

内弹力膜损伤对新生内膜的影响

袁吉祥, 刘珍妮, 曲凌光

(宁夏回族自治区人民医院心内科, 宁夏银川市 750002)

[关键词] 内弹力膜损伤; 新生内膜; 经皮冠状动脉介入术

[摘要] **目的** 通过球囊扩张并拉伤兔腹主动脉建立血管损伤模型, 分析血管损伤与新生内膜之间的关系, 进一步探讨内弹力膜损伤对经皮冠状动脉介入术后再狭窄产生的影响。**方法** 对 32 只雄性新西兰大耳白兔进行股动脉穿刺, 经导丝送入球囊, 球囊扩张并拉伤腹主动脉建立血管损伤模型。术后 28 天处死模型兔, 分离损伤血管, 进行固定、包埋及染色处理。使用计算机图像分析软件测量新生内膜厚度, 分析确定血管损伤积分。**结果** 血管损伤积分与新生内膜厚度呈正相关。血管损伤积分与新生内膜厚度之间的拟合曲线为呈“S”形的三次曲线。**结论** 内弹力膜损伤加速新生内膜增生。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

The Influence of Internal Elastic Membrane Injury on Newborn Neointima

YUAN Ji-Xiang, LIU Zhen-Ni, and QU Lin-Guang

(Department of Cardiology, the People's Hospital of Ningxia Hui Autonomous Region, Yinchuan, Ningxia 750002, China)

[KEY WORDS] Internal Elastic Membrane Injury; Newborn Neointima; Percutaneous Coronary Intervention

[ABSTRACT] **Aim** To establish the vascular injury model through balloon dilation and strain abdominal aorta in rabbits; To analyze the relationship between vascular injury and neointima; To investigate the effect of internal elastic membrane injury on restenosis after percutaneous coronary intervention. **Methods** The femoral artery puncture was performed in 32 male New Zealand white rabbits, through lead wire feeding balloon. Blood vessel injury model was established by balloon dilatation and strain of abdominal aorta. After 28 days, the rabbits were sacrificed and the injured blood vessels were isolated. The fixation, embedding and staining were performed. Computer image analysis software was used to measure the thickness of the newborn neointima, and to determine the integral of vascular injury. **Results** The integral of vascular injury was positively correlated with the thickness of newborn neointima. The fitting curve between the integral of vascular injury and the thickness of newborn neointima was the S-shaped cubic curve. **Conclusion** Internal elastic membrane injury accelerates intimal hyperplasia.

尽管药物洗脱支架的出现减少了支架内再狭窄 (in-stent restenosis, ISR) 的发生, 但 ISR 发生率仍高达 10%~15%。ISR 是影响冠状动脉介入手术效果的重要因素, 极大地限制了经皮冠状动脉介入术 (percutaneous coronary intervention, PCI) 的获益, 特别是糖尿病或多支冠状动脉病变的冠心病患者^[1]。再狭窄的发生可能和患者因素、病变血管因素、支架因素及技术因素有关, 介入损伤也是原因之一。本实验通过球囊扩张并拉伤兔腹主动脉建立血管损伤模型, 分析内弹力膜损伤与新生内膜之间的关

系, 探讨内弹力膜损伤对 PCI 术后再狭窄产生的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

4~6 个月龄雄性新西兰大耳白兔 32 只, 体重 2~2.5 kg, 由宁夏医科大学实验动物中心提供。

1.2 血管损伤模型的建立

分离兔右侧股动脉, 直视下穿刺并置入 5F 鞘

[收稿日期] 2015-11-13

[修回日期] 2015-12-21

[基金项目] 宁夏自然科学基金项目 (NZ14174)

[作者简介] 袁吉祥, 硕士, 副主任医师, 研究方向为冠心病基础与介入诊疗, E-mail 为 34232762@qq.com。刘珍妮, 本科, 医师, 研究方向为冠心病基础与临床。曲凌光, 硕士, 主治医师, 研究方向为冠心病基础与介入诊疗。

管,经导丝引入后扩张球囊(3.5×12 mm),以 12 atm (1 atm = 101325 Pa) 的压力扩张并拉伤腹主动脉,建立血管损伤模型。

1.3 病理切片的制作

术后 28 天用注射空气法处死实验兔,切开腹部暴露腹主动脉,剥离拉伤的血管段,生理盐水冲洗后固定于 10% 甲醛溶液。24 h 后血管段常规石蜡包埋,间隔相同距离于血管段 25%、50%、75% 分位切片 3 次(切片厚度 4 μm),行 HE 及碱性品红弹力纤维染色。使用计算机图像分析软件测量血管标

本新生内膜厚度(每个血管段的新生内膜厚度取该段血管 3 个切片的平均值),分析确定血管损伤积分。

1.4 血管壁损伤分级的确定

根据内弹力膜损伤的情况,将血管壁损伤分为 5 级^[2]:1 级:没有内弹力膜损伤;2 级:内弹力膜轻度损伤;3 级:内弹力膜明显损伤,未累及中膜;4 级:内弹力膜破损,累及中膜;5 级:内弹力膜破损,累及中膜、外弹力膜及外膜(图 1)。

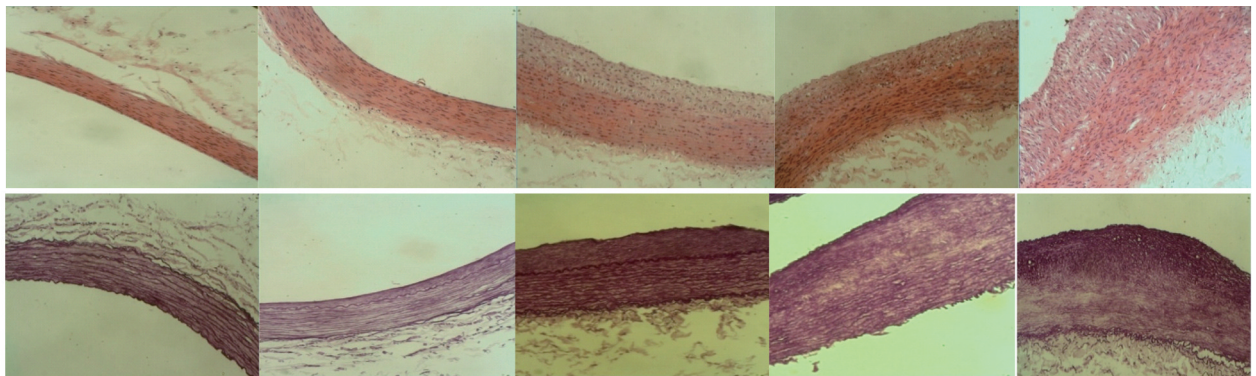


图 1. 血管壁损伤分级(100×) 上图为 HE 染色,下图为碱性品红弹力纤维染色。血管壁损伤级别自左至右依次为 1、2、3、4、5 级。

Figure 1. Classification of vascular wall injury (100×)

1.5 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件,正态分布计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,相关性分析采用 Pearson 分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 兔腹主动脉损伤情况

术后 28 天,32 只兔中 30 只顺利完成实验,共获得 30 条受损血管段及相应切片。受损血管段管腔直径平均为 3.40 ± 0.16 mm,球囊/血管直径比平均为 1.12 ± 0.06 。新生内膜厚度为 0.50 ± 0.28 mm,内弹力膜损伤积分为 2.90 ± 1.14 。

2.2 血管损伤积分与新生内膜厚度的关系

Pearson 相关分析结果显示,新生内膜厚度与内弹力膜损伤积分呈正相关(相关系数为 0.892, $P < 0.05$)。血管损伤积分与新生内膜厚度之间的最优拟合曲线为呈“S”形的三次曲线,曲线中间的部分增幅较大,它对应的横坐标是 3,也就是内弹力膜明显损伤的部分(图 2)。

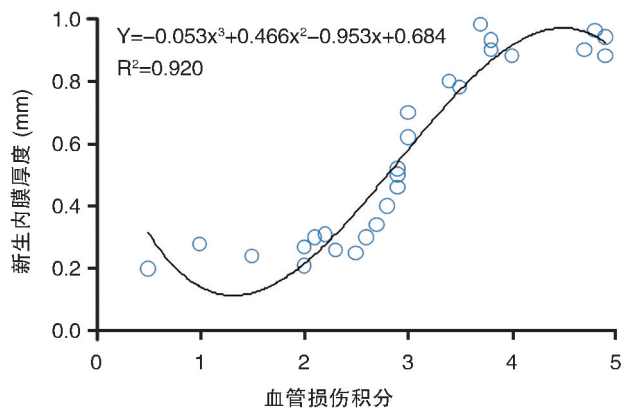


图 2. 血管损伤积分与新生内膜厚度的关系

Figure 2. The relationship between integral of vascular injury and neointimal thickness

3 讨论

PCI 术后再狭窄是影响冠状动脉手术效果的重要因素,支架手术中内膜增生是导致再狭窄的最主要原因,介入过程中血管壁损伤导致中膜平滑肌细胞迁移增生是内膜增生的主要机制^[2]。以往研究发现,PCI 术过程中血管壁的损伤程度与新生内膜

增生的程度呈正相关^[3]。本实验结果与以往的研究结果一致。

实验发现,血管壁各层结构中内弹力膜损伤对新生内膜的影响程度最大。以往的研究都是采用相关分析的方法分析血管损伤程度与内膜增生程度的关系。本实验采用了曲线拟合的方法来体现动脉损伤与新生内膜之间的关系,得到的结论是血管损伤积分与新生内膜之间的最优拟合曲线为呈“S”形的三次曲线,表明血管壁各结构中内弹力膜是导致新生内膜显著增生的关键结构。

目前认为,血管损伤后内膜增生的机制主要是内皮下组织暴露于血液后导致血小板在损伤局部的黏附、聚积以及炎性细胞浸润并释放炎症因子,刺激中膜平滑肌细胞增殖,并通过内弹力膜迁移至内皮下,导致新生内膜增厚^[4]。各种刺激因子需要通过内弹力膜到达中膜,平滑肌细胞也需要穿过内弹力膜才能进入到内皮下,内弹力膜是阻碍上述过程发生的惟一屏障。内弹力膜由密集交叉排列的弹力纤维组成,平滑肌细胞通过内弹力膜孔穿行、迁移至内膜下。内弹力膜孔是弹力膜上特殊分化的结构,一般呈圆形或近似圆形,直径 10~15 μm ,孔周稍隆起,翻向内膜表面^[5]。内弹力膜损伤后,内膜和中膜之间的相互作用更加直接,平滑肌细胞也不需要穿过内弹力膜孔而直接穿行迁移至内膜下,实际上加速了新生内膜的增生。

PCI 术中血管损伤经常是不可避免的,因为随着膨胀的球囊或者支架把动脉粥样硬化斑块向外挤压,内弹力膜张力就会不断增大,当张力超过其代偿范围时内弹力膜就会损伤甚至断裂,导致血管弹性降低,为了维持正常的血管张力,机体会通过新生内膜增生来代偿。通常在血管伴有钙化、支架口径偏大、扩张压力过大等情况下,容易出现内弹力膜的损伤^[6]。

本研究的不足之处:首先,本研究结果是通过观察兔腹主动脉血管壁损伤后的变化而获得的,因此可能与人冠状动脉的实际病理改变存在差别;第二,我们是在非病变血管基础上建立的血管损伤模

型,这与冠状动脉硬化及 PCI 术条件下的病理改变存在一定差距;第三,我们进行的是显微镜下的形态学观察,并未在电镜下观察内弹力膜损伤的细微结构改变。在今后的实验中,我们将进一步研究内弹力膜损伤对核因子 κB 、内皮素 1、组织因子、基质金属蛋白酶 3 的影响。

总之,内弹力膜是反映血管损伤的关键结构,是阻碍新生内膜增生的惟一屏障。内弹力膜损伤可以作为预测 ISR 的一项指标。介入手术导致的内弹力膜损伤虽然不可避免,但是可以在介入手术中权衡利弊,争取获益最大化。

[参考文献]

- [1] 张文广,裴汉军,吴永健,等. 药物洗脱支架治疗糖尿病合并冠状动脉支架内再狭窄远期疗效及安全性观察[J]. 中国循环杂志, 2013, 28(2): 96-99.
- [2] Yin RX, Yang DZ, Wu JZ. Nanoparticle drug- and gene-eluting stents for the prevention and treatment of coronary restenosis[J]. Theranostics, 2014, 4(2): 175-200.
- [3] Vorpahl M, Schönhofer-Merl S, Michaelis C, et al. The Ran GTPase-activating protein (RanGAP1) is critically involved in smooth muscle cell differentiation, proliferation and migration following vascular injury: implications for neointima formation and restenosis[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e101 519
- [4] Zheng GH, Liu JP, Wang NS, et al. Systematic review of Chinese herbal medicines for preventing in-stent coronary restenosis after percutaneous coronary intervention [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012, 2012: 253 409.
- [5] Sandow SL, Gzik DJ, Lee RMKW. Arterial internal elastic lamina holes: Relationship to function? [J]. J Anat, 2009, 214(2): 258-266.
- [6] Lim KS, Bae IH, Kim JH, et al. Mechanical and histopathological comparison between commercialized and newly designed coronary bare metal stents in a porcine coronary restenosis model [J]. Chonnam Med J, 2013, 49(1): 7-13.

(此文编辑 曾学清)