

ЭЛЕКТРОННО-ЛУЧЕВАЯ МОДИФИКАЦИЯ КРОНАРНЫХ СТЕНТОВ С ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПОКРЫТИЕМ

[П. Г. Мадонов, А. В. Дубровин, П. Н. Мирошников, С. В. Мишенина, К. И. Ершов,
С. В. Позднякова](#)

*ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава
России (г. Новосибирск)*

В работе исследована возможность модификации элютинг-системы посредством облучения стентов с лекарственным покрытием потоком ускоренных электронов с целью пролонгированного высвобождения антипролиферативного лекарственного средства из всей массы сополимерной матрицы. Показано, что с помощью технологии электронно-лучевой модификации можно улучшить кинетические параметры экстрагирования антипролиферативного лекарственного средства из коронарных стентов. Профили хроматограмм свидетельствуют о химической целостности рапамицина и сохранности стента.

Ключевые слова: стенты с лекарственным покрытием, элютинг-системы, электронно-лучевая модификация.

Мадонов Павел Геннадьевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», e-mail: madonov@scpb.ru

Дубровин Андрей Владимирович — научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 226-35-60, e-mail: dubrovin@scpb.ru

Мирошников Павел Николаевич — научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 226-35-60, e-mail: miroshnikov@scpb.ru

Мишенина Светлана Владимировна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 236-09-02, e-mail: m-svetlana@ngs.ru

Ершов Константин Игоревич — кандидат биологических наук, ассистент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 236-09-02, e-mail: kaffarm@yandex.ru

Позднякова Светлана Васильевна — доктор биологических наук, профессор кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (383) 236-09-02, e-mail: svetpozdnjakova@yandex.ru

Введение. С 2004 года и по настоящее время в Российской Федерации (РФ) сохраняется устойчивая положительная динамика развития рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения. В 2014 году было выполнено 481 139 рентгенэндоваскулярных диагностических и лечебных вмешательств, что на 98 916 (25,8 %) больше, чем в 2013 году. В 2014 году в РФ средняя частота стентирования при проведении чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) составила 96,0 % (121 089 процедур из 126 080 ЧКВ). Всего в 2014 году в РФ при выполнении 126 080 ЧКВ было имплантировано 164 554 стента. Рентгенэндоваскулярные вмешательства у больных с инфарктом миокарда и нестабильной стенокардией выполнялись в 2014 году в 53,5 % случаев от общего числа ЧКВ [1].

В настоящее время в практике рентген-хирургического лечения острого инфаркта миокарда (ОИМ) сложилась достаточно драматичная ситуация, вызванная тем обстоятельством, что ЧКВ является стандартной медицинской технологией, которой успешно владеют подавляющее большинство рентген-ангиохирургов, но результаты зачастую разочаровывают фактом развития рестеноза в зоне имплантации стента, который возникает вследствие пролиферации эндотелия и неоинтимы. В последние годы «золотым стандартом» ЧКВ при ОИМ является установка в просвете стенозированной коронарной артерии (СКА) стента с лекарственным покрытием (СЛП) [2]. СЛП представляет собой расширяющуюся под давлением металлическую сетчатую трубку, изготовленную из сплава кобальт-хром или никель-титан, на поверхность которой нанесено сополимерное покрытие. В полимере предварительно растворено лекарственное средство для предотвращения избыточной пролиферации сосудистой стенки и развития рестеноза коронарной артерии — антипролиферативное лекарственное средство (АПЛС). За рубежом СЛП чаще всего имеет наименование DES — drug-eluting stents, в отечественной литературе — элютинг-система. Современные СЛП имеют элютинг-систему полилактат-рапамицин или полилактат-паклитаксел. Между тем, сам по себе факт присутствия АПЛС в сополимерном покрытии стента ещё не решает проблему рестеноза, поскольку важно, чтобы кинетика высвобождения АПЛС позволяла создавать его терапевтически значимую концентрацию в зоне стентирования в течение длительного времени. Часто используемый в качестве АПЛС рапамицин в стационарных условиях водного раствора при температуре 37 °С, полностью деградирует в течение 24 часов, следовательно, чтобы избежать рестеноза СКА необходимо, чтобы экскреция рапамицина представляла собой некий постоянный поток его молекул из сополимерной матрицы как на поверхность эндотелия сосуда, так и диффузию в зону интимы. Таким образом, существует насущная необходимость в разработках модифицированных элютинг-систем, когда АПЛС будет пролонгированно высвобождаться из всей массы сополимерной матрицы, а не только из поверхностного

слоя.

Целью данной работы явилось исследование возможности модификации элютинг-системы посредством облучения СЛП потоком ускоренных электронов. В научной литературе присутствуют публикации о радиационно-химической модификации полимерных комплексов [3, 4], однако работ по электронно-лучевой модификации коронарных стентов нам не встретилось. Рабочая гипотеза заключается в том, что облучение потоком ускоренных электронов приведёт в разрыхлению всей толщи сополимерной матрицы элютинг-системы без деградации АПЛС и позволит увеличить экстракцию АПЛС из СЛП. Современные методы химической детекции позволяют достаточно точно оценить кинетику экстракции рапамицина из СЛП [8].

Материалы и методы. В экспериментах были использованы СЛП «Калипсо» (пр-во ОАО «Ангиолайн», Россия), выделяющий АПЛС Сиролимус (рапамицин), CAS: 53123-88-9. Длина стентов 23 мм, диаметр 1,5 мм, масса 0,02 г. Элютинг-система: polylactide-co-glycolideacid (PLGA) 650 мкг с включением 200 мкг рапамицина.

Облучение потоком ускоренных электронов производилось на импульсном линейном ускорителе ИЛУ-10 (ООО «СФМ-Фарм», г. Новосибирск) в дозах 1,5 и 3 МРад. В качестве контроля использовались не облучённые СЛП. Таким образом, было сформировано 3 группы образцов:

1. СЛП без облучения;
2. СЛП, облучённые в дозе 1,5 МРад;
3. СЛП, облучённые в дозе 3 МРад.

После облучения каждый стент помещался в стеклянную ёмкость объёмом 20 мл, в которую добавляли 5 мл 1 mM натрий-фосфатного буфера с $\text{pH} = 7,4$. Ёмкость помещали в термостатированный при 37 °C шкаф на шейкер с рабочей частотой 120 rpm. Через заданный промежуток времени (24 часа) из ёмкости отбирали пробу для анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Рапамицин имеет достаточно короткий период распада (T полураспада 12 часов), в этой связи каждый раз после отбора пробы буферный раствор в ёмкости заменяли на свежий. Критически важным периодом блокады воспаления и уменьшения пролиферативной активности в зоне стентирования являются первые 10 дней. Поэтому продолжительность эксперимента ограничили 10 пробами. Для измерения количества выделившегося рапамицина из стента использовался метод ВЭЖХ. Анализ проб методом ВЭЖХ проводился с использованием жидкостного хроматографа Accela Thermo Scientific (пр-во США), оборудованного диодно-матричным УФ-детектором. Анализ проводили в следующих условиях: объём пробы 20 мкл; элюент А: $[4 \text{ M LiClO}_4 \text{ в } 0,1 \text{ M HClO}_4] : \text{H}_2\text{O} = 5 : 95$; элюент В: ацетонитрил. Колонка: Kromasil 300—5C18 100 × 4,6 мм; температура колонки 60 °C; детектор: 280 нм. Режим элюирования представлен в табл. 1.

Таблица 1

Режим элюирования при проведении анализа

Время, мин	V, мкл	A, %	B, %	Скорость потока, мкл/мин
Регенерация	800	60	40	200
0	0	60	40	200
10	2000	0	100	200
20	4000	0	100	200

Результаты и обсуждение. Кинетика экстракции рапамицина из СЛП без облучения представлена в табл. 2 и на рис. 1. Выход рапамицина в водной фазе отмечается практически сразу и к концу первых суток составляет 14,57 мкг / 20 мкл, что демонстрирует интенсивное высвобождение, вероятнее всего, с поверхности сополимерной матрицы. Высокий темп экскреции продолжается до конца 2-х суток, что, по нашему мнению, отражает экскрецию с поверхностного слоя. Далее до конца 4-х суток также сохраняется прирост концентрации АПЛС, но темп существенно снижен, и кинетическая кривая приобретает уплощённую форму. Фактически с 4-х по 10-е сутки прирост концентрации рапамицина составляет всего 6 %.

Таблица 2

Концентрация экскретированного рапамицина из необлучённого СЛП

№ пробы	Время, ч : мин : сек	Концентрация рапамицина, мкг/20 мкл
0	0:00:00	0
1	1:02:00	4,572910
2	22:34:00	14,762535
3	46:31:00	17,836500
4	71:19:00	18,923690
5	95:06:00	19,595985
6	165:42:00	20,177875
7	190:17:00	20,416485
8	214:37:00	20,618510
9	239:07:00	20,837020

На рис. 1 представлено как облучение потоком ускоренных электронов в дозе 1,5 Мрад очевидно изменяет кинетику выхода рапамицина. Темп экскреции в первые 2-е суток существенно не отличается от контрольного, но, начиная с 4-х суток при схожей форме кинетической кривой, выход рапамицина увеличивается на 15–17 % (табл. 3).

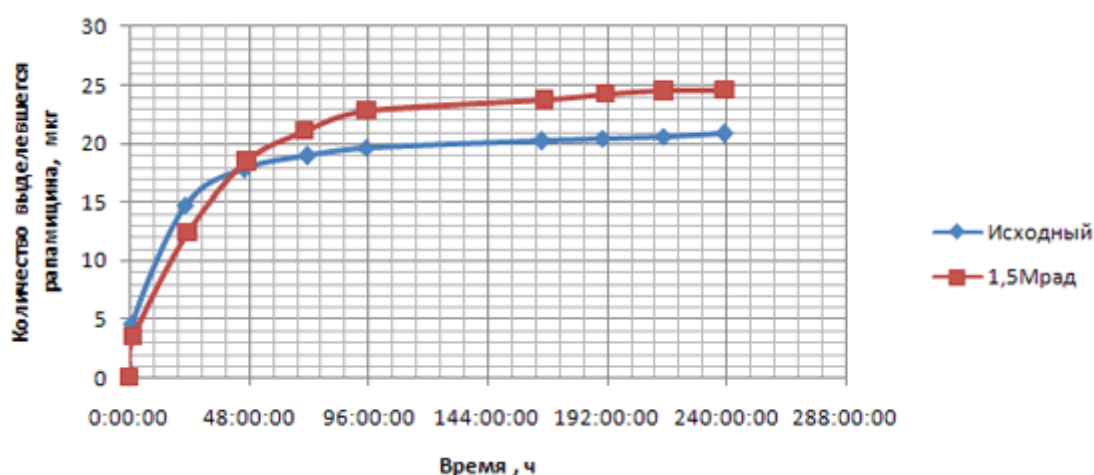


Рис. 1. Кинетика экскреции рапамицина из СЛП, облученного в дозе 1,5 Мрад и контрольного

Таблица 3

Концентрация экскретированного рапамицина из СЛП, облучённого в дозе 1,5

Мрад

№ пробы	Время, ч:мин:сек	Концентрация рапамицина, мкг/20 мкл
0	0:00:00	0
1	1:29:00	3,492175
2	23:28:00	12,361285
3	47:23:00	18,460190
4	70:55:00	21,097365
5	95:35:00	22,774260
6	167:06:00	23,713460
7	191:35:00	24,186535
8	215:05:00	24,445770
9	239:36:00	24,552945

Облучение СЛП в дозе 3 Мрад приводит к существенному изменению кинетики экстракции рапамицина (рис. 2). Кинетическая кривая не имеет выраженного «взлёта» в течение первых суток, выглядит равномерно пологой. В первые 2-е суток темп выхода рапамицина из опытных образцов на 24–30 % меньше, чем из контрольных. Наиболее вероятным объяснением данного обстоятельства представляется возникновение процессов иммобилизации рапамицина на поверхности сополимерной матрицы из-за повышения дозы облучения. Подобного рода эффекты описаны для белок-полимерных комплексов [5, 6]. Уравнивание концентраций происходит только на 4-е сутки, но на 10-е сутки количество экстрагированного рапамицина из облучённого СЛП превосходит контрольный на 13 % (табл. 4), что подтверждает гипотезу о радиационном «разрыхлении» сополимерной матрицы СЛП.

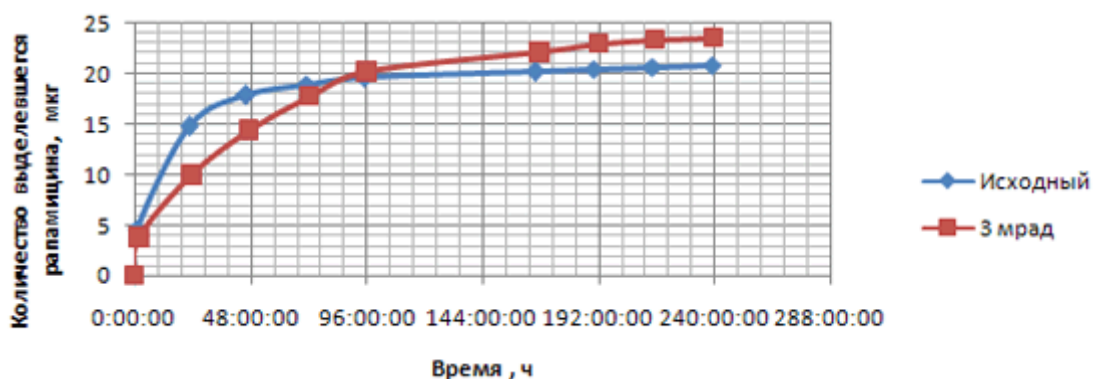


Рис. 2. Кинетика экскреции рапамицина из СЛП, облученного в дозе 3 Мрад и контрольного

Таблица 4

Концентрация экскретированного рапамицина из СЛП, облучённого в дозе 3 Мрад

№ пробы	Время, ч:мин:сек	Концентрация рапамицина, мкг/20 мкл
0	0:00:00	0
1	2:08:00	3,716815

2	23:54:00	9,912980
3	47:54:00	14,385410
4	72:25:00	17,748795
5	96:18:00	20,162880
6	167:47:00	22,105425
7	192:28:00	22,981165
8	215:44:00	23,405680
9	240:09:00	23,606670

Таким образом, проведённые исследования подтвердили гипотезу о возможности улучшения кинетических параметров экстрагирования АПЛС из сополимерной матрицы коронарных стентов посредством облучения потоком ускоренных электронов. Факт длительного пассивного экстрагирования АПЛС из стента приводит к убеждению, что сополимерное покрытие на стенте имеет сетчатую структуру с включениями рапамицина, и основная масса АПЛС выделяется за счет разности концентрации рапамицина в покрытии и окружающем растворе. Если условно разделить сополимерное покрытие стента на 2 уровня: поверхностный и глубокий, то терапевтически значимая концентрация АПЛС формируется только из поверхностного слоя. Содержащийся в глубоком слое рапамицин неизбежно будет разрушаться поступающей в покрытие водой и экстракция «недееспособного» АПЛС не приведёт к пролонгированному клиническому эффекту.

Вероятнее всего, радиационные процессы, возникающие в сополимерном слое элютинг-системы, приводят к формированию более пористой структуры, из которой рапамицин экстрагируется более активно из всей массы матрицы, что и обуславливает его более высокую концентрацию. Профили хроматограмм свидетельствуют о химической целостности рапамицина, об отсутствии в растворе дополнительных включений. Это, в свою очередь, позволяет утверждать, что рапамицин не утратит своих фармакологических свойств *in vivo*, а сополимерная матрица под действием потока ускоренных электронов не разрушается. Если построить клинко-фармакологическую модель применения СЛП, модифицированного потоком ускоренных электронов, то с большой долей вероятности можно предположить существенное снижение риска рестеноза СКА. Исходя из того обстоятельства, что из облучённого стента АПЛС экстрагируется на 17 % больше, примерно на столько же снижается и риск рестеноза. За этими относительными цифрами стоит перспектива исключить риск осложнения у каждого 6-го человека с ОИМ, которому проведено коронарное стентирование. В медицине снижение числа осложнений всегда было очень важным критерием качества лечения, в настоящее время это решение не только деонтологической проблемы, но и существенное снижение экономических затрат.

Технология электронно-лучевой модификации имеет важное преимущество в том, что позволяет работать с уже зарегистрированным и активно используемым в клинической практике СЛП. Это усовершенствование элютинг-системы происходит без изменения физико-химических и биологических свойств самого стента, что, в свою очередь, не предусматривает последующей процедуры внесения изменений в нормативную документацию и проведения дополнительных клинических исследований. Немаловажным обстоятельством следует считать и тот факт, что облучение в дозе от 2 Мрад вызывает радиационную стерилизацию изделий медицинского назначения. Следовательно,

электронно-лучевая модификация устраняет отдельную технологическую стадию стерилизации, тем самым в структуре себестоимости СЛП происходит компенсация увеличившихся затрат на усовершенствование изделия.

Список литературы

1. Бокерия Л. А. Рентгенэндоваскулярная диагностика и лечение заболеваний сердца и сосудов в Российской Федерации — 2014 год / Л. А. Бокерия, Б. Г. Алесян. — М. : НЦССХ им. А. Н. Бакулева, 2015. — С. 206.
2. Drug-eluting coronary stents — focus on improved patient outcomes / Z. Jaffery [et al.] // Patient Relat Outcome Meas. — 2011. — N 2. — P. 161-174.
3. Electron-beam treatment of poly(lactic acid) to control degradation profiles / R. Dickson [et al.] // Polymer Degradation and Stability. — 2011. — Vol. 96, N 1. — P. 76-83.
4. Development of a validated high-throughput LC-ESI-MS method for determination of sirolimus on dried blood spots / R. N. Rao [et al.] // Biomed. Chromatogr. — 2010. — N 24. — P. 1356-1364.
5. Нанотехнологии в фармакологии / А. М. Дыгай [и др.]. — М. : Изд-во РАМН. — 135 с.
6. Электронно-лучевая модификация препаратов белковой природы для улучшения их фармакологических свойств [Электронный ресурс] / П. Г. Мадонов [и др.] // Медицина и образование в Сибири : сетевое научное издание. — 2013. — № 4. — Режим доступа : (http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1115). — Дата обращения : 30.04.2015.

ELECTRON-BEAM MODIFICATION OF CORONARY STENTS WITH MEDICINAL COATING

[P. G. Madonov, A. V. Dubrovin, P. N. Miroshnikov, S. V. Mishenina, K. I. Ershov,
S. V. Pozdnyakova](#)

SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health» (Novosibirsk)

Possibility of modification of eluting-system by means of radiation of stent with medicinal coating with stream of accelerated electrons for the purpose of prolonged release of anti-proliferative medicine from all mass of copolymeric matrix is investigated in the presented research. It is shown that it is possible to improve kinetic parameters of extraction of anti-proliferative medicine from coronary stent by means of technology of electron-beam modification. Profiles of chromatograms testify to chemical integrity of rapamicine and safety of stent.

Keywords: stents with medicinal coating, eluting-systems, electron-beam modification.

About authors:

Madonov Pavel Gennadevich — doctor of medical science, professor of pharmacology, clinical pharmacology and evidential medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: madonov@scpb.ru

Dubrovin Andrey Vladimirovich — research associate of central research laboratory at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 226-35-60, e-mail: dubrovin@scpb.ru

Miroshnikov Pavel Nikolaevich — research associate of central research laboratory at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», e-mail: madonov@scpb.ru

Mishenina Svetlana Vladimirovna — candidate of medical science, assistant professor of pharmacology, clinical pharmacology and evidential medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 236-09-02, e-mail: m-svetlana@ngs.ru

Ershov Konstantin Igorevich — candidate of biological science, assistant of pharmacology, clinical pharmacology and evidential medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 236-09-02, e-mail: kaffarm@yandex.ru

Pozdnyakova Svetlana Vasilyevna — doctor of biological science, professor of pharmacology, clinical pharmacology and evidential medicine chair at SBEI HPE «Novosibirsk State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (383) 236-09-02, e-mail: svetpozdnyakova@yandex.ru

List of the Literature:

1. Bokeriya L. A. X-ray endovascular diagnostics and treatment of diseases of heart and vessels

- in the Russian Federation — 2014 / L. A. Bokeriya, B. G. Alekyan. — M. : SCCVS n. a. A. N. Bakulev, 2015. — P. 206.
2. Drug-eluting coronary stents — focus on improved patient outcomes / Z. Jaffery [et al.] // Patient Relat Outcome Meas. — 2011. — N 2. — P. 161-174.
 3. Electron-beam treatment of poly(lactic acid) to control degradation profiles / R. Dickson [et al.] // Polymer Degradation and Stability. — 2011. — Vol. 96, N 1. — P. 76-83.
 4. Development of a validated high-throughput LC-ESI-MS method for determination of sirolimus on dried blood spots / R. N. Rao [et al.] // Biomed. Chromatogr. — 2010. — N 24. — P. 1356-1364.
 5. Nanotechnologies in pharmacology / A. M. Dygay [et al.]. — M. : Publishing house of the Russian Academy of Medical Science. — 135 p.
 6. Electron-beam modification of proteinaceous medicines for improvement of their pharmacological properties [electronic resource] / P. G. Madonov [et al.] // Medicine and education in Siberia : online scientific publication. — 2013. — N 4. — Access mode : (http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1115). — Access date : 30.04.2015.