

· 临床研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2020)28-02-0128-06

## 颈动脉斑块内钙化分布特征对斑块稳定性的影响

阚艳敏<sup>1,2</sup>, 何文<sup>1</sup>, 宁彬<sup>1</sup>, 魏世纪<sup>1</sup>, 于腾飞<sup>1</sup>, 李海欣<sup>1</sup>

(1. 首都医科大学附属北京天坛医院超声科, 北京市 100050; 2. 华北理工大学附属医院超声科, 河北省唐山市 063000)

[关键词] 钙化; 斑块稳定性; 钙化旁新生血管; 超声

[摘要] 目的 探讨颈动脉斑块内钙化分布特征对斑块稳定性的影响。方法 选择行颈动脉内膜剥脱术患者49例,且术前通过二维超声及超声造影观察颈动脉斑块回声类型及斑块内造影剂分布情况,记录斑块回声类型、钙化部位、形态、数量及钙化旁有无新生血管,并进行分组,以术后病理结果为金标准,比较各组内不同钙化特征对斑块稳定性的影响。结果 不同部位各钙化组、不同形态各钙化组及钙化旁有无新生血管的斑块稳定性比较,差异无统计学意义( $\chi^2=0.415, P=0.813$ ;  $\chi^2=2.164, P=0.339$ ;  $\chi^2=3.352, P=0.095$ );不同数量各钙化组的斑块稳定性比较,差异有统计学意义( $\chi^2=5.555, P=0.029$ )。结论 钙化数量对颈动脉斑块稳定性有一定影响,多发钙化可导致斑块不稳定。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### The effect of calcification distribution characteristics in carotid artery plaque on plaque stability

KAN Yanmin<sup>1,2</sup>, HE Wen<sup>1</sup>, NING Bin<sup>1</sup>, WEI Shiji<sup>1</sup>, YU Tengfei<sup>1</sup>, LI Haixin<sup>1</sup>

(1. Department of Ultrasound, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China; 2. Department of Ultrasound, Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China)

[KEY WORDS] calcification; plaque stability; neovascularization about calcification peripheral; ultrasound

[ABSTRACT] Aim To investigate the effect of calcification distribution characteristics in carotid artery plaque on plaque stability. Methods A total of 49 patients undergoing carotid endarterectomy were selected. Among all patients, the echo characteristics of carotid artery plaque were observed by two-dimensional ultrasound and contrast-enhanced ultrasound (CEUS) before carotid endarterectomy, and the number, distribution, morphology of calcification and neovascularization about calcification peripheral were recorded. And all patients were divided into groups according to the location of calcification, quantity, morphology, and whether there were neovascularization adjacent to calcification, which were used to observe plaques stability as the gold standard of pathology. Results In this study, there were no significant difference between calcification location, morphology, neovascularization about calcification peripheral and plaque stability ( $\chi^2=0.415, P=0.813$ ;  $\chi^2=2.164, P=0.339$ ;  $\chi^2=3.352, P=0.095$ ). However, there was a significant difference between the calcification number in plaque and plaque stability ( $\chi^2=5.555, P=0.029$ ). Conclusions The number of calcifications has a certain effect on the stability of carotid plaques, and multiple calcification can lead to plaque instability.

颈动脉粥样硬化是缺血性卒中发生发展的主要病理和临床基础<sup>[1-2]</sup>,易损斑块即不稳定性斑块的形成是缺血性脑卒中反复发作的高危因素。目前临床常根据回声类型评估斑块稳定性,把低回声

斑块视为不稳定性斑块,但对临床最常见的混合回声斑块尤其是内部伴有钙化的斑块稳定性评估观点不一。因此,本研究旨在应用常规超声及超声造影检测颈动脉斑块内钙化分布特征,以颈动脉内膜

[收稿日期] 2019-02-27

[修回日期] 2019-07-01

[基金项目] 首都卫生发展科研专项项目(2016-2-2045)经费资助;北京市医院管理局临床技术创新项目(XMLX201608)经费资助

[作者简介] 阚艳敏,博士研究生,副主任医师,研究方向为超声诊断学, E-mail 为 wuxiny\_2009@163.com。通信作者何文,硕士,主任医师,教授,博士研究生导师,研究方向为超声诊断学, E-mail 为 hewen168@sohu.com。

剥脱术后病理结果为金标准,探讨钙化分布特征对斑块稳定性的影响。

## 1 资料和方法

### 1.1 研究对象

选取2017年2月至2017年12月于首都医科大学附属北京天坛医院拟行颈动脉内膜剥脱术并已获得病理结果的49例患者作为研究对象,男40例,女9例,年龄49~79岁。术前通过二维超声及超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)观察颈动脉斑块回声类型及斑块内造影剂分布情况,记录斑块回声类型、钙化部位、形态、数量及钙化旁有无新生血管,并按钙化不同部位、形态、数量及钙化旁有无新生血管进行分组。纳入标准:颈动脉内存有斑块,近期拟行颈动脉内膜剥脱术者;排除标准:颈动脉斑块表面钙化明显,后方回声衰减影响观察者,心、肺、肾功能不全者,心房颤动者,超声造影剂过敏者。

### 1.2 仪器与方法

应用东芝Aplio500彩色多普勒超声诊断仪,采用14-L5高频线阵探头,探头频率5~14MHz。被检查者取仰卧位,头稍向后仰,充分暴露颈部,检查时头偏向对侧。探头置于颈部,沿着胸锁乳突肌前缘或后缘,自颈总动脉起始处开始向上横切连续扫描,到颈内、外动脉颅外段最高点时,转动探头90°,获取血管纵轴切面,观察血管内是否存在粥样硬化斑块及斑块回声特点,斑块显示清晰时,冻结图像,测量斑块长度、厚度,颈动脉分叉处或颈内动脉起始部有多个斑块者,选择最厚的可疑责任斑块用来观察和分析;记录斑块内是否有钙化及钙化的位置、数量、形态。斑块回声标准:以胸锁乳突肌作为对照,判断回声类型,将斑块按照回声强度由低到高,依次分为低回声斑块、等回声斑块、混合回声斑块、强回声斑块四种类型;钙化的位置以斑块自身为标准,将钙化分为斑块近表面钙化、基底部钙化、多区域(即基底部+近表面)钙化;斑块内钙化的形态分为结节状钙化、条状钙化、混合钙化。

超声造影检查:将仪器预设值调至双幅显示的造影模式,机械指数(mechanical index, MI)设为0.10,帧频为25fps,所有设置在每一位患者检查过程中均保持不变。造影剂使用Bracco公司的SonoVue(声诺维),按说明书配置,抽取已配制好的声诺维混悬液1.6mL,经肘前静脉团注后,继以5.0mL生理盐水快速冲注,实时观察并连续存储图像。

在观察过程中,陆续补充造影剂0.8mL保证造影剂微泡的浓度。缓慢扫查斑块长短轴多切面观察斑块内造影剂微泡灌注情况及钙化旁有无微泡流动,存储动态图像。根据斑块增强情况,以斑块短轴切面即斑块厚度方向为标准分为3级:0级,斑块基底部和内部均无增强;I级,仅基底部增强;II级,斑块中心区及近斑块表面出现增强。

### 1.3 组织病理学检查

术后取出的斑块应用4%多聚甲醛溶液固定,脱钙、脱水后石蜡包埋,以4μm层厚进行组织连续切片,本研究对同一组织块做相同部位的苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, HE)染色、免疫组织化学CD31等。HE染色观察斑块内组织成分,免疫组织化学CD31染色阳性为斑块内新生血管,记录斑块内新生血管分布位置、钙化旁有无新生血管及其周围有无出血,观察纤维帽有无破裂及其厚薄、纤维帽炎症浸润情况、脂质核心大小等。常规超声、CEUS与组织病理学检查采用双盲法分析。

### 1.4 统计学分析

采用SPSS17.0统计分析软件。应用Kolmogorov-Smirnov检验对资料进行正态性检验;正态分布计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,非正态分布计量资料以M(P25,P75)表示,两组间比较采用Mann-Whitney U检验,组间率的比较采用 $\chi^2$ 检验及Fisher确切概率法;以病理结果为金标准,应用Kappa分析斑块内钙化超声及钙化旁新生血管与病理指标间的一致性;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

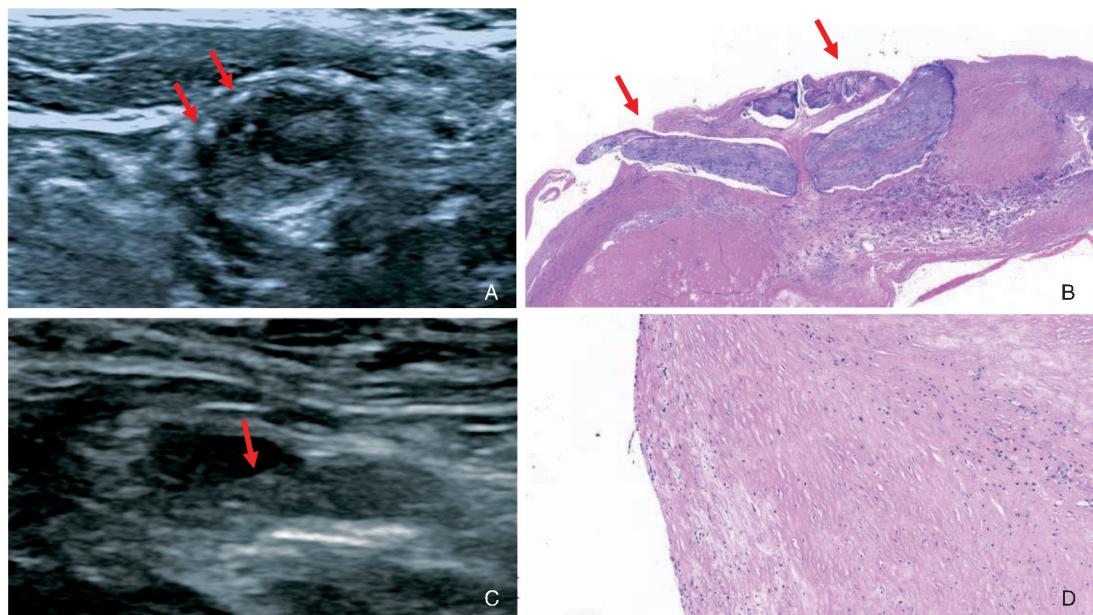
### 2.1 研究对象基线资料情况

49例研究对象中,男性40例(占81.6%),高血压32例(占65.3%),糖尿病14例(占28.6%),高脂血症8例(占16.3%),有吸烟史者28例(占57.1%)(表1)。

### 2.2 常规超声及超声造影检查结果与组织病理学检查结果间一致性比较

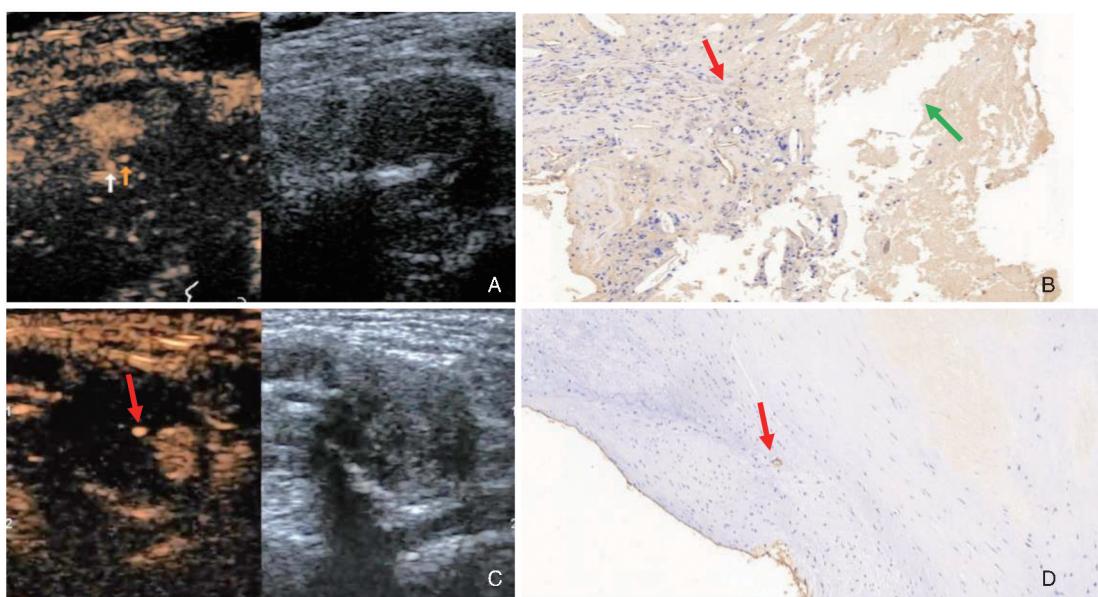
常规超声检查结果显示49例患者中,41例混合回声斑块即斑块内有钙化,8例低回声斑块即斑块内无钙化,两组性别、吸烟史、高血压史、糖尿病史、高脂血症史、总胆固醇比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),但斑块内有钙化组患者年龄、高密度脂蛋白大于无钙化组,体质指数、甘油三酯、低密度脂蛋白值均小于无钙化组( $P<0.05$ ;表2),出现本结果可能是本研究中样本量少所致。病理检查结果





**图 1.** 两种方法对斑块内钙化检查结果比较(左图为常规超声,右图为组织病理学) A 为右侧颈动脉分叉处斑块基底部可见钙化(红色箭头处),B 为与 A 同一患者,HE 染色显示基底部钙化(红色箭头处,100×);C 为左侧颈动脉分叉处斑块,内未见钙化(红色箭头处为斑块),D 为与 C 同一患者,HE 染色显示斑块内未见钙化(100×)。

**Figure 1. Comparison of the results of calcification in plaque by two methods** (conventional ultrasound on the left and histopathology on the right)



**图 2.** 两种方法对斑块内钙化旁新生血管检查结果比较(左图为超声造影,右图为组织病理学) A 为左侧颈内动脉起始部斑块表面可见钙化(白色箭头处为钙化,黄色箭头处为新生血管),B 为与 A 同一患者,CD31 染色显示钙化旁新生血管(绿色箭头处为钙化,红色箭头处为新生血管,100×);C 为右侧颈动脉分叉处无钙化斑块(红色箭头处为造影微泡),D 为与 C 同一患者,CD31 染色显示近斑块表面处新生血管(红色箭头处为新生血管,100×)。

**Figure 2. Comparison of the results of neovascularization by two methods** (contrast-enhanced ultrasound on the left and histopathology on the right)

### 2.3 斑块内不同部位、不同形态、不同数量钙化及钙化旁有无新生血管对斑块稳定性的影响

根据文献<sup>[3]</sup>报道,不稳定斑块具有表面溃

疡、纤维帽变薄<65 μm 或断裂、斑块内出血、破裂纤维帽下血栓形成的坏死核心、斑块新生血管生成、表面结节样钙化,尤其是薄的纤维帽覆盖大的

脂质坏死核心及活跃的炎症反应等病理特征。具备上述病理特征之一者可判断斑块不稳定。在41例超声检查斑块内有钙化的患者中,病理结果显示28例为不稳定性斑块(包括14例斑块纤维帽破裂,13例斑块内出血,2例继发血栓形成,18例有大量炎性细胞浸润,28例有大量新生血管形成),13例为稳定性斑块。

以病理结果为金标准,比较不同部位、不同形态、不同数量斑块内钙化及钙化旁有无新生血管对斑块稳定性的影响,结果发现基底部钙化、近内膜处钙化与混合钙化间斑块稳定性比较,差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.415, P = 0.813$ ;表5);结节状钙化、条状钙化及混合钙化间斑块稳定性比较,差异无统计学意义( $\chi^2 = 2.164, P = 0.339$ ;表6);钙化旁有无新生血管的斑块稳定性比较,差异亦无统计学意义( $\chi^2 = 3.352, P = 0.095$ ;表7);表明不同部位、不同形态斑块内钙化及钙化旁有无新生血管对斑块稳定性无影响。斑块内单发钙化与多发钙化间斑块稳定性比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.555, P = 0.029$ ;表8)。

表5. 斑块内不同部位钙化间斑块稳定性的比较[例(%)]

Table 5. The comparison of plaque stability between calcifications in different parts of plaque (cases (%))

钙化部位	n	不稳定性斑块	稳定性斑块
仅基底部钙化	17	12(70.59)	5(29.41)
仅表面钙化	11	8(72.73)	3(27.27)
混合钙化	13	8(61.54)	5(38.46)

表6. 斑块内钙化不同形态间斑块稳定性的比较[例(%)]

Table 6. The comparison of plaque stability among different forms of calcification in plaques (cases (%))

钙化形态	n	不稳定性斑块	稳定性斑块
结节状钙化	21	16(76.19)	5(23.81)
条状钙化	10	5(50.00)	5(50.00)
混合钙化	10	7(70.00)	3(30.00)

表7. 斑块内钙化旁有无新生血管间斑块稳定性的比较[例(%)]

Table 7. Comparison of stability of plaques with or without neovascular of paracalcification in plaques (cases (%))

分组	n	不稳定性斑块	稳定性斑块
钙化旁有新生血管	18	15(83.33)	3(16.67)
钙化旁无新生血管	23	13(56.52)	10(43.48)

表8. 斑块内钙化不同数量组间斑块稳定性的比较[例(%)]

Table 8. The comparison of plaque stability among different amounts of calcification in plaques (cases (%))

钙化数量	n	不稳定性斑块	稳定性斑块
单发	12	5(41.67)	7(58.33)
多发	29	23(79.31)	6(20.69)

### 3 讨 论

动脉粥样硬化斑块与脑血管疾病有着重要的关系,20%~30%的脑卒中患者是由颈动脉不稳定性斑块所致<sup>[4]</sup>。不稳定性斑块又称易损斑块,容易破溃形成溃疡、继发血栓,在高速血流冲击下血栓或碎片脱落,阻塞颅内血管导致脑梗死发生。大量研究证实,不稳定性斑块具有纤维帽变薄或出现断裂、斑块表面有溃疡或血栓形成、表面结节样钙化、斑块内新生血管形成、斑块内出血及大量炎细胞浸润等病理特征。动脉斑块内新生血管的存在与心脑血管疾病的发生相关<sup>[5]</sup>。新生血管易导致斑块内出血,增加破裂的风险。

本研究应用常规超声及超声造影检查斑块内钙化特征及钙化旁有无新生血管,结果显示与病理结果一致性良好,其中常规超声检查斑块内钙化的灵敏度为91.0%,特异度为100.0%,超声造影检查钙化旁新生血管的灵敏度为76.2%,特异度为90.0%,表明常规超声可检测出斑块内钙化,但是斑块内微钙化因体积较小达不到仪器分辨率,不易被发现;超声造影可准确显示钙化旁有无新生血管<sup>[6-11]</sup>,评估斑块稳定性<sup>[12-13]</sup>。本研究以病理结果为金标准,分析钙化数量、不同钙化部位、不同形态以及钙化旁有无新生血管对斑块稳定性的影响,结果表明钙化数量对斑块稳定性有一定影响,多发钙化可导致斑块不稳定。但斑块内钙化部位、形态及钙化旁有无新生血管对斑块稳定性无明显影响,原因可能是斑块内部多发钙化尤其是集中在斑块内同一部位的钙化,这种聚集的钙化产生的集中应力远远大于单个钙化产生的应力,从而使局部斑块组织应力成倍增加,超出临届阈值而更容易导致纤维帽断裂<sup>[14]</sup>或斑块内出血<sup>[15]</sup>,从而影响斑块的稳定性,增加斑块破裂风险。

斑块不同部位钙化对斑块稳定性影响研究中显示,仅基底部钙化的斑块不稳定比例较大,可能是因为基底部紧邻血管外膜,斑块内的新生血管大部分由颈动脉外膜滋养血管向斑块内以芽生方式生长,基底部新生血管较丰富,导致斑块稳定性差。

这与 Lin 等<sup>[15]</sup>研究结果不一致,该研究认为深部钙化位于外膜附近,可以作为屏障,可能有保护作用,因为钙化限制了炎症刺激的传播,我们认为还需增大样本量进一步研究。斑块内不同形态钙化对斑块稳定性影响研究中表明,斑块内有结节状钙化的稳定性差,可能由于结节状钙化更接近于圆形或椭圆形,其表面积较大,斑块局部受到外界应力时,结节状钙化更容易对其周边的成分产生破坏,比如造成新生血管破裂导致斑块内出血等。虽然钙化旁新生血管对斑块稳定性的影响在统计学上差异无显著性,但通过表 7 可以看出,钙化旁有新生血管的斑块稳定性差,可能是因为钙化增加了新生血管破裂风险而导致斑块内出血,而且新生血管也不同于生理血管,管壁无正常血管内皮细胞,结构不完整、脆性大。

综上所述,钙化数量对斑块稳定性有一定影响,多发钙化可导致斑块不稳定。二维超声及超声造影可准确评估内部有钙化的混合回声斑块的稳定性,其特异度及灵敏度较高。今后应增加样本量进一步研究不同钙化部位、形态及钙化旁有无新生血管与斑块稳定性间的相关性,增加钙化面积、生长方式等对斑块稳定性影响的研究。

#### [参考文献]

- [1] 丁洁. 脑梗死患者颈动脉斑块特征与危险因素的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34 (21) : 6033-6035
- [2] Robinson M, Sacks D, Perlmutter GS, et al. Diagnostic criteria for carotid duplex sonography[J]. AJR, 1988, 151 (5) : 1045-1049.
- [3] Brinjikji W, Huston J 3rd, Rabinstein AA, et al. Contemporary carotid imaging: from degree of stenosis to plaque vulnerability [J]. J Neurosurg, 2016, 124(1) : 27-42.
- [4] Kuk M, Wannarong T, Beletsky V, et al. Volume of carotid artery ulceration as a predictor of cardiovascular events [J]. Stroke, 2014, 45(5) : 1437-1441.
- [5] 马玉荣, 张涛, 张静. 高分辨率 MRI 评价颈动脉斑块稳定性的优势及临床应用价值 [J]. 磁共振成像, 2016, 7(8) : 630-634.
- [6] 林玲, 张梅, 邱俪, 等. 颈动脉粥样硬化斑块新生血管的超声造影强化特征研究 [J]. 四川大学学报(医学版), 2014, 45(6) : 992-996.
- [7] 丁昱, 冯蕾, 张海钟, 等. 超声造影观察颈动脉斑块易损性的研究 [J]. 中国医学影像学杂志, 2015, 23 (4) : 298-301.
- [8] Sha-sha H, Li H, Jie M, et al. DVP parametric Imaging for characterizing ovarian masses in contrast-enhanced ultrasound [J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2015, 36(5) : 574-578.
- [9] Zhou Y, Gao J B, Xu H, et al. Evaluation of neovascularization with spectral computed tomography in a rabbit VX2 liver model: a comparison with real-time contrast-enhanced ultrasound and molecular biological findings [J]. Br J Radiol, 2015, 88 (1055) : 20140548.
- [10] 刘炎, 郭君, 郭德颖, 等. 颈动脉硬化斑块及其新生血管的超声造影研究 [J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7(12) : 5244-5247.
- [11] Sun XF, Wang J, Wu XL, et al. Evaluation of the stability of carotid atherosclerotic plaque with contrast-enhanced ultrasound [J]. J Med Ultrason, 2016, 43(1) : 71-76.
- [12] Vavuranakis M, Sigala F, Vrachatis DA, et al. Quantitative analysis of carotid plaque vasa vasorum by CEUS and correlation with histology after endarterectomy [J]. Vasa, 2013, 42(3) : 184-195.
- [13] Faggioli GL, Pini R, Mauro R, et al. Identification of carotid 'vulnerable plaque' by contrast-enhanced ultrasonography: correlation with plaque histology, symptoms and cerebral computed tomography [J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2011, 41(2) : 238-248.
- [14] Kelly-Arnold A, Maldonado N, Laudier D, et al. Revised microcalcification hypothesis for fibrous cap rupture in human coronary arteries [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110 (26) : 10741-1076.
- [15] Lin R, Chen S, Liu G, et al. Association between carotid atherosclerotic plaque calcification and intraplaque hemorrhage: a magnetic resonance imaging study [J]. Arteriosclerosis, 2017, 37(6) : 1228-1233.

(此文编辑 许雪梅)