临床研究 文章编号:0253-3626(2010)02-0262-03

溶栓抗凝联合治疗大鼠急性血栓后对局部管壁的影响

杨 冰[1],赵庆华[2],赵 渝[3]

(重庆医科大学附属第一医院 1. 护理学院;2. 护理部;3. 血管外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究尿激酶、肝素及其联合治疗急性大鼠下腔静脉血栓(Deep venous thrombosis,DVT)形成后不同时相静脉血栓与血管粘附特性的变化。方法:SD 大鼠 140 只,105 只建立大鼠急性下腔静脉血栓模型后随机分为肝素治疗 A 组、尿激酶治疗 B 组、联合治疗 C 组各 35 只;另 35 只为假手术组(sham,SH)。各组给药后分别于血栓形成后第 1、4、7、14、28 d 获取目标血管,光镜观察血栓的结构演变与机化、内膜增生程度,检测静脉壁平滑肌胶原沉积量,以及力学测量管壁血栓附着力。结果:A 组内膜增生最严重。栓后 1、4 d,B、C 组血栓附着力分别较 A 组低($P<0.01$)。结论:尿激酶加肝素治疗大鼠急性下腔静脉血栓形成能有效地保护内皮层完整,减轻血管内膜增生,但在溶栓抗凝联合治疗急性血栓后残余附壁血栓粘附力相对较低,不建议早期运动加压。

【关键词】静脉血栓形成;抗凝溶栓;内膜增生;粘附

【中国图书分类法分类号】R654.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-12-17

Changes of local inferior caval vein wall after acute thrombosis with therapeutic alliance in rats

YANG Bing, et al

(*Department of Nursing, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the changes of thrombotic adhersion property and inferior caval vein wall after acute thrombosis with therapeutic alliance in rats. *Methods*: The inferior caval venous thrombosis model were treated with heparin(group A, n=35), urokinase (group B, n=35), and th e combination of heparin and urokinase(group C, n =35), respectively .(group SH, n =35).The thrombosed caval veins were taken 1,4,7,14, and 28 days after thrombosis. The changes of thrombotic tructure and intima hyperplasia.were observed by light microscope The power of adhesion of thrombosis was measured on different phases. *Results*: The endothelium damage in group A was serious than that in group B and C on day 7 ($P<0.05$), and the endothelium damage in group C was less than that in the group B and C on day 28($P<0.05$). Adhesion to caval vein wall in group B and C was lower than group A since day 4 after thrombosis(all $P<0.01$). *Conclusion*: Combination of heparin and urokinase for the treatment of acute inferior caval venous thrombosis effectively maintains the integrity of endotheliunm of vein wall and decreases the fibro- cellular proliferation of the thrombosed vein. Adhesion to caval vein wall in group C is relatively lower in the earlier period after thrombosis.

【Key words】Venous thrombosis; Anticoagulation thrombolysis; Intimal hyperplasia; Adhesion

抗凝、溶栓(Thrombolysis,TL)是治疗深静脉血栓形成(Deep venous thrombosis,DVT)的重要方法之一。其再通静脉多表现为内膜增生、附壁血栓纤维化等征象,并产生明显的血流动力学改变。本实验通过对 DVT 大鼠静脉壁病理形态学改变及血栓附着力测量来综合比较分别应用肝素、尿激酶及联合治疗后,病变血管段静脉血栓与血管粘附特性变化,探讨溶栓抗凝对静脉血栓形成治疗的病理学基础。

作者介绍:杨 冰(1984-),女,硕士,
研究方向:深静脉血栓。

通讯作者:赵庆华,女,教授,E-mail:qh20063@163.com。

1 材料和方法

1.1 动物分组

140 只 SD 大鼠(雌雄不分,体重 170 ~ 200 g,重庆医科大学动物实验中心提供),随机分为肝素 A 组、尿激酶 B 组、肝素加尿激酶 C 组各 35 只,35 只假手术组(sham,SH)作为对照。其中 A、B、C 组再分为术后 1、4、7、14、28 d 5 个时相,每个时相段 7 只大鼠。

1.2 急性下腔静脉血栓形成模型的制作

2%苯巴比妥钠 40 mg/kg 腹腔麻醉,游离左肾静脉与下腔静脉汇合处和髂总静脉分叉处之间的下腔静脉段并结扎

各属支。分别在左肾静脉汇合下腔静脉处下方、髂总静脉分叉处上方用显微血管夹暂时阻断下腔静脉 2 h，经 25 G 细针穿刺无血液流出。取下血管夹关腹。10 h 后血管超声证实该段静脉内血栓形成。SH 组按上述方法游离目标血管段但不予阻断。

1.3 给药

成功建模后，A、B、C 组分别给予尾静脉注入肝素钠 180 U/kg，尿激酶 20 000 U/kg 以及肝素 180 U/kg 加尿激酶 20 000 U/kg。SH 组给予相同容量的生理盐水，尿激酶每天 1 次，共 7 d；肝素每天 1 次，共 14 d。

1.4 观察指标

分别于术后的第 1、4、7、14、28 d，切除血栓形成的腔静脉段约 2 cm。其近端截取 1 cm 长血管套于自制血管衡速加压器上，37℃生理盐水冲注，后接张力换能器感受压力，BL-410 生物机能实验系统（成都泰盟科技有限公司）测量附壁血栓刚好从管壁脱落的阈值；远端纵行剪开管壁，去除血栓，固定于 10%甲醛溶液。HE 染色观察：血栓的结构演变与机化程度（10 × 40 倍），内膜增生（Intimal hyperplasia，IH）；Masson 三色染色观察胶原纤维沉积情况，通过 IMS 计算机彩色图像分析系统采集数据，以 $\bar{x} \pm s$ 标准差作为样本数据。

1.5 统计学处理

胶原纤维染色面积百分比、血栓附着力采用多个样本均数间的两两比较的方差分析。

2 结 果

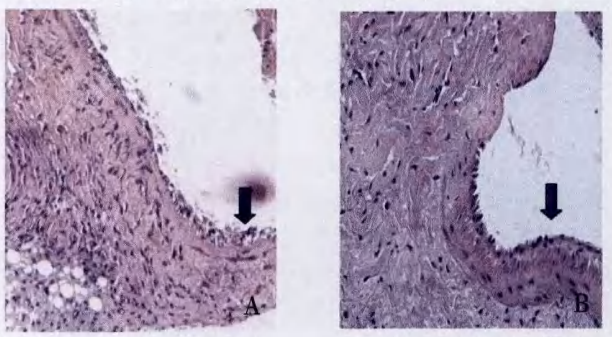
2.1 光镜下病理检查结果

2.1.1 大鼠下腔静脉 IH 检测结果 7 d 时 A、B 组 IH 较重，C 组 7 条腔静脉未见明显 IH；14 d 时 A 组 IH 严重，B 组较重，C 组较轻；28 d 时与 A、B 相比，C 组较轻，其中 A 组第 28 d 仍保持较高水平。SH 组未见明显 IH。见图 1A、1B。

2.1.2 股静脉壁胶原沉积检测结果 与 C 组相比，A、B 组分别于第 7、10 d 已有明显胶原纤维沉积，其中 A 组第 28 d 仍保持较高水平；C 组纤维沉积较轻（表 1）。SH 组未见明显胶原沉积。

2.2 各组在治疗后 5 个时相血栓附着力检测结果

除用药后血栓崩解消失及完全机化无法进行血栓附着力检测情况外，B、C 两组分别于栓后 1、4 d 较 A 组血栓附着力低，7 d 时，B 组粘附力度较 A 组低（表 2）。



A. A 组 7 d 时重度内膜增生　　B. C 组 7 d 时轻度内膜增生

图 1 股静脉膜增生情况（HE 染色 光镜 × 100）

3 讨 论

3.1 抗凝溶栓联合治疗对静脉壁的影响

急性静脉血栓时，血栓中纤维蛋白和纤维蛋白原结合了大量被激活的凝血酶，这种凝血酶不易被肝素所灭活，而在血栓局部发挥持久的生物活性作用，刺激其特异性结合受体在静脉内皮细胞上表达[12]。本实验光镜观察发现 A 组静脉壁 IH 及胶原纤维沉积比 B、C 组严重，也说明在只予抗凝治疗无法阻止静脉内皮及平滑肌细胞遭到进一步的损伤。

尿激酶联合肝素治疗急性腔静脉血栓对管壁影响 急性血栓所引起的血管壁急性炎性反应迅速而强烈。在我们的实验中，大剂量尿激酶迅速溶解血栓防止其局部发挥持久作

表 1 各组在治疗后 5 个时相胶原纤维染色面积比较（%，$\bar{x} \pm s$）

组别	静脉数(条)	胶原蛋白表达面积				
		1 d	4 d	7 d	14 d	28 d
A	7	16.5 ± 5.2^{a}	22.4 ± 5.5^{acd}	28.8 ± 6.2^{acd}	37.8 ± 7.6^{acd}	48.9 ± 8.8^{acd}
B	7	16.1 ± 4.4^{a}	18.9 ± 5.4^{a}	21.1 ± 5.6^{a}	27.5 ± 6.4^{ab}	37.4 ± 5.4^{ab}
C	7	16.2 ± 3.2^{a}	18.5 ± 4.6^{a}	20.7 ± 4.2^{a}	21.9 ± 5.8^{ac}	28.8 ± 6.2^{ac}
SH	7	7.3 ± 2.1	8.1 ± 3.0	10.6 ± 5.2	11.8 ± 4.8	15.2 ± 6.6

注 a：$P < 0.01$，与 SH 组比较；b：$P < 0.01$，与 A 组比较；c：$P < 0.01$，与 B 组比较；d：$P < 0.01$，与 C 组比较

表 2 各组在治疗后 5 个时相血栓附着力（mmHg，$\bar{x} \pm s$）

组别	静脉数(条)	血栓从血管壁脱落最小阈值				
		1 d	4 d	7 d	14 d	28 d
A	7	9.23 ± 2.7^{bc}	13.56 ± 4.9^{bc}	33.32 ± 6.8^{b}	133.2 ± 8.1	–
B	7	5.22 ± 2.4^{ac}	8.40 ± 5.9^{ac}	4.66 ± 5.3^{a}	–	–
C	7	5.09 ± 1.8^{ab}	1.94 ± 2.0^{ac}	–	–	–
SH	7	–	–	–	–	–

注：a：$P < 0.01$，与 A 组比较；b：$P < 0.01$，与 B 组比较；c：$P < 0.01$，与 C 组比较；“–”表示未进行力学测量

用,可以减轻内膜损伤和血栓机化这种内膜增生的途径。在促进血栓消融以及控制血管重塑程度上明显优于肝素组。这种差异不仅因尿激酶的溶栓作用,而且是因为它能减轻血栓引起的血管壁急性炎症反应[3,4]。尿激酶联合肝素治疗急性腔静脉血栓形成一方面溶解现有血栓,减轻血管壁急性炎症反应;同时通过肝素的抗凝作用,控制血栓向周边蔓延的可能,因此对管壁破坏较小。在本文实验中,联合治疗大鼠下腔静脉血栓形成后 28 d,C 组纤维沉积较轻,而 A、B 组第 28 d 仍保持较高水平;可能与后期血栓复发、机化以及附壁残余血栓导致的血管壁慢性炎性改变有关。

3.2 抗凝溶栓治疗后对残余血栓的影响

血栓性状(如血栓大小、形态以及机化程度)、局部管壁结构(如内皮结构功能状态以及管壁胶原沉积含量等)以及局部循环血管活性因子的功能状态是血栓是否脱落的重要相关因素[5]。当静脉血栓形成时,会出现静脉内皮损伤,内皮细胞脱落,内皮下层裸露,血栓与静脉壁粘连。一般认为,当静脉内形成的血栓较大,不能被完全吸收时,血栓部位的壁可生长出肉芽组织,进入血栓内,将血栓逐渐机化、替代,最终使血栓转变成机体的结缔组织[6]。目前普遍认为,血栓形成 1 ~ 2 d 后即开始机化, 3 ~ 4 d 就可较牢固的黏附于血管壁上,较大的血栓,一般需要 2 周以后方可完全机化,机化的血栓与血管壁紧密融合,此时不再有脱落的危险[7]。血栓机化的早期阶段,机化发展变化快,动物个体间存在着相似的机化规律,个体差异较小,适合进行药物的药理实验观察。栓后 7 ~ 15 d,机化发展缓慢,变化小,机化处于相对稳定状态[8,9]。那么,血栓通过自身机化与管壁紧密相连,血栓机化程度直接反映了附壁血栓的稳定性。因此本实验通过流体力学压力检测来量化不同时相血栓与管壁粘附程度。

相关研究显示[10],血栓及早再通和消融,有利于保持管壁和静脉瓣膜结构功能的完好,避免发生血栓形成后综合征(Post-thrombotic syndrome,PTS)。这样的结果提示:在 DVT 中及时溶栓治疗的重要性。虽然溶栓和抗凝治疗的短期结果相差不多,但比较抗凝和溶栓疗法的回顾性、随机研究结果表明,溶栓疗法能长期改善静脉功能[6]。然而,临床治疗过程中考虑到溶栓可能会增加血栓的不稳定性, 增加 PE 发生的风险,对溶栓疗法的使用相对谨慎。目前国内对于 DVT 病人进行护理,常规指导病人绝对卧床 10 ~ 14 d,患肢高出心脏平面 20 ~ 30 cm[11]。但据目前国外一系列相关临床研究报道[12~15],在使用低分子肝素治疗的基础上,早期活动及使用辅助加压装置较卧床制动更有利于急性 DVT 患者保护局部血管内皮或修复静脉功能,减轻 PTS 相关症状,而并不会增加 PE 发生的风险(一般卧床时间不超过 5 d)。

显然,DVT 患者制动的时间和辅助装置的适时使用也跟患者的预后密切相关。因此,在病情允许,确保不发生肺栓塞的情况下能够尽早让患者下床活动和使用弹力袜或间歇压力气泵,可以促进下肢血液回流,降低静脉压力,改善低氧状态,从而减轻炎症反应,对 PTS 的发生发展起到一定的预防和治疗作用。同时,最大限度减少病人住院天数、降低医疗费用。本实验中,除用药后血栓崩解消失及完全机化无法进行血栓粘附特性检测情况外,C 组栓后 1、4 d 时较 A、B 两组血栓附着力低。说明在抗凝溶栓联合干预下,急性血栓形成早期残余附壁血栓附着力较低,4 d 内不宜运动和加压。4 d 后,血栓基本消融,管腔壁完整,层次清晰,因此可以较为安全的进行辅助加压,促进血液回流,内皮修复。而仅肝素干预对血栓发展的自然进程无明显影响。

本实验证实:(1) 尿激酶联合肝素治疗大鼠急性下腔静脉血栓形成具有良好的近、中期效果;(2)具有较好的内皮结构保护作用;(3)急性血栓形成早期血栓附着力较低。

参 考 文 献

[1] Buller H R, Agnelli G, Hull R D, Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease: the seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy[J]. Chest, 2004, 126(3): 401S-428S.

[2] David Ost, Josh Tepper, Hanako M, et al. Duration of anticoagulation following venous thromboembolism[J]. JAMA, 2005, 294(6): 706-715.

[3] Thomas W W, Robert M S, Carol A W, et al. Venous thrombosis associated inflammation and attenuation with neutralizing antibodies to cytokines and adhension molecules[J]. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 1995, 15(2): 258-268.

[4] Patel V P, Bong M, Di Cesare P E, et al. Heparin-Induced Thrombocytopenia and Thrombosis[J]. Am J Orthop, 2007, 36(5): 255-260.

[5] Meissner M H, Wakefield T W, Ascher E, et al. Acute venous disease: venous thrombosis and venous trauma[J]. J Vasc Surg, 2007, 46(6): 25s-53s.

[6] Janjigian M P, Muhs B E. Current treatment of acute lower extremity deep venous thrombosis[J]. Int J Low Extrem Wounds, 2008, 7(1): 15-20.

[7] Tran H, McRae S, Ginsberg J. Anticoagulant treatment of deep vein thrombosis and pulmonary embolism[J]. Cardiol Clin, 2008, 26(2): 235-250.

[8] Wang J Z, Ji X M, Ling F, et al. A new model of reversible superior sagittal sinus thrombosis in rats [J]. Brain Research, 2007, 1181(21): 118-124.

[9] Modarai B, Humphries J, Gossage J A, et al. Adenovirus-mediated VEGF gene therapy enhances venous thrombus recanalization and resolution[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008, 28(10): 1753-1759.

[10] O'Shaughnessy A M, Fitzgerald D E. The patterns and distribution of residual abnormalities between the individual proximal venous segments after acute deep vein thrombosis[J]. J Vasc Surg, 2001, 33(2): 379 -384.

[11] 卢爱金,张美娴,潘素招. 43 例产后并发下肢深静脉血栓患者的护理[J]. 中华护理杂志, 2007, 42(7): 645-646.

[12] Partsch H, Kaulich M, Mayer W. Immediate mobilisation in acute vein thrombosis reduces post-thrombotic syndrome[J]. Int Angiol, 2004, 23(3): 206-212.

[13] Blattler W, Partsch H. Leg compression and ambulation is better than bed rest for the treatment of acute deep venous thrombosis[J]. Int Angiol, 2003, 22(4): 393-400.

[14] Junger M, Diehm C, Storiko H, et al. Mobilization versus immobilization in the treatment of acute proximal deep venous thrombosis: a prospective, randomized, open, multicentre trial[J]. Curr Med Res Opin, 2006, 22(3): 593-602.

[15] Blumenstein M S. Early ambulation after acute deep vein thrombosis: is it safe [J]? J Pediatr Oncol Nurs, 2007, 24(6): 309-313.

(责任编辑:关蕴良)