

文章编号: 1000-324X(2004)05-1203-04

离子束辅助沉积氧化钛对改善热解碳抗凝血性能作用的初步研究

陈安清, 徐德民, 王哲, 赵强, 蒋振斌

(复旦大学附属中山医院心脏外科, 上海 200032)

摘 要: 用离子束辅助沉积的方法在人工心脏瓣膜热解碳材料表面制备氧化钛薄膜, 研究其对抗凝血性能的改善情况, 以探索新型的人工瓣膜材料。对样本分别进行体外血小板黏附试验和动物体内试验以观察血栓形成的情况。结果表明, 相比较传统的热解碳材料而言, 氧化钛薄膜处理过的材料上黏附的血小板数目和聚集的血小板团数均明显减少, 且血小板伪足数目亦明显减少。动物体内试验亦表明有氧化钛薄膜的样本表面形成的血栓较传统的热解碳材料要少, 且没有热解碳材料表面有大量的血小板聚集和纤维蛋白形成。研究结果显示用离子束辅助沉积技术制备的氧化钛薄膜, 其抗凝血性能优于目前临床应用的热解碳材料, 很可能成为新一代的人工瓣膜材料。

关键词: 人工心脏瓣膜; 氧化钛薄膜; 血液相容性

中图分类号: R 318, TB 43 **文献标识码:** A

1 引言

心脏瓣膜病在国内外均属多发病, 瓣膜替换术在心脏外科实践中居重要地位。近年来, 国内外的人工瓣膜替换术均有较大幅度的增加^[1,2]。因此, 发展人工心脏瓣膜是心脏外科领域中的一项重要任务。近年来我院心外科和中科院冶金所离子束开放实验室合作, 用离子束注入辅助沉积的方法, 对人工瓣膜材料热解碳进行表面改性, 以改善其抗凝血性能, 取得了初步成果。

2 材料与方法

将热解碳制成直径 5mm、厚度为 0.5mm 的圆片, 圆片边缘约 0.5mm 处两端各打一直径为 0.4mm 的小孔。在一组圆片上制备氧化钛薄膜作为样本, 另一组作为对照。氧化钛薄膜是用离子束辅助沉积的技术, 在美国进口的 EATONZ-200 离子束混合沉积装置上进行的。在氧气氛中, 通过 Ti 的电子束蒸发沉积和惰性气体 Xe⁺ 离子轰击进行氧化钛薄膜的合成。薄膜的生长条件为: Xe⁺ 离子束能量为 40keV, 束流密度为 40uA/cm², Ti 的蒸发速率为 0.4nm/s, 充入氧气后靶室真空度为 1.5×10⁻³Pa, 衬底温度为 250°C。材料制备后, 用 X 射线衍射技术 (XRD)、Raman 光谱及透射电镜 (TEM) 测定薄膜的结构。(该过程由开放实验室完成)

体外试验(血小板黏附试验): ①将新鲜抗凝人血 1000r/min 离心 10min, 使血小板与红细胞分离。②取上部富含血小板的血浆, 将样本浸入其中, 约 60min 后取出。样本用生理盐水

收稿日期: 2003-08-21, 收到修改稿日期: 2003-09-19

作者简介: 陈安清 (1966-), 男, 医学学士, 外科主治医师。E-mail: chenagq@sh163.net

漂洗, 2.5% 戊二醛固定 24h. ③把样本泡入 50%、75%、90% 和 100% 的酒精各 15min 脱水. ④样本泡入 50%、75%、90% 和 100% 的乙酸异戊酯脱醇. ⑤样本干燥、喷金, 扫描电镜 (SEM) 观察血小板形态, 并进行血小板黏附量的统计.

动物实验: 杂种狗 12 条作为实验动物, 重量在 10~15kg 左右, 用 5-0prolene 带针缝线穿过圆片的小孔用以固定. 将动物分为二组. 一组动物 7 条, 静脉麻醉后打开腹腔, 分离出腹主动脉, 分别在远端和近端阻断. 切开动脉, 将样本及对照片置入动脉内, 5-0prolene 缝线固定并缝合血管. 其中 4 个样本在近心端, 3 个样本在远心端. 开放血流, 止血后关闭腹腔. 另一组动物 5 条, 分别将样本和对照片置入左、右股动脉, 其余同前组. 实验过程中除麻醉外不应用任何药物. 动物喂养 2~4 周后, 在麻醉状态下取出埋有实验材料的血管, 小心取出样本及对照, 操作时避免损坏材料表面附着之血栓. 肉眼观察并照相记录. 小心剥离血栓, 2.5% 戊二醛固定材料, 干燥、喷金后, 电镜扫描观察材料表面的微观情况, 并照相记录.

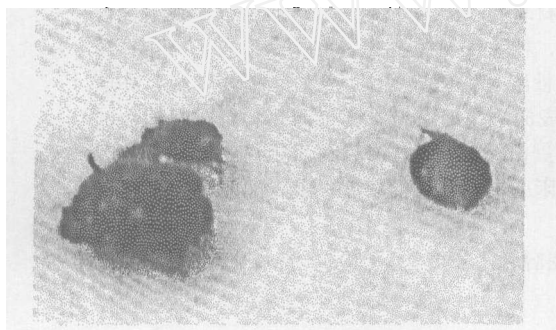


图 1 氧化钛样本表面形成的血栓明显少于热解碳 (大体照片)

Fig. 1 The thrombosis on the surface of rutile-TiO₂ thin film is much less than that on the surface of the LTI-carbon (normal size)

3 结果

薄膜材料的结构: 根据 Xe⁺ 离子轰击下生长的氧化钛薄膜的 XRD 谱图, 并经 Raman 光谱分析证实, 在所述条件下制备的薄膜为金红石结构. 而 TEM 分析表明, 从 Si 衬底到氧化钛薄膜之间可分为 4 层, 分别为 Si(100)、非晶硅、非晶氧化钛及晶态氧化钛, 各层之间的界面非常平整. 整个非晶过渡层约 35nm. 薄膜厚度为 500~2000nm.

血小板黏附实验: 在氧化钛薄膜上黏附的血小板数目以及聚集的血小板团数均比热解碳上少得多, 而且血小板伪足少 (见图 1). 表明样本的血液相容性优于普通热解碳.

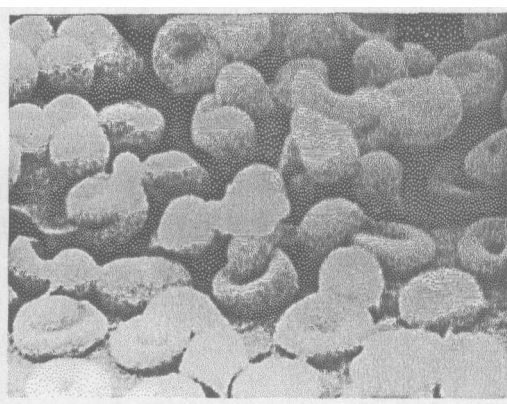
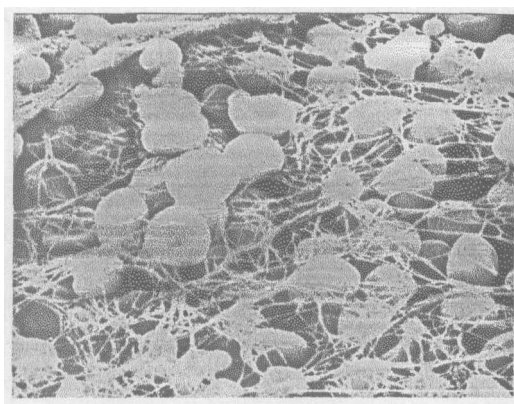


图 2 热解碳表面有血小板聚集, 并有纤维蛋白形成; 而氧化钛表面则没有上述这种现象

Fig. 2 There are numerous platelets and fibrin aggregated and formed on the surface of LTI-carbon and not on the surface of rutile-TiO₂ thin film (×400)

动物实验: 第一组实验动物中, 一条动物在行植入材料手术时死亡, 另一条在术后 3 天死亡 (原因不明), 得到 5 对结果. 肉眼观察在样本表面形成的血栓量均比对照组表面为少.

电镜观察材料表面血液黏附情况(见图 2、3),发现在对照组材料表面有大量的血小板聚集,并有纤维蛋白形成,而样本表面则几乎没有血小板的黏附、聚集及纤维蛋白的形成.第二组实验动物喂养中死亡一条,得出 4 对结果.肉眼观察样本和对照材料表面有网状纤维蛋白形成、血小板变形、团聚及大量红细胞团聚变形,而样本表面只有少量红细胞黏附.

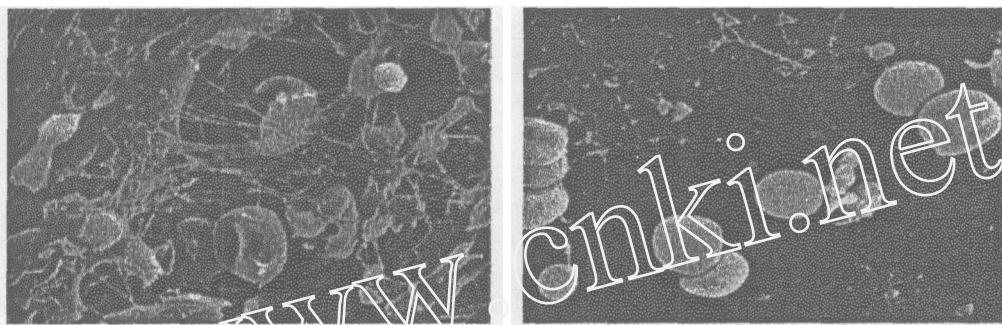


图 3 热解碳表面有纤维蛋白的形成和血小板的变形、团聚;而氧化钛表面只有少量红细胞黏附
Fig. 3 There is fibrin formed and the platelet deformed and aggregated on the surface of LTI-carbon, while only a little of RBC on the surface of urtile- TiO_2 thin film

4 结论

自上个世纪 60 年代首例瓣膜替换术在美国成功实施以来,已有数以百万计得瓣膜病患者通过人工瓣膜获得了新生.理想的人工瓣膜应该满足这样一些条件^[2]: (1) 血流动力学接近正常天然瓣膜,阻力最小,关闭快而严密,没有返流. (2) 耐久性达到正常工作 30 年以上. (3) 良好的人体组织相容性,包括良好的抗血栓作用,不需抗凝治疗,不破坏血液成分,没有明显的排异反应,没有噪音,不影响病人的生活质量. (4) 临床应用的可行性,即外科技术简单易行,便于制造,价格便宜.目前临床应用的人工瓣膜主要有生物瓣和机械瓣.生物瓣具有良好的血液相容性,但耐久性差,易钙化和损坏,平均寿命在 10~15 年左右,需两次手术,所以自 80 年代中期以后,生物瓣的应用逐年减少^[1~4].目前应用最广泛的仍为机械瓣,材料以热解碳为主.但机械瓣的缺陷在于血栓形成及长期抗凝造成的危害^[5~8].人工瓣膜的血栓发生率为每百人年约 0.5~0.7^[4],而抗凝有关的出血并发症为每百人年约 1 左右^[9].因此,如能找到不需抗凝的人工瓣膜材料,其意义是显而易见的.国内外在寻找具有更好抗凝血性能的材料以取代热解碳进行了大量工作,但除德国 M.Schaldach 研究的 Ta_2O_3 掺杂的金红石型 TiO_2 陶瓷材料外,各种材料的血液相容性均未超过热解碳^[10~13].而陶瓷材料加工困难,力学性能差,故未能付诸实用.但由此发现,氧化钛具有更好的抗凝血性能.

材料表面的血栓形成与电子从非激活状态的蛋白质(如纤维蛋白原)向固体表面的转移有关.因此,材料表面适当的电子结构使阻止纤维蛋白原的电荷转移成为可能,从而阻止血栓的形成.材料与血液接触后,第一个过程是血浆蛋白在材料表面的吸附.吸附蛋白层将决定材料的血液相容性.血液中的有形成分如血小板、红细胞等吸附于蛋白层之上,其黏附与激活和吸附蛋白质直接相关.血液中影响凝血的蛋白主要有两种:白蛋白和纤维蛋白原.白蛋白在生物材料表面的大量吸附,可减少血小板黏附,从而改善抗凝血性能^[14].而纤维蛋白原在材料表面的吸附,不仅自身会参与凝血过程,还会增加血小板在材料表面的黏附和激活,导致凝血^[15].所以,一个好的生物材料需要良好的蛋白吸附特性,即尽量少吸附纤维蛋白原是对生物材料的首要目标.而纤维蛋白原吸附后如何延长它的分解时间也

是改善抗凝血性能的有效手段. 与热解碳相比, 氧化钛表面吸附了较多的白蛋白和较少的纤维蛋白原. 因此, 氧化钛薄膜的抗凝血性能要明显优于热解碳. 而通过离子束辅助沉积技术在热解碳表面制备氧化钛薄膜, 可以兼得两者的优点, 在材料的制备上又切实可行. 因此, 用离子束辅助沉积技术制备的金红石型氧化钛薄膜, 其抗凝血性能已大大超过目前临床应用的热解碳, 氧化钛薄膜很可能成为新一代的人工瓣膜材料. 本文阐述的是我们初步的研究成果, 实际应用还需作进一步动物实验及临床试验的研究.

参考文献

- [1] Taylor K. *Heart*, 1997, **77** (4): 295-296.
- [2] 朱晓东, 薛金兴主编. 心脏外科指南, 第一版. 世界图书出版公司出版. 1990. 602.
- [3] Turina J, Hess O M, Turina M, *et al. Circulation*, 1993, **88** (3): 775-781.
- [4] 范中杰编译. 人工心脏瓣膜进展. 国外医学心血管病分册, 1997, **24** (2): 35-37.
- [5] 谢邦富, 沈回春, 姜子非, 等. 中国胸心血管外科临床杂志, 1996, **3** (3): 182-183.
- [6] 杨卫忠, 张国良, 梁日生, 等. 中国神经精神疾病杂志, 1996, **22** (1): 41-42.
- [7] Geiser T, Sturzenegger M, Genewein U, *et al. Stroke*, 1998, **29** (9): 1770-1777.
- [8] Wijdicks E F, Schievink W I, Brown R D, *et al. Neurosurgery*, 1998, **42** (4): 769-773.
- [9] Bolz A, Schaldach M. *Artificial Organs*, 1990, **144**: 260-269.
- [10] Mitamura Y, Hosooka K, Matsumoto T. *J Biomater*, 1989, **4**: 33-55.
- [11] Dion I, Roques X, Baquay C, *et al. Biomedical Materials and Engineering*, 1993, **5**: 51-55.
- [12] Ebert R, Schaldach M. Rutile ceramics as material for cardiovascular devices. Proceeding of world congress on medical physics and biomedical engineering. Hamburg. 1982.
- [13] Feng L, Andrsade J D. *J Biomater Sci Polymer Edn*, 1995, **6**: 286.
- [14] Lee E S, Kim S W. *ASAIO J*, 1980, **3**: 355.

TiO₂ Thin Film Deposited by Enhanced Ion Beam Technique to Improve Anti-coagulability of Pyrolysis Carbon Applied to Artificial Heart Valves

CHEN An-Qing, XU De-Min, WANG Zhe, ZHAO Qiang, JIANG Zhen-Bin

(Department of Cardiovascular Surgery of Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract: A new kind of materials applied to the artificial heart valve, rutile-TiO₂ thin film on low temperature isotropic pyrolysis carbon (LTI-carbon) was deposited through the enhanced ion beam approach. The thrombosis on the surface of samples was observed through platelet adhesion *in vitro* and animal experiments *in vivo*, respectively. Compared with LTI-carbon material, there is much less platelets adhesion, aggregated and coagulated as well as deformed on the surface of the thin film. Animal experiments *in vivo* also show that the amount of thrombus on the observed surface is much less than that of LTI-carbon. There are numerous platelets and fibrin aggregated and formed on the surface of LTI-carbon, but not on the surface of the thin film. The anti-coagulability of the deposited rutile-TiO₂ thin film is much better than that of LTI-carbon traditionally used in artificial heart valves. And it also indicates that the deposited TiO₂ thin film is a new kind of promising materials applied to artificial heart valves.

Key words artificial heart valve; titanium oxide film; blood compatibility