

Plasma Polymerization of Allylamine Coating for Loading Nitric Oxide and the Resulting Effects on Antithrombogenicity

Zeyu Du^{1,2}, Wenjie Tian^{3*}, Jing Lu^{4*}, Nan Huang^{2*}

¹School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu Sichuan

²Key Laboratory of Advanced Technologies of Materials (KLATM), Ministry of Education, Southwest Jiaotong University, Chengdu Sichuan

³Cardiology Department, Sichuan Provincial People's Hospital & Sichuan Academy of Medical Sciences, Chengdu Sichuan

⁴Anesthesiology Department, Sichuan Provincial People's Hospital & Sichuan Academy of Medical Sciences, Chengdu Sichuan

Email: ¹huangnan1956@163.com, ²tianwenjie1976@hotmail.com, ³lujing.1979@hotmail.com

Received: Apr. 8th, 2019; accepted: Apr. 21st, 2019; published: Apr. 28th, 2019

Abstract

Diazoniumdiolates (NONOate) can be formed and be anchored to secondary amino (SA) via the reaction between nitric oxide (NO) and SA, and can be protonized in physiological fluid to release nitric oxide (NO) molecules, which has various biological functions, especially the anticoagulation properties. In this study, NO was incorporated in a secondary-amino rich plasma polymerized allylamine coating (marked as NO-PPAam) by forming the NONOate under alkaline alcohol solution. The successful produce of NONOate was confirmed by the fourier transform infrared (FTIR) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). The cumulative NO release from NO-PPAam was detected by chemiluminescence and was up to 41.5 nmol/cm². *In vitro* experiments showed that the NO released from NO-PPAam coating significantly inhibited the platelets adhesion and activation on this coating. Extracorporeal circulation test revealed that the NO-PPAam coating could dramatically reduce thrombus compared to PPAam and 316 L SS. The strategy of constructing a NO-PPAam coating on substrate shows a promising way to improve the hemocompatibility of blood-contacting devices.

Keywords

NONOate, Plasma Polymerization, Allylamine, Anticoagulation

偶氮二醇烯鎗功能化等离子体聚烯丙胺涂层制备及其抗凝血研究

杜泽煜^{1,2}, 田文杰^{3*}, 卢静^{4*}, 黄楠^{2*}

*通讯作者。

¹西南交通大学, 生命科学与工程学院, 四川 成都

²西南交通大学, 材料先进技术教育部重点实验室, 四川 成都

³四川省人民医院和四川省医学科学院心内科, 四川 成都

⁴四川省人民医院和四川省医学科学院麻醉科, 四川 成都

Email: ¹huangnan1956@163.com, ²tianwenjie1976@hotmail.com, ³lujing.1979@hotmail.com

收稿日期: 2019年4月8日; 录用日期: 2019年4月21日; 发布日期: 2019年4月28日

摘要

偶氮二醇烯鎓(NONOate)在生理条件下可以质子化水解, 释放具有生物活性的一氧化氮(NO)分子, 从而可赋予偶氮二醇烯鎓化器材表面特殊的生理功能及改善材料表面的血液相容性。本研究利用等离子体聚烯丙胺(PPAam)技术在316 L不锈钢(SS)表面构建富氨基涂层, 并进一步在碱性醇溶液利用NO与涂层中丰富仲氨基结合将PPAam偶氮二醇烯鎓化, 最终得到具有NO释放能力的抗凝血NO-PPAam涂层。通过傅立叶变换红外光谱(FTIR)和X射线光电子能谱(XPS)结果证实NO成功固定到PPAam中。实时化学发光法(Chemiluminescence)测得NO-PPAam涂层可释放NO量达到41.5 nmol/cm²。体外血小板实验证实了NO-PPAam涂层通过释放NO显著抑制了血小板的粘附激活, 进一步在半体内血液循环试验中体现出了优异的抗凝血性能。因此, 该方法构建的具有高效NO释放能力的NO-PPAam涂层对于提高血液接触类器材表面血液相容性具有潜在的应用前景。

关键词

偶氮二醇烯鎓, 等离子体聚合, 烯丙胺, 抗凝血

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

生物医用金属材料由于优异的力学和耐腐蚀性能, 被广泛应用于血液接触类介入器械的制造, 如 316 L SS 等[1] [2]。然而, 生物医用金属材料(如心血管支架)在植入过程中可能引起血管损伤以及由于材料表面的刺激, 诱发血小板粘附聚集并活化, 从而触发凝血级联反应并促进凝血, 最终导致血栓在这类材料表面形成[3]。表面改性是提高生物医用金属材料血液相容性的重要手段, 通过在材料表面固定生物活性分子来抑制促凝因子可以显著的降低表面血栓[4]。因此, 抗凝血活性分子的选取和固定方法成为优化涂层抗凝血性能的关键。

在众多具备抗凝血活性的分子中, 一氧化氮(NO)因其独特的作用于血小板的抗凝途径而受到广泛关注[5]。人体中 NO 供体(如 GSNO)通过内源酶催化释放 NO, 增加血小板中环磷酸鸟苷(cGMP)水平而降低活化血小板所需的钙离子浓度[6], 从而显著抑制血小板的粘附与激活。因此, 近年来有诸多研究报道了通过构建 NO 释放或催化释放型表面来提高生物材料的血液相容性[7] [8]。Elizabeth J. Brisbois 等[9]通过将 NO 供体 S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP)装载进 Elast-eon E2As 高分子层, 实现了 NO 供体在高聚物内的长期存留, 同时还具有良好的抗凝血性能。Zhilu Yang 等[10]将 3,3-diselenodipropionic acid (SeDPA)共价固定在等离子体聚烯丙胺薄膜上, 实现 NO 的长期稳定催化。此外, 利用偶氮二醇烯鎓(Diaze

niumdiolate, NONOate)来实现 NO 的装载与释放也得到了研究, 高聚物中的仲氨基与 NO 在乙醇钠/乙醇溶液体系下与伯氨基反应生成偶氮二醇烯鎓(Diazoniumdiolate, NONOate)。作为 NO 供体的一种, 一分子的偶氮二醇烯鎓在生理流体条件下质子化水解释放两个生物活性的 NO 分子。NONOate 水解过程不需要特定的代谢物或氧化还原机制, 因而可以方便的利用这类 NO 供体合成前药应用于医学领域, 同样也适用于高分子涂层的改性。Melissa M. Reynolds 等[11]将含仲氨基团的分子嵌段共聚在聚氨酯中, 从而实现直接针对聚合物骨架的偶氮二醇烯鎓化。该二醇烯鎓化的聚氨酯在 PBS 条件中具有 $10 \text{ pmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的 NO 初始释放速率并且持续 6 天还有可观察到的释放速率。

然而, 这些 NO 释放的策略往往存在复杂的高分子涂层设计, 涂层过厚以及对不同材料不具有普适性的问题, 而 NO 催化释放的策略则又存在生理条件下催化量释放 NO 量不足以短期高效抗凝血等问题[12], 这些问题极大地限制了 NO(催化)释放表面的普遍应用。因此, 设计一款不依赖基底材料且具有高 NO 装载密度的超薄涂层对于血液接触器械在体内/半体内血液接触条件实现高效抗凝具有重要意义。

目前, 基于等离子体自由基聚合(简称等离子聚合)技术在生物医用材料表面化学气相沉积高聚物的涂层得到了长足的发展[13]。分子单体在亚真空条件辉光放电, 产生分子活性种。活性种着陆于材料表面或形成低聚体作用于材料表面, 进一步聚合增长成为连续致密的涂层[14]。等离子聚合涂层不改变本体材料的结构和性质, 在材料表面具有良好的结合力, 同时还可以根据目的方便地引入不同的活性官能团[15], 为植入器械表面改性提供了有力支撑。

在此, 本研究中通过等离子聚合技术在 316 L SS 表面构建了厚度小于 100 nm 的超薄等离子聚烯丙胺(PPAam)涂层, 并利用 NO 在乙醇钠/乙醇溶液体系与该涂层中丰富的伯氨基反应生成偶氮二醇烯鎓, 制备出了具有高 NO 装载量涂层(NO-PPAam)。我们使用了化学发光法实时检测了 NO-PPAam 的 NO 释放行为, 并利用体外血小板粘附激活实验和半体内实验验证了该涂层抗凝血效果。

2. 实验部分

2.1. 实验材料

烯丙胺单体(纯度 $\geq 99.0\%$, Sigma); 一氧化氮(纯度 $\geq 99.9\%$, 武汉纽瑞德特种气体有限公司); 甲醇、甲醇钠(纯度 $\geq 98.0\%$, 成都市科隆化学品有限公司); CD62p 抗体(GMP-140, Serotec Co.); HRP 抗体(KPL Co.); 新西兰大白兔(成都达硕实验动物有限公司)。

光谱型椭圆偏振仪购自美国 J. A. Woollam 公司; JY-82 接触角仪购自河北承德仪器厂; 傅里叶红外光谱仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; NO 分析仪购自美国 GE analytical instruments 公司; X-射线光电子能谱仪购自美国 Thermo Electron 公司; 电子显微镜购自日本 Jeol 公司。

2.2. 等离子体聚烯丙胺涂层的制备

2.2.1. 等离子体聚烯丙胺制备

采用自制脉冲射频(13.56 MHz)等离子体聚合装置进行涂层沉积, 实验装置如图 1 中 A 所示。

涂层制备工艺: 将反应腔室真空抽至 1 Pa, 通入 3.5 sccm 流量的氩气(Ar), 在功率为 80 W 下对反应腔室及样品表面进行 Ar 等离子体溅射清洗 5 min。随后将反应腔室真空抽至 1 Pa, 通入 3.5 sccm 烯丙胺(Aam)单体和 2.5 sccm Ar。在功率为 80 W, 负偏压 75 V, 占空比为 40% (ton = 20 ms, toff = 30 ms)条件下沉积 60 min, 获得厚度约为 95 nm 的 PPAam 涂层。

2.2.2. 偶氮二醇烯鎓功能化涂层制备

将等离子体聚合涂层表面浸没于 0.5 M 甲醇钠(NaOMe)/甲醇(MeOH)溶液, 放置于密闭的不锈钢

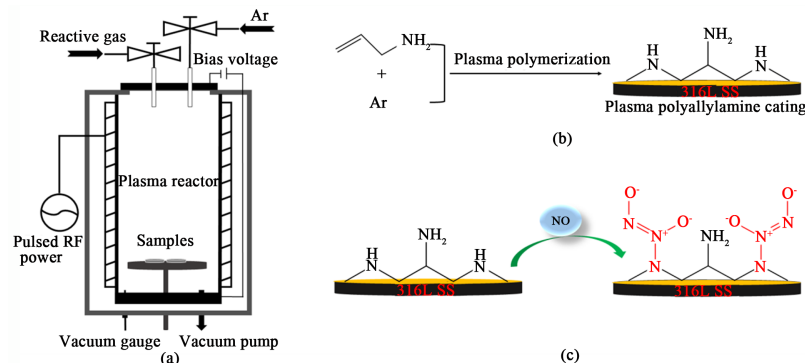


Figure 1. (a) Schematic diagram of the experimental setup; (b) Plasma polymerization of allylamine and argon to form polyallylamine; (c) Schematic diagram of NO modified plasma polyallylamine coating

图 1. (a) 等离子体实验装置简图; (b) 烯丙胺和氩气通过等离子体聚合制备等离子体聚烯丙胺涂层; (c) 等离子体聚烯丙胺涂层与 NO 反应示意图

单体罐。向单体罐中通入 20 psi N_2 (g) 三次以排除单体罐中剩余空气，随后通入 NO (g) 并在 75 psi 下反应 3 天。样品取出后经甲醇清洗以除去物理吸收的残余副产物，例如 NaOMe 或 NO (g)。使用前保存在 -20°C 。

2.3. 材料学表征

2.3.1. 光谱型椭圆偏振仪(Spectral Ellipsometer)

采用光谱型椭圆偏振仪检测 NONOate 功能化前后 PPAam 涂层厚度变化。

2.3.2. 水接触角检测采用接触角仪(Water Contact Angle, WCA)

采用接触角仪检测 316 L SS 以及 NONOate 功能化修饰前后 PPAam 涂层表面的亲疏水性。

2.3.3. NO 分析仪(Che miluminescence NO Analyzer)

使用 NOA 280 i NO 化学发光 NO 分析仪检测 PPAam 和 NO-PPAam 涂层中 NO 的释放。在 37°C 下 pH = 7.4 的 PBS 中检测 PPAam 和 NONOate 功能化涂层的 NO 释放速率。涂层中释放的 NO 被 N_2 输送到分析器，直到 NO 释放量为 $0 \text{ ppb}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ 停止检测。

2.3.4. 傅里叶变换红外光谱学(Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR)

采用傅立叶变换红外光谱仪检测 NONOate 功能化前后涂层的化学结构变化，设定测量范围为 $4000\sim 400 \text{ cm}^{-1}$ 。

2.3.5. X-射线光电子能谱仪(X-Ray Photoelectron Spectroscopy, XPS)

采用 X 射线光电子能谱测定样品的表面化学元素组成，激发光源为 Al $K\alpha$ (1486.6 eV)，荷电位移校正 $\text{C}1s = 284.5 \text{ eV}$ 。

2.3.6. 扫描电子显微镜(Scanning Electron Microscope, SEM)

使用扫描电子显微镜观察表面血小板粘附形态和血栓情况等。

采用 SPSS 软件进行方差分析，检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2.4. 血液相容性评价

2.4.1. 血小板粘附及激活率

新鲜人静脉血与柠檬酸钠抗凝剂按照体积比 9:1 混合后，在 1500 r/min 下离心 15 min 收集得到富含

血小板的血浆(PRP)。在 316 L SS、PPAam、NO-PPAam 涂层表面($10 \times 10 \text{ mm}^2$)滴加 120 μL 新鲜 PRP 后在 37°C 下孵育 30 min, 经生理盐水充分漂洗 3 次后, 于 2.5% 的戊二醛溶液中固定 12 h。脱水脱醇后, 通过 SEM 对样品表面血小板形貌进行观察并统计血小板粘附数量。

血小板激活率由血小板 GMP-140 表达量反应, 因此采用 P-选择素(GMP-140)评价血小板激活率[16]。在 316 L SS、PPAam、NO-PPAam 表面分别滴加 50 μL PRP 在 37°C 下孵育 2 h, 经生理盐水充分漂洗。样品表面分别加入 20 μL 1:100 的 CD62p 抗体, 37°C 下继续孵育 1 h。在样品表面滴加 20 μL HRP 标记的羊抗鼠多克隆抗体, 于 37°C 下孵育 1 h。充分漂洗表面并加入 100 μL 3,3',5,5'-四甲基联苯胺显色底液(TMB), 反应 10 min 后加入 50 μL H_2SO_4 (1 M) 终止显色反应。样品表面吸取 120 μL 溶液至 96 孔板, 置于酶标仪 450 nm 处读取吸光度值。

2.4.2. 动物半体内血液循环实验

动物实验中所有操作均按照动物实验规定进行。实验动物选用 2.5~3.5 kg 新西兰大白兔, 裸 316 L SS 和 PPAam 作为对照样($n = 3$), NO-PPAam ($n = 3$) 作为实验样。试验在动物全身麻醉状态下进行, 且不使用任何抗凝剂。将兔子的左颈动脉和颈静脉剥离, 通过放置有样品的生物医用导管相连接兔颈动脉、颈静脉使血液流回心脏形成半体内血液循环。实验结束后, 对血栓质量、血液流速及堵塞率等进行统计。经 2.5% 的戊二醛固定、逐级脱水脱醇及临界点干燥后, 采用 SEM 对涂层表面进行观察。

3. 结果及分析

3.1. FTIR 测试

通过自制脉冲射频(13.56 MHz)等离子体聚合装置将涂层制备到镀石英片表面, 利用 FTIR 对 NO 处理前后 PPAam 涂层化学结构变化进行检测分析。FTIR 结果如图 2 所示, PPAam 涂层红外光谱 $3350\sim 3225 \text{ cm}^{-1}$ 处 N-H 伸缩振动峰, $3000\sim 2894 \text{ cm}^{-1}$ C-H 伸缩振动峰, $1650\sim 1550 \text{ cm}^{-1}$ 的 -NH- 振动峰以及 1630 cm^{-1} 处 N-H 伸缩振动峰, 表明 PPAam 涂层的成功制备, 并保持有良好的烷氨结构。与 PPAam 相比, NO-PPAam 的化学结构出现明显的变化。在 NO-PPAam 光谱中出现 NONOate 结构特有的吸收峰, 如 $1480\sim 1540 \text{ cm}^{-1}$ 处出现的 N-N 特征峰, 1385 cm^{-1} 处 N-O 振动峰以及 $1600\sim 1650 \text{ cm}^{-1}$ N=N 伸缩振动峰[17]。这些典型的特征新峰出现, 证明 NO 是以 NONOate 方式成功的固定在 PPAam 涂层当中。

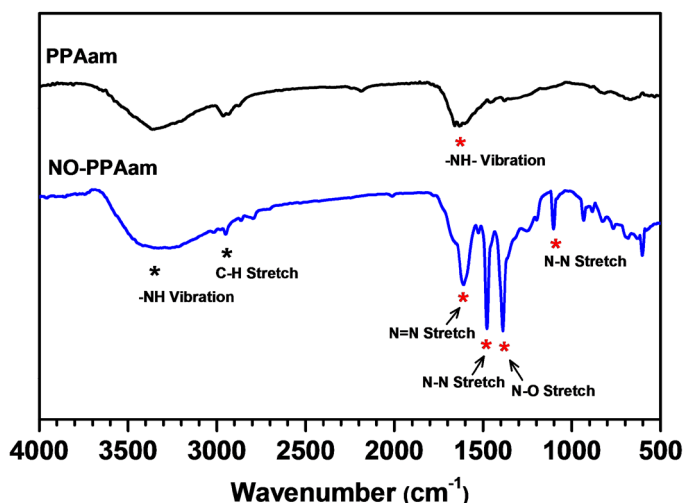


Figure 2. FTIR spectra of the PPAam (Black) and NO-PPAam coating (Blue)
图 2. PPAam (黑色)和 NO-PPAam (蓝色)红外光谱图

3.2. XPS 结果

N1s 和 O1s 高分辨图谱显示, NONOate 功能化前后的 PPAam 涂层表面化学组成和构成均具有显著性的改变。与 PPAam 的 N1s 高分辨合谱相比, NO-PPAam 在 402.5 eV 处出现新峰, 推测新峰主要归属于 NONOate 结构中的二氮烯鎓 $[N(O)=NO]$ 结构, 如图 3(a)所示。同样的, NO-PPAam 相比于 PPAam 的 O1s 高分辨谱, 在 535.2 eV 处出现的新峰, 推测也是归属于 $[N(O)=NO]$ 中的 $[NO]$ 结构, 如图 3(b)所示。同红外结果一起, XPS 分析表明 NO 在 PPAam 涂层中以 NONOate 形态成功固定。

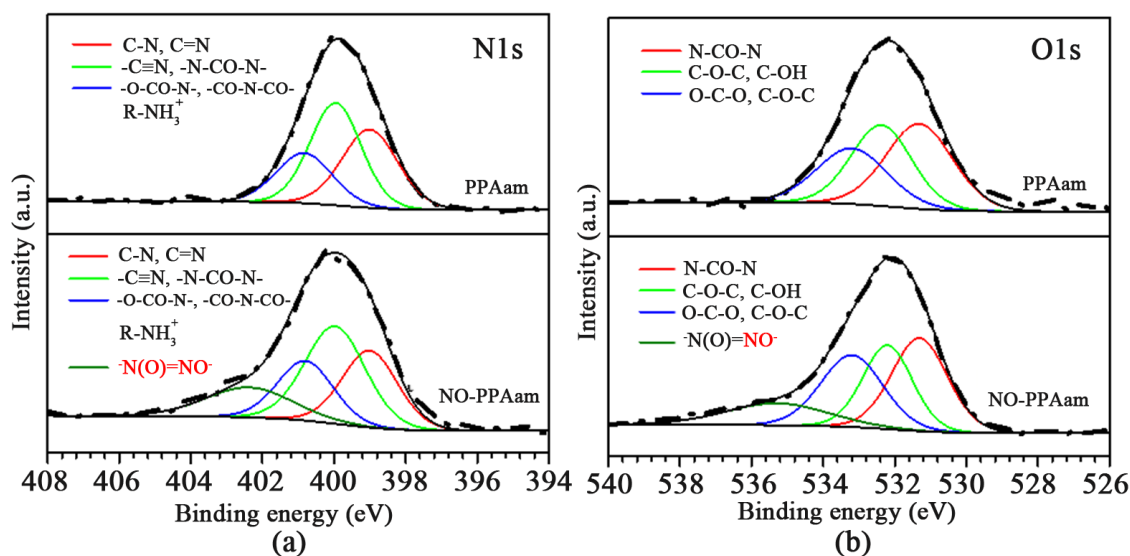


Figure 3. N1s and O1s high-resolution spectra of PPAam (a) and NO-PPAam (b)

图 3. PPAam 和 PPAam 涂层 N1s (a), O1s (b) 高分辨率谱图

3.3. 涂层厚度及水接触角结果

316 L SS 表面沉积 PPAam 涂层后, 其表面颜色发生明显的变化, 失去原有的金属光泽变为金黄色, 如图 4(a)所示。椭圆偏光检测结果显示 316 L SS 表面 PPAam 涂层厚度约为 90 nm。通过颜色改变与涂层厚度检测结果, 证明 316 L SS 表面成功的制备 PPAam。NO 处理过的 PPAam (NO-PPAam) 的颜色、厚度没有发生显著变化。

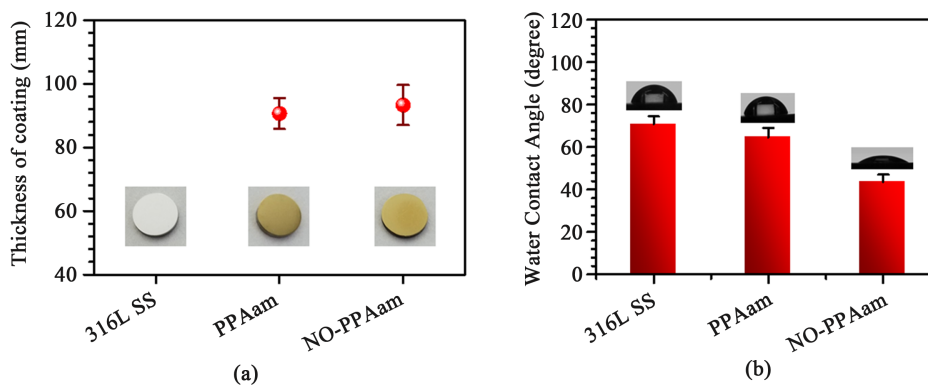


Figure 4. (a) The thickness of coatings (b) water contact angle of 316 L SS, PPAam and NO-PPAam coating

图 4. (a) 316 L SS、PPAam 和 NO-PPAam 涂层厚度和 (b) 水接触角

材料表面亲疏水性是影响生物相容性的重要因素之一[18],表面官能团类型与表面的亲疏水性紧密相关,例如氨基、羧基等极性、可离子化基团通常具有很高的亲水性,即极低的水接触角[19]。水接触角仪检测结果如图4(b)所示,相比于316 L SS,表面沉积PPAam涂层后,由于亲水性基团如胺基、脞基和亚胺基等基团存在,水接触角由70°减小到63°。NONOate功能化的NO-PPAam涂层的水接触角为43°,其亲水性得到明显增加,这可能与涂层中NONOate易质子化水解的性质有关。

3.4. NO 释放结果

采用NO分析仪检测NO处理前后的PPAam涂层(分别标记为PPAam与NO-PPAam)NO释放速率。NO释放结果如图5所示,PPAam(蓝色)涂层NO释放曲线结果表明涂层本身不具备NO释放能力。对NO-PPAam涂层NO释放曲线(红色)积分计算得到,在85 min内NO的释放总量达到41.5 nmol/cm²。NO释放结果证明了NO可以有效存储到PPAam中,并在数十分钟内得到高效释放。

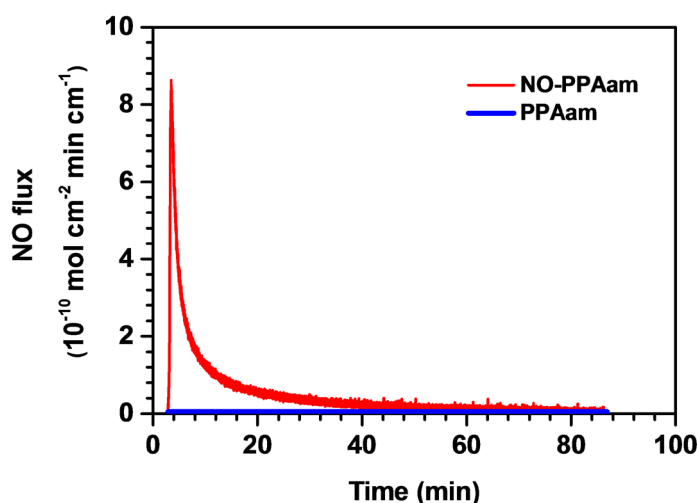


Figure 5. NO release from PPAam (Blue) and NO-PPAam (Red) coating

图5. PPAam (蓝色)和NO-PPAam涂层(红色)NO释放量

3.5. 血小板粘附激活评价

根据血小板的激活程度不同,血小板粘附形态可以分为圆形、树枝状、部分铺展的树枝状、铺展和完全铺展等五个等级[20]。样品表面血小板粘附SEM结果如图6所示。316 L SS和PPAam表面血小板粘附数量较多、且都表现严重铺展激活形态。由于不锈钢表面带有正电荷而促进血小板的粘附激活[21],PPAam涂层表面存在大量氨基,会诱发血小板的粘附激活,从而导致316 L SS、PPAam表面血小板出现大量黏附激活[22]。相比于316 L SS和PPAam,NO-PPAam表面仅粘附少量呈圆形状的血小板。表明NONOate功能化修饰的PPAam涂层显著性的抑制血小板粘附和激活。

血小板统计结果如图6(b)所示,316 L SS与PPAam表面血小板黏附数量并无较大差异,密度约为 1.5×10^4 个/平方毫米。NO-PPAam表面粘附血小板密度约为 3×10^3 个/平方毫米,相比于PPAam表面的粘附数量降低了5倍,有效的降低了血小板粘附。血小板的激活率如图6(c)所示。GMP-140是一种存在于血小板内膜上的蛋白,血小板活化后细胞膜翻转,暴露出GMP-140的结合位点,通过定量GMP-140可以确定血小板激活程度[23]。实验结果表明,NO-PPAam上GMP-140表达量仅为316 L SS和PPAam表面的22.3%,降低了4倍,具有显著性统计学差异。以上结果表明了NO-PPAam表面具有优异的抗血小板粘附与激活的性能。

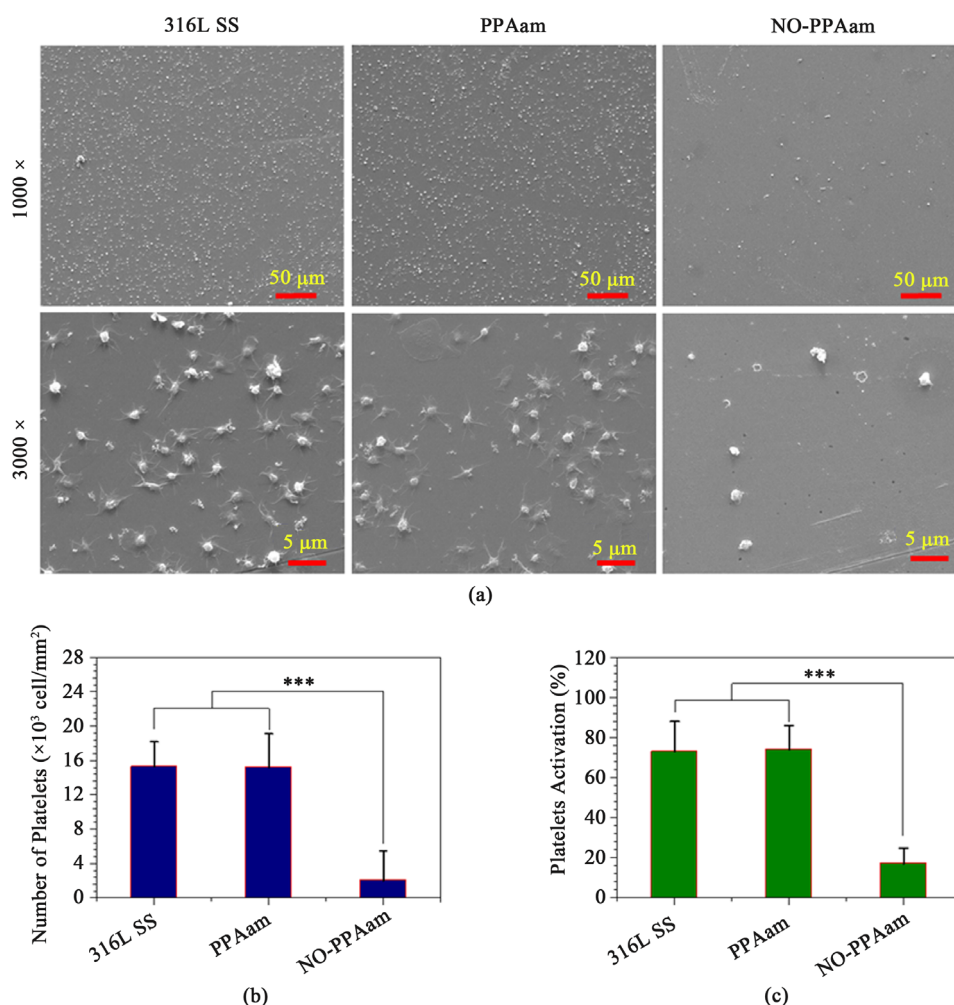


Figure 6. (a) The morphology of platelets on the surfaces of 316 L SS, PPAam and NO-PPAam coating; (b) Number of platelets adhesions on surfaces; (c) Platelets activation rate on surfaces

图 6. (a) 316 L SS、PPAam 和 NO-PPAam 表面血小板的形貌; (b) 316 L SS、PPAam 和 NO-PPAam 表面的血小板粘附数量; (c) 316 L SS、PPAam 和 NO-PPAam 表面的血小板激活率

3.6. 半体内动物血液相容性评价

半体内动物血液循环实验因循环血液具有体外全血实验所不具备的血液稳态调节机制，血液成分最真实的接近了血液接触材料实际的使用情况，因而被采用来进行评价 NONOate 功能化前后 PPAam 涂层的血液相容性。图 7(a)为动物半体内血液循环示意图。样品紧贴于医用导管内壁，如图 7(b)所示。经过 90 min 半体内血液循环实验后，样品表面血栓情况如图 7(c)所示，316 L SS 和 PPAam 表面都明显形成血栓，而 NO-PPAam 涂层表面没有明显的血栓形成。对不同表面血栓重量进行统计分析，图 7(d)中 316 L SS 和 PPAam 表面血栓质量分别为 25.2, 22.3 mg/cm²，而 NO-PPAam 表面血栓量仅为 1.52 mg/cm²，因此相比于 316 L SS 和 PPAam，NO-PPAam 表面血栓下降了 14.5 倍，显著地降低了血栓形成。利用 SEM 表征样品表面凝血情况，如图 7(e)所示，316 L SS 和 PPAam 样品表面出现大量纤维蛋白原网络，将大量红细胞网络于网状结构，形成典型的红血栓，而 NO-PPAam 样品表面仅出现一些蛋白粘附，表面并没有出现严重血小板粘附激活现象，抑制了纤维蛋白原网络结构的形成。动物半体内血液循环实验表明，NONOate 功能化的 PPAam 可以赋予材料表面优异的抗血栓性能，显著性的提升材料表面的血液相容性。

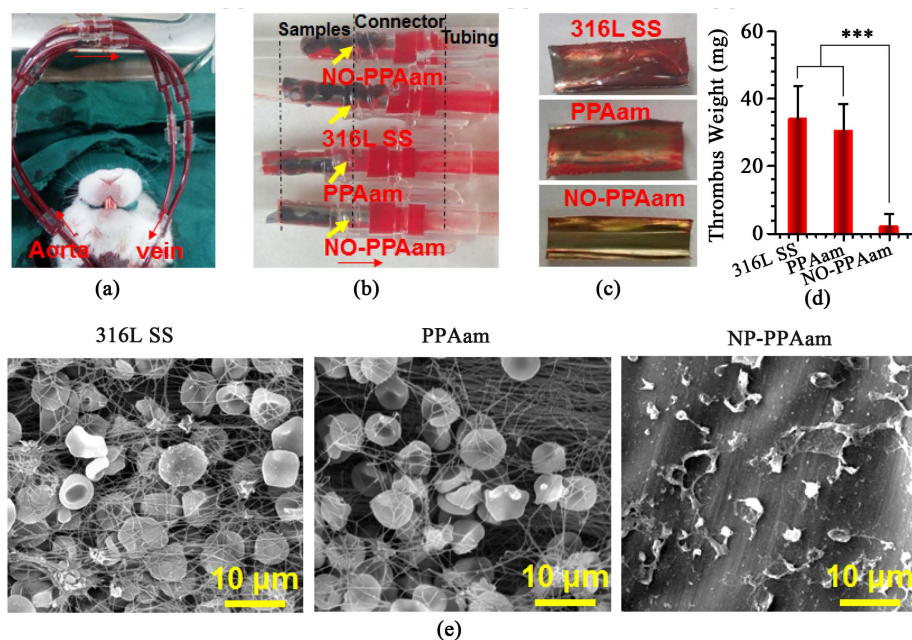


Figure 7. (a) Schematic diagram of semi-external blood circulation in animals, red arrows indicate direction of blood flow driven by the heart; (b) Extracorporeal catheter photos after 90 minutes of blood circulation; (c) The thrombus weight of samples surface; (d) The samples thrombus of surface; (e) Thrombus SEM of samples surface

图 7. (a) 动物半体内血液循环示意图(红色箭头表示血液的方向由心脏驱动); (b) 血液循环 90 分钟后导管照片; (c) 样品表面血栓情况; (d) 血栓质量; (e) 样品表面扫描电镜图

4. 总结

在 316 L SS 成功制备了 NO-PPAam 改性涂层, 利用生理条件释放 NO, 通过抑制血小板粘附与激活的途径, 实现涂层优异的抗血栓性能, 从而显著地改善材料表面的血液相容性。这种 NONOate 功能化修饰的 PPAam 涂层因具有不依赖基底材料、超薄、高 NO 装载量等特点, 在血液接触类材料表面改性上具有广阔的应用前景。

致 谢

这项工作由四川省科技厅应用基础项目(2017JY0297)支持。

参考文献

- [1] Williams, D.F. (2008) On the Mechanisms of Biocompatibility. *Biomaterials*, **29**, 2941-2953. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.023>
- [2] Bergmann, M.W. and Landmesser, U. (2014) Left Atrial Appendage Closure for Stroke Prevention in Non-Valvular Atrial Fibrillation: Rationale, Devices in Clinical Development and Insights into Implantation Techniques. *EuroIntervention*, **10**, 497-504. <https://doi.org/10.4244/EIJV10I4A86>
- [3] Tosenberger, A., Ataulkhanov, F., Bessonov, N., et al. (2012) The Role of Platelets in Blood Coagulation during Thrombus Formation in Flow. *Immunology & Cell Biology*, **85**, 525-531.
- [4] Sánchez, J., Elgue, G., Riesenfeld, J., et al. (2015) Inhibition of the Plasma Contact Activation System of Immobilized Heparin: Relation to Surface Density of Functional Antithrombin Binding Sites. *Journal of Biomedical Materials Research*, **37**, 37-42. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199710\)37:1<37::AID-JBMS>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199710)37:1<37::AID-JBMS>3.0.CO;2-K)
- [5] Achala, D.M., Ferid, M. and Seifalian, A.M. (2011) Nitric Oxide: A Guardian for Vascular Grafts? *Chemical Reviews*, **111**, 5742-5767. <https://doi.org/10.1021/cr200008n>
- [6] Denninger, J.W. and Marletta, M.A. (1999) Guanylate Cyclase and the .NO/cGMP Signaling Pathway. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1411**, 334-350. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(99\)00024-9](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(99)00024-9)

- [7] Zhou, X., Zhang, J., Feng, G., *et al.* (2016) Nitric Oxide-Releasing Biomaterials for Biomedical Applications. *Current Medicinal Chemistry*, **23**, 2579-2601. <https://doi.org/10.2174/0929867323666160729104647>
- [8] Han, H., Ke, W., Fan, Y., *et al.* (2017) Enhancement of Nitric Oxide Release and Hemocompatibility by Surface Chirality of D-Tartaric Acid Grafting. *Applied Surface Science*, **425**, 847-854. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.07.037>
- [9] Brisbois, E.J., Handa, H., Major, T.C., *et al.* (2013) Long-Term Nitric Oxide Release and Elevated Temperature Stability with S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP)-doped Elast-eon E2As Polymer. *Biomaterials*, **34**, 6957-6966. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.05.063>
- [10] Yang, Z., Yang, Y., Xiong, K., *et al.* (2015) Nitric Oxide Producing Coating Mimicking Endothelium Function for Multifunctional Vascular Stents. *Biomaterials*, **63**, 80-92. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.06.016>
- [11] Reynolds, M.M., Frost, M.C. and Meyerhoff, M.E. (2004) Nitric Oxide-Releasing Hydrophobic Polymers: Preparation, Characterization, and Potential Biomedical Applications. *Free Radical Biology & Medicine*, **37**, 926-936. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.06.019>
- [12] Pant, J., Goudie, M.J., Hopkins, S.P., *et al.* (2017) Tunable Nitric Oxide Release from S-Nitroso-N-acetylpenicillamine via Catalytic Copper Nanoparticles for Biomedical Applications. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **9**, 15254-15264. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b01408>
- [13] Wu, S., Su, F., Dong, X., *et al.* (2017) Development of Glucose Biosensors Based on Plasma Polymerization-Assisted Nanocomposites of Polyaniline, Tin Oxide, and Three-Dimensional Reduced Graphene Oxide. *Applied Surface Science*, **401**, 262-270. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.01.024>
- [14] Friedrich, J. (2011) Mechanisms of Plasma Polymerization—Reviewed from a Chemical Point of View. *Plasma Processes & Polymers*, **8**, 783-802. <https://doi.org/10.1002/ppap.201100038>
- [15] Yang, Z., Tu, Q., Maitz, M.F., *et al.* (2012) Direct Thrombin Inhibitor-Bivalirudin Functionalized Plasma Polymerized Allylamine Coating for Improved Biocompatibility of Vascular Devices. *Biomaterials*, **33**, 7959-7971. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.07.050>
- [16] Ritchie, J.L., Alexander, H.D., Allen, P., *et al.* (2015) Effect of Nitric Oxide Modulation on Systemic Haemodynamics and Platelet Activation Determined by P-Selectin Expression. *British Journal of Haematology*, **116**, 892-898. <https://doi.org/10.1046/j.0007-1048.2002.03352.x>
- [17] Hong, S., Kim, J., Na, Y.S., *et al.* (2013) Poly(norepinephrine): Ultrasoother Material-Independent Surface Chemistry and Nanodepot for Nitric Oxide. *Angewandte Chemie International Edition in English*, **52**, 9187-9191. <https://doi.org/10.1002/anie.201301646>
- [18] Sato, M. and Ohashi, T. (2005) Biorheological Views of Endothelial Cell Responses to Mechanical Stimuli. *Biorheology*, **42**, 421.
- [19] Borah, R., Kumar, A., Das, M.K., *et al.* (2015) Surface Functionalization-Induced Enhancement in Surface Properties and Biocompatibility of Polyaniline Nanofibers. *RSC Advances*, **5**, 48971-48982. <https://doi.org/10.1039/C5RA01809A>
- [20] Liu, T., Liu, Y., Chen, Y., *et al.* (2014) Immobilization of Heparin/Poly-L-Lysine Nanoparticles on Dopamine-Coated Surface to Create a Heparin Density Gradient for Selective Direction of Platelet and Vascular Cells Behavior. *Acta Biomaterialia*, **10**, 1940-1954. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.12.013>
- [21] Kim, J., Kim, D.H., Lim, K.T., *et al.* (2012) Charged Nanomaterials as Efficient Platforms for Modulating Cell Adhesion and Shape. *Tissue Engineering Part C: Methods*, **18**, 913-923. <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2011.0731>
- [22] Hamerli, P., Weigel, T., Groth, T., *et al.* (2003) Surface Properties of and Cell Adhesion onto Allylamine-Plasma-Coated Polyethyleneterephthalat Membranes. *Biomaterials*, **24**, 3989-3999. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00312-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00312-0)
- [23] Liu, L., Freedman, J., Hornstein, A., *et al.* (2015) Plasmin Accelerates Platelet-Dependent Prothrombinase Formation without Activating the Platelets. *British Journal of Haematology*, **92**, 458-465. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.1996.d01-1467.x>

知网检索的两种方式：

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2160-7613，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：ms@hanspub.org