

• 实验研究 Experiment research •

重组葡激酶动静脉途径溶栓治疗犬急性脑梗死对照研究

王成虎, 施海彬, 刘 圣, 周春高, 李麟荪

【摘要】 目的 研究重组葡激酶(r-Sak)经不同途径溶栓治疗犬急性脑栓塞的疗效、并发症及对凝血系统的影响。**方法** 成年比格犬 24 条,随机分为对照组、r-Sak 动脉组、r-Sak 静脉组。用介入技术建立犬急性脑栓塞模型,栓塞后 5 h(静脉 3 h)行脑血管造影观察被栓塞的左颈内动脉通畅情况,继而经成功栓塞的左颈内动脉或股静脉于 30 min 内注入 r-Sak 行溶栓治疗(r-Sak 组:r-Sak 10 000 u/kg;对照组:生理盐水 10 ml)。治疗后 30、60 和 120 min 分别测定凝血指标并再行脑血管造影观察栓塞血管的再通情况,24 h 内对犬作行为学观察,24 h 后处死动物行病理检查。**结果** 溶栓后 2 h 对照组、r-Sak 动脉组和 r-Sak 静脉组的血管再通率分别为 0.0%、93.3%和 37.5%,两治疗组与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);3 组完全再通的比率分别为 0%、60%和 6.7%;血管再通率和完全再通率于动脉组明显高出静脉组($P < 0.05$)。r-Sak 两组对凝血纤溶系统影响的比较无明显差异。24 h 内无严重并发症。**结论** 重组葡激酶具有较强的血栓溶解作用,动脉途径给药比静脉法更能有效溶解脑内血栓。

【关键词】 重组葡激酶;溶栓,动脉或静脉途径;犬;脑栓塞,急性

中图分类号:R743.33 文献标识码:B 文章编号:1008-794X(2007)-06-0397-04

A comparative study on administration routes of recombinant staphylokinase in canine model with acute cerebral infarction WANG Chen-hu, SHI Hai-bin, LIU Sheng, ZHOU Chun-gao, LI Lin-sun. Department of Radiology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

【Abstract】 Objective To evaluate the efficacy and complications in the treatment of dogs with acute cerebral infarction using recombinant staphylokinase(r-Sak) via different administration routes. **Methods** The model of left internal cerebral embolism was established with interventional technique in 24 beagle adult dogs which were randomly divided into control group, intraarterial group and intravenous group. Postembolization 5 hours(or 3 hrs in intravenous group), a cerebral angiography was performed, a dosage of 10 000 u/kg r-sak was infused through left internal carotid artery or left femoral vein within 30 mins, and only 10 ml of saline was infused in control group. Angiography was repeated to observe the effects on recanalization and blood samples were collected to determine activated partial thromboplastin time, etc. at 30, 60 and 120 mins respectively after thrombolysis. The behavior of these canines was observed and all of the dogs were sacrificed after 24 hours for pathologic study. **Results** 2 hours after thrombolysis, recanalization rates of embolized cerebral vessels were 0%, 93.3% and 37.5% in control group, intraarterial group and intravenous group respectively, and the complete recanalization rates were 0%, 60% and 6.7%, respectively. There were significant differences between the two r-Sak groups and the control group ($P < 0.05$), and the complete recanalization rate of intraarterial group was obviously higher than that of intravenous group ($P < 0.05$). Influence on blood coagulation and fibrinolysis in two r-Sak groups showed no significant difference, and no serious complication occurred in 24 hours. **Conclusion** Thrombolysis using r-Sak is an effective treatment for canine models with acute cerebral infarction, and the thrombolysis effect of intraarterial method is much more than that of intravenous method.(J Intervent Radiol, 2007, 16: 397-400)

【Key words】 Recombinant staphylokinase;Thrombolytic therapy,intraarterial or intravenous;Dogs;

基金项目:江苏省医学重点人才项目(135-55)

作者单位:210029 南京医科大学第一附属医院介入放射科

通讯作者:

Cerebral infarction, acute

急性脑梗死早期溶栓治疗可溶解动脉内血栓,恢复脑组织血供,是急性缺血性脑卒中行之有效的治疗方法^[1-3]。但对于溶栓治疗途径、溶栓剂的选择、溶栓治疗的时间窗等尚存在争论,本研究以重组葡激酶(r-Sak)分别经动静脉途径溶栓治疗犬急性脑梗死,比较其疗效、并发症及对血液系统的影响,为临床急性脑梗死的溶栓治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 选择成年比格犬 24 条(南京安立默实验动物繁殖中心),体重 12 ~ 15 kg,雌雄不论,随机分为对照组、动脉组及静脉组,每组 8 条。

1.1.2 实验用药及仪器 注射用 r-Sak(成都金鹏生物制品公司),5 mg/瓶,比活性为 50 000 u/mg;凝血酶(珠海经济特区生物化学制药厂),200 u/瓶;DSA(德国西门子公司),型号:FA;恒速微量注射泵(浙江大学仪器厂),型号:WZS-50F。

1.2 方法

1.2.1 血栓制备 抽取比格犬自体静脉血 5 ml,常温下以 4 000 g 离心 10 min 后,取上层血浆 1 ml,加入凝血酶 100 u 混匀并注入尖端缩细的玻璃试管中(缩细部分内径 1.0 mm,长约 5 cm)。凝固后取出置生理盐水中反复漂洗,剪成长 5 ~ 8 mm 的血栓条备用。

1.2.2 建立犬脑栓塞模型^[4] 静脉注射 3%戊巴比妥钠(2 ~ 3 mg/kg)全麻后,固定于自制操作台。双侧腹股沟区备皮后消毒铺巾,左侧股静脉置入 4 F 鞘以备抽血或输液注药用;经右股动脉插入 4 F 猎人头导管并置于左颈内动脉(LICA)近端,行正侧位造影后,用 1 ml 注射器吸入数条血栓条注入左颈内动脉,证实左大脑中动脉被栓塞后撤出导管。

1.2.3 溶栓治疗 于栓塞后 5 h(静脉组 3 h)再次行 LICA 造影证实栓塞血管无再通后即行溶栓治疗。溶栓剂量:r-Sak 组用 r-Sak 10 000 u/kg,对照组用生理盐水 10 ml。动脉溶栓法:将 4 F 猎人头导管置于 LICA,再以 3 F 微导管选择插至 LICA 上升段 3 ~ 4 cm,手推对比剂确定无返流则撤出 4 F 猎人头导管;经静脉溶栓通过预先置入的左侧股静脉 4 F 鞘。r-Sak 以生理盐水配制成 10 ml 溶液,以恒速

微量注射泵匀速注入。

1.2.4 凝血指标检查 分别于溶栓前及溶栓后 30、60 和 120 min 检查部分凝血活酶时间(APTT)、凝血酶原时间(PT)及 D-二聚体(DD)。

1.2.5 脑血管造影检查 分别于溶栓后 30、60 和 120 min 用 4F 猎人头导管行 LICA 造影复查。血管再通标准^[5-7]:①完全再通:颅内血管分支显示清楚;②部分再通:主干和或部分二、三级分支中断或和狭窄;③不通:阻断以下二、三级分支不显影。其中 1、2 为再通。

1.2.6 病理学检查 栓塞后 24 h 内观察动物行为学变化,其后以颈动脉放血法处死动物,从延髓处完整地离断脑组织,并置入 4%甲醛溶液中固定,1 周后取脑组织行病理学检查。

1.3 统计学处理

采用 Stata 7.0 统计学软件,再通率和完全再通率的比较采用 χ^2 检验和 Fisher 精确概率法,组间比较采用 Fisher 精确概率法(名义水准 $\alpha' = 0.0167$);APTT、PT、DD 等指标以 $\bar{x} \pm s$ 表示,其比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 动物行为观察

动脉组 1 只和静脉组 2 只出现轻度偏瘫;对照组 4 只出现轻度偏瘫,1 只出现重度偏瘫。

2.2 犬正常脑血管造影表现及血管栓塞情况

犬颈内动脉发自颈外动脉,起始部有一膨大,迂曲上升,然后形成一类似人类虹吸部的袢,末端分出 2 支,前支分出大脑中动脉、大脑前动脉以及供应眼球与头面部血管的分支,后支即为后交通动脉。栓塞后造影显示 LICA 栓塞,或同时可伴有左大脑前动脉和大脑后动脉栓塞,栓塞血管呈截断状;5 h(静脉组 3 h)后造影示栓塞血管未再通。

2.3 溶栓治疗后血管再通情况

溶栓后血管再通情况见表 1。溶栓后 120 min 内动脉组、静脉组和对照组的血管再通率分别为 93.3%(14/15)、37.5%(6/15) 和 0.0%(0/16),r-Sak 两溶栓组与对照组比较有显著性差异($P < 0.05$);完全再通的比率分别为 60%(9/15)、6.7%(1/15)和 0%(0/16);血管再通率和完全再通率动脉组明显高于静脉组($P < 0.05$)。r-Sak 溶栓后血管再通,见图

1~3。静脉组 1 只犬 2 支血管于溶栓后 60 min 发生部分再通,但于 120 min 造影时再次完全闭塞。

2.4 病理所见及并发症

对照组于肉眼下可见 0.5 ~ 2 cm 不规则梗死区,其中央呈灰白色,边界清楚;光镜下显示梗死区脑组织水肿,神经细胞凝固性坏死,部分区域有炎性细胞浸润。静脉组有 2 例见不规则梗死区,且坏死灶较小;光镜下可见梗死区脑组织水肿和神经细胞部分坏死。而动脉组肉眼下未见明确梗死灶;光镜下仅见局限性的不完全梗死区域。

栓塞后 24 h 内动物均存活,未见严重并发症,仅于静脉组 3 只和动脉组 2 只出现穿刺点血肿。

2.5 对犬凝血功能和纤溶系统的影响

两组 r-Sak 治疗后均可使 PT、APTT 明显延长,与对照组比较有统计学意义;两组 r-Sak 溶栓后 DD 值增加,与对照组比较差异无统计学意义;r-Sak 两组之间 PT、APTT 和 DD 值无统计学差异。

表 1 溶栓后栓塞脑血管的再通情况

分组	30 min		60 min		120 min	
	完全/ 部分	有效率	完全/ 部分	有效率 *	完全△ /部分	有效率 *△
r-Sak 动脉组 (15 支)	3/2	α 33.3%	7/4	11(73.3%)	9/5	14(93.3%)
r-Sak 静脉组 (15 支)	1/3	α 25.0%	1/5	α 37.5%	1/5	α 37.5%
对照组 (16 支)	0/0	α 0.0%	0/0	α 0.0%	0/0	α 0.0%

*60 及 120 min 两溶栓组有效率与对照组均有统计学意义 ($P < 0.05$); △120 min r-Sak 动脉组与静脉组比较有统计学意义 ($P < 0.05$)

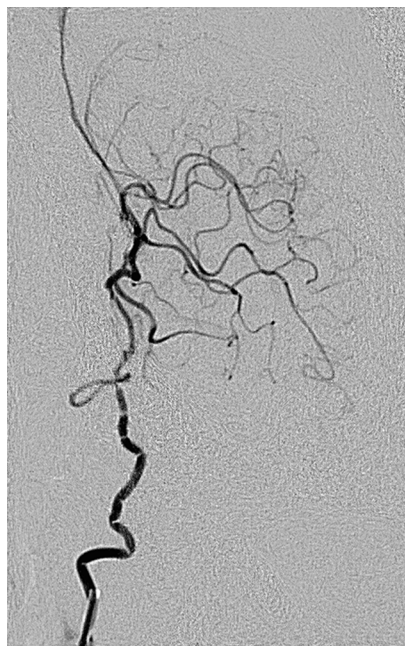


图 1 栓塞前 ICA 造影显示正常脑内血管走行



图 2 动脉溶栓前血管造影显示大脑前动脉闭塞,大脑中动脉近段狭窄

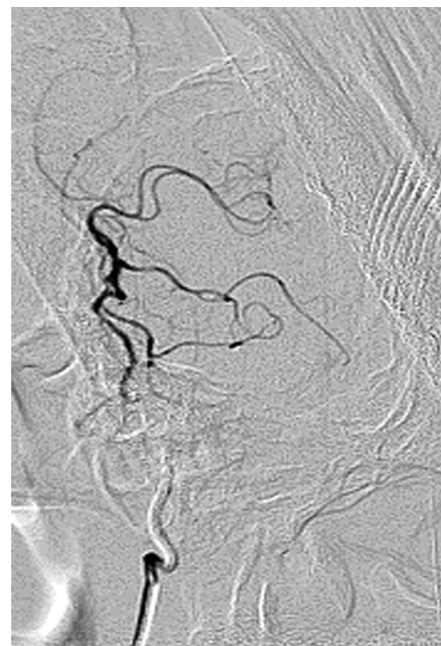


图 3 动脉溶栓后 2 h 血管造影显示大脑前动脉已完全再通,大脑中动脉近段仍有狭窄,但较前明显改善

3 讨论

3.1 溶栓治疗急性缺血性脑梗死的实验研究,首先要有理想的脑梗死动物模型,并要求实验动物的血管解剖和脑梗死症状近似人类,可重复性好。血栓制备也是相当重要的环节,最好是自体血栓,近似人类脑栓塞的白色血栓:由凝血酶、血小板和纤维蛋白原组成^[8]。本研究所用血栓,光镜下见其主要成分是纤维蛋白,并夹杂有部分血小板,与导致人类脑梗死的血栓相仿。

3.2 美国神经疾病和卒中研究所(National Institute for Neurological Disorders and Stroke, NINDS)对静

脉内溶栓治疗急性脑梗死的随机分组研究结果并获得美国 FDA 批准,rt-PA 可用于发病 3 h 内病例的静脉溶栓治疗^[2]。静脉内溶栓治疗具有快捷方便的特点,短时间内给药即可发挥溶栓作用,但静脉内溶栓治疗的全身不良反应大,闭塞血管的再通率低。Pessin 等^[9]报道静脉内溶栓治疗脑血管再通率仅为 34%,而动脉内溶栓血管再通率高达 70%。Alberts 报道^[10]静脉内溶栓治疗仅能使不足 5%的患者从中受益,还有报道发病 3 h 内受益者仅有 4%,6 h 内为 16%。动脉溶栓再通率明显高于静脉法。治疗前脑血管造影可以明确脑血管有无栓塞、栓塞的部位和程度,并可评价溶栓后血管再通的程度,判

断预后更加准确。此外动脉内治疗可以延长溶栓治疗的时间窗至 6 h^[11],可以减少经动脉途径注入靶血管的溶栓药物剂量,从而降低出血等并发症。

3.3 溶栓治疗脑梗死的主要并发症是颅内和其他重要脏器出血,除了严格掌握溶栓适应证,溶栓剂的选择也相当重要。Sak 是由金黄色葡萄球菌分泌的一种含 136 个氨基酸残基的胞外蛋白质,是一种新型第二代溶栓药物,在局部发挥溶栓作用,而不激活系统纤溶。Sak 对循环中的纤维蛋白原无降解作用,较 rt-PA 具有更高的血栓选择性,其溶栓效能至少与 rt-PA 相当,对陈旧性血栓和富含血小板的动脉血栓的溶栓作用比其他药物强,在体内的半衰期也比 rt-PA 长,且易于制备,价格低廉,具有良好的应用前景,已用于急性心肌梗死与外周血管阻塞性病变。我们的研究证实 r-Sak 对犬脑梗死模型具有较好的疗效,各实验组同对照组相比均显示了较好的再通率。

3.4 本研究中静脉组 1 只犬 2 支动脉在溶栓后 1 h 已部分再通,但 2 h 造影发现再通血管再次闭塞。Alexandrov 等^[12]报道多达 34% 的病例可发生早期阻塞,其中 14% 的病例临床症状恶化。Marta 等^[13]的研究结果显示 17/142 (12%) 的静脉溶栓病例发生再阻塞,经颅多普勒 (TCD) 证实平均于再通后 (43 ± 41) min 发生。再阻塞于部分再通者比完全再通者更容易发生,渐进 (53%) 和缓慢 (40%) 的血管再通者比快速的再通 (7%) 者更易发生阻塞。再阻塞病例的短中期疗效,与持续堵塞未能再通的病例类似;并指出脑卒中的严重程度和同侧严重的颈动脉疾病,是 rt-PA 经静脉治疗闭塞大脑中动脉再通后再次闭塞的独立预测因素。多数报道静脉组溶栓再通率和完全再通率均低于动脉组。何明利等报道静脉溶栓后残留的血栓量多于动脉组,闭塞血管的部分再通或缓慢渐进的再通模式往往提示可能有残余血栓,从而导致纤维蛋白原沉积并促进再阻塞的形成。脑卒中的严重程度一般与血栓的部位和大小以及是否有相应的侧支循环等有关,血栓较大者对溶栓治疗 (特别是静脉溶栓) 的反应差,可能导致血栓不完全溶解而易致再阻塞。

3.5 溶栓治疗可能导致出血并发症。我们的研究显示两组 r-Sak 溶栓治疗皆可引起 APTT 和 PT 明显延长,与对照组有明显差异,与文献报道不甚一致^[6],分析可能与种属差异有关。DD 虽有增高的趋势,但无统计学意义,未引起纤溶系统的亢进。本组溶栓过程

中无出血等严重并发症发生,说明 r-Sak 1 万 u/kg 的剂量行溶栓治疗是安全的。

[参 考 文 献]

- [1] del Zoppo GJ, Poeck K, Pessin MS, et al. Recombinant tissue plasminogen activator in acute thrombotic and embolic stroke[J]. *Ann Neurol*, 1992, 32: 78 - 86.
- [2] NINDS t-PA Stroke Study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke[J]. *N Engl J Med*, 1995, 333: 1581 - 1587.
- [3] del Zoppo GJ, Higashida RT, Furlan AJ, et al. PROACT: a phase II randomized trial of recombinant pro-urokinase by direct arterial delivery in acute middle cerebral artery stroke [J]. *Stroke*, 1998, 29: 4 - 11.
- [4] 施海彬, 刘 圣, 季立标, 等. 犬急性脑栓塞模型的建立及 CT 灌注成像早期诊断的研究 [J]. *介入放射学杂志*, 2005, 14: 182 - 186.
- [5] 施海彬, 徐大哲, 胡卫星, 等. 动脉内尿激酶介入治疗急性脑梗死的评价[J]. *中华急诊医学杂志*, 2002, 11: 301 - 306.
- [6] 秦志勇, 陈衍城, 马 端, 等. 重组葡激酶不同给药途径治疗幼猪急性脑栓塞的比较研究 [J]. *中国危重急救医学杂志*, 2002, 14: 668 - 670.
- [7] Hai BS, Dae CS, Soo ML, et al. Outcome evaluation of intra-arterial infusion of urokinase for acute ischemic stroke [J]. *J Korean Radiol Society*, 2000, 42: 897 - 904.
- [8] Qureshi AI, Luft AR, Sharma M, et al. Prevention and treatment of thromboembolic and ischemic complications associated with endovascular procedures. Part I. Pathophysiological and pharmacological features[J]. *Neurosurgery*, 2000, 46: 1344 - 1359.
- [9] Pessin M, del Zoppo GJ, Furlan AJ. Thrombolytic treatment in acute stroke: review and update of selective topics. In: *cerebrovascular disease*[M]. 19th Princeton Stroke Conference. Moskowitz MA, Caplan LR (editors). Boston: Butterworth - Heinemann, 1995, 409 - 418.
- [10] Alberts MJ. t-PA in acute ischemic stroke: United States experience and issues for the future[J]. *Neurology*, 1998, 51: 53 - 55.
- [11] Higashida RT, Furlan AJ, Roberts H, et al. Trial design and reporting standards for intra-arterial cerebral thrombolysis for acute ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2003, 34: 109 - 137.
- [12] Alexandrov AV, Grotta JC. Arterial reocclusion in stroke patients treated with intravenous tissue plasminogen activator [J]. *Neurology*, 2002, 59: 862 - 867.
- [13] Marta R, Jose A, Marc R, et al. Predictors of early arterial reocclusion after tissue plasminogen activator-induced recanalization in acute ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2006, 37: 1805 - 1809.

(收稿日期:2007-02-14)