденко Анатолій Вікторович**, завідувач відділенням хірургії ішемічної хвороби серця Національного інституту серцево-судинної хірургії імені М. М. Амосова, АМН України, Лауреат Державної премії України.

Доктор медичних наук, професор **Лісайчук Юрій Сергійович**, кафедра хірургічних хвороб Медичного інституту Української асоціації народної медицини МОН України, Лауреат Державної премії України.

Захист дисертації відбудеться 26 травня 2008 року о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.613.08 при Національній медичній академії післядипломної освіти імені П.Л.Шупика МОЗ України (04112, м. Київ, вул. Дорогожицькая 9).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л.Шупика МОЗ України (м. Київ, вул. Дорогожицькая 9).

Автореферат розісланий 26 квітня 2008 р.

Вчений секретар

спеціалізированої вченої ради Д 26.613.08

кандидат медичних наук, доцент Гвоздяк М. М.

# ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

# *Актуальність теми.* За даними ВООЗ у світі в 2003 році було проведено близько 3 мільйонів імплантацій стентів пацієнтам з різною патологією серцево-судинної системи. Тільки в США було встановлено близько 1,5 мільйона коронарних стентів з нержавіючої сталі марки 316 L.

# Імплантація стентів у судини малого діаметра (СМД) вимагає повторних втручань у 40-60% хворих [Mintz G.S., et al. 1998, Соколов Ю. Н., та співавт. 2002]. Покриття, які наносяться фірмами виробниками стентів, для зниження реакції організму на сторонній матеріал, дуже різноманітні: Jomed – імпрегнація гепарину, BioDiamond – діамантоподібний вуглець (DLC), Sorin Biomedica – вуглецева плівка, InFlow Dynamics, Medinol – золото, Biocompatible– фосфохолін, Biotronik – карбід кремнію.

# Використання покриттів у клініці не зменшило розвиток рестенозів у просвіті стенту (РуС), які спостерігаються у 15 - 35% хворих, тобто в більше як у одного мільйона пацієнтів за рік [Giri S., et al. 2001]. Найбільш ефективними покриттями для стентів, виявилися покриття з використанням цитостатиків на поверхні імплантів - драг-елютинг стенти (ДЕС). Нове покоління покриттів - це полімери з вбудовними у них цитостатичними агентами природного походження, які здатні блокувати проліферацію гладком’язевих клітин (ГМК) медії судини на стадії G0 та таким чином, знижувати розвиток рестенозу в стенті до 2 - 10% [Hehrlein C., Arab A., Bode C. 2002]. На початок 2006 року біля вже 11 компаній пропонували свої розробки покриттів ДЕС. На Об'єднаному Всесвітньому та Європейському з'їзді Кардіологів 2006 року у мета аналізах з методики лікування ішемічної хвороби серця (ІХС) за допомогою імплантації ДЕС, доповідалося про розвиток відстрочених тромбозів у просвіті імплантованих стентів. Частота смертельних випадків через вірогідний або задокументований тромбоз у стенті складала 20 - 45% [Otsuka Y., et al. 2007, Virmani R., et al. 2004, McFadden E.P., et al. 2004, Farb A., et al. 2003]. У пацієнтів були зафіксовані відстрочені тромбози просвіту коронарних стентів з фатальними наслідками [McFadden E.P., et al. 2004, Eisenberg M.J. 2004]. Причиною цього є дуже повільне вкривання ендотелієм поверхні стенту, міграція стента в просвіті артерії або деградація артеріальної стінки з утворенням аневризм у місці знаходження стенту [Nilsen D.W., et al. 2006, Ripen K. Gupta., et al. 2006]. Останні дослідження засвідчили, що у периферічному руслі судини після імплантації ДЕС відзначається прогресування розвитку атеросклеротичних бляшок, яке пояснюють персистуючим запаленням, яке викликають полімерні покриттям ДЕС [Kotani J., Tsimikas S. 2006, Sabate M. 2006]. До кінця 2006 року, за даними ВОЗ у світі було вже встановлено понад 4 мільйона ДЕС хворим з ІХС.

Зазначимо, що насьогодні внутрісудинні стенти не задовольняють вимогам адаптації до судинної стінки, а їхня поверхня має низьку тромборезистентність [Barragan P. 2006, Colombo A., et al. 2003]. Цей факт змушує лікарів призначати на тривалий строк після проведення імплантації стентів антитромбоцитарні та дезагрегуючі препарати, що може призводитиь до розвитку толерантності пацієнта до цих препаратів, а їхнє скасування або погрішність у прийомі - до розвитку тромбозу в просвіті стенту з фатальними результатами [Urban P., et al. 2007, Daemen J., et al. 2007, Schofer J., et al. 2003].

Актуальність теми випливає з вищевикладених фактів. Проблема полягає у тому, що дотепер не знайдені оптимальні покриття для стентів у судини малого діаметру, які б не викликали відповідної реакції на імплант і запалення в стінці судини. Розглядати взаємодію між тканинами організму та поверхнею стенту необхідно на рівні молекул, а саме на нанорівні, що може дозволити знайти пояснення біосумісності імплантів до певного організму. Подібні дослідження необхідно проводити в співдружності із представниками інших спеціальностей, що дозволить побачити проблему з різних ракурсів при мультидисциплінарному підході. Все це й визначило напрямок, предмет та методи, що використовувались у данній роботі для вирішення зазначеної проблеми.

## Зв'язок з науковими програмами й темами.

Автор був керівником Європейських проектів з боку України у програмах:

1. “Development and assessment of novel biocompatible stents for angioplastic surgery” INTAS-Ukraine 95-0038 (1997-2000);
2. “Advanced biocompatible endovascular stents'” GR/R1584/01 UK (2001-2004);
3. “Polymer-coated stent for cardiovascular surgery” INTAS 03-56-173 (2003-2004).

Відповідальним виконавцем біологічного напрямку тематик НАН України:

1. “Розробити нові сплави та вивчити фізико-механічні та корозійні характеристики біосумісних матеріалів для виготовлення стентів та кава-фільтрів нового покоління” 144 002/2001 (2001-2006);
2. “Фторовмісні поліуретани як тромборезистентні плівкотворні матеріали для коронарних стентів” 0104U003911(2003-2006);
3. “Досліджувати фізико-металургійні процеси формування нанокристалічної структури покриттів, розробити способи одержання та склад покриттів з нанокристалічною фазою” 1.6.1.73.10 (2003-2006).

Насьогодні автор є експертом у складі Української команди, на базі Інституту електрозварювання імені Е. О. Патона НАН України, з розробки покриттів для імплантів у 6ій Європейській Рамковій Програмі “Integrating and strengthening the European Research Area” INCOMAT. “Creating international cooperation teams of excellence in the field of emerging biomaterial surface research” NMP3-CT-2007-032918 за контрактом FP6-032918 на період 2007-2009 роки.

Проведені міждисциплінарні дослідження та застосування ціх результатів на Україні, а також рівень розробок, відповідає розпорядженню Кабінету Міністрів України від 21 березня 2007 року № 102-р “Про схалення Концепції Державної програми розвитку виробництва медичної техніки на 2008-2012 роки”.

## Мета дослідження й завдання дослідження.

Розробити нові покриття для стентів з підвищеними тромборезистентними та антипроліферативними властивостями поверхні, які здатні попередити розвиток рестенозов у судинах малого діаметра, обґрунтувати застосування цих імплантатів у клініці для поліпшення якості лікування хворих.

## Завдання дослідження.

1. Визначити причини розвитку рестеноза в стенті після імплантації в судини малого діаметру.
2. Розробити технічні умови нанесення нових неорганічних, синтетичних та аутопокриттів на стенти.
3. Вивчити особливості поведінки поверхні стентів, із традиційними та новими покриттями, при їх функціонуванні в просвіті судин експериментальних тварин.
4. Порівняти вплив традиційних та нових покриттів стентів на зміни у складі крові експериментальних тварин і людини *in vitro.*
5. Дослідити вплив відомих (традиційних) та нових покриттів стентів на схильність їх до тромбоутворення й розвитку рестенозу у стенті.
6. Провести оцінку впливу стентів із традиційними та новими покриттями на морфологічні зміни стінки судин експериментальних тварин.
7. Обґрунтувати застосування в клініці стентів з новими покриттями для поліпшення якості лікування хворих.

*Об'єкт дослідження.*

* Експериментальні тварини (пацюки й кролі) при імплантації їм пластин та стентів із традиційними й новими покриттями.
* Динаміка змін поверхні імплантованих стентів та пластин із традиційними й новими покриттями під час знаходження у організмі експериментальних тварин.

*Предмет дослідження.*

* Зміна рівня холестерину, С-реактивного білку (CRP) та факторів згортання крові у експериментальних тварин на різних етапах дослідження.
* Морфологічна реакція стінки судини й оточуючих тканин експериментальних тварин (пацюків і кролів) у місці імплантації пластин та стентів.
* Поверхня пластин і стентів до та після імплантації у організм експериментальних тварин.

*Експериментальні дані отримані у результаті:*

* Імплантації внутрісудинних стентів різних конструкцій із традиційними покриттями та новими неорганічними, синтетичними й аутопокриттями **142** кролям.
* Імплантації металевих пластин із традиційними та новими неорганічними, синтетичними й аутопокриттями **74** пацюкам.
* Системного аналізу показників крові експериментальних тварин на різних етапах дослідження та динаміки їх змін.
* Морфологічного аналізу **1354** гістологічних препаратів, отриманих після видалення імплантів (пластин та стентів) з організму експериментальних тварин;
* Фізико-хімічного вивчення змін стану **23** неорганічних та **8** синтетичних покриттів.

## Методи дослідження.

*Визначення реакції організму й тканин після контакту з імплантами:*

1. Біохімічні показники крові (рівень холестерину та С-реактивного білку сироватки крові) експериментальних тварин;
2. Показники факторів згортання крові (плазменийй лізис, протромбіновий індекс, фібриноген, кількість тромбоцитів, зміна функціональної активності тромбоцитів) експериментальних тварин та людин;
3. Турбодиметричний метод визначення С-реактивного білку;
4. Імуноферментний метод визначення С-реактивного білка в сироватці крові експериментальних тварин;
5. Гістологічний та гістохімічний аналіз препаратів тканин експериментальних тварин із проведенням морфометрії.

*Фізико-хімічні методи:*

1. Еліпсометрія (ЕМ);
2. Скануюча електронна мікроскопія (СЕМ);
3. Атомно-силова мікроскопія (АСМ).

***Наукова новизна отриманих результатів.*** Вперше на Україні розроблені неорганічні та синтетичні покриття для внутрісудинних стентів, які викликають мінімальну реакцію судинної стінки.

Вперше розроблені біологічні покриття для імплантів, а саме, стентів для судин малого діаметра, які дозволяють виключити реакцію судинної стінки на покриття.

Вперше розроблена інструментальна система із застосуванням фізичних методів вимірів, на основі нанотехнологій, з визначення сумісності певного виду покриття до певного реципієнта.

Розроблено корисні моделі з модифікування поверхні імпланту для надання їм біосумісності з організмом певного реципієнта.

***Практичне значення отриманих результатів.*** Вперше розроблена система тестування фізичними методами на нанорівні покриттів стентів і визначення на них реакції певного реципієнта, з визначенням оптимального покриття для цього реципієнта.

Уперше розроблений спосіб модифікації поверхні стентів для певного реципієнта, що дозволяє виключити, або мінімізувати відповідь тканин судинної стінки на нього.

Знайдено й вивчені дві причини розвитку рестенозу у стенті.

Запропоновано сучасний алгоритм розвитку рестенозу в стенті в залежності від морфології атеросклеротичної бляшки.

Обґрунтовано застосування в клініці стентів з новими неорганічними, синтетичними та аутопокриттями для поліпшення якості лікування хворих та розроблено алгоритм їх застосування в клініці з огляду на стан реципієнта.

***Особистий внесок здобувача.*** Основні дані, що викладені в дисертації, отримані автором особисто, а також у співдружності з фахівцями: архітекторами, фізиками, металофізиками, хіміками синтетиками, фармакологами й морфологами.

Здобувач уперше:

* Висунув гіпотезу однієї з головних причин виникнення рестенозу в стенті при імплантації його у судини малого діаметру, обґрунтував і довів шляхи його розвитку.
* Розробив біологічне покриття стентів для імплантації в судини малого діаметру, що дозволяє виключити реакцію судинної стінки на покриття.
* Розробив спосіб модифікації поверхні стентів з огляду на стан певного реципієнта, що дозволяє виключити, або мінімізувати відповідь тканин на імплант.
* Розробив та застосував систему інструментального тестування покриттів стенту на нанорівні з визначенням реакції певного реципієнта на них.

Здобувач самостійно розробив план досліджень, особисто провів практично усі операції, вивчив і обробив отримані результати за допомогою методів параметричної статистики та аналізу розподілу за Максвелом. Вивчив сучасні інструментальні методи фізико-хімічних досліджень, які й були застосовані при виконанні дисертаційної роботи.

Розробив у співдружності з хіміками синтетиками полімерні покриття для внутрісудинних конструкцій. Розробив разом з архітекторами сучасні принципи комп'ютерного моделювання архітектоніки стентів для судин малого діаметру. Ідеї, гіпотези й розробки співавторів публікацій у роботі не використовувалися. Матеріали кандидатської дисертації здобувача в роботі не використовувалися.

***Апробація результатів дослідження.*** Основні положення та матеріали за темою дисертації викладені на: IV Наукової конференції асоціації серцево-судинних хірургів України (Київ, 1996); I - IX Франкомовних конгресах інтервенційних кардіологів (Франція, Париж, 1997, 1999, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007), на V Конгресі доповідь автора була визнана кращою; XII Всесвітньому конгресі Міжнародного суспільства з штучних органів (Великобританія, Лондон, 1999); I Європейському симпозіумі з судинної біології й медицині (Німеччина, Нюренберг, 1999); Міжнародних симпозіумах “Ендоваскулярна біомеханіка й рестенози” (Франція, Марсель, 2000, 2002, 2006); XI Української конференції з високомолекулярних сполук (Київ, 2000); Заключному засідані Європейської тематичної групи “Матеріали в медицині (Mat*Med*)” (Греція, Родос, 2001); I Російському з'їзді інтервенційних кардіологів (Москва, 2002); З'їзді “Проблеми оптики й науки високотехнологічних матеріалів” (Україна, Київ, 2002); Х Міжнароднії конференції “Геометрія й графіка” (Україна, Київ, 2002); Домбровських хімічних читаннях (Україна, Черкаси, 2003); Конференції “Природні науки на границі сторіч” (Україна, Ніжин, 2004); VII Міжнародному симпозіумі “Біоматеріали й біомеханіка, фундаментальні та клінічні дослідження” (Німеччина, Ессен, 2004); V та VII Національному конгресі кардіологів України (Київ 1997, Дніпропетровськ 2004); Конгресі “Артерії 5” (Франція, Париж, 2005); Конференції з міжнародною участю “Актуальні питання абдомінальної й судинної хірургії. Клінічні проблеми трансплантації органів” (Україна, Київ, 2006).

***Публікації по темі дисертації.*** Матеріали дисертації опубліковані в 63 наукових працях, серед яких 1 монографія, 1 учбово-методичний посібник, 24 статті (5 самостійних), у тому числі 21 у періодичних виданнях, рекомендованих ВАК, 1 збірнику наукових праць, 2 статтях у спеціалізованих журналах, 31 матеріалі міжнародних симпозіумів, з'їздів і спеціалізованих конференцій, 1 методичних рекомендаціях. Новітні розробки захищені 5 патентами України.

***Обсяг і структура дисертації.*** Дисертація викладена на 315 сторінках друкованного тексту, складається з вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 7 розділів власних досліджень, заключення й висновків. Текст ілюстрований 142 малюнками, 28 таблицями й 3 діаграмами. Список використаної літератури містить 559 джерел, 54 з яких кирилицею.

Автор висловлює глибоку й щиру вдячність усім співробітникам всіх організацій, що допомогали йому виконати цю працю й без допомоги яких провести заплановані роботи було просто б не можливо.

### ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали й методи дослідження.** В основу роботи покладеноі результати міждисциплінарних досліджень.

*Розробка технології нанесення неорганічних та синтетичних покриттів на поверхню неіржавіючої сталі (SS).* В якості основи для нанесення покриттів була обрана SS марки 316L. Технологічні зразки SS завтовшки 6 мм та діаметром 13 мм, перед плазменним напиленням підгодовувались шляхом піскоструйної обробки електрокорундовим піском фракції 0,3-0,6 мм, що подавався під тиском повітря Рвиб = 3-5 атм. Плазмове напилення оксидних покриттів проводилось в Інституті металофізики імені В.Г.Курдюмова НАНУ, Київ. Напилення керамічних покриттів з нітридів та оксидів Ti, Zr (Ti/TiN/Ti; TiC/Ti; ZrO/Ti) відбувалося на апараті УПУ-ЗД (СРСР) та виконувалось при наступних режимах: Icв= 250-300 A, Uд= 45-50 B, QAr = 40 л/хв, Q N2 = 6 л/хв, V = 30 об/хв, що був заповнений відповідним газам при електричному розряді 2000 вольт. Грануляція напилених порошків - 40-80 мкм. Підшар – термореагируючий порошок ПТНА-01 фракції 50-63 мкм. Вуглецева плівка у вигляді аморфного вуглецю та діамантоподібного вуглецю (DLC), наносилась по за тією ж методою - при електричному розряді у 2000 – 2500 вольт.

Товщину 22 покриттів визначали за шліфами відповідно до вимірювальної шкали металографічного мікроскопу Versamet (США). Визначення конденсатів на наявність крапельної проводили на косих шліфах (300) на металографічному мікроскопі при 400 кратному збільшенні, а їх захисні властивості - методом анодно-поляризаційного ініціювання дефектів. Метод полягає у збудженні у покриттях механічної напруги за рахунок електрострикційних сил. Завдяки ефекту електрострикції, накладання на покриття електричного поля приводить до виникнення у ньому поля механічної напруги, що супроводжується його катастрофічним руйнуванням. Для створення у покриттях електричного поля високої напруги його піддавати анодній поляризації в середовищі 10 % розчину CaCl2. Найвища якість покриття відповідала випадку коли случаю, коли у всьому інтервалі поляризації струм був рівний нулю (К =1), а при найгіршій якості покриття (К=0) струм поляризації відповідав струму поляризації підкладки без покриття. Рентгенструктурний аналіз покриттів проводили на дифрактометрі ДРОН-3М (СРСР) в монохроматизованному мідному випромінюванні, а аналіз хімічного складу межі розділу покриття/підкладка - методом електронної ОЖЕ-спектроскопії на спектрометрі JAMP-10S (США).

В Інституті хімії високомолекулярних сполук НАНУ, Київ, зразки 8 синтетичних покриттів розчиняли в діметилформаміді і наносили на диски SS марки 316L. Для видалення залишкового розчинника зразки висушували у вакуумі (1-2 гПа) протягом доби. Вказані зразки синтетичних покриттів захищені Патентами України 6С08G18/00, A61L33/00 від 15.02.2001р. та 76351, 7А61L33/00 від 17.07.2006р.

На СЕМ Dimension 3000 NanoScope III (США) у School of Pharmacology and Bimolecular Sciences, University of Brighton (Великобританія), була проведена зйомка поверхонь із збільшенням у 1.000 - 2.000 разів після нанесення відповідних неорганічних покриттів: TiO…/SS, TiC…/SS, ZrO…/SS, DLC та вісьми синтетичних покриттів.

*Визначення тромборезистентності досліджуваних покриттів in vitro.* Проводилось на дисках з 22 неорганічними та 8 синтетичними покриттями, які оброблялися у суміші Никіфорова. Зразки занурювалися в рідину на 5 хв. Потім висушували на чистому фільтрувальному папері і розташовували в біологічному розчини. В якості біологічних розчинів використовували модельний розчин бичачого фібриногену, з концентрацією 300 мг/л, який був люб’язно надан відділом Структури білку Інституту біохімії НАНУ імені О.А. Палладіна та суцільну кров волонтерів. Забір цілісної крові проводився у 8 волонтерів, чоловіків у віці 41-52 років, які впродовж останніх трьох років отримували терапію препаратами антагоністів Са 2+ та інгібіторів АПФ для лікування основного захворювання. Забір крові волонтерів проводили з *v. basilica* в пластмасову пробірку, що містіла 3,8 % розчину цитрату натрію в співвідношенні 9:1. Кров відразу перемішували, не струшуючи пробірку. При центрифугуванні (7 хвилин при 1000 об/хв.) отримували збагачену тромбоцитами плазму, плазму центрифугували (15 хвилин при 3000 об/хв.). Дослідження проводилися за допомогою коагулометра KG-4 фірми TECO (Німеччина) з відповідними наборами для визначення фібриногену FIB Kit фірми TECO (Німеччина). Зниження концентрації фібриногену вимірювали у разі модельного розчину після 4 годин експозиції з відповідним покриттям при температурі 37°С. Визначення кінетики тромбоутворення донорської крові після контакту з покриттям проводилося за методиками [Cohn E.J., Gurd F.R.N., Surgenor D.M. 1950, Soffer A., Toribara T. 1995]. Зразки покриттів витримували 2 години при 370С. Функціональний стан тромбоцитів оцінювали на агрегометрі Chrono-Log (США).

*Дослідження висадження білків з розчинів на поверхню SS.* Дослідження проводили на Фізичному факультеті, Національного Університету імені Т.Г.Шевченко, Київ. Досліджували зразки аустенітної SS 04Х16Н15М3Б, яка містить 16% Cr, 15% Ni, 3% Мо і менше 1 % Nb (вказані вагові відсотки) і практично ідентична, сталі 316L. Перед осадженням білків зразки сталі шліфували та полірували діамантовими пастами. Фінішне полірування здійснювали діамантовою пастою з найменшим розміром зерен 0,1 мкм. Після механічної обробки зразки промивали 60 хвилин етіловим спиртом та 120 хвилин дистильованою водою. Для досліджень використовували розчин альбуміну сироватки крові людини (ЧСА) та розчини стандартних білків, які входять у пул основних білків крові в пропорціях, в яких вони зустрічаються у організмі людини. Вимірювання виконували на спектрометрі SPEKORD (США), в якому використовується двупроменева система. Досліди з осадження альбуміну виконували при температурі 200С, рН розчину складав 7,4. У разі дослідів *еx situ* зразки SS, інкубували впродовж 45 хвилин та 3 годин в розчині альбуміну. Після цього зразки виймали і просушували на повітрі 60 хвилин, після чого виконували методом еліпсометрії (ЕМ), дослідження при декількох кутах падіння світла. При виконанні експериментів *in situ* визначали тимчасові залежності еліпсометричних параметрів при одному куті падіння і при одній довжині світлової хвилі. Для інтерпретації даних еліпсометрії *еx situ* визначили показник заломлення розчину альбуміну на рефрактометрі Аббе. Було отримано, що при довжині хвилі =632.8 нм n=1.336 (0.001). Тривалість *in situ* досліду складала 360 хвилин.

*Виготовлення стентів для імплантації у судини малого діаметру.* У Інституті металофізики, з прута SS 316L, методом холодного волочіння через діамантові філь’єри з послідовним зменшенням діаметру, був отриманий дріт з пружно-динамічними властивостями, діаметром 0, 2-0,18 мм. Потім з дроту були виготовлені Z-образні стенти, здатні саморозширюватись, завдовжки 10 мм і діаметром 8 мм в розкритому стані. Кінці стентів закріплювалися в муфті, з сталі тієї ж марки. Стенти (Малюнок 1) в зібраному вигляді піддавалися електрополіровці. Потім проводилося їх очищення від механічних забруднень шляхом обробки на протязі 10 хвилин у дистильованій воді, при 44 кГц в ультразвуковій мийці “Піранія” (МЦ “Ендомед” м. Київ, Україна). Стенти пройшли випробування і наказом Міністерства охорони здоров'я України від 04.05.1999 року № 110 внесені до Державного реєстру виробів медичного призначення, які дозволені в медичній практиці в Україні під № 767/99. (Реєстраційне посвідчення Серія МЗ №767/99 №000762 вихідний №542-В від 04.05.99).

Мал. 1. Z-стент для імплантації у судини малого діаметру.

Надалі, у в Інституті металофізики імені В.Г.Курдюмова НАНУ, Інституті електрозварювання імені Е.О. Патона НАНУ та Tiers Coating LTD (Великобританія), на ці конструкції були нанесені аморфний вуглець, DLC, керамічні покриття на основі Ti і Zr.

***Фізико-хімічні методи***

*Методи нанесення неорганічних та полімерних покриттів на імпланти.* У Інституті електрозварювання проводили дослідження процесу осадження найбільш прогресивних покриттів з Zr-Ti-Ni і Zr-Co на дріт SS марки 316L за допомогою планарної магнетронної розпилювальної системи (МРС). Одним із завдань даної роботи було дослідження процесу магнетронного нанесення покриттів на поверхню тонкого дроту. Оскільки вона надалі може бути використана для виготовлення різних моделей стентів для судин малого діаметру. Для проведення таких експериментів було розроблено пристрій для установки дротяних зразків в камері МРС. В попредніх експериментах покриття Zr–Ti–Ni осідало на нерухомі відрізки дроту SS 316L діаметром 0,3 і 0,15 мм, які закріплювалися в рамці, встановленій на відстані 65 мм від поверхні мішені. Було виявлено, що обчислена товщина покриття на дроті d=0,15 мм більша ***δ*** покриття d=0,3 мм на 16-20 %. Збільшення діаметру від 0,15 до 0,3 мм веде до зниження змісту Ni (з 19,7 до 17,5 ат. %) при зростанні кількості Ti (з 41,6 до 43,1 ат.%) і Zr (з 38,7 до 39,4 ат.%).

В Інституті хімії високомолекулярних сполук плівки з ізомерними фторвмісними подовжувачами полімерного ланцюга (ФПУМ) отримували і наносили, на стенти з SS 316L поливом з 20 % розчину полімерів в діметілформаміде, а для дослідження різних властивостей на тефлонові підкладки. Сушили при температурі 50°С. Залишки діметилформаміду відганяли у вакуумі до постійної маси зразків. Міцності характеристики визначалися швидкістю деформації (510-2 с-1) при температурі 18-20°С на установці РМ-30 (СРСР) у режимі розтягування, при постійному поверхневому напруженні (γтг) плівок ФПУМ. Оцінку характеристик проводили за краєвими кутами змочування. В якості стандартної рідини була використана бідистільована вода. Ступінь набухання полімерних плівок визначали при 36оС протягом 24 годин у дистильованій воді, як відношення збільшення ваги плівок до її початкової ваги.

*Еліпосметричні методи дослідження поверхні металів.* Дослідження проводили на Фізичному факультеті, Національного Університету імені Т.Г.Шевченко Київ. Вимірювання кутових залежностей еліпсометричних параметрів здійснювалися за нульовою методикою за допомогою еліпсометра ЛЕФ-ЗМ-1 (Санкт Петербург, Росія) з робочою довжиною хвилі **=632.8** нм та в діапазоні кутів падіння світла **=65-800**, оскільки головний кут **/2)** для більшості досліджуваних металевих систем знаходиться в ціх межах. Для сформульованих завдань дослідження достатньо було вимірювань в двох зонах, які відповідають положенню компенсатора C=C0+ 450 ЕМ параметри **Δ** та **Ψ** визначатимуться наступними співвідношеннями: **Δ = - (P1+P2-2P0)** та **Ψ =⎟A1-A2⎥/2.** Для дослідження осадження білків на межі розділу “SS/розчин білку” використовували сконструйовану комірку (Малюнок 2). Комірка була виготовлена з плексигласу, вікна для пропуску лазерного променя еліпсометра були виготовлені з плавленого кварцу. Кут між нормалями до поверхні зразка і до поверхні вікна складав 700. Об'єм комірки рівний 4 мл. Цей пристрій дозволяє виконувати дослідження з осадження білків в стаціонарних умовах і за умов ламінарного потоку. Для проведення оптичних досліджень в комірці, зразок неіржавіючий стали, приклеювали на утримувач зразка клеєм на кремнієвій основі, після склеювання, утримувач загвинчували у комірку.

Мал. 2. Комірка для дослідження осадження білків.

*Методи скануючої електронної мікроскопії.* У новітніх технологічних напрямах, як мікромеханіка, наносенсоріка і інших нанотехнологіях значну роль грають електронопроменеві методи дослідження поверхні і зокрема СЕМ.

Мал. 3. Схема роботи СЕМ. Відбиті від зразка 1 електрони аналізуються по енергіях спектрометром 2 та реєструються кільцевим детектором 3.

Вимірювання СЕМ (10 різновидів стентів і 12 пластин) до початку експерименту і після перебування 8 тижнів в організмі експериментальної тварини, проводилися на приладі JEOL-100 (Японія) в Інституті електрозварювання імені Е.О. Патона НАНУ Київ (Малюнки 3, 4).

У лабораторії був розроблений принципово новий метод діагностики багатошарових структур – мікротомографія у відбитих електронах.

Мал. 4. Реконструкція 3D зображення елемента поверхні зразка сплаву.

Даний науково-дослідний метод базується на визначенні в растровому електронному мікроскопі відображених електронів, що мають певний вузький інтервал енергій, адекватний глибині шару під поверхнею, на якій вони відбилися. Прилад дозволяє з прийнятним для мікротомографії енергетичним дозволом (порядка 0,5%) візуалізувати підповерхневі твердотільні структури з субмікронним дозволом і проводити аналіз глибинної будови за спектрами електронів, що знімаються.

*Методи атомної силової мікроскопії.* Вимірювання АСМ (Малюнок 6) проводилися в Інституті фізики напівпровідників імені В.Е. Лашкарьова НАНУ, Київ, на АСМ Dimension 3000 NanoScope IIIa (США). Серії силових кривих (залежностей величини силової взаємодії від відстані зонд-поверхня) реєструвалися за кімнатних умов в атмосфері і в рідині (0,9% розчин хлориду натрію). Швидкість реєстрації кривих була постійною і складала 400 кГц. У вимірюваннях використовувався стандартний SiN3 АСМ зонд виробництва фірми NanoSensors (США) марки DNP-20 з номінальною жорсткістю консолі 0.06 Н/м (Малюнок 5 A). У другому випадку (Малюнок 5 B) поверхневе натягнення конденсованої рідини, відсутнє. Сила взаємодії визначається за виміряною АСМ величиною пружної деформації консолі зонда Δ d як F= Δ dk, де k – постійна пружності консолі зонду.

Мал. 5. Схема силових вимірів в атмосфері (A) та в рідині (B).

В якості матеріалів для визначення взаємодії імуноглобулінів (IgG) з антитілами (АТ) були обрані Au, стекло, слюда і Si. Для функционалізації зонда застосовували поліклональні АТ осла проти Альбуміну кроля (специфічність 1/256), які були надані відділом Молекулярної імунології Інституту біохімії. АТ наносилися з розчину концентрацією 0,1 μг/мл. Альбумін сироватки кроля (САК) наносився на підкладки з 0,1 μг/мл розчину в хлориді натрію (0,9%). Препарати на зонди і підкладки наносилися без попередньої обробки їх поверхонь (зонд занурювався до мікрокраплі препарату за допомогою системи підведення АСМ; краплі препаратів наносилися на підкладки, висушені після очищення сумішшю Никіфорова (Сірчаний ефір : Спирт-1:1). Проводилося по три серії вимірювань силових взаємодій в атмосферних умовах і в рідині:

1. Чистий зонд і чистий підкладковий матеріал АСМ;
2. Функционалізірованний зонд і чистий підкладковий матеріал;
3. Функционалізірованний зонд з білком на підкладковому матеріалі.

У дослідженні вивчалися 28 зразків поверхонь. Для отримання статистично достовірних результатів реєструвалося не менше як 150 кривих в кожному випадку вимірювання.

***Біологічні методи.***

*Експериментальні методи дослідження на тваринах.* Експериментальні дослідження на тваринах проводилися на базах віваріїв Національного наукового центру “Інститут кардіології імені Н.Д. Стражеско” АНМ, Київ і Національного інституту хірургії і трансплантології імені О.О. Шалімова АМН, Київ. Ліцензія Академії Наук України видана після сертифікації експериментальної бази відповідно нормам Європейського Суспільства (Інституту Кардіологи на роботу по проведенню експериментів з тваринами № ПТ 0343/01 від 28.12.2001, Реєстраційний Сертифікат віварія № 03/АА00470 від 22.01.2003, Інституту Хірургії і Трансплантології на роботу по проведенню експериментів з тваринами № ПТ 01-76-09/2175 від 02.09.2003, Реєстраційний Сертифікат на віварій № 4479/АА001754 від 26.01.2003).

Для вивчення морфологічних змін у СМД 24 білим безпородним щурам, обох статей, вагою 200-350 гр, під внутрішньочеревним намбуталовим наркозом з розрахунку 0,5-1 мл розчину на 1кг маси тварини, виконували мікровенозне протезування *in situ* ділянки стегневої вени, судинний шов накладався атравматичною ниткою 10-0 “ETHICON” фірми Ethicon, Inc., (Великобританія). Операції виконувалися під оптичним збільшенням операційного мікроскопа фірми “Karl Zeiss” (Німеччина), модель 310. На 14-у (8 щурів), 30-у (8 щурів) і 90-у (8 щурів) добу, після операції, проводилось вилучення матеріалу для морфологічних досліджень.

Для імплантації 118 металевих пластин SS з 23 неорганічними, 8 полімерними і 2 біологічними покриттями, було відібрано 50 білих безпородних щурів обох статей, вагою 200-350 гр. Перед імплантацією пластини з металу стерилізувалися в 1% розчині BODENPHEN-№125 (Bode Chemie, Hamburg 54, Німеччина) впродовж 15 хвилин. 12 кролям-самцям, породи “Сірий велетень”, вагою 2,5-3,5 кг були імплантовано розширювані балоном стенти, дозволені для застосування у клінічній практиці, моделей: Gianturco-Roubin, RX ML Pixel “Sengewald”, Bx Sonic “Cordis” та “BiodivVsio”. По 3 стенти кожної моделі які, були люб'язно надані для імплантації у експерименті School of Pharmacy and Biomolecular Sciences, University of Brighton (Великобританія).

Для дослідження нових і традиційних покриттів для експерименту було відібрано 130 кролів-самців, породи “Сірий велетень”, вагою 2,5-3,5 кг. Тварини відсаджувалися в стандартні клітки поодинці. Температура в приміщенні складала 24 ± 1ºС, з відносною вологістю 30-70 % та 12:12 годинним світловим циклом. Тварини отримували стандартне живлення для тваринних відповідно до правил МОЗ України. Тварини мали доступ до води *ad libitum*. Для імплантації стентів тварини були поділені на 5 груп по 12 тварин у кожній, відповідно до кількості неорганічних покриттів (аморфний вуглець, DLC, керамічні покриття на основі Ti і Zr) і контрольна група з 10 тварин з ендопротезами виготовленими з неіржавіючої сталі марки 316L. Тварини для імплантації стентів з полімерними покриттями були поділені на 3 групи по 12 тварин в кожній, відповідно до кількості полімерних покриттів нанесених на стенти.

Для імплантації стентів з ауто покриттями тварини були поділені на 2 групи по 12 тварин в кожній, відповідно до нанесення на стенти ауто покриття або покриття альбуміном бичої сироватки (БСА). Усім кролям імплантували Z-подібні стенти, що саморозширювались (дозвіл Мінохоронздоров'я України для клінічного застосування № 767/99 від 04.05.99). До імплантації стенти стерилізувалися в 1% розчині BODENPHEN-№125 (Bode Chemie, Hamburg 54, Німеччина) на протязі течія 15 хвилин. Потім стенти знаходилися в стерильному фізіологічному розчині. Всі 142 стенти імплантували тваринам в просвіт аорти через ендоваскулярний доступ в загальній стегновій артерії із застосуванням збільшення під час операції у 10 разів. При проведенні операцій використовувалися операційні бінокулярні окуляри фірми “Karl Zeiss” (Німеччина). Анестезія, яка застосовувалася експериментальним тваринам під час операцій з імплантації стентів і пластин була загальною. Тваринам перед операцією вводили седативний препарат кетамін (2 мл/кг ваги) внутрим'язево. Через 5-10 хвилин (залежно від часу початку дії премедикації) щурам вводили розчин тіопенталу натрію у концентрації 8 міліграм/кг внутрим'язево, кролям у концентрації 15 міліграм/кг внутривенно.

Для створення атерогенної моделі відповідно до розробленої методики, кролям, внутрим'язево вводили розчин пірогеналу по 1,25 мікрограм через день протягом 2-х тижнів. Потім у післяопераційному періоді, по 1,25 мікрограм один раз у тиждень впродовж 8-х тижнів. Запальна модель була вибрана для експерименту на підставі робіт [Lassila R. 1993, Талаева Т.В. 1998, Быць Ю.И., Атаман А.В. 1989]. На прикінці експерименту виконувалось вилучення матеріалу для морфологічних дослідженнь. Кролів та щурів виводили з експерименту шляхом премедикациї внутрим'язево кетаміну (2 мл/кг ваги). Потім, внутривенно струменевого кролям і внутрим'язево щурам, вводили розчин тіопенталу натрію по 50 міліграм/кг до повної зупинки дихання і серцебиття.

*Морфологічні та біохімічні методи дослідження тварин.* Ліцензія Академії Медичних Наук України видана після сертифікації експериментальної бази відповідно нормам Європейського Суспільства (Інституту Кардіологи на роботу з кров'ю і проведення біохімічних аналізів № ПТ 0343/01 від 28.12.2001, Інституту Хірургії і Трансплантології на проведення патоморфологічних досліджень № ПТ 0290/03 от 24.03.2003).

Зразки тканин щурів з імплантами, ділянки аорти щурів із швами та аорти кролів із стентами вилучали для морфологічних досліджень. Вилучення матеріалу проводили по наступній схемі. Із стінки аорти через усю товщу, в місці знаходження швів, стентів і з умовно інтактної зони, одноманітно у всіх випадках, були циркулярно відокремлені шматочки матеріалу. Зразки його фіксувалися протягом 24 годин у 10% розчині формаліну на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4), дегідратували матеріал за стандартизованою схемою у спиртах зі зростаючою міцністю та заливалися у парафін. З тканин виготовлялися зрізи товщиною 5 мкм.

Для адекватної оцінки процесів альтерації, регенерації і склерозування судинної стінки був виконаний комплекс імуногістохімічних і гістологічних досліджень за допомогою оглядового фарбування гематоксиліном і еозіном, забарвлення по Ван Гізону, для ідентифікації колагенових волокон і гладком'язових клітин, забарвлення комбінованими методами по Вейгерту–Ван Гизону, для виявлення різних структурних компонентів сполучної тканини і судинної стінки, забарвлення по Хочкиссу-Мак Манусу, що дозволяє оцінити накопичення в судинній стінці глікозогліканов при плазматичному просоченні, або деструкції сполучної тканини і забарвлення альдегід фуксином, для виявлення наявності еластичної тканини. Так само були застосовані флюорісцентне барвники для верифікації процесу запалення в місці встановлення стентів [Скопичев В.Г., Шумилова Б.В. 2004, Лилли Р. 1969, Histopathology Kits 1997].

Морфометрія всіх досліджуваних 1354 гістологічних препаратів [Автандилов Г.Г. Яблучанский Н.И., Губенко В.Г. 1981] проводилася на мікроскопі Olympus ВХ-41 (Японія) за допомогою програмного забезпечення DP-Soft (Японія). У ході дослідження тричі проводився забір крові для підтвердження наявності змін в організмі кроля. Для виконанні біохімічних досліджень кров кроля набирали з вушної вени по 2 мл в пластикові пробірки, які містили 50 мкл гепарину (5000 од/мл) і 50 мкл фізіологічного розчину. Зібрану кров швидко перемішували і центрифугували 5 хвилин при 4000 об/хв. Плазму обережно відбирали в епендорфи і зберігали при –20ºС [Lizana J., Hellsing K. 1974, Chernecky C.C., Krech R.L., Berger B.J. 1993].

Визначення біохімічних параметрів крові (рівень холестерину та С-реактивного білку сироватки крові) тварин проводилось на автоматичному аналізаторі BS 2000 (BioSystem, Іспанія) відповідними наборами реактивів тієї ж фірми. С-реактивний білок визначали турбодіметрчним імуноферментним методами. Показники чинників згортання крові (плазмовий лізис, протромбіновий індекс, фібриноген, кількість тромбоцитів, зміна функціональній активності тромбоцитів) експериментальних тварин були отримані на коагулометре KG-4 фірми TECO (Німеччина) з наборами для реагентів FIB Kit фірми TECO (Німеччина). Функціональний стан тромбоцитів оцінювали на агрегометрі Chrono-Log (США).

Всі результати досліджень піддавалися обробці статистичними методами за допомогою програм Microsoft Excel 2003 і STATISTICA 6.0, а також виконанням математичного аналізу розподілу отриманих результатів за Максвелом.

###### РАЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Розглянемо отримані результати по розділах:

***Визначення предикторів розвитку рестенозу у стенті, після імплантації його у судини малого діаметру.***На 1308 гістологічних препаратах аорти кролів після імплантації стентів всіх зазначених вище моделей були відзначені виражені явища склерозу у адвентиції (А) з наявністю великої кількості коллагенових волокон. Медія (М) в місцях розташування елементів стенту була значно стоншена внаслідок атрофії ГМК, простежувалося зменшення кількості й витончення еластичних волокон, аж до їх зникнення на окремих ділянках. Гіперплазія клітинних елементів інтими (І) над елементами стенту та між ними, була виражена по різному, залежно від моделі стенту та виду покриття, нанесеного на нього. Послідовні фази реконструкції стінки аорти у кролів після імплантації стенту та вшивання венозног шунту представлені на (Мал. 6, частина “стент-реципіент-донор”). 1. *Vv* (a) ще не піддані змінам і всі складові стінки аорти нормально представлені; в адвентиції відзначене зменшення кількості *vv*. 2. У шарі медії (б) починається міграції ГМК, відзначається подальше зменшення кількості *vv* (a), що викликає зниження харчування медії й продовження міграції ГМК під інтиму. 3. Починається фаза відновлення ушкодженої судинної стінки; 4. Новий шар ендотеліальних клітин (с) утворюється шляхом проліферації та міграції ендотеліоцитів здорової частини аорти, починаючи з країв стенту. 5. Визначається гіперплазія (с) ГМК у подендотеліальному шарі та їх міграція у зону стику (б).

Мал. 6. Схема розвитку рестенозу у стенті та венозному шунті. Зміни у стінці артерії (реципієнт) після імплантації стенту (стент) та при вшиванні венозного шунта (донор) в артерію.

Ці явища пояснюються тим, що стент надає радіальний тиск на стінку судини, перетворюючи її у ригідну трубку, і не дозволяє скорочуватися м'язовому шару. Все це веде до зниження притоку крові по *vv*, тому що немає необхідності живити малоактивний м'язевий шар. Через погіршення притоку крові по *vv*, відбувається міграція ГМК у неоінтиму, ближче до магістрального кровотоку й там вже відбувається їх проліферація, що й приводить до розвитку рестенозу в стенті.

При аналізі результатів досліджень з розвитку РуС у СМД, знайдена ще одна причина його виникнення в залежності від стану атеросклеротичної бляшки (АБ) та частини КА, що призначєтся для проведення черезшкірного коронарноого втручання (ЧКВ), яка приведена у розробленному для впровадження у клініці алгоритмі (Мал. 7).Мал. 7.

Алгоритм розвитку РуС залежно від морфології АБ.

***Геометричні особливості конструкцій стентів для судин малого діаметру.*** Залежно від причин, що викликали ураження судин, визначаються й вимоги до конструкції стентов, що імплантуються у судини. У випадках, коли такі функціональні властивості стінок судин як еластичність та пружність, поздовжня ї поперечна розтяжність помітно не знижуються, найбільш перспективними для збереження площі просвіту судини є стенти, що саморозширюються. Вони є найбільше патофізіологічно обґрунтованими. У деяких випадках, коли ураження судин обумовлено розвитком атеросклерозу з вираженим порушенням ліпідного обміну, що супроводжується появою осередкових сполучно-тканних ущільнень стінки судини й розвитком АБ, у цей час перевага може бути надана стентам із примусовим балоним розширенням конструкції.

Геометричний аналіз форм стентов дає можливість стверджувати, що стенти, які розширюються самі, можуть бути створені для усіх патофізіологічних станів судин. Робочий діаметр стенту визначається вихідним діаметром артерії в ураженій ділянці її. Насьогодні для стентування поки що доступні артерії діаметром до 2,0 мм. Автиром розроблено нові вимоги до геометрії “ідеального стента” і до властивостей матеріалу, з якого виготовляють імплант, та які визначаються умовами його доставки в уражену частину артерії, а так само умовами функціонування стенту після імплантації:

1. стент повинен мати певні пружні-динамічні властивості та у робочому стані давати можливість звужуватися судині, не більше, ніж на 20-25% просвіту. Відсутність можливості скорочення м'язового шару судини внаслідок пульсуючего току крові призводить до деградації медії;
2. У будь-якому поперечному перерізі елемент стенту повинен мати форму кола, щоб не викликати турбулентних потіків крові;
3. Елементи конструкції не повинні при розширенні стенту наближатися, щоб запобігти травмі (защимленню) стінки судини між ними;
4. стент повинен мати площу контакту зі стінкою судини не більше як 20% від площі останньої, щоб забезпечити необхідне живлення внутрішньої стінки судини (ендотелія);
5. Скорочення стенту повинні бути синхронними із скороченнями стінки судини при проходженні пульсової хвилі;
6. стент повинен забезпечувати максимально можливу рівномірність напруги у стінці судини, щоб не повинна викликати місцевих концентраційних зусиль.

На підставі цих положень ми вважали доцільним провести аналіз артерій серця дорослої людини як приклад СМД із метою визначення номенклатури стентів, що необхідні для проведення ангіопластики. Тим більше, що КА мають більш складну просторову механіку, у порівнянні з іншими артеріями. Такий аналіз наведений нами у таблиці 1 та малюнках 8 і 9.

Таблиця 1

Геометричні характеристики необхідної номенклатури коронарних стентов.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| №п/п | Розміри стенту, мм. | Ділянки артерій малюнок 9. |
| *D*1 | *D*2 | *l* | *R* |
| 1 | 4,5 | 4,0 | 20-25 | 40-80 | 6 |
| 2 | 4,5 | 3,5 | 30-35 | 50-60 | 7 |
| 3 | 4,0 | 3,5 | 20-25 | 15-20 | 1 |
| 4 | 3,5 | 3,0 | 25-30 | 120-140 | 2 |
| 5 | 3,5 | 3,0 | 30-35 | 50-60 | 11 |
| 6 | 3,5 | 3,0 | 35-40 | 45-50 | 10 |
| 7 | 3,5 | 2,5 | 40-50 | 20-25 | 8 |
| 8 | 3,0 | 2,5 | 15-20 | 60-70 | 14,15 |
| 9 | 3,0 | 2,5 | 25-30 | 60-70 | 3,12 |
| 10 | 2,5 | 2,5 | 15-20 | 50-60 | 13 |
| 11 | 2,5 | 2,5 | 20-25 | 15-20 | 5 |
| 12 | 2,5 | 2,5 | 30-35 | 20-25 | 4 |
| 13 | 2,5 | 2,5 | 40-45 | 55-60 | 9 |
| У зв'язку з підвищеними вимогами надійності та складним сполучним навантаженням, що діють на стент, а також агресивністю середовища, вибір матеріалу для виробництва стентов є не простим завданням. стенти з матеріалу з низькою межею пружності (до них належать усі чисті метали) за досить малий час будуть руйнуватися. Це змусило нас звернути увагу на сплави, з яких дріт у деформованому стані має високу межу міцності. Як наслідок цього вони мають підвищену стійкість в умовах малокутових циклічних навантажень. |

Мал. 9. Зменшення нерівномірності зусиль уздовж осі стента.

Нами була розроблена структура системи автоматизованого проектування стентов, що повинна включати наступні блоки:

* *Конструювання геометрії стентов.* Блок повинен дозволяти одержати будь-яку інформацію про розміри, форму як самого стенту, так і будь-якого його фрагмента. При цьому необхідно мати можливість відслідковувати зміну форми стента під впливом різних навантажень;
* *Розрахунок міцносних характеристик стентов.* Блок повинен дозволяти одержувати характеристики напруженого стану всіх елементів стенту внаслідок різного сполученного навантажень. При цьому повинна враховуватися втома матеріалу від часу;
* *Моделювання роботи серця та артерій****.*** Блок повинен дозволяти відслідковувати зміну геометричних параметрів серцево-судинної системи у процесі її роботи та пов'язане з цим зміну зусиль у артеріях;
* *Моделювання роботи стентів у віртуальних артеріях.* Блок повинен дозволяти розміщувати моделі стентів у віртуальні артерії та одержувати необхідну інформацію про зміни геометричних і міцносних характеристик стенту під час роботи серця;
* *Візуалізації процесів.* Блок повинен дозволяти спостерігати на моніторі комп'ютера будь-який етап проектування, розрахунку й віртуальної роботи стенту.

***Розробка технічних умов нанесення нових неорганічних і синтетичних покриттів на стенти.***Для одержання рівномірного покриття Zr–Ti–Ni на дроті, було виготовлено пристрій, що забезпечує обертання мірних відрізків дроту довжиною до 100 мм зі швидкістю 10 об/хв. на відстані 65 мм від поверхні планарної МРС. Товщина покриття обчислювалася за формулою:

***δ*** = ****.

У таблиці 2 показані основні параметри осадження покриття Zr–Ti–Ni та зміна його хімічного складу. У таблиці 2 також, для порівняння, наведені дані покриття Zr–Ti–Ni, нанесеному на нерухомий дріт (зразок 12пZr2) та покриття чистим Zr, отриманому на обертовому дроті (зразки 3пZr і 4пZr). З метою зниження небезпеки утворення тріщин товщина покриттів у порівнянні з першим етапом була змешена до 2-3 мкм. Дослідження поверхні покриттів, виконані за допомогою СЕМ і мікрорентгеноспектрального аналізу, продемонстрували, що виникненню тріщин сприяє здійснення процесу в режимі постійного зсуву (зразок 14пZr2-2). Не було виявлено тріщин на всіх інших досліджених зразках на прямолінійних ділянках і ділянках з вигином дроту. Вцілому з отриманих даних треба визнати доцільність нанесенні покриттів на тонкий дріт при магнетронному використання параметрів процесу з обмеженням часу напилювання в режимі зсуву (2 хв), питомої щільності потужності (менш 20 Вт/см2) і товщини покриття (не менш 3 мкм), що буде сприяти зниженню небезпеки утворення тріщин і забруднення матеріалу покриття залізом. Параметри процесу осадження та склад покриття Zr-Ti-Ni, нанесенного на дріт, що обертається, методом магнетронного розпилення.

Таблиця 2.

Основні параметри осадження покриття Zr–Ti–Ni та зміна його хімічного складу.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №зразка | Параметри процесу напилювання | Склад покриття,(атом. %) | Діаметрдроту(мм) |
| Питома щільність потужності (Вт/см2) | Напр-уження зсуву(В) | Час напилювання у режимі зсуву(хв.) | Щільністьтокупідложки(мА/см2) | Швидкістьосадження(мкм/хв) | Тов-щина покри-ття,(мкм) | **Zr** | **Ti** | **Ni** | **Fe** |
| Мішень |  |  |  |  |  |  | 55,3 | 37,0  | 7,5 | - |  |
| 12пZr2 | 16 | -100 | 2 | 5,2 | 0,21 | 4,4 | 39,5 | 42,6 | 17,9 | - | 0,5нерухома |
| 14пZr2-2 | 8,3 | -100 | Tзміщення=tосадження | 2,2 | 0,047 | 3,1 | 36,7 | 43,5 | 19,8 | - | 0,5 |
| 16пZr2-2 | 14,5 | -100 | 2 | 3,5 | 0,077 | 3,1 | 34,8 | 42,3 | 22,9 | **-** | 0,5 |
| 18пZr2-2 | 20,2 | -100 | 2 | 18,2 | 0,11 | 2,1 | 29,7 | 35,3  | 24,9  | 9,9 | 0,5 |
| 19пZr2-2 | 14,5 | -100 | 2 | 3,5 | 0,077 | 2,3 | 30,4 | 42,6 | 25,1 | 1,9 | 0,5 |
| 20пZr2-2 | 8,3 | -100 | 2 | 2,2 | 0,047 | 2,3 | 34,2 | 40,6 | 22,9 | 2,2 | 0,5 |
| 3пZr | 17,2 | - 100 | 2 | 5,1 | 0,13 | 3,2 | 99,7 | **-** | **-** | 0,3 | 0,5 |
| 4пZr | 17,2 | - 100 | 2 | 5,1 | 0,13 | 2,1 | 96,6 | 0,7 | 0,06 | 2,7 | 0,5 |

У роботі були вивчені ФПУМ, що були отримані на основі ароматичних діізоціанатів: толуїлендіізоціанату (2,4-, 2,6- (65/35), 4,4`-діфенілметандиізоціанату; олігоефіирів: олігооксіпропіленгліколя молекулярні маси 1500, олігооксітетраметиленгліколя, ММ 1000. Подовжувачами полімерного ланцюга використали фторвмісні ароматичні діаміни, у яких амінні групи перебували в ізомерному (*пари-, мета-*) положенні: 4,4`-біс-(*п*-амінофеніловий) ефір тетрафторгідрохінону (*п*‑ БАФЕТФГ) і 3,3`-біс(*м*-амінофеніловий)ефір тетрафторгідрохінону (*м*‑ БАФЕТФГ). Синтез ФПУМ проводили за форполімерним способом який описано у патентах. На першій стадії, взаємодією відповідного діізоціанату та олігоефиру, одержували макродіізоціанат, олігомер з кінцевими ізоціанатними групами. Потім, на другій стадії, проводили реакцію поліконденсації макродіізоціанат з відповідним фторованним подовжувачем макроланцюга. Загальна хімічна структура отриманих полімерів представлена на малюнку 10. Деякі властивості синтезованих ФПУМ наведені у таблиці 3. Плівки ФПУМ одержували та наносили на стент із нержавіючої сталі 316L поливом 20 % розчину полімерів у діметилформаміді, а для дослідження різних властивостей знаходилися на тефлонові підложки. Сушили при температурі 50 °С. Залишок діметилформаміду вакуумували до постійної маси зразків. Міцносні характеристики визначалися за швидкістю деформації (510-2 с-1) при температурі 18-20°С на приладі РМ-30 у режимі розтягування, при постійній поверхневого натягу (γ,тг) плівок ФПУМ. Оцінку характеристик проводили за крайовими кутами змочування. Як стандарт була використана бідистилльована вода. Ступінь набрякання полімерних плівок визначали при 36ос протягом 24 годин у дистильованій воді, як відношення збільшення ваги плівок до її вихідної ваги. Насьогодні встановлено, що полімери медичного призначення повинні відповідати певним фізико-хімічним критеріям, а також основним вимогам медико-біологічного характеру. Згідно даним механічних випробувань встановлено, що значення міцності при розриві плівок ФПУМ становлять 15,7 - 103,0 Мпа, модул пружності 16 - 67 Мпа з відносним подовженням 346 - 1240 %. Результати досліджень показали, що, незважаючи на різний хімічний склад сегментованих ФПУМ, міцносні характеристики полімерів лежать у межах значень міцності природних судин людини. Також одним з важливих критеріїв сумісності полімерних матеріалів із кров'ю є їх поверхневий натяг.









Мал. 10. Елементарна ланка ФПУМ.

Таблиця 3

Хімічний склад і властивості ФПУМ.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Зразок | Склад | [η],дл/г  | Міцність при розриві, Мпа | Ефективний модуль пружності, МПа | Відносне подовження при розриві, % | γтг,мн/м |
| ФПУМ-1 | ТДИ, ОПГ, *м*-БАФЕТФГ | 0,18 | 15,7 | 17,0 | 346 | 33,2 |
| ФПУМ-2 | ДФМДИ, ОТМГ, *п*-БАФЕТФГ | 0,26 | 77,7 | 67,0 | 620 | 41,5 |
| ФПУМ-3 | ДФМДИ, ОТМГ, *м*-БАФЕТФГ | 0,24 | 103,0 | 16,0 | 1240 | 37,6 |

Як видно з даних таблиці 3, для зразків ФПУМ величини γтг  становлять 33,2 - 41,5 мН/м. Аналіз результатів крайових кутів змочування полімерів показав, що значення поверхневого натягу плівок ФПУМ перебувають у межах достатньої гемосумісності для поліуретанів.

*Розробка технічних умов нанесення нових аутопокритій на стенти.* Два види поведінки адсорбції білка визначали дві основні моделі процесу:

* Рівномірна кінетика визначає повністю оборотний механізм адсорбції без взаємодії між адсорбованими молекулами. В цьому випадку процес повторює закон ізотерми Ленгмюра [Γг(С/С0)]/[1+(С/С0)], де Γ та Γг - адсорбовані масси, С - концентрація білків, С0 - початкова концентрація.
* Друга модель кінетики з багатьма максимумами відображає процес адсорбції, де молекули білка адсорбуються в одній формі, але можуть змінювати її на іншу *незворотню* граничну форму. Ця форма потребує більшої контактної площі поверхні, таким чином викликає сильну десорбцію первинно адсорбованих макромолекул.

Мал. 11. Залежність елліпсометрічеського параметру від часу інкубації для зразка SS у розчині ЧСА.

Елліпсометрія дозволяє визначати характеристики плівок завтовшки у 0,01 нм. Ця методика має декілька особливостей, корисних при вивченні тонких біологічних шарів. Перш за все, вона не потребує флуоресцентної або радіоімунної маркіровки молекул. По-друге, цей метод може використовуватися в рідких середовищах та на повітрі на поверхні твердих тіл. Це дозволяє спостерігати кінетику адсорбції у часі (малюнок 11). Таким чином, впродовж перших 5 хвилин адсорбується моношар альбуміна. Зменшення товщини адсорбованого шару до значень менших, за товщину моношару означає десорбцію білків і зменшення відносної площі покриття поверхні неіржавіючий стали (SS). Еволюція адсорбованого шару білків указує на поступове нелінійне зменшення товщини адсорбованого шару, і отже ї кількості адсорбованих молекул по досягненню насичення при завершенні експерименту впродовж 340 хв. З малюнка 12 видно, що максимальна кількість адсорбованого альбуміна складала близько 7,4±0,8 мг/м2 (5 хв) і впродовж експерименту ця величина не лінійно падала до ~2±0,8 мг/м2 (340 нм). Отримана кінетика адсорбції альбуміна вказує на переваження десорбції білка при тривалому періоді інкубації внаслідок руху розчину. Була вивчена динаміка адсорбції альбуміна методом *in situ* елліпсометрії впродовж 340 хв. та отримана залежність значення маси адсорбованої речовини від часу інкубації.

Мал. 12. Залежність адсорбованої маси альбуміна на одиницю площі для поверхні SS. Концентрація розчину складала ~8 мг/мл.

На підставі проведених робіт нами була розроблена адаптуюча композиція (АК). Вона дає абсолютно інший підхід: замість неспецифічного втручання в імунну систему реципієнта іммуннодепресантів, наш метод дозволяє забезпечити підвищення біосумісності за рахунок дії на донорський трансплантат, імплантат органічної або неорганічної природи, який в результаті такої обробки буде розглядатися як “свій” певними компонентами імунної системи реципієнта.

Таким чином, на відміну від способів запобігання процесу відторгнення імпланта, що передбачають дію на організм реципієнта, наш метод базується на модифікації самого імпланту органічної або неорганічної природи до появи імунологічної сумісності з тканинами реципієнта. Дія АК була перевірена на декількох об'єктах. З цією метою проводили попередню обробку АК внутрішньосудинних стентів протягом 10 хвилин при температурі 370С перед введенням у черевну аорту кролям. Тварини для імплантації стентів з ауто покриттям були розподілені на 2 групи по 12 тварин у кожній, відповідно до нанесення на стенти покриття: ауто- чи і покриття бичачим сироватковим альбуміном (БСА). В якості контролю використовували кролів, яким вводили стенти з неіржавіючої сталі 316L без попередньої обробки (10 тварин).

Таблиця 4.

Показники морфометрії стінки аорти кроля після імплантації стентів р<0,006.

|  |  |
| --- | --- |
| **Групи** (n = 32) | **Умовні одиниці** |
| Норма | 123,89 ± 31,6 |
| Без обробки (n = 10) | 304,72 ± 82,2 |
| Обрабобка БСА (n = 12) | 232,28 ± 34,61 |
| Обрабобка АК (n = 12) | 140,24 ± 27,94 |

Товщину утворенної неоінтими оцінювали на стандартізованних зрізах в умовних одиницях. Середні значення вимірювань у 3 груп тварин представлені у таблиці 4.

Як показали результати досліджень, метод, що передбачає попередню обробку стентів АК, забезпечує зменшення реакції навколишніх тканин завдяки модифікації поверхні імплантов та зменшення товщини розростання неоінтими, що свідчить про відсутність процесів запалення і утворення фіброзної тканини навколо імпланту. Для підтвердження модифікації поверхні АК були проведено ще ряд досліджень.

Метод АСМ, дозволяє за допомогою фізичних величин визначити якість поверхні (малюнок 13) та щільність нанесення покриття на нанорівні. У роботі для верифікації біомлекули на поверхні SS за допомогою АСМ, зонд був функционалізован IgG осла проти сироваткого альбуміну кролів (САК) у концентрації 1 мкг/мл IgG. Потім на поверхню зразка окремими ділянками наносили:

1) Розчин САК в концентрації 1 мкг/мл;

2) Розчин альбуміна сироватки миші в концентрації 1 мкг/мл;

3) Розчин IgG осла проти САК в концентрації 1 мкг/мл IgG.

Мал. 13. Вимірювання фізичної взаємодії “антиген-антитіло” із застосуванням функционалізованного зонду АСМ. Розмірність сили взаємодії – нано Ньютон - nN (10-9N), відстань - Мікрометри μm (10-6м).

На цьому етапі досліджень було вивчено взаємодію між вихідною поверхнею SS та зондом, який був функционалізован IgG, потім поверхня зразка піддавалася обробці розчином САК та миші на різних ділянках поверхні. Потім, проводили вимірювання сили, що утримує зонд (сила взаємодії “антиген-антитіло”). Як видно з наведеного малюнка 13, у випадках, коли вихідна поверхня оброблялася розчинами сироваткового альбуміну миші або САК, сили утримування чистого зонда були без особливостей і складали від 17-22 нН (10-9 ньютона). При функционалізациі зонду IgG реєструвалося значне збільшення сил утримування на ділянці обробленому розчином САК – до 45 нН. Сила утримання функционалізованного зонда на ділянці, обробленій сироватковим альбуміном миші, не мінялася у порівнянні з чистим зондом.

Ці дані свідчать про те, що адсорбовані на поверхні молекули сироваткового альбуміну кролика зберігають свої поверхневі детермінанти. Іншими словами, на поверхні не відбувається конформаційна зміна адсорбованої біомолекули, що могла б викликати відповідь на екзогенний білок. Надалі, стенти оброблені таким чином імплантувалися до аорти кролив.

***Вивчення особливості зміни поверхні стентів, що використовують в ендоваскулярній хірургії при їх функціонуванні в просвіті судини експериментальних тварин і людини.*** З отриманого матеріалу видно, що практично всі зразки поверхонь з неорганічними покриттями піддалися різному ступеню та видам корозії. Зокрема спостерігалася піттінговая корозія, поверхні стали 316L, через 8 тижнів після імплантації. У разі покриття Zr, спостерігалися елементи руйнування покриття з утворенням окисних сполук.

Через 8 тижнів після імплантації на пластинах вкритих аморфним вуглецем спостерігалось злущування покриття з порушенням його цілісності, яке могло служити причиною тромбоутворення. Полімерні покриття тетрафторетиленом через 8 тижнів після перебування в організмі мали всі ознаки біодеструкції. Морфологічно були досліджені тканини при використанні неорганічних та синтетичних покриттів. В цілому, спостерігалася типова реакція на чужорідні тіла, яка мала деякі особливості залежно від типу покриття. Морфологічне дослідження тканин, що оточували імплантовані пластини сталі 316L без покриття або з покриттями, свідчили про типову запальну реакцію організму з утворенням гранулем навколо чужорідних тіл. У гранулемах та в гігантських клітинах в тканинах навколо “чужорідних тіл” у всіх спостереженнях виявлені чужорідні тіла. Частинки корродованной сталі 316L спостерігалися в капсулі, що утворилася навколо пластини, та була представлена грубими фіброзними волокнами з різними товщинами. У порожнині капсули клітинний детрит - тіні лімфоцитів, еритроцити, фібрин. У товщі капсули та у зовнішнього її краю визначалися численні фіброзні порожнини різних розмірів з таким же клітинним детритом. Капсула навколо пластини була пронизана численними дрібними капілярами. Тканини мали темні чужорідні зернисті, пластинчасті і напівпрозорі “мереживні” включення з щільним центром. Іноді ці включення з чужорідних тіл виявлялися в цитоплазмі гігантських кліток, як прояв фагоцитозу та ендоцитозу. Іноді вони лежали в тканині вільно. Були також помічені довгі чужорідні пластинчасті тіла і напівпрозорі “мереживні” включення. У крупних макрофагах містилися прозорі піняві маси. У деяких зразках була присутня велика кількість еозинофілів, тучних клітин та плазмоцитів, що відображало індивідуальні особливості реакції.

У разі покриття цирконієм капсула навколо пластини була досить широка. На внутрішній поверхні спостерігалися залишкові структури грануляційної тканини і невеликі фрагменти чужорідних тіл аморфного вигляду. Фіброзна частина капсули була широка, з ознаками активного фібропластичного процесу, за клітинними характеристиками близького до фіброматозу. Структура фіброзу була комірчастою. У осередках – дрібні розширені капіляри, гемосидерін, чужорідні фрагменти з незначною гигантоклетинною реакцією. За межами капсули із зовнішнього її боку – різко виражена судинна реакція, ангіоматоз. Капсула пластин з частками полімеру тетрафторетілена мала неоднакову товщину. Покривна частина була тонша, за ту, що підлягає із залишковою грануляцією і розширеними судинами, але, вцілому, тонка. У зовнішньому рихлому шарі визначалися елементи гранулем чужорідних тіл, з макрофагами, що містять матеріал пластинок. Ми спробували знайти кореляцію між будовою поверхні і тропностю тканин судинної стінки до відповідного покриття на підставі вивчення поверхні сплавів і покриттів стентів до їх імплантації кроликм при допомозі СЕМ на нанорівні, і порівняти з результатами гістохімічних досліджень тканин судинної стінки. Покриття стента з окису титану мали лускову кристалічну будову поверхні, з напрямом осі кристалу паралельно основі зразка, розмір лусок складав 10 - 30 нм. Покриття з окису цирконію мали розвинену поверхню, на зразок пористої губки. Розміри кратерів на поверхні сполук Zr складав 30 - 80 нм. Відомо, що імплант, у якого більш розвинена поверхня, з порами рівними або більше розмірів молекули альбуміна, має більшу спорідненість до тканин організму. Якщо зіставити розміри сироваткового альбуміну в розчині – 15 Х 4 нм - очевидь, що рівень первинної незворотної адсорбції альбуміну на поверхні вкритою сполуками Zr (кратер 30 - 80 нм), буде вищий за рівень незворотної адсорбції альбуміну на поверхні покриття сполуками Ti (луска 10 - 30 нм). Отже, можна чекати агресивнішу реакцію стінки судини на стенти вкриті сполуками Ti.

Всі стенти, що використовувались в клініці і вивчались у роботі, імплантували експериментальним тваринам за одним протоколом, без виключень. У проведених дослідженнях продемонстровані зміни безпосередньо на поверхні конструкцій і в навколишніх тканинах. Необхідно відзначити, що після імплантації стентів з SS, покритих аморфним вуглецем і DLC відбулася загибель тварин в ранішні терміни, ніж планувалося завершення експерименту. Дані випадки можна пов'язати з тим, що в групах з цими покриттями у 3 тварин з 12 та 2 з 12, відповідно, при розтині загиблих кроликів не було виявлено стентів. Хоча на гістологічних препаратах аорти у загиблих тварин видно місця знаходження стентів, і навіть відмічена реакція судинної стінки на їх установку. Ці спостереження можна розцінювати як результат завершення запального процесу, посиленого операційним втручанням і імплантацією чужорідного матеріалу, що призвело до повного руйнування металевих конструкцій. У згаданих випадках можна думати про надшвидку корозію стенту на тлі утворення гальванічного процесу, або корозії при істотній зміні рН середовища. Агресія може виражатися в корозії металу, або покриття, або фрагментації ділянок синтетичних покриттів.

При проведенні СЕМ, що дозволяє визначити характер структури неорганічних покриттів, сполук металів поверхні стентів, представляється можливим прогнозувати реакцію тканин організму на імплант. Покриття цирконієм практично не змінювалися при знаходженні в просвіті судини за 8 тижнів, а зміни, які демонструвала стінка судині можна віднести до впливу безпосередньо самого покриття. За 8 тижнів не відмічено змін поверхні стентів з синтетичними покриттями ФПУМ № 7, 9 і поверхні стентів з SS обробленої адаптуючої композиції.

***Порівняння впливу традиційних і нових покриттів стентів на зміну складу крові експериментальних тварин і людини*** *in vitro*. Усі 23 зразка неорганічних покриттів та 8 полімерних покриттів було протестовано у модельному розчині фібріногена. Отримані дані мають р > 0,05, що вказує на достовірну відмінність у порівнянні з початковими показниками, як модельного розчину, так і з цілісної крові чоловіків волонтерів (таблиці 5, 6). Потім за наслідками тестування покриттів в умовах модельного розчину фібріногена, нами були відібрані 15 найбільш перспективних неорганічних і полімерних покриттів для подальших досліджень з цілісною кров'ю волонтерів, які отримували терапію препаратами, зазвичай призначають хворим на ІХС. Це були різні варіанти покриттів TiN3 і ZrN3, окисами цирконію і ФПУМ (таблиця 6).

Таблиця 5.

Концентрація фібриногена у модельному розчині після контакту з різними покриттями.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| № | Матеріал | % фібриноген у р-ні | рН поверхні |
|  | Zr-ZrN/ Нержавіюча сталь | 87% | 6 |
|  | Zr-ZrO/ Нержавіюча сталь | 89.6% | 5.5 |
|  | Ti-Ti2N-Ti-TiN/Ti | 93% | 6,0 |
|  | TiO/Ti (t-1000 Co) | 76% | 7.0 |
|  | Сплав Al-Cu-Mg | 78.8% | 6.5 |
|  | TiN-Ti2N/ Нержавіюча сталь | 91.3% | 7.0 |
|  | TI(CO)/Ti (t-1030 Co;τ-60') | 87% | 6.5 |
|  | Ti-TiN/Ti (Uопор 100 v) | 94% | 7.0 |
|  | Ti-TiN/ Нержавіюча сталь (Uопор100 v) | 97.1% | 6.5 |
|  | Ti-TiN/ Нержавіюча сталь (Uопор320 v) | 76.3% | 6,5 |
|  | Углеродная пленка/ Нержавіюча сталь | 85.3% | 7.0 |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-C/ Нержавіюча сталь | 85.5% | 6,5 |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-…- TiCxNy-C/Ti | 83% | 7,0 |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-C3N4/ Нержавіюча сталь | 76.1% | 6,5 |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-/ Нержавіюча сталь (Uопор200 v) | 75% | 6,5 |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-/Ti (Uопор 300 v) | 78% | 6,0 |
|  | Al2O3+ZrO2/ Нержавіюча сталь | 79.1% | 7,0 |
|  | Zr | 67.2% | 6.5 |
|  | Al2O3 | 41.8% | 6.5 |
|  | Al2O3+TiO2+ZrO2 (без подслоя) | 43.6% | 5.5 |
|  | Al2O3+TiO2 | 45% | 7.0 |
|  | Al2O3+TiO2+ZrO2 (з підслоєм) | 76.2% | 7.0 |
|  | ФПУМ № 1 | 90% | 6,5 |
|  | ФПУМ № 2 | 92% | 6,5 |
|  | ФПУМ № 3 | 10% | 6,5 *Полімер знявся* |
|  | ФПУМ № 4 | 89% | 6,5 |
|  | ФПУМ № 5 | 17% | 6,5 *Полімер знявся* |
|  | ФПУМ № 6 | 78% | 6,5 |
|  | ФПУМ № 7 | 25% | 6,5 *Полімер знявся* |
|  | ФПУМ № 9 | 49% | 6,5 |
|  | Нержавіюча сталь (SS) | 93% | 5,5 |

Таблиця 6.

Зміни параметрів суцільної крові волонтерів після контакту з різними покриттями.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **№** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **7** | **8** |
| **а** | **б** | **а** | **б** |
| **А** | **Вихідні показники** | ++ | 130” | 90% | 3,50 | 388 | 11% | 5% | 40% | 40% |
|  | Zr-Zr / Нержавіюча сталь | +++ | 180” | 100% | 3,25 | 86 | 6% | 6% | - | - |
|  | Ti-Ti2N-Ti-Ti/Ti | ++ | 160” | 100% | 3,25 | 217 | 10% | 5% | 46% | 46% |
|  | Ti-Ti/Ti (Uопор100 v) | ++ | 190” | 90% | 3,50 | 144 | 14% | 10% | 37% | 37% |
|  | Ti-Ti/ Нержавіюча сталь (Uопор 100 v) | ++ | 160” | 90% | 3,00 | 220 | 7,5% | 5% | 28% | 28% |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-…-TiCxNy-C/Ti | ++ | 180” | 100% | 3,25 | 187 | 14% | 9% | 19% | 19% |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-C3N4 / Нержавіюча сталь | ++ | 160” | 95% | 3,25 | 192 | 6% | 2,5% | 20% | 20% |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-C3N4 / Нержавіюча сталь | ++ | 160” | 95% | 2,75 | 181 | 6% | 4% | 15% | 9% |
|  | Ti-TiN-TiCxNy-/Ti (Uопор 300 v) | ++ | 170” | 105% | 3,00 | 208 | 7,5% | 5% | 31% | 31% |
|  | Al2O3+Zr2/ Нержавіюча сталь | ++ | 180” | 100% | 3,25 | 260 | 9% | 5% | 32% | 32% |
|  | Al2O3+Ti2 | ++ | 160” | 100% | 3,50 | 181 | 11% | 9% | 31% | 31% |
|  | ФПУМ №3 | ++ | 190” | 100% | 3,50 | 176 | 7,5% | 5% | 25% | 25% |
|  | ФПУМ №4 | ++ | 260” | 100% | 3,50 | 212 | 6% | 4% | 30% | 30% |
|  | ФПУМ №7 | ++ | 170” | 90% | 3,75 | 158 | 11% | 10% | 40% | 40% |
|  | ФПУМ №9 | ++ | 180” | 95% | 3,5 | 150 | 10% | 7,5% | 31% | 31% |
|  | Нержавіюча сталь (SS) | ++ | 170” | 100% | 3,25 | 198 | 11% | 6% | 14% | 7,5% |

Примітки: **А** - середні показники параметрів крові волонтерів. **1.** Зразок металу та покриття з таблиці 5. **2.** Розчинний фібрин. **3.** Плазменний лізис (N = 130-140''). **4.** Протромбіновий індекс (N = 80-100%). **5.** Фібриноген (N = 2-4 г/л). **6.** Кількість тромбоцитів (N = 150.00-350.00). **7.**Концентрації тромбоцитів і фібриногену в суцільній крові та фібриногену в модельному розчині після контакту з покриттями в присутності 1 ммоль АТФ **а)** агрегація тромоцитів; **б)** СІАТ. **8.**Концентрації тромбоцитів і фібриногену в суцільній крові й фібриногену в модельному розчині після контакту з покриттями в присутності 5 ммоль АТФ **а)** агрегація тромоцитів; **б)** СІАТ. Експозиція при тестуванні становила 1 годину, всі реакції відбувалися при 370С.

Як видно з наведених у таблиці 6 даних, найбільш інформативними для характеристики поводження зразків покриттів у суцільній крові *in vitro* є зміни показників фібриногену, кількості тромбоцитів та реакції тромбоцитів на різні концентрації індукторів (АДФ). Зміна інших показників крові *in vitro* не давали можливість рівнозначно судити про біосумісність покриттів, що проходили тестування. Покриття Ti, чистим Zr та три полімерні ФПУМ № 4, 7 і 9 покриття були нами відібрані як найбільш перспективні, і які придатні для нанесення на стенти, з можливістю імплантування у СМД.

***Оцінка впливу стентів з традиційними та новими покриттями на морфологічні зміни стінки судин експериментальних тварин.*** На протязі усіх досліджень проводили у динаміці вимір біохімічних показників крові тварин: у момент взяття тварини в експеримент, перед імплантацією стенту та перед виведенням тварини з експерименту. Було встановлено, що показники крові істотно відрізнялися у залежності від виду покриття, що було нанесено на імплант. Приводимо таблицю середніх показників холестерину й С-реактивного білку (CRP), як найбільше патогенетичних параметрів у оцінці розвитку та динаміки запального процесу, а також підвищення атероматозності плазми крові експериментальних тварин на трьох стадіях експерименту (таблиця 7).

### Таблиця 7.

Показники холестерину та CRP крові експериментальних тварин у ході експерименту для вивчення впливу різних покриттів на організм тварин.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Групи** **покриттів** | **CRP** (mg/l) | **Холестерин** (mg/dl) |
| % від вихідного значення перед операцією  |  % від вихідного значення перед виведенням з експерименту | Вихідне значення | Перед операцією |  % від вихідного значення перед операцією | % від вихідного значення перед виведенням з експерименту |
| № 1 | 465,42 | 405,5 | 29,92 | 43,01 | 144 | 87 (26,13) |
| № 2 | 438,17 | 366,22 | 28,84 | 46,68  | 162 | 141 (65,99) |
| № 3 | 1060,25 | 272,12 | 39,52 | 40,13 | 102 | 138 (54,53) |
| № 4 | 309,64 | 135,28 | 35,92 | 46,46 | 129 | 199 (71,51) |
| АК | 423,46 | 142,21 | 34,82 | 38,12 | 109 | 128 (44,57) |
| SS | 476,43 | 606,18 | 35,77 | 46,28 | 129 | 178 (63,71) |
| ФПУМ \* | 436,52 | 234,98 | 32,84 | 42,35 | 115 | 96 (40,66) |

Примітка: \* Показники крові у групах тварин зі стентами, вкритими ФПУМ 3, 4, 7, та 9 практично не відрізнялися і тому були зведені до однієї групи.

Зміна рівня CRP у сироватці крові експериментальних тварин дозволяє зробити висновок, що покриття № 1 та нержавіюча сталь викликає найбільш потужні запальні реакції, а покриття № 3, 4, АК та ФПУМ практично не подразнюють стінку судини.

На сьогоднішній день не існує стандартизованого протоколу виміру розростання неоінтими після імплантації стенту. Для визначення розвитку рестенозуа у стенті істотним є зміна площі поперечного переріза просвіту судини. У першому наближенні стінку судини можна уявляти собі як дві концентричні окружності. Зменшення діаметра внутрішньої окружності буде відповідати ступеню розвитку рестеноза. Звідси маємо, що визначення площі кільця, утвореного концентричними окружностями, буде наочно відображати звуження просвіту самої судини або просвіту усередині стента. Площа поперечного перерізу просвіту судини розраховується по формулі **S = *π* r2**, де **r** – радіус перерізу просвіту судини. Площа кільця, утвореного концентричними окружностями, визначається за формулою **S = *π (*R2-r2)**, де **R** – радіус зовнішнього кільця й відповідає зовнішньому розміру судини, а **r** – радіус перерізу просвіту судини.

Як видно з формули, для визначення зміни площі поперечного переріза просвіту судини важливим є різниця між внутрішніми й зовнішніми розмірами судини, що і є у нашому уявленні товщиною стінки судини. Зміна внутрішнього радіуса навіть на невелику величину є істотною, тому що при розрахунках має характер геометричної прогресії. Наприклад, збільшення товщини стінки судини у 2 рази призводить до зменшення площі поперечного переріза у 4 рази. Особливо істотний вплив ця прогресія має при розвитку рестенозу у СМД. Рівень рестенозу у нашому дослідженні визначали за обсягом зменшенням просвіту судини, за рахунок стовщення його стінки. З огляду на це проводили аналіз даних морфометрії усіх дослідженнених 1308 гістологічних препаратів (таблиця 8).

З метою одержання найбільш об'єктивних результатів, приймали до уваги відношення сумарної товщини стінки судини, стосовно товщини стінки судини в інтактній зоні (таблиці 9, 10 та діаграма 1). Сумарне значення показників складалося з товщини стінки судини під ніжкою стенту й над нею. Окремо порівнювали значення товщини стінки судини між елементами стенту та значення товщини стінки судини у інтактній зоні. Останні значення дозволяли більш точно уявляти собі вплив різних покриттів на зміни у шарах клітин стінки судини.

### Таблиця 8.

Зведена таблиця результатів реакції тканин організму експериментальних тварин на імплантацію стентів з різними покриттями.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Покриття** | **Коментарі морфолога**  | CRPмг/л | Морфометрія мкм | **Аналіз гістолога** | **\_**тканина | **+** тканина | **Оцінка покриття** |
| Середнє значенняр>0,001 |
| **№ 1** | Стент вкритий неоінтимою, важко відділяється. Ніжки щільно фіксовані. | 10,30±3,09 | 323,19±21,6 | Атрофія структур стінки у місцях розташування ніжок стенту. Проліферація значна, гіперплазія виражена добре. |  **\_** | **+ + +** | дуже погано |
| **№ 2** | Стент вкритий неоінтимою, крововилив у стінці. | 9,12±2,39 | 389,82±18,61 | Дистрофія виражена значно, більше гіпертрофія, чім атрофія у місцях розташування ніжок стенту. |  **\_ \_** | **+ + +** | погано |
| **№ 3** | Стент вкритий неоінтимою, глибоко занурений у стінку судини. | 11,0±2,94 | 187,36± 10,13 | У порівнянні з інтактною зоною дистрофія стінки у місці ніжок добре виражена. | **\_ \_**  | **+** | добре |
| **№ 4** | Стент покритий неоінтимою, занурен у стінку судини. | 4,58±1,28 | 197,49± 13,06 | Дистрофія й атрофія у місцях знаходження ніжок стенту сполучна. | **\_ \_** |  | дуже добре |
| **SS** | Ніжки стента умуровані. Видаляються разом з неоінтимою. | 17,75±4,82 | 284,76±19,24 | Значна гіперплазія у місці знаходження ніжок стенту. |  | **+ +** | погано |
| **ФПУМ** **№ 7, 9** | Стент вкритий неоінтимою, важко відділяється | 2,8±0,51 | 157,56± 13,21 | Дистрофія виражена незначно, атрофія у місцях знаходження ніжок. | **\_ \_**  |  | дуже добре |
| **АК** | Стент покритий тонким шаром неоінтими, занурений у стінку. | 1,75±0,61 | 169,47± 15,06 | Дистрофія не виражена, невелика атрофія у місцях знаходження ніжок. | **\_**  |  | дуже добре |

### Таблиця 9.

Таблиця середніх значень товщини стінки черевної аорти кролів у місцях знаходження ніжок стентів з різними покриттями (p > 0,001).

|  |  |
| --- | --- |
| Групипокриттів | Товщина стінки аорти в мкм |
| Під ніжкою стенту | Над ніжкою стенту | Між ніжками стенту | Інтактна зона |
| № 1 | 150,72 ± 21,6 | 219,40 ± 18,61 | 275,98 ± 74,61  | 176,54 ± 13,06 |
| № 2 | 215,44 ± 19,84 | 213,22 ± 22,31 | 292,99 ± 53,42 | 234,12 ± 11,02 |
| № 3 | 99,81 ± 11,54 | 68,25 ± 10,32 | 205,64 ± 38,97 | 150,03 ± 8,29 |
| № 4 | 127,85 ± 10,33 | 81,10 ± 11,45 | 186,03 ± 22,13 | 202,61 ± 10,02 |
| АК | 139,54 ± 7,56 | 29,07± 8,42 | 146,50 ± 22,01 | 139,54 ± 11,02 |
| SS | 168,38 ± 25,32 | 144,65 ± 15,06 | 256,50 ±21,69 | 184,48 ± 12,05 |
| ФПУМ №7, 9 | 129,84 ± 21,06 | 58,34 ± 9,52 | 150,76 ± 32,06 | 210,31 ± 10,56 |

Таблиця 10.

Таблиця відносних середніх значень товщини стінки черевної аорти кролів у різних місцях знаходження ніжок стентів з різними покриттями (p < 0,001).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Групи покриттів | NТовщина інтактної зони судини | С Товщина над ніжкою стенту + під ніжкою стенту | C/N Х 100% | С1Товщина стінки судини між ніжками стенту | С1/N X 100% |
| **№ 1** | 176,54 | 370,13 | 209,65 | 275,97 | 156,3 |
| **№ 2** | 234,12 | 428,66 | 183,09 | 292,99 | 125,6 |
| **№ 3** | 150,03 | 168,06 | 112,00 | 205,64 | 137,06 |
| **№ 4** | 202,61 | 208,95 | 103,00 | 186,03 | 92,01 |
| **АК** | 139,54 | 142,61 | 102,15 | 146,50 | 105,03 |
| **SS** | 184,48 | 213,03 | 115,48 | 256,51 | 139,02 |
| **ФПУМ №7, 9** | 210,31 | 188,18 | 89,48 | 150,76 | 71,68 |

Діаграма 1.

Проведено математичний аналіз результатів морфометрії усіх покриттів, що брали участь у дослідженні. Наведені гістограми вказують на те, що покриття №4 (цирконій) ФПУМ та АК приводять до найменшого зростання товщини неоінтими.

***Визначення сумісності (тропності) організму певного реципієнта до різних видів покриттів за допомогою АСМ.*** У роботі проведені серії модельних експериментів з метою оцінки можливості застосування АСМ для прогнозування ступені біосумісності матеріалів з організмом реципієнта. У ході роботи був вивчен процес окремих міжмолекулярних взаємодій, при якому реєструвалися сили взаємодії функионализованого зонду АСМ із об'єктом, що досліджували, залежно від відстані між зондом та поверхнею об'єкта (малюнок 14).

Мал. 14. Визначення сили відриву Fc за даними АСМ.

У початковий момент зонд перебував далеко від поверхні зразка (точка 1), але зонд наближався до поверхні під впливом дальнодіючих молекулярних сил, аж до утворення контакту (точка 2). У момент, коли зонд безпосередньо торкався поверхні (точка 3) починався зворотний рух консолі, аж до певного моменту (точка 4), коли адгезійний зв'язок руйнувався, і консоль знову ставала вільною. Адгезійнийю зв'язок можна охарактеризувати силою відриву Fc(малюнок 14), що відповідає величині стрибка на кривій від мінімуму до нуля при збільшенні відстані “зонд/поверхня”. Для зручності порівняння різних даних вертикальне положення Δd сканера АСМ завжди буде відлічуватися щодо положення точки 4. Силові криві (залежності сили взаємодії від відстані “зонд/поверхня”) реєструвалися в дослідженні при кімнатній температурі (250 С). Сила взаємодії визначалася за визначенням величини пружної деформації консолі зонду АСМ Δ d як F = k Δ d, де k – пружна постійна консолі зонда. Отримані результати вивчення взаємодії зразків з модифікованим зондом за допомогою АСМ мають підтвердження у експериментах *in vivo*. У таблиці 11 представлені середні значення сил взаємодій між досліджуваними поверхнями та зондом АСМ, модифікованим антитілами (АТ). По 150 вимірів на кожний зразок поверхні.

Таблиця 11.

Сили притягування/утримання зонду, модифікованого АТ, різними поверхнями (p < 0,001).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Зразок** | **Сила притягання (нН)** | **Сила утримання (нН)** |
| **Au** | 4. 776 | 34. 758 |
| **Аморфний вуглець** | 5. 183 | 32. 074 |
| **ПУМ** | 2. 396 | 26. 283 |
| **АК** | 1. 292 | 9. 632 |
| **Zr** | 1. 591 | 10. 629 |
| **DLC** | 1. 017 | 21. 724 |
| **Ti** | 1. 338 | 20. 846 |
| **SS** | 3. 858 | 23. 838 |
| **ФПУМ** | 1. 927 | 13. 102 |

Як можно побачити з результатів, зразки за здатністю утримувати зонд розташовуються у наступній послідовності: Au, вуглець, ПУМ, SS, DLC, Ti, ФПУМ, Zr та АК. За силами притягування зразки мають дещо інший вигляд: аморфний вуглець, Au, SS, ПУМ, ФПУМ, Ti, Zr, АК і DLC. Ці результати корелюють з результатами біохімічних, гістологічних та фізичних досліджень. Виключенням є покриття аморфним вуглецем. Значення сили притягування модифікованного АСМ зонду, було нижче, ніж для АК (1,017 нН проти 1,292 відповідно). У всіх інших випадках у дослідах *in vitro* та *in vivo* зроблені нами положення збігалися. Близькі дані у випадку модифікації поверхонь антигену (АГ), у нашому випадку САК, свідчать про те, що активні центри поверхні зразків модифікуються за рахунок адсорбції молекули альбуміну, що приводить до їх блокади, та проявляється в зниженні сил утримання зонду поверхнею.

***Обґрунтування застосування у клініці стентів з новими покриттями для поліпшення якості лікування хворих.***Стент розглядається як сторонній матеріал, отже, необхідно запроваджувати картування на сумісність даного матеріалу стента до організму певного пацієнта. У роботі розроблені принцип та механізм тестування матеріалу на сумісність до організму реципієнта за допомогою АСМ. В результаті досліджень був розроблений алгоритм.

**Хворий з показанням для імплантації стенту у СМД**

Картування спектру матеріалів, що дозволені для виготовлення стентів, на біосумісність з організмом реципієнта за величиною утримання зонду методом АСМ (нН)

Визначення рівня

CRP у сироватці крові пацієнта пациента

Підвищений рівень CRP

Позитивнй результат (≤20 нН), рекомендація імплантації певного стенту

Негативний результат

(>45 нН)

Використання АК для модифікації поверхні стенту перед імплантацією

Проведення протизапальної ї антигістамінної терапії

**Попередження розвитку РвС СМД**

Мал. 15. Алгоритм проведення обстеження у клініці пацієнта перед імплантацією стенту.

**ВИСНОВКИ**

1. На основі міждисциплінарних комплексних досліджень, розроблені нові покриття для стентів з підвищеної тромборезистентністю та антипроліферативними властивостями поверхні, які здатні попередити розвиток рестенозів при імплантації у судини малого діаметру, та обґрунтовано застосування цих імплантів у клініці для поліпшення якості лікування хворих;
2. Встановлено, що причинами розвитку рестенозів в просвіті стенту у судинах малого діаметра є:
* ригідність судинної стінки у місці імплантації стенту;
* циліндрична форма конструкції стенту, що призводить до нерівномірного навантаження на стінку судини, механічному подразненню її структур і підвищеній відповіді тканин;
1. Показано, що покриття стентів, які застосовуються на цей час, являють собою активні подразники організму реципієнта, а поверхні стентів піддаються різним видам корозії або деструкції полімерного покриття, що є наслідок прояв захисної реакції організму. Це підтверджується підвищенням рівня С-реактивного білку у сироватці крові кролів у період знаходження стенту у організмі (8 тижнів);
2. Встановлено, що показником тромбогеності покриттів є зниження концентрації фібриногену більш ніж на 30%, зменшення на 35% кількості тромбоцитів у суцільній крові та зміна їх функціональної активності у присутності різних концентрацій індуктора агрегації тромбоцитів (аденозин дифосфата). Показано, що тромборезистентність покриття є необхідною, але не достатньою вимогою до матеріалу для виготовлення стентів;
3. Встановлені закономірності зміни товщини стінок судини при використанні покриттів різної природи. Показано, що голий стент із нержавіючої сталі 316L дає збільшення товщини стінки судини на 40%,. покриття стенту цирконієм приводить до атрофії стінки судини на 9%, а нанесення фторвмісних поліуретан сечовин на 15%, у порівнянні з інтактним сегментом судини (р<0,001);
4. Показано, що нанесення на стент із нержавіючої сталі 316L покриттів фторсумісних поліуретан сечовин з ароматичними подовжувачами ланцюга, з атомами фтору в орто- і пара- положенні і покриттів на основі цирконію перешкоджають виникненню корозії металу. Нанесення композиції, що адаптує до організму реціпіента, на поверхню стенту також перешкоджає виникненню корозії металу й сприяє утворенню мінімального шару неоінтими, що становить не більше 2% стосовно інтактного сегменту судини (р<0,001);
5. Уперше запропонований метод визначення біосумісності матеріалів з живим організмом, заснований на визначенні сили адгезії високо специфічної аффинної пари “антиген-антитіло” за допомогою атомно-силової мікроскопії. Метод може бути застосований у клініці для експрес тестування матеріалу імпланту з метою прогнозування його сумісності з організмом певного реципієнта;
6. Запропоновано метод розробки стентів, що саморозширюються, для судин будь-якого діаметра, та створення конструкцій, близьких до індивідуальних вимог пацієнта, заснований на геометричному аналізі архітектоніки стенту, що змінюється, які були проведені за допомогою комп'ютерного моделювання.

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.**

1. При розробці моделі стентів для судин малого діаметра, необхідно враховувати силу тиску елементів конструкції імпланту на стінку судини, для запобігання її регідності. стент повинен мати певні пружні-динамічні властивості та у робочому стані давати можливість звужуватися судині, не більше, ніж на 20-25% просвіту;
2. Стент необхідно імплантувати у судини малого діаметра, по можливості прецизійно, без захоплення ділянок судини, не уражених атеросклерозом;
3. Найбільш інформативними для прогнозування поведінки у крові покриттів, нанесенних на стенти *in vitro* є зміни показників фібриногену, кількості тромбоцитів, функціональної активності тромбоцитів при різних концентраціях аденозин дифосфату в суцільній крові, хоча тромборезистентність покриття є необхідною, але не достатньою характеристикою для судинного стенту;
4. При виготовленні стентів необхідно застосовувати покриття, які не піддаються агресії з боку організму пацієнта, тобто сполук цирконію, нанесеними за допомогою магнетронної распилюючої системи або фторовмісними поліуретан сечовини з добрими адгезійними властивостями до металевої поверхні;
5. Проведення обстеження пацієнтів перед імплантацією стентів у судини малого діаметра за розробленим алгоритмом, дозволить уникнути розвитку рестенозу у стенті та необхідності зворотної госпіталізації з рецидивом захворювання, значно зменшить вартість оперативного втручання й поліпшить якість лікування хворих.
6. Найбільш простим засобом модифікації поверхні стенту для судин малого діаметра, є розроблена автором адаптуюча композиція, що дозволяє нівелювати, або повністю усунути реакцію стінки судини на імплант.

**СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Бобров В.А., Лазаренко О.Н., Сморжевский В.И. Нанотехнологии в разработке и исследовании новых тромборезистентных и антипролиферативных покрытий стентов для сосудов малого диаметра; под ред. Бобров В.А. – К: Издательский Дом “Здоров’я України”, 2007. – 164 с. (Здобувачем написані усі розділи досліджень у монографії, проведена підготовка видання до друку).
2. Синкопальные состояния детерминанты развития, возможности диагностики, лечения и профилактики / В.А. Бобров, А.П. Степаненко, В.И. Боброва, В.И. Паламарчук, Е.В. Боброва, О.Н. Лазаренко, Н.В. Бортняк. - Учебно-методическое пособие, МЗ Украины, Киевская медицинская академия последипломного образования им. П.Л.Шупика. – К.: 2006. – 70с. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, написання свого розділу у підручнику, підготовка до друку).
3. Лазаренко О.Н. Влияние ингибиторов АПФ на развитие рестенозов после ЧТКА // Изд. Республики Беларусь. Журнал Медицина. - 2002. - № 3 (38). - С. 27-28.
4. Лазаренко О.М. Реакція судинної стінки на різні види покриттів стентів // Галицький лікарський вісник. – 2002. - Т.9. - № 3. - С. 178-179.
5. Лазаренко О.Н. Причина возникновения рестеноза в стенте // Журнал Клінічна хірургія.- 2004. - №.1. - С. 34-36.
6. Лазаренко О.Н. Черезкожные коронарные вмешательства: история и борьба с осложнениями // Журнал Практична ангіологія. – 2007. - № 1(7). – Стр. 42-49.
7. Лазаренко О.Н. Влияние применяемых покрытий стентов на склонность их к тромбообразованию и развитию рестенозов // Журнал Практична ангіологія. – 2007. - № 2(8). – Стр. 37-41.
8. Шекера О.В., Бородин А.Є., Алексєєва Т.А., Лазаренко О.Н., Ошкадеров С.П. Фторсодержащие полиуретанмочевины в качестве покрытий коронарных стентов // Доклады НАНУ. - 2005. - №5. - С. 149-154. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, запроваджено аналіз результатів дослідження, виконана статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
9. Бобров В.А. Лазаренко О.Н. Развитие рестеноза после установки стента в зависимости от состояния атеросклеротической бляшки // Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім.П.Л.Щупика 2004. - книга 2 (випуск 13). - С. 347-353. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, висунута гіпотиза розвитку рестенозу, виконана статистична обробка данних, розроблен алгоритм обстеження та лікування паціентів, написання статті та підготовка її до друку).
10. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Ошкадеров С.П., Скиба И.А., Дэниер С., Фарайер Р., Михаловский С. Новые неорганические покрытия для коронарных стентов // Журнал Український медичний часопис. - 2004. - № 4/42. - С.109-113. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка до друку).
11. Шекера О.В., Алексеева Т.А., Бородин А.Е., Лазаренко О.Н. Синтез и тромборезистентные свойства фторированных полиуретанмочевин // Украинский химический журнал.- 2004. - Т. 70.- № 4.- С. 212-216. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконано аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
12. Лазаренко О.Н., Сергиенко О.В., Алексеева Т.А., Ошкадёров С.П., Скиба И.А., Шекера О.В., Дениер С., Михаловский С. Изменения структуры стенки аорты кролика при установке стентов с различными покрытиями // Украинский кардиологический журнал. - 2003. - № 1. - С. 96 -98. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконано аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
13. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Ошкадеров С.П., Шекера О.В., Пасечный С.В. Реакція ендотелію на різні види імплантатів // Журнал Практична медицина. - 2003.- № 1 (том IX). - С. 129-130. (Здобувачем проведено усі оперативні втручання, відслідковані морфологічні зміни на препаратах та зроблен їх аналіз, написання статті та підготовка її до друку).
14. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Шекера О.В., Ошкадеров С.П. Реакция стенки артерии у кроликов с повышенной атерогенностью плазмы крови на имплантацию стентов, покрытых фторсодержащими полиуретанмочевины // Журнал Экспериментальная и клиническая медицина. - 2003. - №3-4.- С. 106-109. (Здобувачем проведено усі оперативні втручання, відслідковані морфологічні зміни на препаратах та зроблен їх аналіз, написання статті та підготовка її до друку).
15. Лазаренко О.Н., Ошкадёров С.П., Алексеева Т.А., Скиба И.А. Изменения в аорте кроликов после установки стентов с новыми неорганическими покрытиями // Журнал Экспериментальная и клиническая медицина. - 2002. - №3. - С. 123-125. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
16. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Шекера О.В., Скиба И.А. Морфология аорты кроликов после установки стентов с полимерными покрытиями // Журнал Экспериментальная и клиническая медицина. - 2002. - №2. - С. 19-21. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
17. Алексеева Т.А., Лазаренко О.Н., Ошкадёров С.П., Скиба И.А. Морфологические изменения в аорте кроликов после установки стентов с неорганическими покрытиями на фоне введения пирогенала // Журнал Буковинский медичний вісник. - 2002. - №2. - С. 171-173. (Здобувачем проведено аналіз літературних даних, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
18. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Ошкадеров С.П., Скиба И.А., Denyer S., Mikhalovski S. Вплив структури поверхні стентів на їх біосумісність із судинною стінкою // Журнал Практична медицина. - 2002. - № 2 (том VIII). - С. 107-109. (Здобувачем проведено аналіз літературних даних, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання статті, підготовка її до друку).
19. Лазаренко О.Н., Шекера О.В., Алексеева Т.А., Демидюк Д.В., Скиба І.А. Покриття для коронарних стентів на основі фторованих поліуретанів // Журнал Шпитальна хірургія. - 2001. - № 1. - С. 118-120. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, статистичної обробки данних лабораторніх аналізів, написання статті та підготовка до друку).
20. Лазаренко О.М., Алексеева Т.А., Демидюк Д.В., Скиба І.А., Сердюк Г.И., Пасічний С.В. Тестування неорганічних покриттів для коронарних стентів // Журнал Шпитальна хірургія. - 2001. - № 1. - С. 64-67. (Здобувачем проведено аналіз літературних даних, виконана статистична обробка данних лабораторніх аналізів, написання статті та підготовка її до друку).
21. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Шекера О.В., Скиба И.А. Разработка новых покрытий для коронарных стентов // Журнал Шпитальна Хірургія. - 2000. - № 1. - С. 75-77. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, статистична обробка данних лабораторніх аналізів, написання статті та підготовка її до друку).
22. Алексеева Т.А., Карпенко Г.Ф. Лазаренко О.Н. Повышение биосовместимости активированных углеродных сорбентов, модифицированных белками // Украинский кардиологический журнал. - 1998.- № 7-8, С. 74-77. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, статистична обробка данних лабораторніх аналізів, написання статті та підготовка її до друку).
23. Белоножко А.Г., Степаненко А.П., Лазаренко О.Н., Демидюк Д.В. Поражение ствола левой коронарной артерии у пациентов ишемической болезнью сердца // Украинский кардиологический журнал. - 1997. - № 4, С. 17-20. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, статистична обробка данних та підготовка статті до друку).
24. Соколов Ю.Н., Соколов М.Ю., Костенко Л.Н., Грабов С.А., Терентьев В.Г., Лазаренко О.Н., Гершкович И.В., Тарапон И.В., Цыж А.В Применение перкутанной транслюминальной коронарной ангиопластики при лечении ишемической болезни сердца // Украинский кардиологический журнал. - 1996. - № 5-6, С. 23-29. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовка статті до друку).
25. Соколов Ю.Н., Соколов М.Ю., Костенко Л.Н., Грабов С.А., Лазаренко О.Н., Гершкович И.В., Цыж А.В., Демидюк Д.В. Перкутанная транслюминальная коронарная ангиопластика у больных стабильной стенокардией с различным морфофункциональным состоянием коронарного русла и миокарда // Украинский кардиологический журнал. - 1996. - № 1. - С. 9-15. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел та підготовка статті до друку).
26. Lazarenko O., Alekseyeva T., Bobrov V., Litvin P., Oshkaderov S. Application de la MFA pour prédire le taux de réaction de la paroi de vaisseau au stent // IX Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2007. - P. 54. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
27. Lazarenko O., Alekseyeva T., Shekera O., Gomolyako I., Mikhalovskiy S. Revetement optimal des stents destines aux vaisseaux de petit diametre // VIII Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2006. - P. 105. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
28. Lazarenko O., Yanchenko V., Alekseyeva T., Bobrov V., Litvin P., Litvin O., Oshkaderov S. Méthode physique de détermination de la biocompatibilité des matériaux pour les implants intravasculaires // VIII Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris.- 2006. - P. 114. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання роботи).
29. Лазаренко О.Н., Дроботун И.В., Гомоляко И.В., Алексеева Т.А., Ошкадёров С.П., Шекера О.В. Влияние различных покрытий стентов на пролиферацию неоинтимы в эксперименте // Материали Конференции с международным участием “Актуальные вопросы абдоминальной и сосудистой хирургии. Клинические проблемы трансплантации органов”. - Журнал Клінічна хірургія. - 2006. - №.4-5. - С. 82-83. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання работи, підготовка її до друку).
30. Lazarenko O., Aleksyeyva T., Ochkaderov S., Homolyako I., Borisov Yu. Zirconium coating for coronary stents // “Endovascular Biomechanics Research”. - France, Marseille. - 2006. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконано аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
31. Lazarenko O., Aleksyeyeva T., Homolayko I., Lazarenko A. The alteration of CRP level after experimental implantation of stent as a prognostic index of the development of restenosis in stent // “Artery 5”. - France, Paris. - 2005. - P. 19. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконано аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
32. Lazarenko O., Aleksyeyeva T., Homolayko I. Taux eleves de CRP et de glucose lors de l’implantation d’un stent comme signe pronostique de l’evolution de restenose // VII Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2005. - P. 115. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, підготовка роботи до друку).
33. Lazarenko O., Aleksyeyeva T. Le revetement des constructions endovasculaires par le plasma sanguin previent leur destruction dans l’organisme // VII Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2005. - P. 130. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
34. Lazarenko O., Aleksyeyeva T., Homolayko I., Lazarenko A. Un changement du CRP niveaux apres l`implantation d`un stent dans une experince comme indicateur prongnostique du developpement de la restenose dans un stent // VI Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2004. - P. 124. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
35. Lazarenko O., Mikhalovsky S., Santin M., Terr D., Field S. Reaction de la paroi aortiqe a differentes couvertures inorganiques. Experimentation animale // VI Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2004. - P. 123. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
36. Aleksyeyeva T., Lazarenko O., Mikhalovsky S., Santin M., Terr D., Field S. The corrosion stents stability after implantation (experimental study) // VI Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2004. - P. 110. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
37. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Гомоляко И.В., Ошкадеров С.П., Янченко В.В. Адаптаген для коронарных стентов // Матеріали VII національного конгресу кардіологів України.- 21-24 вересня, 2004.- С. 270. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
38. Лазаренко О.Н., Сергейчук С.В. Геометрические вопросы моделирования коронарных стентов // Матеріали VII національного конгресу кардіологів України.- 21-24 вересня, 2004. - С. 107. (Здобувачем зроблен аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
39. Shekera O., Kozak N., Alekseeva T., Lazarenko O., Nizelskii Yu. Tromboresistant Fluorocontaining Poly(urethane urea)s: Synthesis, Properties and Application // 7th Essen Symposium on Biomaterials and Biomechanics: Fundamentals and Clinical Applications. - October, 6th –8th, 2004. - P. 90-91. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
40. Aleksyeyeva T., Lazarenko O., Mikhalovsky S., Homolyako I., Mikhalovska L. Various inorganic coatings for modification of the metal stent`s surface // 7th Essen Symposium on Biomaterials and Biomechanics: Fundamentals and Clinical Applications. - October, 6th –8th, 2004.- P. 88. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
41. Шекера О.В., Алексеева Т.А., Лазаренко О.Н., Козак Н.В., Бородин А.Е. Фторовмісні поліуретансечовини: синтез та властивості // Матеріали конференції “Природні науки на межі століть”. - 2004. - м. Нежин, 23-25 березня 2004 р.- С. 132-133. (Здобувачем прооперовані усі тварини, проведен аналіз результатів дослідження, статистична обробка отриманих даних).
42. Шекера О.В., Тарасенко К.В., Лазаренко О.Н., Мужев В.В., Алексеева Т.А., Бородін А.Е. Фторвмісні ароматичні діаміни як мономери для синтизу поліуретаносечовин медичного призначення // Матеріали конференції “Домбровські хімічні читання 2003”. - 2003. - м. Черкаси, 26-28 травня 2003 р. С. 59. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних).
43. Lazarenko O. L’adaptogen pour des stents aortiques “Catyusha” // “V Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle”. - France, Paris. - 2003.- P. 152. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання роботи).
44. Lazarenko O. One if the causes of in-stent restenosis development // “IV Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle”. - France, Paris. - 2002.- P. 152. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання роботи).
45. Lazarenko O.N., Alexeeyva T.A., Ochkaderov S.P., Skiba I.A. The influence of the stent`s surface on restenosis development // “IV Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle”. - France, Paris.- 2002.- P. 129. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження та статистична обробка даних, написання роботи).
46. Vinnichenko M., Alexeeyva T., Tsiolko V., Lytvyn P., Lazarenko O., Shama N., Ochkaderov S., Poperenko L., Kulish M. Investigation of human serum albumin adsorption on the austenitic stainless steel surfaces treated in oxygen glow discharge // “Problems of Optics & High Technology Material Science SPO 2002”. - October 24-26. - Kiev, Ukraine. - 2002. - P. 210. (Здобувачем проведен аналіз результатів дослідження, статистична обробка отриманих даних).
47. Alexeeyva T.A., Lazarenko O.N., Ochkaderov S.P., Skiba I.A. Inorganic coatings for intravascular construction // III Symposium Endocoronary Biomechanics and Restenosis. - France, Marselle. - 2002. - Р. 34. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання роботи).
48. Лазаренко О.Н., Алексеева Т.А., Шекра О.В., Скиба И.А. Новое покрытие стентов из производных полиуретан флуорина // Матеріали “I Российский Съезд Интервенционных Кардиологов”. - Россия. - Москва. - 2002 - С. 116-117. (Здобувачем прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання роботи).
49. Lazarenko O.N., Alexeeyva T.A., Shekera O.V., Skiba I.A. New coatings for coronary stents based on fluorine derivatives // III Congres Francophone de Cardiologie Intervenionnelle. - France, Paris. - 2001. - P. 34. (Здобувачем проведено аналіз та статистична обробка данних лабораторніх аналізів, підготовка до друку роботи).
50. Лазаренко О.Н., Шекера О.В., Бородін А.Є., Алексєєва Т.А., Ліпатов Ю.С. Фторовмісні гемосумісні поліуретани медичного призначення // XI українська Конференція з Високомолекулярних Сполук.- м. Київ.- 26-28 вересня 2000 р.- C. 124. (Здобувачем проведено аналіз та статистична обробка данних лабораторніх аналізів, підготовка роботи до друку).
51. Lazarenko O.N., Alexeeyva T.A., Shekera O.V. New bio-compatible coatings for intravascular stents based on polyurethane fluoride derivatives // II Symposium Endocoronary Biomechanics and Restenosis. - France, Marselle. - 2000. - P. 88. (Здобувачем проведено аналіз та статистична обробка данних лабораторніх аналізів, написання та підготовка роботи до друку).
52. Lazarenko O.N., Alexeeyva Т.A., Mikhalovsky S.V., Shekera O.V., Serdyuk G., Faragher R.G.A. In vitro biocopatibility of intravascular stent coatings // Журнал Artificial Organs. - 1999. - Vol. 23. - № 7. - Р. 684. (Здобувачем проведено аналіз та статистична обробка данних лабораторніх аналізів, написання та підготовка роботи до друку).
53. Lazarenko O.N., Alexeeyva T.A., Shekera O.V., Skiba I.A. Biocompatibility of different intravascular stent coatings with whole blood // Журнал Basic Research in Cardiology. -1999. - Vol. 94. - № 5. - P. 379. (Здобувачем проведено аналіз та статистична обробка данних лабораторніх аналізів, підготовка роботи до друку).
54. Lazarenko O., Alexeeyva T., Kostenko L., Guershkovich I., Tretjak I. The prevention of restenosis after successful PTCA in patients with angina pectoris // I Congres Francophone de Cardiologie Interventionnelle. - France, Paris.- 1997.- P. 134. (Здобувачем проведено аналіз клнічних даних, аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання та підготовка роботи до друку).
55. Соколов Ю.Н., Соколов М.Ю., Костенко Л.Н., Грабов С.А., Терентьев В.Г., Лазаренко О.Н., Гершкович И.В., Демидюк Д.В. Оценка эффективности коллатерального кровотока в защите миокарда от ишемии при проведении перкутанной транслюминальной коронарной ангиопластики // Тезисы докладов IV научная конференция ассоциации сердечно – сосудистых хирургов Украины. - Киев. - 1996. - С. 150. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, підготовка роботи до друку).
56. Лазаренко О.Н., Соколов Ю.Н., Соколов М.Ю., Костенко Л.Н., Грабов С.А., Терентьев В.Г., Гершкович И.В., Демидюк Д.В. Профилактика рестенозов после проведения ПТКА // Тезисы докладов IV научная конференция ассоциации сердечно – сосудистых хирургов Украины. - Киев. - 1996.- С. 151. (Здобувачем проведено аналіз літературних даних, аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання та підготовка роботи до друку).
57. Лазаренко О.Н., Третяк И.В., Братусь В.В. Функциональные особенности сосудистого эндотелия после баллонной ангиопластики // Матеріали V національного конгресу кардіологів України. - Украинский кардиологический журнал. - 1996. - Додаток № 3, С. 87-88. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, прооперовані усі тварини, виконан аналіз результатів дослідження, статистична обробка даних, написання та підготовка роботи до друку).
58. Бобров В.О., Тріщинсктй А.І., Шлапак І.П., Глумчер Ф.С., Жарінов О.Й., Степаненко А.П., Лазаренко О.М., Білоножко О.Г., Лісний І.І., Кудіна Ю.В., Ліфантьєва Н.О., Наконечна І.В., Клименко Л.В. Фактори ризику несерцевих хірургічних втручань при супутній ішемічній хворобі серця // Методичні рекомендації. - МОЗ України, Український центр наукової медичної інформації і патентно-ліцензійної роботи. - Київ. - 2005. – 15с. (Здобувачем проведено аналіз літературних джерел, написання рекомендації, підготовка роботи до друку).
59. Шекера О.В., Бородін А.Є, Алексєєва Т.А., Мужев В.В., Лазаренко О.М., Ярова Н.В. поліуретаносечовини як плівкотворні полімерні матеріали та покриття на їх основі медичного призначення // Патент України 6С08G18/00, A61L33/00 15.02.2001. Бюл. №1. (Здобувачем прооперовані усі тварини, зроблен аналіз результатів медико-біологічних дослідженнь, статистична обробка даних, зроблен патентний пошук та написання патенту).
60. Янченко В.В., Алексеева Т.А., Лазаренко О.М., Ошкадёров С.П., Речовина для підвищення біосумісності імплантантів з організмом реципіента // Патент України 56960 7А61К33/14 15.05.2003. Бюл.№5, 2003 р. (Здобувачем прооперовані усі тварини, зроблен аналіз результатів дослідженнь, статистична обробка усіх данних, зроблен патентний пошук та написання патенту).
61. Шекера О.В., Бородин А.Є., Алексєєва Т.А., Козак Н.В., Лазаренко О.М., Нізельський Ю.М. Фторовмісні поліуретани як плівкотворні полімерні матеріали медичного призначення // Патент України 76351 7А61L33/00 17.07.2006. Бюл.№7, 2006p. (Здобувачем прооперовані усі тварини, зроблен аналіз результатів медико-біологічних дослідженнь, статистична обробка даних, зроблен патентний пошук та написання патенту).
62. Лазаренко О.М., Лазаренко А.О. Композиція для надання біосумісності імпланту з організмом реціпієнта // Патент України на корисну модель №20638 7А61К33/14 15.02.2007. Бюл.№2, 2007p. (Здобувачем прооперовані усі тварини, зроблен аналіз результатів усіх дослідженнь, статистична обробка отриманних даних, зроблен патентний пошук та написання патенту).
63. Лазаренко О.М., Лазаренко А.О. Композиція для надання біосумісності імпланту з організмом реціпієнта та підвищення васкуляризації тканин навколо імпланту // Патент України на корисну модель 20639 7А61К33/14 15.02.2007. Бюл.№2, 2007p. (Здобувачем прооперовані усі тварини, зроблен аналіз результатів усіх дослідженнь, статистична обробка отриманних даних, зроблен патентний пошук та написання патенту).

**АНОТАЦІЯ**

#### Лазаренко О.Н. Розробка та дослідження нових тромборезистентних і антипроліферативних покриттів стентів для імплантації в судини малого діаметру. Експериментальне дослідження. – Рукопис.

#### Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за фахом 14.01.03 - хірургія. Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л.Шупика МОЗ України, Київ, 2008.

На основі міждисциплінарних комплексних досліджень встановлено, що практично всі покриття, на цей час наносяться на стенти, зазнають агресивної реакції з боку організму реципієнта, яка проявляється в корозії елементів конструкції стентів.

Виявлено, що причинами розвитку рестенозу в просвіті стенту в судинах малого діаметра є ригідність судинної стінки в місці імплантації стенту, циліндрична форма конструкції стенту, що приводить до нерівномірного навантаження на стінку судини, механічному подразненню її структур і підвищеній реакції тканин.

Встановлено, що показником тромбогеності покриттів є зниження концентрації фібриногену більш ніж на 30%, зменшення на 35% кількості тромбоцитів у цільній крові та зміна їх функціональної активності в присутності різних концентрацій індуктора агрегації тромбоцитів (аденозин дифосфата). Показано, що тромборезистентність покриття є необхідною, але не достатньою вимогою до матеріалу для виготовлення стентів.

Встановлено закономірності зміни товщини стінок судини при використанні покриттів різної природи. Показано, що стент із нержавіючої сталі 316L без покриття дає збільшення товщини стінки судини на 40%,. покриття стенту цирконієм приводить до атрофії стінки судини на 9%, а нанесення фторовмісних поліуретан сечовин на 15%, у порівнянні з інтактним сегментом судини (р<0,001).

Показано, що нанесення на стент із нержавіючої сталі 316L покриттів фторовмісних поліуретан сечовин з ароматичними подовжувачами ланцюга, з атомами фтору в орто- або пара- положенні та покриттів на основі цирконію перешкоджають виникненню корозії металу. Нанесення адаптуючої композиції на поверхню стента також перешкоджає виникненню корозії металу і сприяє утворенню мінімального шару неоінтими, що становить не більше як 2% в порівнянні до інтактного сегменту судини (р<0,001).

У дисертації вперше запропонован метод визначення біосумісності матеріалів з живим організмом, заснований на визначенні сили адгезії високо специфічної афіної пари “антиген-антитіло” за допомогою атомно-силової мікроскопії. Метод може бути впроваджен у клініці для експрес тестування матеріалу імпланту з метою прогнозування його сумісності з організмом певного реципієнта.

Проведення в клініці обстеження пацієнтів перед імплантацією стентів у судини малого діаметру за розробленим алгоритмом, дозволить уникнути розвитку рестенозу в стенті і необхідності зворотної госпіталізації з рецидивом захворювання, значно зменшить вартість оперативного втручання і поліпшить якість лікування хворих.

**Ключові слова:** *стенти, судини малого діаметру, нові покриття, рестеноз у стенті, нанотехнології, прогноз, експеримент.*

**АННОТАЦИЯ**

#### Лазаренко О.Н. Разработка и исследование новых тромборезистентных и антипролиферативных покрытий стентов для имплантации в сосуды малого диаметра. Экспериментальное исследование. – Рукопись.

#### Диссертация на соискание научной степени доктора медицинских наук по специальности 14.01.03 – хирургия. Национальная медицинская академия последипломного образования имени П.Л.Шупика МЗ Украины, Киев, 2008.

#### Диссертация посвящена проблеме разработке и создания новых покрытий для стентов с повышенной тромборезистентностью и антипролиферативными свойствами поверхности, способных предупредить развитие рестенозов в сосудах малого диаметра и обоснованию применения этих имплантатов в клинике для улучшения качества лечения больных.

На основе междисциплинарных комплексных исследований установлено, что практически все покрытия, наносимые в настоящее время на стенты подвергаются агрессии со стороны организма реципиента, выражающаяся в коррозии элементов конструкции.

Выявлено, что причинами развития рестеноза в просвете стента в сосудах малого диаметра является ригидность сосудистой стенки в месте имплантации стента и цилиндрическая форма конструкции стента, которая приводит к неравномерной нагрузке на стенку сосуда, механическому раздражению её структур и повышенному ответу тканей.

Показано, что применяемые в настоящее время покрытия стентов, являются активными раздражителями организма реципиента и поверхности стентов подвергаются различным видам коррозии или деструкции полимерного покрытия как следствие проявление защитной реакции организма. Это подтверждается повышением уровня С-реактивного белка в сыворотке крови экспериментальных животных в период нахождения стента в организме (8 недель);

Установлено, что показателем тромбогенности покрытий являются снижение концентрации фибриногена более чем на 30%, уменьшение на 35% количества тромбоцитов в цельной крови и изменение их функциональной активности в присутствии различных концентраций индуктора агрегации тромбоцитов (аденозин дифосфата). Показано, что тромборезистентность покрытия является необходимым, но не достаточным свойством материала для изготовления стентов.

Установлены закономерности изменения толщины стенок сосуда при использовании покрытий различной природы. Показано, что непокрытый стент из нержавеющей стали 316L даёт увеличение толщины стенки сосуда на 40%,. покрытие стента цирконием приводит к атрофии стенки сосуда на 9%, а нанесение фторсодержащих полиуретан мочевин на 15%, по сравнению с интактным сегментом сосуда (р<0,001).

Показано, что нанесение на стент из нержавеющей стали 316L покрытий фторсодержащих полиуретан мочевин с ароматическими удлинителями цепи, с атомами фтора в орто- и пара- положении и покрытий на основе циркония препятствуют возникновению коррозии металла. Нанесение адаптирующей композиции на поверхность стента также препятствует возникновению коррозии металла и способствует образованию минимального слоя неоинтимы, которое составляет не более 2% по отношению к интактному сегменту сосуда (р≤0,001).

В диссертации впервые предложен метод определения биосовместимости материалов с живым организмом, основанный на определении силы адгезии высоко специфичной аффинной пары “антиген-антитело” с помощью атомно-силовой микроскопии. Метод может быть применен в клинике для экспресс тестирования материала импланта с целью прогнозирования его совместимости с организмом определенного реципиента.

Так же предложен метод разработки саморасширяющихся стентов для сосудов любого диаметра, и создания конструкций, близких к индивидуальным требованиям пациента основанный на геометрическом анализе изменяющейся архитектоники стента, проведенного при помощи компьютерного моделирования и указано, что разрабатывая модели стентов для сосудов малого диаметра, необходимо учитывать силу давления элементов конструкции импланта на стенку сосуда, которые не будут делать ее ригидной. стент должен обладать определенными упруго-динамическими свойствами и в рабочем состоянии давать возможность суживаться сосуду, не больше, чем на 20-25% просвета и его необходимо имплантировать в сосуды малого диаметра, по возможности прецизионно, без захвата участков сосуда не пораженных атеросклерозом.

Определено, что наиболее информативными для прогнозирования поведения покрытий стентов *in vitro* являются изменения показателей фибриногена, количества тромбоцитов и функциональной активности тромбоцитов при различных концентрациях аденозин дифосфата в цельной крови, хотя тромборезистентность покрытия стента является необходимой, но не достаточной характеристикой сосудистого стента.

При изготовлении стентов необходимо применять покрытия, которые не подвергаются агрессии со стороны организма пациента, т.е. соединениями циркония, нанесенными с помощью магнетронной распылительной системы или фторсодержащими полиуретан мочевины с хорошими адгезивными свойствами к металлической поверхности, а наиболее простым средством модификации поверхности стента для сосудов малого диаметра, является адаптирующая композиция, разработанная авторами, которая позволяет нивелировать, или полностью устранить реакцию стенки сосуда на имплант.

Проведение в клинике обследования пациентов перед имплантацией стентов в сосуды малого диаметра по разработанному алгоритму, позволит избежать развития рестеноза в стенте и необходимости повторной госпитализации с рецидивом заболевания, значительно уменьшит стоимость оперативного вмешательства и улучшит качество лечения больных.

**Ключевые слова:** *стенты, сосуды малого диаметра, новые покрытия, рестеноз в стенте, нанотехнологии, прогноз, эксперимент.*

#### **SUMMMARY**

#### **Lazarenko O.M. Development and investigation of new thromboresistance and antiproliferative stent’s coatings for implantation into the vessels of small diameter. Experimental study. – Manuscript.**

#### The dissertation on competition of the Doctor of Medical Science degree in the specialty 14.01.03 - surgery. National medical academy of postgraduate education by P.L.Shupika Ministry of Health of Ukraine, Kiev, 2008.

On the base of complex interdisciplinary study there was find that practical all coatings which are in use today, are aggressively effected by recipients body and resulted in stents elements corrosion.

Also there was find that the causes of in-stent restenosis development in small vessels is the vessels wall rigidity at the site of stent implantation, the cylinder stents construction which results in the uneven loading on the vessel wall, its mechanical irritation by stents struts that promoted the tissue reaction.

It was stated that the index of coatings trombogenity is the decreasing fibrinogen concentration more than 30%, diminishing about 35% of platelets amount in whole blood and changing of their functional activity in the presence of different concentrations of platelets aggregation inductor (adenozin diphosphate). It is shown that coatings tromboresistance is a necessary, but not sufficient requirement to material stents manufacture.

There was determined the correlation between the changes in vessels wall thickness and the coatings of different nature. It was shown that stent from 316L stainless steel without coating results multiplying the vessel wall thickness by 40%. The stents coating by zirconium compounds leads to vessel walls atrophy over 9%, and using of fluorine polyurethane urea gives the 15% reduction in comparison of intact vessel part (р<0,001).

It was shown that coating stents made of 316L stainless steel by fluorine polyurethane urea with the aromatic extending of chain, with the atoms of fluorine in orto- or para- position and coatings on the basis of zirconium compounds prevents the metal corrosion. Treating the stents surface with adaptive composition also prevents the metal corrosion and evokes the formation of minimum layer of neointima which is about 2% in comparison to the intact vessels segment (р<0,001).

It was proposed for the first time the method of material compatibility determination with living body, based on evaluation adhesion force of between affinity pair “antigen-antibody” by an atomic-power microscopy. This method can be use in a clinic for express testing of implants material for prognosis its compatibility with the body of certain recipient.

Implementation in clinic the developed algorithm of patients examination before stents implantation into the vessels of small diameter, will allow to avoid development of in stent restenosis and necessity of repeated hospitalization with the disease recurrence, will noticeably decrease the hospital costs and will improve quality of patients treatment.

**Key words:** *Stent, vessels of small diameter, new coatings, in-stent restenosis, nanotechnology, prognosis, experimental****.***

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

|  |  |
| --- | --- |
| CRP - С-реактивний білок крові | ІХС - Ішемічна хвороба серця; |
| DLC - Покриття діамантоподібним вуглецем; | КА - Коронарна артерія; |
| Ig - Імуноглобуліни; | ЛКА - Ліва коронарна артерія; |
| SS - Нержавіюча сталь; | МРС - Магнетронна распилювача система; |
| *vv - Vasa vasorum*; | ПМШГ - Передняміжшлункова гілка; |
| АБ - Атеросклеротична бляшка; | РуС - Рестеноз у стенті; |
| АГ - Антиген; | САК - Альбумін сироватки крові кролів; |
| АК - Адаптуюча композиціяє; | СЕМ - Сканируючий електронний мікроскоп; |
| АСМ - Атомно-силовий мікроскоп; | СМД - Судини малого діаметру; |
| АТ - Антитіла; | ФПУМ - Фторовмісні подовжувачі полімерного ланцюга; |
| БСА - Бичачий сироватковий альбумін; | ЧКВ - Черезшкірне коронарне втручання; |
| ГМК - Гладком’язеві клітини; | ЧСА - Альбумін сироватки крові людини; |
| ДЕС - Драг-елютинг стент; | ЧТКА - Чрезшкірна транспросвітна коронарна ангіопластика. |
| ЕМ - Еліпсометрія; |  |

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>