

OPTIMĀLI BIOPROTĒŽU STRUKTŪRKOMPONENTU MEHĀNISKIE PARAMETRI UN DAŽĀDU POLIMĒRU NANOŠĶIEDRU MATERIĀLU PIELIETOŠANAS IESPĒJAS

**Mārtiņš Kalējs^{1,2}, Viktorija Priedīte³,
Romans Lācis^{1,2}, Iveta Ozolanta⁴,
Modra Murovska³, Vladimirs Kasjanovs⁴,
Pēteris Stradiņš^{1,2}**

¹ VSIA Paula Stradiņa KUS, Latvijas kardioloģijas centrs;

² Rīgas Stradiņa universitāte;

³ Rīgas Stradiņa universitāte, Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un
virusoloģijas institūts;

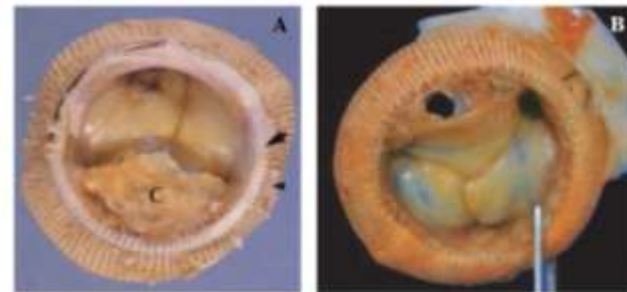
⁴ Rīgas Stradiņa universitāte, Biomehānikas laboratorija

PROBLĒMA

Ik gadu >250 000 cilvēku visā pasaulē tiek implantēta sirds vārstuļa protēze. Pēdējos gados lielākā daļa no tām ir bioprotēzes.

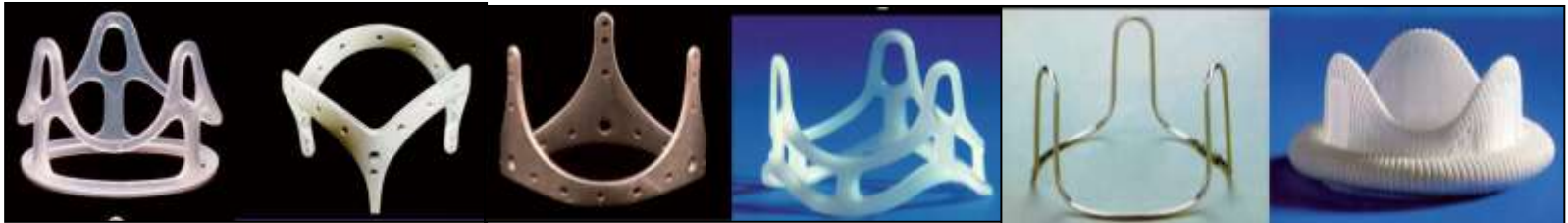
Piecpadsmit gadu laikā pēc implantācijas aptuveni 50% no bioprotēzēm skar lapiņu audu disfunkcija kalcifikācijas vai nekalcificējošās deģenerācijas ceļā.

Paaugstināts spriegums audos, ko nosaka materiāla rigīdums, ir kā viens no galvenajiem faktoriem, kas izraisa audu bojājumu. (Schoen and Levy. *Ann Thorac Surg* 2005;79:1072–80).



PROBLĒMA

Vēl vairāk sprieguma sadalījumu vārstuļa lapiņās ietekmē to fiksējošā karkasa rigiditāte (*Christie, G.W. Eur J Cardiothorac Surg. 1992;6 Suppl 1:S95-100; discussion S101*).



Bottio T. et al. J Thorac Cardiovasc Surg. 2006;132(5):1017-1022.

MĒRĶI

Pētījuma mērķis:

Balstoties uz natīva cūkas aortas vārstuļa un bioprotēžu biomehānisko īpašību pētījumiem, noteikt optimālus aortas vārstuļa protēzes lapiņu un to fiksējošo karkasu mehāniskos parametrus jaunu bioprotēžu izgatavošanai.

Papildus mērķis:

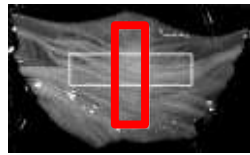
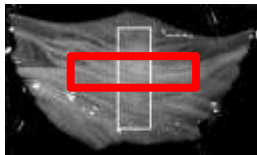
Piemeklēt optimālu polimēru nanošķiedru materiālu, kuru izmantot kā matrici sirds aortas vārstuļa protēžu lapiņu iegūšanai audu inženierijas ceļā, kura mehāniskās īpašības visvairāk atbilst natīvajām aortas vārstuļa lapiņām.

TĒMAS

- Aortas vārstuļa un bioprotēžu lapiņu mehānisko īpašību noteikšana
- Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehānisko īpašību noteikšana
- Polimēru nanošķiedru materiāla izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem

Aortas vārstuļa un bioprotēžu lapiņu mehānisko īpašību noteikšana

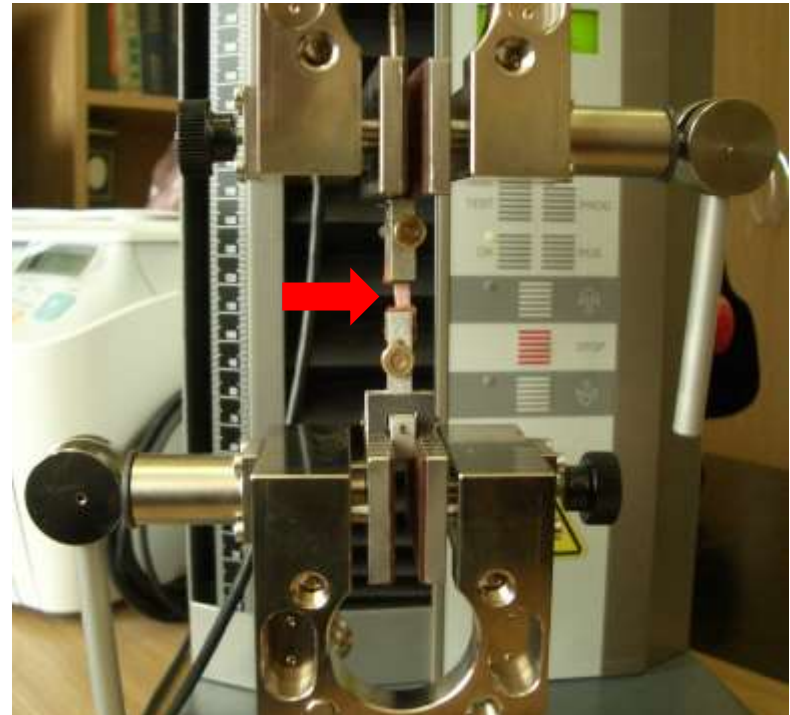
1. Veikt mehānisko īpašību pētījumus vienass noslogojuma stendā natīvām cūkas aortas vārstuļa lapiņām, kā arī dažādu klīniskajā praksē plaši pielietotu bioprotēžu lapiņām.
2. Noteikt mehānisko īpašību robežas, kam jāatbilst aortas vārstuļu bioprotēžu lapiņu materiālam.



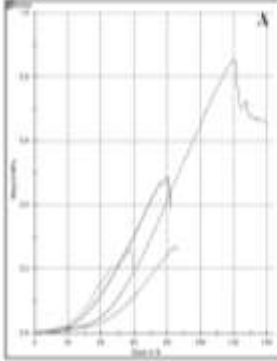
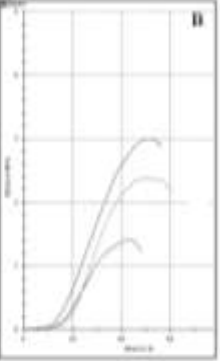
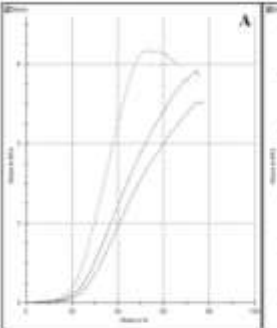

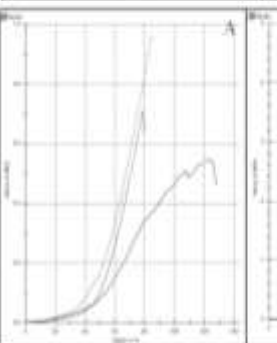

Pārbaudītas garenvirzienā un radiāli

Lapiņas no 10 cūkas aortas vārstuļiem

Pa 3 bioprotēzēm no:
Medtronic Hancock II
Medtronic Freestyle
Sorin Soprano
StJude Epic

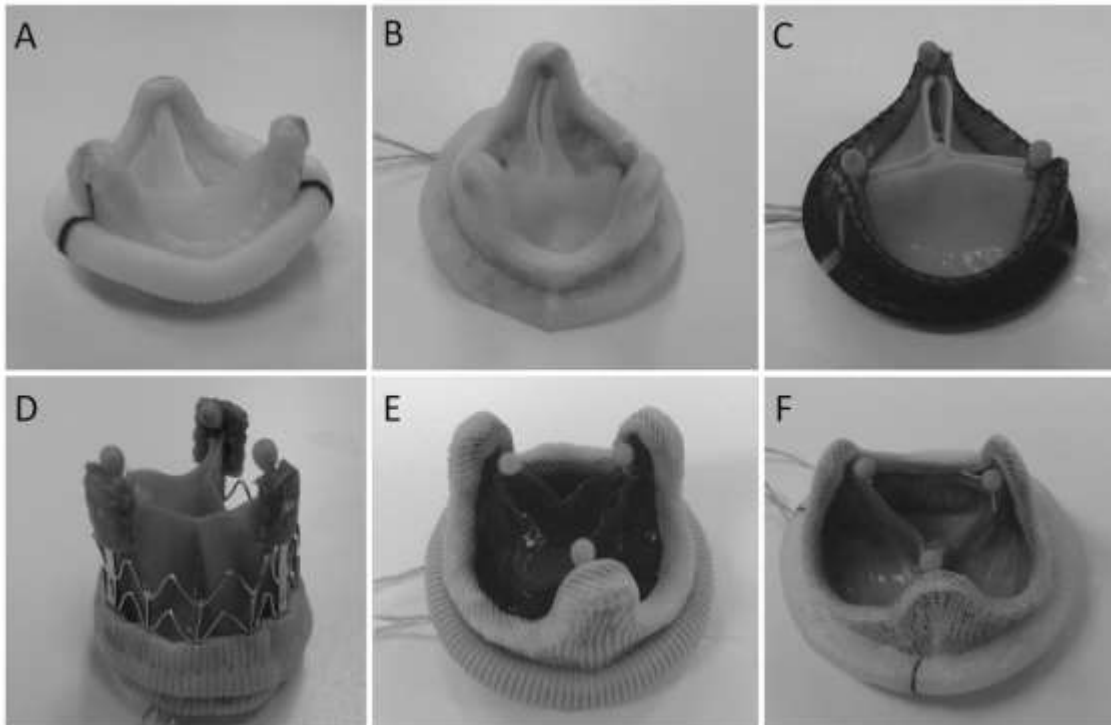


Aortas vārstuļa un bioprotēžu lapiņu mehānisko īpašību noteikšana

	E (Mpa)	σ_M (Mpa)	σ_X (%)	
Cūkas aortas vārstulis, garenvirzienā	9,7±1,3	2,3±0,6	44,8±5,9	
Cūkas aortas vārstulis, radiāli	1,0±0,2	0,5±0,2	95,6±31,4	
Epic, garenvirzienā	19,7 ± 3,9	3,8 ± 0,7	28,7±6,3	
Epic, radiāli	2,0 ± 0,3	0,8 ± 0,26	53,0 ± 19,8	
Freestyle, garenvirzienā	9,0±3,0	2,8±0,5	64,9±10,3	
Freestyle, radiāli	0,8±0,3	0,4±0,1	89,0±13,9	
Hancock II, garenvirzienā	22,5±2,2	4,7±0,2	36,8±9,1	
Hancock II, radiāli	2,5±0,2	1,1±0,0	58,3±13,2	
Soprano, garenvirzienā	29,5±6,0	8,9±1,2	56,9±9,3	
Soprano, radiāli	15,8±5,4	5,2±0,9	65,2±10,4	

Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehānisko īpašību noteikšana

1. Veikt natīvas cūkas aortas saknes un dažādu bioprotēžu fiksējošo karkasu radiālās deformējamības izpēti pseidostatiska spiediena sistēmā ar sonomikrometrijas palīdzību.
2. Apkopojot datus par aortas saknes un bioprotēžu stentu deformējamību, noteikt mehānisko īpašību robežas, kurām jāatbilst bioprotēžu fiksējošajiem karkasiem.

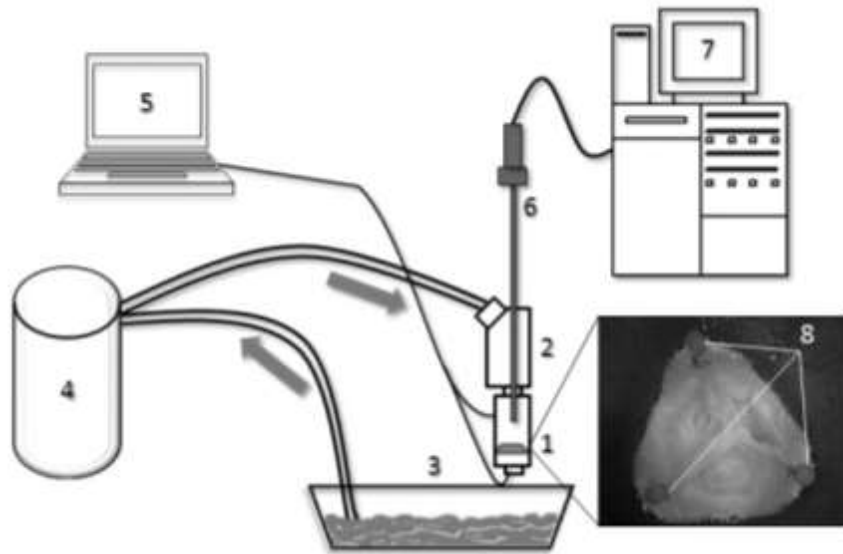


Pārbaudīto bioprotēžu fotoattēli:

A – St. Jude Epic,
B – Medtronic Hancock II,
C – Sorin Soprano,
D – ATS 3F Enable,
E – Medtronic Intact,
F – Carpentier-Edwards Standard

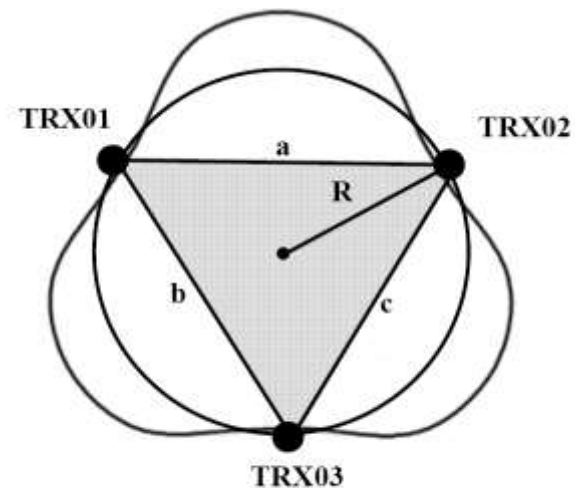
+ 3 aortas saknes, 3h laikā pēc dzīvnieka nāves

Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehānisko īpašību noteikšana



Rādiuss diastolē aortas saknei un protēzēm tika aprēķināts pie transvalvulārā spiediena gradienta 70-90 mmHg, sistolē – saknei pie 120-140 mmHg, protēzēm 0-10 mmHg.

Pārbaudītas pie 3 dažādiem transvalvulārā spiediena gradientiem pseidostatiska spiediena sistēmā, izmantojot 3 sonomikrometrijas zondes, kas tika fiksētas komisūru piestiprināšanas vietās.



$$S = \sqrt{p(p-a)(p-b)(p-c)},$$

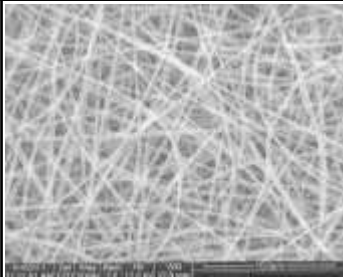
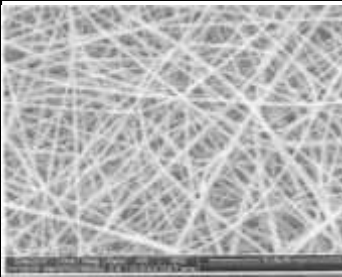
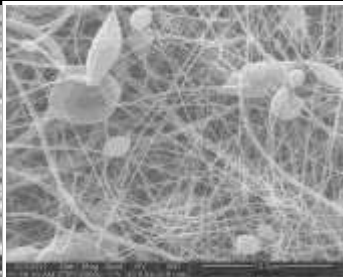
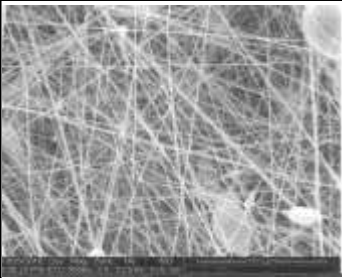
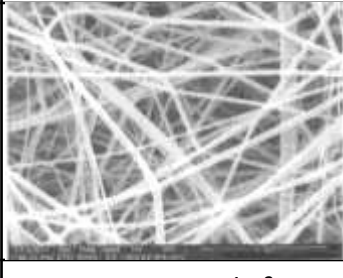
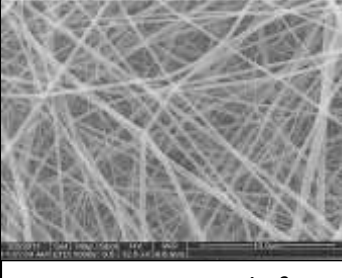
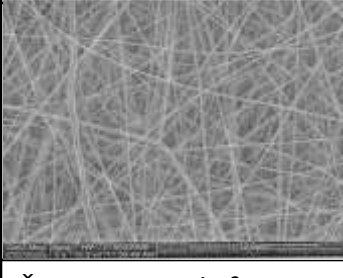
Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehānisko īpašību noteikšana

Transvalvulārā spiediena gradients, mmHg	Protēzes R komisūru fiksācijas līmeņi, mm			R pieaugums (%) diastole - sistole
	0-10 (sistole)	70-90 (diastole)	120-140	
Edwards CES (1987.g.)	7,99	7,35	7,20	8,70
Medtronic Intact (1988.g.)	7,24	6,97	6,85	3,87
Medtronic Hancock II	10,24	9,96	9,78	2,85
Sorin Soprano	10,37	10,07	9,95	2,99
StJude Epic	8,76	8,66	8,65	1,18
ATS 3F Enable	11,66	11,32	11,13	3,00
Transvalvulārā spiediena gradients, mmHg	0-10	70-90 (diastole)	120-140 (sistole)	
Neapstrādāta aortas sakne	11,64±1,7	14,38±3,1	15,40±2,8	7,09±2,2

Polimēru nanošķiedru materiāla izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem

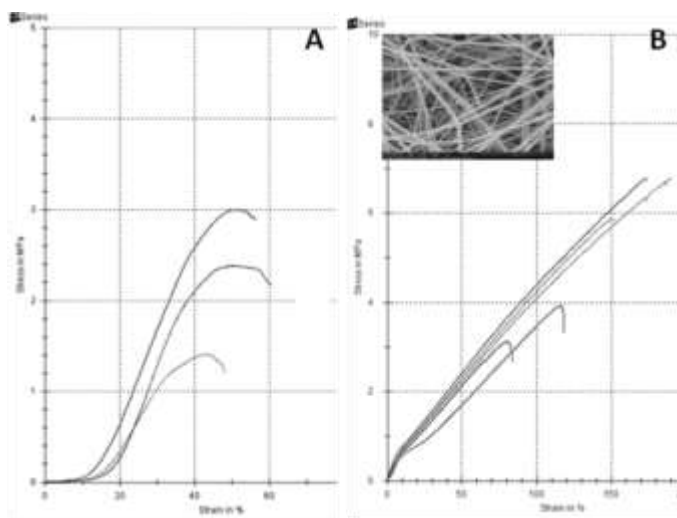
1. Veikt mehānisko īpašību pētījumus vienass noslogojuma stendā dažādu polimēru nanošķiedru elektrovērpšanas ceļā iegūtam materiālam.
2. Atbilstoši iepriekš noteiktajiem kritērijiem piemeklēt pēc mehāniskajām īpašībām vispiemērotāko nanošķiedru materiālu aortas vārstuļa lapiņu audu inženierijas mērķiem.
3. Pārbaudīt izvēlētajā nanošķiedru materiāla biosaderību, novērtējot dzīvo COS-7 šūnu proporciju pēc 6 nedēļu kultivācijas uz pārbaudāmā materiāla.
4. Pārbaudīt nanošķiedru materiāla noturību pret biodegradāciju *in-vitro*, nosakot tā mehāniskās īpašības vienass noslogojuma stendā pēc 6 nedēļu kultivēšanas ar COS-7 šūnām.

Polimēru nanošķiedru materiāla izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem

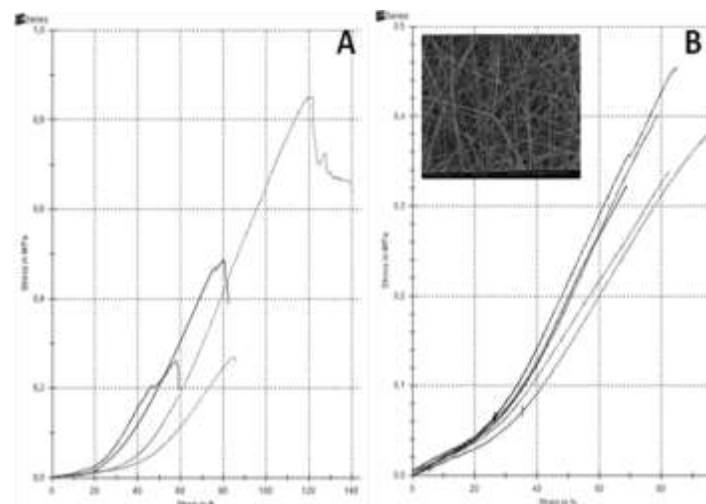
			
Poliuretāns 6,2 g/m ²	Poliuretāns 10,4 g/m ²	Polikaprolaktons 3,86 g/m ²	Polikaprolaktons 15,7 g/m ²
			N/A
Polilaktāts 5,2 g/m ²	Polilaktāts 11,0 g/m ²	Želatīns 5,7 g/m ²	Polikaprolaktons 12,0 g/m ²

Ar elektrovērpšanas metodi radītie nanošķiedru materiāli tika izgatavoti pēc pasūtījuma Čehijas kompānijā Elmarco (Elmarco s.r.o., Liberec, Čehija)

	E (MPa)	σ M (Mpa)	σ X (%)
Cūkas aortas vārstulis, garenvirzienā	9,7±1,3	2,3±0,6	44,8±5,9
Cūkas aortas vārstulis, radiāli	1,0±0,2	0,5±0,2	95,6±31,4
PCL 3,86 g/m ²	0,88±0,25	0,2±0,03	42,8±5,08
PCL 12 g/m ²	0,48±0,12	0,09±0,02	20,79±3,31
PCL 15,7 g/m ²	1,3±0,2	0,3±0,05	37,9±2,46
PLA 5,2 g/m ²	3,35±0,48	0,55±0,03	41,94±3,67
PLA 11 g/m ²	0,23±0,03	0,14±0,01	54,94±8,15
Želatīns 5,7 g/m²	0,64±0,14	0,38±0,05	82,53±10,20
PUR 6,2 g/m²	3,9±0,5	5,3±1,68	141,8±43,9
PUR 10,4 g/m²	4,55±0,78	7,65±1,65	181,06±39,83



Radiāli/Želatīns 5,7 g/m²

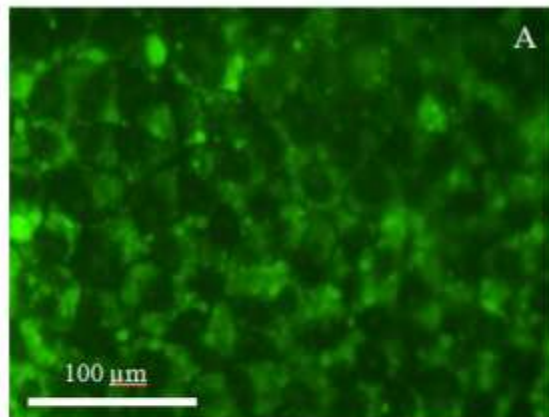


Gareniski/Poliuretāns 6,2 g/m²

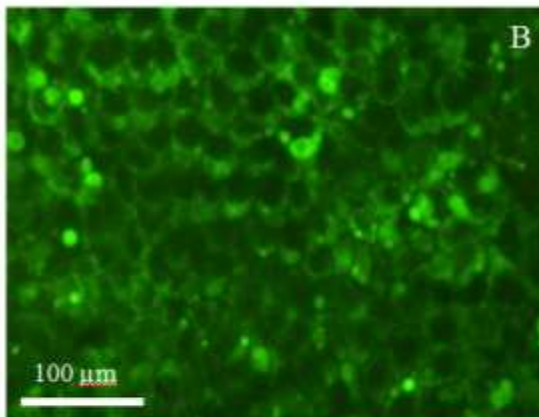
Polimēru nanošķiedru materiāla izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem

COS -7 – 6 ned., akridīna oranžs/etīdija bromīds

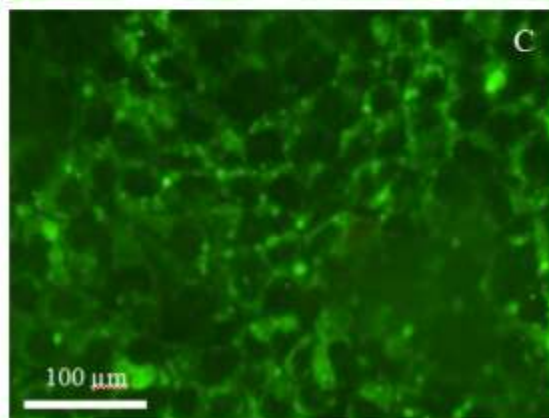
PCL 15,7 g/m²



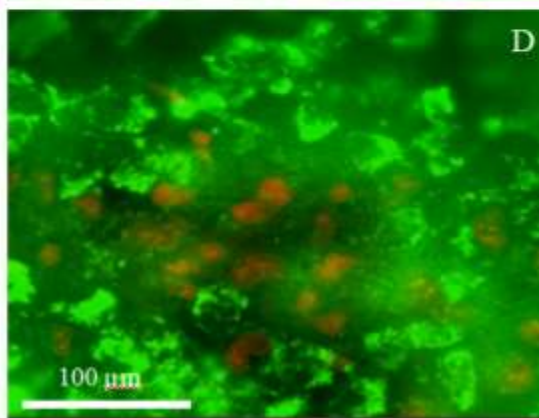
želatīns 5,7 g/m²



PUR 6,2 g/m²



PUR 6,2 g/m²



Dzīvo šūnu proporcija pēc 6 nedēļu kultivēšanas sastādīja:
PUR - 90,2 ± 7,9%; PCL - 92,6 ± 5,4%; želatīns - 88,1 ± 5,7%

Polimēru nanošķiedru materiāla izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem

Mehāniskās īpašības pirms un pēc 6 ned. kultivēšanas ar COS-7 šūnām

	E (MPa)	σ M (Mpa)	σ X (%)
PCL 15,7 g/m²	2,1±0,1	0,49±0,01	34,7±4,0
PCL 15,7 g/m² (COS-7)	2,2±0,1	0,37±0,03	28,5±1,0
Želatīns 5,7 g/m²	0,73±0,17	0,43±0,09	87,2±13,8
Želatīns 5,7 g/m² (COS-7)	0,62±0,16	0,45±0,08	157,1±15,2
PUR 6,2 g/m²	3.9±0.5	5.3±1.7	141.8±43.9
PUR 6,2 g/m² (COS-7)	4.2±0.6	4.7±2.1	153.6±51.0

Secinājumi I

Aortas vārstuļa un bioprotēžu lapiņu mehānisko īpašību noteikšana

Sirds aortas vārstuļa bioprotēžu viru mehāniskās īpašības nozīmīgi atšķiras no natīvajiem cūkas aortas vārstuļa lapiņu audiem. To mehāniskās īpašības ir dažādas, ko nosaka to dažādie fiksācijas apstākļi un izmantotais biomateriāls.

Visām pārbaudītajām bioprotēzēm piemīt natīvajiem vārstuļu audiem līdzīga nelineāra sprieguma – deformācijas attiecība un anizotropija.

Secinājumi II

Aortas saknes un bioprotēžu fiksējošo karkasu mehānisko īpašību noteikšana

Pārbaudītās agrinās paaudzes bioprotēzes ir ar padevīgākiem fiksējošajiem karkasiem salīdzinājumā ar modernajām protēzēm.

Minimālās bioprotēžu fiksējošā karkasa deformējamības vērtības ir 1,2% ksenoaortālajām un 3,0% ksenoperikardiālajām bioprotēzēm.

Secinājumi III

Polimēru nanošķiedru materiāla izmantošanas iespēju izvērtēšana vārstuļu lapiņu audu inženierijas mērķiem

No nanošķiedru materiāliem vislabāk radiālajam aortas vārstuļa lapiņu virzienam atbilda želatīns un garenvirzienam – poliuretāns.

Ilgstošā kultūrā ar COS 7 šūnām tika pierādīts, ka pārbaudītie polimēru nanošķiedru materiāli nav citotoksiski.

Pēc 6 nedēļu kultivēšanas ievērojamas mehānisko īpašību izmaiņas vērojamas želatīna materiālam, kas nezaudēja savu izturību, taču kļuva vēl deformējamāks. Poliuretāna materiālam netika novērotas nozīmīgas izmaiņas mehāniskajās īpašībās. Polikaprolaktons zaudēja ~ 25% mehāniskās izturības.

Pārbaudītie materiāli ir pielietojami sirds vārstuļu lapiņu audu inženierijas nolūkiem, pateicoties to biosaderībai un pietiekami lēnajai biodegradācijai.

Praktiskās rekomendācijas

Rekomendējamās aortas vārstuļa lapiņu aizvietojošā materiāla mehānisko īpašību robežas

Elastības modulis, MPa			
	Min	Optimāli	Max
Garenvirzienā	9,0	9,7	29,5
Radiāli	0,8	1,0	15,8

Graujošais spriegums, MPa			
	Min	Optimāli	Max
Garenvirzienā	2,3	2,3	8,9
Radiāli	0,4	0,5	5,2

Graujošā deformācija, %			
	Min	Optimāli	Max
Garenvirzienā	28,7	44,8	64,9
Radiāli	53,0	95,6	95,6

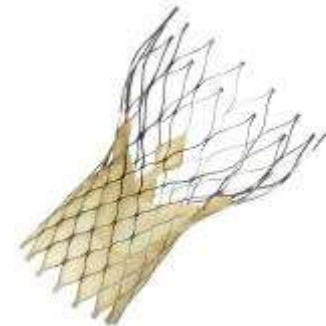
Praktiskās rekomendācijas

Rekomendējamās aortas vārstuļa bioprotēžu fiksējošo karkasu mehāniskās īpašības

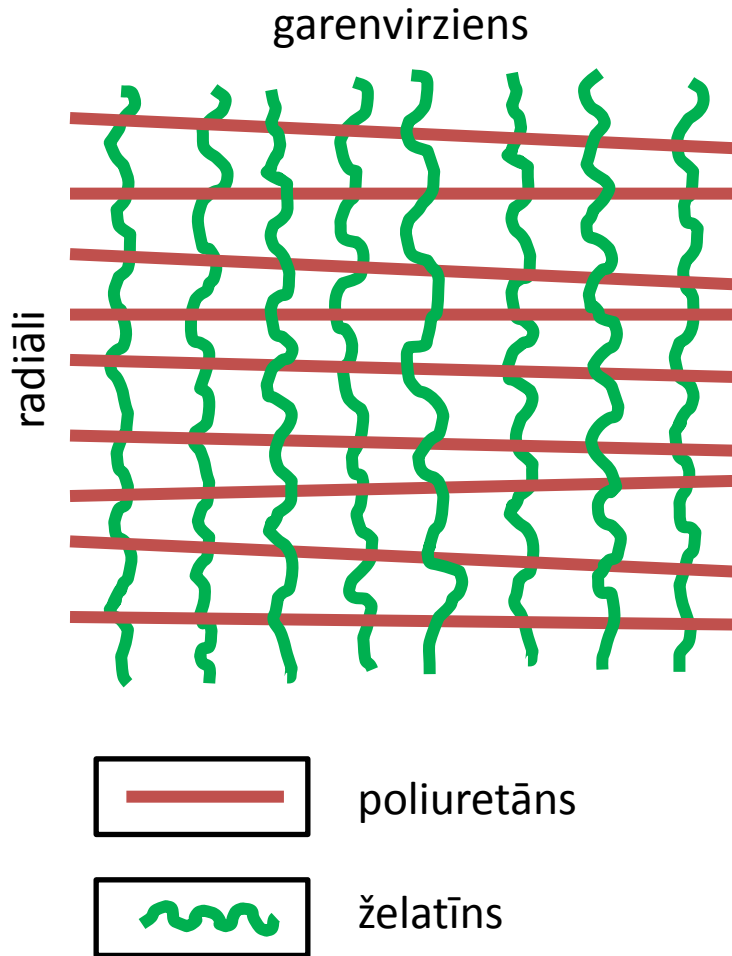
Radiālā deformējamība, %		
Min	Optimāli	Max
1,2*	7,1	8,7
3,0#		

* ksenoaortālām bioprotēzēm

ksenoperikarda bioprotēzēm



Praktiskās rekomendācijas



Lai visprecīzāk modelētu natīvo vārstuļu lapiņu mehāniskās īpašības, ieteicams kombinēts materiāls ar savstarpēji perpendikulāri izvietotām želatīna un poliuretāna šķiedrām.

Publikācijas

- Kalejs M, Stradins P, Lacis R, Ozolanta I, Murovska M, Kasyanov V. **Search for Electrospun Nanofiber Materials Matching The Mechanical Properties of Native Aortic Valve.** International Journal Of Materials, Mechanics And Manufacturing, 2013; 1(3): 261-264.
- Stradins P, Kalejs M, Priedite V, Lacis R, Ozolanta I, Murovska M, Kasyanov V. **Fibroblast Growth on Nanofiber Material Matrices and Changes to Their Mechanical Properties.** International Journal Of Materials, Mechanics And Manufacturing, 2013; 1(4): 328-331.
- Stradins P, Kalejs M, Lacis R, Ozolanta I, Murovska M, Kasyanov V. **Polymer Nanofiber Materials Matching Mechanical Properties of Native Aortic Valve.** RSU Scientific Proceedings. 2012: 24-30.
- Kalejs M, Lacis R, Kasyanov V, Ozolanta I, Abdel-Sayed P, Stradins P, von Segesser LK. **Comparison Of Radial Deformability Of Stent Posts Of Different Aortic Bioprostheses.** Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2013; 16(2):129-133.
- Kalejs M, Stradins P, Lacis R, Ozolanta I, Pavars J, Kasyanov V. **St Jude Epic heart valve bioprostheses versus native human and porcine aortic valves - comparison of mechanical properties.** Interact Cardiovasc Thorac Surg. 2009; 8(5):553-556.

PALDIES!

Pētījumi veikti:

- Rīgas Stradiņa universitāte, Biomehānikas laboratorija;
- Augusta Kirhenšteina Mikrobioloģijas un virusoloģijas institūts;
- Centre hospitalier universitaire vaudois - CHUV , Lozanna, Šveice.



Valsts pētījumu programma „Jaunu profilakses, ārstniecības, diagnostikas līdzekļu un metožu, biomedicīnas tehnoloģiju izstrāde sabiedrības veselības uzlabošanai” projekts Nr. 1, apakšprojekts 1.4.



*„Jaunas starpnozaru zinātniskās grupas izveide uz nanotehnoloģijām bāzētu pieeju izstrādei šūnu bioloģijā ar pielietojumu medicīnā”;
Vienošanās Nr.2009/02221/1DP/1.1.1.2.0/09/APIA/VIAA/074*