

肝素在人工小血管表面改性中的应用

贾山山,陈群清,闫玉生
南方医科大学珠江医院,广东 广州 510280

【摘要】人工小血管因为其抗凝血性能不佳的原因并没有大量应用于临床,肝素化修饰是目前最为理想的增加材料表面抗凝血性能的方法之一。本文介绍肝素的结构及性能,并简述共价修饰、离子键和物理缓释这3个目前主要的肝素改性方法,同时总结各种方法的优缺点并对肝素在人工血管改性的未来方向进行展望。

【关键词】人工血管;肝素;表面改性;血液相容性;综述

【中图分类号】R318.08

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2018)10-1236-05

Application of heparin in surface modification of small-caliber artificial blood vessels

JIA Shanshan, CHEN Qunqing, YAN Yusheng
Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510280, China

Abstract: Small-caliber artificial blood vessels are not widely used in clinic because of its poor biocompatibility. Heparinized modification is the most effective method to improve the thrombogenesis-resistant for blood-contact materials. Herein the structure and properties of heparin are introduced. Three main methods used in surface modification of artificial blood vessels with heparin, namely covalent bonding, ion binding and sustained release, are briefly described. The advantages and limitations of various methods are summarized and the future development of heparin in the modification for artificial blood vessels is prospected.

Keywords: artificial blood vessel; heparin; surface modification; hemocompatibility; review

前言

我国心血管病危险因素流行趋势明显,导致心血管病的发病人数增加。总体上看,我国心血管病患病率及死亡率仍处于上升阶段。心血管病死亡率居首位,高于肿瘤和其他疾病,占居民疾病死亡构成的40%以上^[1]。冠状动脉旁路移植术(CABG)是中国心血管外科最重要的术式之一,年手术量约为4万例。由于人口老龄化,各类危险因素的逐渐发展,中国年CABG量正以10%的速度逐年递增,CABG未来可能会成为中国心脏外科最为主要的术式^[1]。在CABG中,桥血管的选择一直是热点问题。自体血管虽然是理想的血管材料,但是取材有限,而且对机体副损伤大,不利于患者的康复。而目前小口径人工

血管(内径 ≤ 6 mm)植入后容易形成血栓,通畅率较低。因此,通过对人工血管表面进行改性,制备出血液相容性好的人工血管,将解决目前心脏外科冠脉搭桥的最大难题,并极大地提高冠脉搭桥的手术率。肝素作为在临床广泛应用的抗凝物质,其抗凝的效果已经得到广大临床工作者的认同^[2-5]。虽然近年来各研究人员利用不同的物质以各种方法对人工小血管改性,但肝素仍是目前最为认可的表面修饰物质。近年来人工血管表面肝素固定技术有了较大的发展,各种中间接枝物质及固定方法都取得了一定的效果,所以将肝素固定在人工血管表面仍将是人工血管表面改性的重要方向,有着巨大的应用前景,下面将从肝素的分子结构、抗凝原理以及目前国内利用肝素对人工小血管表面改性的主要技术进行综述。

1 肝素的结构与生物活性

1.1 结构

肝素是由葡萄糖胺、L-艾杜糖醛苷、N-乙酰葡萄糖胺和D-葡萄糖醛酸交替组成的黏多糖硫酸酯。它的分子量大小约15 kD,其分子中含有两类活性基

【收稿日期】2018-05-20

【基金项目】广东省科技计划项目(2012B091100159)

【作者简介】贾山山,硕士研究生,研究方向:人工血管,E-mail: jiashan1991@163.com

【通信作者】闫玉生,主任医师,E-mail: yanys@fimmu.com;陈群清,主任医师,E-mail: CHENQQG@sina.com

团,一种是 $-\text{SO}_3^-$ 及 $-\text{COO}^-$ 等负离子,另一类是 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 。 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 上的活泼氢可以发生一系列的功能性反应,所以肝素或其衍生物在人工血管表面上的固定是提高人工血管生物相容性最直接可行的方法^[6]。

1.2 生物活性

肝素的抗凝原理较为复杂,目前研究认为肝素的抗凝血机制主要与抗凝血酶Ⅲ(AT-Ⅲ)的结合有关。AT-Ⅲ是一种单链糖蛋白酶,可与凝血酶原结合,从而抑制凝血的发生,但是这一反应过程速度较慢。而肝素在与AT-Ⅲ结合后,可以大幅降低AT-Ⅲ构象变化的自由能,加快抗凝血的进程。在这一过程中,肝素作为一种生物活性物质,其构型、构象变化有着非常重要的作用。除此之外,肝素同时也可以抑制因子V、Ⅵ、Ⅸ及Ⅹ在血液凝固的级联反应时的激活。肝素对酶活性的抑制都是通过和它们生成络合物而改变它们原有的构象这个基本过程来实现的。

在材料进行肝素化改性时,关键要考虑肝素固定的牢固程度、肝素在材料表面的浓度大小及能否保持肝素生物活性等方面。目前固定肝素的方法多种多样,但主要集中在共价结合、离子结合、物理缓释这3个方面。

2 改性方法

2.1 共价结合

人工小血管所用材料一般为惰性较高的材料,本身难以直接与肝素进行共价结合。且肝素本身虽然有较多的活性官能团,但能与肝素进行共价结合的物质并不多,所以对人工小血管表面进行预处理,并且利用中间体率先进行修饰,之后再接枝肝素是大多数研究人员所运用的方法,共价结合的牢固性较其他改性方法具有明显的优势。Dimitrievska等^[7]首先利用马来酰亚胺改性肝素,之后制备出脱细胞主动脉支架暴露氨基,利用3-叠氮酸对暴露的氨基进行修饰,使脱细胞支架表面含有叠氮基团,然后利用炔炔点击技术将可点击叠氮树枝片接枝在叠氮基团上,这种树枝样扩张一样的接枝将扩大接枝物质的接触面,之后将已处理的肝素与端基共价结合。利用XPS和FTIR检测可证实肝素成功接枝在脱细胞主动脉支架表面,改性完成后进行的小血小板黏附实验可见血小板在改性后的脱细胞主动脉支架表面黏附明显减少。岳秀丽等^[8]在人工血管的表面涂上医用硅橡胶作为软支撑,再在硅橡胶涂层的表面上涂上全氟磺酸,然后将二苯胺重氮树脂和肝素通过静

电吸引作用交替沉积到全氟磺酸涂层的表面上。之后行XPS和FTIR检测证实,在紫外光照射下,重氮树脂的重氮基团与肝素的硫酸基团之间发生光化学反应,生成硫酸酯,使膜内层间离子键转变成共价键,从而使肝素多层膜的稳定性大大提高。人工血管肝素化表面中的肝素分子以壁面结合的方式存在,在人工血管表面固化肝素和AT-Ⅲ形成的络合物显示出较好的抗凝血性。Luo等^[9]发现利用多巴胺在聚合物材料表面可以发生自身氧化并产生自聚的特性,在自聚后的多巴胺氨基位上接枝肝素同样显示出良好的血液相容性,利用多巴胺自聚的方法去接枝肝素甚至其他物质已经成为当今材料表面改性的热点。Davoudi等^[10]也利用多巴胺自聚的特性,将肝素和VEGF固定在聚氨酯(PU)纳米纤维血管支架上,不仅表现出良好的抗血栓性能,同时还可以促进内皮的单层生长融合。马艳等^[11]利用全氟磺酸修饰膨体聚四氟乙烯表面,然后用肝素—海藻酸钠凝胶进行灌注修饰,以乙二醇为交联剂,卜乙基—3—3—二甲基丙基碳化二亚胺为引发剂,将多糖分子进行共价交联。扫描电镜和FTIR结果证实改性后的聚四氟乙烯结构表面血小板黏附减少,然后用活化部分凝血激酶时间、凝血酶原时间、溶血实验以及凝血酶失活实验证明涂层后人工血管表面的血液相容性明显改善。Hoshi等^[12]将肝素通过其羧基结合胺基聚(1,8-octanediol-co-citrate)(POC)接枝到POC改性的聚四氟乙烯人工血管上,之后的小血小板黏附、凝血实验及内皮细胞黏附实验结果提示,改性后的人工小血管抗凝性能可至少持续一个月。Li等^[13]以聚氨酯为原材料利用静电纺丝技术制备小口径人工血管,之后用 NH_3 对制备的人工血管进行等离子处理,相关表征表明其表面成功引入氨基,之后利用1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)做交联剂将肝素钠成功接枝在所制备的人工血管上,材料表征及体外实验均证明了所制备人工血管的良好抗凝性。之后的动物实验表明,在植入体内血管4周后,病理结果提示人工血管表面可见纤维细胞生长。相似的是,Duan等^[14]也利用EDC/NHS交联剂,将肝素接枝在了聚己内酯制成的人工血管表面,并进行了杂种犬的动物实验,虽然表现出良好的抗凝性,但是在12周的动物实验期间,人工血管本身的降解速度过快,这是今后需要解决的问题。Li等^[15]以细菌纳米纤维素(BNC)人工血管为研究对象,分别以壳聚糖及肝素对其表面改性,交联物质也是EDC和NHS,结果表明改性后的复合血管力学性能均有所改善,但是肝

素组在血液相容性方面明显优于壳聚糖组,当然这还需要动物实验进一步证明。Buscemi等^[16]混合聚(N-二羟乙基)-D、L-天冬酶胺(PHEA)、聚乳酸(PLA)、聚己酸内酯(PCL),并利用静电纺织技术制备可吸收血管,之后进行肝素的共价结合,并利用此血管在猪体内人工制造髂外动静脉瘘,但三周后形成了血栓。Gao等^[17]利用N₂等离子体浸没离子注入技术对PTFE人工血管进行改性,之后分别进行肝素、SDF-1a和CD47的浸润,结果显示改性后的材料除了具有良好的抗凝性之外,还可以促进人脐静脉内皮细胞的生长。Freeman等^[18]利用CABS涂层法,即端点附着技术,将肝素共价结合在PTFE人工血管表面,并进行了两年的动物实验,结果提示实验组的通畅率高于对照组,并具有统计学意义。

2.2 离子结合

离子结合原理在于在材料表面引入肝素之前首先对材料表面引入阳离子,这种结合方法令肝素与材料表面形成的结合力较弱,面对体内复杂的环境及血流的冲刷,肝素将很容易被冲刷,难以达到长久抗凝的作用。Yang等^[19]在射频下由外部电极激发的等离子体处理覆盖到316L不锈钢的聚烯丙胺薄膜并使之产生胺基,随后肝素溶液处理,利用PBS和蒸馏水冲洗,将肝素接枝在聚烯丙胺表面。结果表明这种非共价相互作用显著改善血液相容性,同时抑制平滑肌细胞增殖,且促进内皮化效果显著,同时非共价键结合肝素大大保留了其生物活性,并保证其多功能性。Yao等^[20]通过co-静电纺丝技术制备出ε-己内酯和壳聚糖共混的人工血管,再经过聚氧化乙烯处理,最后在肝素溶液浸泡制备出通过离子键与纺丝相结合的可控制肝素释放的人工血管,体内体外实验结果表明此种方法制备的肝素可稳定释放,并取得良好的血液相容性。Xiong等^[21]以静电纺PCL纤维作为模板,用肝素掺杂聚吡咯涂层纤维表面,取得了较低的表面电阻率和较好的抗凝血性,同时研究了对于导电聚合物,通过电刺激来达到控制血栓形成及炎性反应的机理。陆树洋等^[22]采用层层静电组装的方法将带负电的肝素与带正电的胶原交替涂覆到聚四氟乙烯小口径人工血管片上,制备成复合人工血管片,并行血小板黏附实验、溶血实验及血浆复钙时间实验检测。结果扫描电镜照片可以观察到普通人工血管片表面有大量血小板黏附,血小板呈扁平状贴覆在材料表面,而复合血管片组表面有少量血小板贴覆;复合血管片观察至30 min未见纤维蛋白丝,而普通血管片血浆复钙时间为8.5 min,从而论证了层层自组装肝素/胶原复合涂层聚四氟乙烯小

口径人工血管片具有良好的抗凝血性能及血液相容性。陶运明等^[23]利用层层自组装技术将二羟基铁和肝素交替固定在去细胞牛颈静脉(DC—BJV)表面,从而构出一种新型的抗凝表面,扫描电镜和洗脱实验显示肝素/二羟基铁多层复合物均匀稳定地覆盖在胶原纤维表面,形成纳米膜并持续地释放肝素。实验组凝血酶原时间(PT)和部分活化凝血酶原时间(APTT)明显高于正常值。血小板黏附实验显示,实验组和对对照组每10 000 μm²血小板计数分别为(8±4)和(48±16)个,从而验证了肝素/二羟基铁多层复合物能够牢固地结合在去细胞异种血管表面形成纳米厚度的抗凝表面,并能够提高其生物相容性。Zhai等^[24]和Sheng等^[25]均进行了静电纺聚左旋乳酸(PLLA)和PCL合成P(LLA-CL)纳米纤维可降解小口径人工血管的研究,并利用同轴共纺原理制备载肝素涂层的P(LLA-CL)/Heparin人工血管,利用静电纺原理制备出的P(LLA-CL)纳米纤维小口径人工血管强度、张力、弹性等理化性能均能达到人工血管基本要求,动物实验表明近期通畅率虽较对照组高,但是远期通畅率仍然不理想。

2.3 物理缓释

物理缓释系统指将肝素存储在某些物质中并在体内持续释放以达到抗凝的作用,物理缓释可以较持久地达到抗凝效果,远期通畅率相对较高。目前应用较多的有水凝胶技术和介孔释放技术。近年来水凝胶技术在生物工程领域应用较为广泛^[26-27],特别是在心脏支架的表面应用方面^[28],同时在人工血管上也有相关研究。Negishi等^[29]通过将聚乙烯醇放入高压蒸汽灭菌器中,在121℃加压并在100℃冷却,之后加入肝素溶液,并冷却增压制备出混合水凝胶,之后通过扫描电镜观察及XPS表征可以得出肝素覆盖效果好,肝素释放实验结果显示水凝胶组在21 d内释放了40%的肝素。Li等^[30]通过介孔氧化硅对人造血管修饰,不同的介孔二氧化硅材料可均匀涂覆在人工血管的表面和内部纤维上,扫描电镜SEM、X射线能谱仪(EDX)和氮吸附试验分析及肝素释放结果提示可以达到控制释放肝素的结果,同时人工血管的生物相容性大大提高。Janse等^[31]利用聚乙二醇与肝素共价结合制备成水凝胶,同时加载生长因子,植入皮下模型内进行实验,成功控制肝素的释放并且加速内皮化程度。李坤等^[32]利用介孔硅基材料十六烷基溴化铵-柠檬酸-柠檬酸钠体系(CTAB—CA—CANa)制备介孔材料的溶胶,然后覆盖在人工血管表面,之后将肝素附着,通过凝血酶失活实验、蛋白附着实验等证明覆盖介孔的人工血管可以更好地释

放肝素,抗凝血性明显占优。Zhou等^[33]利用膨体聚四氟乙烯材料本身具有孔隙的特性,同样利用介孔二氧化硅延长的方法,将肝素附着于介孔中,而肝素在二氧化硅介孔中并不是纯粹的物理黏附,而是具有一种弱化学键方式的存在,所以可以保持较长时间的抗凝性。

3 总结

肝素作为临床应用较为广泛的抗凝药物,在人工血管的应用上有着重要的价值。各种对人工血管表面的改性,多以肝素作为首选改性物质,而且以共价结合较多,但是共价结合会改变肝素的结构,使其抗凝性受到影响,而离子键合在体内相对复杂的电荷环境影响下难以保持,同时近年来的各种缓释技术可以较好地控制肝素的释放,提高远期抗凝效果。但是,我们可以看到目前大多数的改性方法并不能长久发挥肝素的抗凝血性能,而且多数方法缺少动物体内实验的支持。但同时我们可以看到,随着各种改性技术的不断进步,目前的改性方法已经较之前大大改善了人工小血管的抗凝血性能,当前的改性方法不仅仅是着眼于抗凝血性的改善,同时还有促进血管内皮化的改性。文中我们可以了解到多数研究人员在固定肝素的同时加入促进血管内皮生长的物质,如VEGF。同时我们可以预见,未来肝素在人工血管表面的改性仍将发挥着重要的作用,同时与血管内皮生长因子的结合甚至是纳米肝素颗粒、基因工程的改性将会替代目前单纯的肝素固定。所以肝素在人工血管的表面修饰技术以及其稳定性、持续作用研究将依然是人工血管表面改性的重要领域及热点问题。

【参考文献】

- [1] 中国心血管病报告编写组.《中国心血管病报告2016》概要[J]. 中国循环杂志, 2017, 32(6): 521-530.
National Center for Cardiovascular Disease, China. Summary of Chinese cardiovascular disease report 2016 [J]. Chinese Circulation Journal, 2017, 32(6): 521-530.
- [2] LINDHOLTA J S, JOHANNESSEN N, DUEHOLM D, et al. The Scandinavian propaten trial-1-year patency of PTFE vascular prostheses with heparin-bonded luminal surfaces compared to ordinary pure PTFE vascular prostheses: a randomised clinical controlled multicentre trial[J]. Eur J Vasc Endovasc, 2011, 41(5): 668.
- [3] COX S R, MOAWAD J A, MARSHALL L A, et al. Patency rates among heparin-bonded and conventional polytetrafluoroethylene grafts for upper extremity hemodialysis access[J]. JAMA, 2014, 311(3): 153-157.
- [4] LUMSDEN A B, MORRISSEY N J. Randomized controlled trial comparing the safety and efficacy between the FUSION BIOLINE heparin-coated vascular graft and the standard expanded polytetrafluoroethylene graft for femoropopliteal bypass[J]. J Vasc Surg, 2015, 61(3): 703-712.
- [5] BELLOSTA R, NATALINI G, LUZZANI L, et al. Comparison of precoated expanded polytetrafluoroethylene and heparin-bonded polytetrafluoroethylene graft in crural bypass[J]. Ann Vasc Surg, 2013, 27(2): 218-224.
- [6] 文志红, 邹素华, 陈维涛. 医用肝素化抗凝血高分子材料的研究进展[J]. 塑料, 2005, 34(2): 26-30.
WEN Z H, WU S H, CHEN W T. Heparinized medical and anticoagulative polymeric materials[J]. Plastics, 2005, 34(2): 26-30.
- [7] DIMITRIEVSKA S, CHAO C, WEYERS A, et al. Click-coated, heparinized, decellularized vascular grafts[J]. Acta Biomater, 2015, 13: 177-187.
- [8] 岳秀丽, 田文杰, 杨今朝, 等. 共价键合多层肝素薄膜修饰涂有硅橡胶的人工血管[J]. 化学学报, 2007, 65(4): 367-372.
YUE X L, TIAN W J, YANG J C, et al. Covalently-attached heparin multilayer coatings on the luminal surface of silicone-coated vascular graft[J]. Acta Chimica Sinica, 2007, 65(4): 367-372.
- [9] LUO R, WANG X, DENG J, et al. Dopamine-assisted deposition of poly (ethylene imine) for efficient heparinization[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2016, 144: 90-98.
- [10] DAVOUDI P, ASSADPOUR S, DERAKHSHAN M A, et al. Biomimetic modification of polyurethane-based nanofibrous vascular grafts: a promising approach towards stable endothelial lining[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2017, 80: 213-221.
- [11] 马艳, 岳秀丽, 刘萌, 等. 共价交联的肝素/海藻酸盐水凝胶表面修饰膨体聚四氟乙烯人工血管[J]. 中国组织工程研究, 2008, 12(10): 1954-1957.
MA Y, YUE X L, LIU M, et al. Thromboresistant surface modification of expanded polytetrafluoroethylene vascular graft by impregnating covalently crosslinked gel of heparin and alginate[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2008, 12(10): 1954-1957.
- [12] HOSHI R A, LITH R V, JEN M C, et al. The blood and vascular cell compatibility of heparin-modified ePTFE vascular grafts [J]. Biomaterials, 2013, 34(1): 30-41.
- [13] LI Q, MU L, ZHANG F, et al. Manufacture and property research of heparin grafted electrospinning PCU artificial vascular scaffolds[J]. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 2017, 78: 854-861.
- [14] DUAN H Y, YE L, WU X, et al. The *in vivo* characterization of electrospun heparin-bonded polycaprolactone in small-diameter vascular reconstruction[J]. Vascular, 2015, 23(4): 358-365.
- [15] LI X, TANG J, BAO L, et al. Performance improvements of the BNC tubes from unique double-silicone-tube bioreactors by introducing chitosan and heparin for application as small-diameter artificial blood vessels[J]. Carbohydr Polym, 2017, 178: 394-405.
- [16] BUSCEMI S, PALUMBO V D, MAFFONGELLI A, et al. Electrospun PHEA-PLA/PCL scaffold for vascular regeneration: a preliminary *in vivo* evaluation[J]. Transplant Proc, 2017, 49(4): 716-721.
- [17] GAO A, HANG R, LI W, et al. Linker-free covalent immobilization of heparin, SDF-1 α , and CD47 on PTFE surface for antithrombogenicity, endothelialization and anti-inflammation[J]. Biomaterials, 2017, 140: 201-211.
- [18] FREEMAN J, CHEN A, WEINBERG R J, et al. Sustained thromboresistant bioactivity with reduced intimal hyperplasia of heparin-bonded polytetrafluoroethylene propaten graft in a chronic canine femoral artery bypass model[J]. Annals of Vascular Surgery, 2018, 49: 295-303.
- [19] YANG Z, TU Q, WANG J, et al. The role of heparin binding surfaces in the direction of endothelial and smooth muscle cell fate and re-

- endothelialization[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(28): 6615-6625.
- [20] YAO Y, WANG J, CUI Y, et al. Effect of sustained heparin release from PCL/chitosan hybrid small-diameter vascular grafts on anti-thrombogenic property and endothelialization[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(6): 2739-2749.
- [21] XIONG G M, YUAN S, WANG J K, et al. Imparting electroactivity to polycaprolactone fibers with heparin-doped polypyrrole: modulation of hemocompatibility and inflammatory responses[J]. *Acta Biomater*, 2015, 23: 240-249.
- [22] 陆树洋, 孙晓宁, 张鹏, 等. 层层自组装肝素/胶原复合涂层聚四氟乙烯小口径人工血管的研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2012, 29(4): 589-591.
- LU S Y, SUN X N, ZHANG P, et al. Hemocompatibility evaluation of small-caliber expanded polytetrafluoroethylene vessel with heparin collagen layer-by-layer assembly multilayer[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2012, 29(4): 589-591.
- [23] 陶运明, 胡铁辉, 吴忠仕, 等. 肝素/二羟基铁纳米修饰对异种血管生物相容性的影响[J]. *中华胸心血管外科杂志*, 2012, 28(2): 94-98.
- TAO Y M, HU T H, WU Z S, et al. Effect of heparin/dihydroxy-iron complex multilayered nanomodification on biocompatibilities of decellular xenograft [J]. *Chinese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 2012, 28(2): 94-98.
- [24] ZHAI W, QIU L J, MO X M, et al. Coaxial electrospinning of P(LLA-CL)/heparin biodegradable polymer nanofibers: potential vascular graft for substitution of femoral artery[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2014, 102(1): 203.
- [25] SHENG W, XIU M M, BO J J, et al. Fabrication of small-diameter vascular scaffolds by heparin-bonded P (LLA-CL) composite nanofibers to improve graft patency[J]. *Int J Nanomedicine*, 2013, 8: 2131-2139.
- [26] ZHANG L, MA Y, PAN X, et al. A composite hydrogel of chitosan/heparin/poly (γ -glutamic acid) loaded with superoxide dismutase for wound healing [J]. *Carbohydr Polym*, 2017. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.10.036
- [27] YAR M, SHAHZAD S, SHAHZADI L, et al. Heparin binding chitosan derivatives for production of pro-angiogenic hydrogels for promoting tissue healing[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, 74: 347-356.
- [28] JOUNG Y K, YOU S S, PARK K M, et al. *In situ* forming, metal-adhesive heparin hydrogel surfaces for blood-compatible coating[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2012, 99(11): 102-107.
- [29] NEGISHI J, NAM K, KIMURA T, et al. High-hydrostatic pressure technique is an effective method for the preparation of PVA-heparin hybrid gel[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2010, 41(5): 617-622.
- [30] LI K, ZHOU Y, YANG J Y, et al. *In vitro* biocompatibility evaluation of ePTFE graft with controlled release of heparin from mesoporous material[J]. *Appl Surf Sci*, 2012, 258(8): 4041-4047.
- [31] JANSE V R, DAVIES N H, OOSTHUYSEN A, et al. Improved vascularization of porous scaffolds through growth factor delivery from heparinized polyethylene glycol hydrogels[J]. *Acta Biomater*, 2016, 49: 89-100.
- [32] 李坤, 翟水亭, 周瑜, 等. 构建肝素控释的介孔小口径人工血管的研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2014, 31(4): 723-725.
- LI K, ZHAI S T, ZHOU Y, et al. Experimental research on the novel small-caliber vascular prosthesis basing on controlled release of heparin from mesoporous channel [J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*, 2014, 31(4): 723-725.
- [33] ZHOU Y, LI K, YANG J Y, et al. Small-caliber vascular prosthesis prototype based on controlled release of heparin from mesochannels and its enhanced biocompatibility[J]. *Small*, 2012, 8(9): 1373-1383.

(编辑:陈丽霞)