

❖ 实验研究

Transcatheter intra-arterial injection of hyaluronidase combining with urokinase for thrombolytic therapy of ocular artery embolization rabbit models

SHEN Haiyang, SONG Hao, LI Shasha, LI Qian,
NING Yi, ZHANG Jie, YU Youtao*

(Department of Interventional Radiology, the Fourth Medical Center,
Chinese PLA General Hospital, Beijing 100037, China)

[Abstract] **Objective** To observe the value of transcatheter intra-arterial injection of hyaluronidase combining with urokinase for thrombolytic therapy of ocular artery embolization rabbit models. **Methods** Totally 27 healthy New Zealand white rabbits were randomly divided into group A, B and C (each $n=9$). The ophthalmic artery of rabbits were superselected with microcatheter, and hyaluronic acid was injected to establish rabbits of artery embolization. Thirty minutes after establishment of models, urokinase, hyaluronidase and hyaluronidase combining with urokinase were injected into the ophthalmic artery of rabbits in group A, B and C through superselective arterial intubation, respectively. The thrombolysis effect of each group was observed with angiography. The value of hyaluronidase combining with urokinase for treating rabbit models of ocular artery embolization was observed. **Results** The establishment of rabbit ophthalmic artery embolization models took 12—57 min, with an average of (23.04 ± 10.05) min. Ten minutes after thrombolytic therapy, the opening rate of ophthalmic artery in group A, B and C was 11.11% (1/9), 22.22% (2/9) and 44.44% (4/9), respectively, while 30 minutes after thrombolytic therapy, the opening rate was 11.11% (1/9), 22.22% (2/9) and 55.56% (5/9), respectively. There was no significant difference of the opening rate between each 2 groups (all $P>0.05$), whereas periorbital blood supply in rabbits with not reopened ocular artery in group B and C became more abundant than before thrombolysis. **Conclusion** Transcatheter intra-arterial injection of hyaluronidase combining with urokinase could be used for thrombolytic therapy of rabbit ocular artery embolization.

[Keywords] ophthalmic artery; embolism; hyaluronic acid; model, animal; thrombolytic therapy; rabbits

DOI:10.13929/j.issn.1003-3289.2022.06.003

经导管动脉注射玻尿酸酶联合尿激酶溶栓 治疗眼动脉栓塞兔模型

沈海洋, 宋 浩, 李莎莎, 李 倩, 宁 一, 张 杰, 于友涛*

(中国人民解放军总医院第四医学中心介入放射科, 北京 100037)

[摘要] **目的** 观察经导管动脉注射玻尿酸酶联合尿激酶溶栓治疗兔眼动脉栓塞的价值。 **方法** 将 27 只健康新西兰大白兔随机分 A、B、C 3 组, 每组 9 只, 以微导管超选择至兔眼动脉, 注射透明质酸, 建立兔眼动脉栓塞模型; 建模 30 min 后, 经超选择性动脉插管, 分别对 A、B 及 C 组兔眼动脉注射尿激酶、玻尿酸酶及玻尿酸酶联合尿激酶, 并行眼动脉造影观察各组溶栓情况, 观察玻尿酸酶联合尿激酶溶栓治疗兔眼动脉栓塞的价值。 **结果** 建立兔眼动脉栓塞模型耗时 12~

[第一作者] 沈海洋(1981—), 男, 江苏沭阳人, 硕士, 主治医师。研究方向: 肿瘤及外周血管介入治疗。E-mail: shenhyhy@163.com

[通信作者] 于友涛, 解放军总医院第四医学中心介入放射科, 100037。E-mail: yuyoutao@126.com

[收稿日期] 2021-12-13 **[修回日期]** 2022-02-27

57 min, 平均 (23.04 ± 10.05) min。溶栓后 10 min, A、B 及 C 组兔眼动脉开通率分别为 11.11% (1/9)、22.22% (2/9) 及 44.44% (4/9); 溶栓 30 min 后各组开通率分别为 11.11% (1/9)、22.22% (2/9) 及 55.56% (5/9), 组间两两比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 但 B 及 C 组眼动脉未能开通的兔眼球周围血运较溶栓前明显改善。**结论** 经导管注射玻璃酸酶联合尿激酶溶栓可用于治疗兔眼动脉栓塞。

【关键词】 眼动脉; 栓塞; 透明质酸; 模型; 动物; 溶栓疗法; 兔

【中图分类号】 R543.5; R815 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-3289(2022)06-0812-04

注射软组织填充物是常见微创美容手术之一, 且应用率逐年升高^[1]。但血管内意外注射填充材料, 继而进入远端血管可能导致局部组织缺血或坏死, 视网膜中央动脉栓塞是最严重的并发症之一, 可能导致失明^[2]。针对可否采用球后注射玻璃酸酶或动脉内溶栓治疗视网膜中央动脉栓塞存在争议。2018 年, DANIELS 等^[3]经兔眼动脉插管, 并成功通过导管注射美法仑(melphalan)。本研究建立兔眼动脉栓塞模型, 观察经导管注射玻璃酸酶联合尿激酶溶栓治疗兔眼动脉栓塞的价值。

1 材料与方法

1.1 实验动物 27 只健康新西兰大白兔, 购自山东省医学实验动物中心, 雄兔 24 只、雌兔 3 只, 体质量 2.7~3.3 kg; 随机将其分为 A、B、C 3 组, 每组 9 只。本研究获解放军总医院实验动物福利伦理委员会批准, 并符合《北京市实验动物管理条例》和《军队医学实验动物许可证管理办法》管理规定。

1.2 主要器材及药物 Philips FD20 数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)机; 血管鞘套件(Terumo, RS[®] A50K10SQ), 单弯导管(Cordis, 4F VER135[°]), Carnelian 微导管(Tokai, 2.2French), 微导丝(ASAHI INTECC, STM180-18S); 显微手术及普通手术器械包, 血管缝线(强生, 慕丝 MERSILK, 规格 3-0/4-0); 注射用尿激酶(南京南大药业, 10 万 U), 注射用玻璃酸酶(透明质酸酶, 上海医药, 1 500 U), 透明质酸(乔雅登雅致, 0.8 ml)。

1.3 建立兔眼动脉栓塞模型 以 1 滴 1% 托吡卡胺(约 45 μ l)扩散兔瞳, 并肌肉注射速眠新(0.2 ml/kg 体质量)麻醉, 若麻醉程度不足可适当加药, 每次 0.1 ml。采用裂隙灯、眼底镜检查双眼, 观察有无明显异常。

将麻醉后动物仰卧位保定于实验台上, 双侧腹股沟区备皮、消毒; 逐层分离右侧腹股沟区软组织, 暴露股动脉, 将血管缝线(规格 3-0)预埋于股动脉后方并轻轻提起, 使其充分分离、暴露, 再将血管缝线移至暴露段股动脉近心端。穿刺右股动脉, 穿刺针针套后接 Y 型阀, 以

肝素化盐水冲洗, 并注射微量罂粟碱以扩张血管。以血管缝线(规格 4-0)缝合皮层并固定套管(图 1)。

于导丝引导下, 将单弯导管置于兔颈总动脉开口, 以约 2 ml/s 流率手推注入 3 ml 碘克沙醇对比剂, 行侧位颈总动脉造影(图 2A), 待眼动脉显影后作为路图; 以微导管超选择兔眼动脉, 采用 1 ml 注射器注入透明质酸、碘克沙醇及生理盐水 1:2:2 混合液 0.5 ml, 建立兔眼动脉栓塞模型; 复查 DSA, 观察栓塞效果, 以眼动脉主干不复显影为建模成功(图 2B)。建模成功后 30 min, 经微导管分别向 A、B、C 组兔栓塞后眼动脉内缓慢团注尿激酶、玻璃酸酶、尿激酶+玻璃酸酶(尿激酶 1.5 万 U/kg、玻璃酸酶 250 U/kg 体质量)进行溶栓; 之后以微导丝反复选择眼动脉, 对其主干进行机械再通; 分别于溶栓后即刻、10 min 及 30 min 复查 DSA, 观察各组兔眼动脉显影情况, 评价溶栓效果(图 2C、2D)。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计分析软件。以 Fisher 精确概率法比较计数资料, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。



图 1 建立眼动脉栓塞兔模型 分离兔右侧股动脉, 置入后接 Y 阀门(黑箭)的穿刺针套(白箭), 以血管缝线缝合皮层(红箭)并固定套管

2 结果

对 27 只兔均成功建立眼动脉栓塞模型,用时(分离股动脉至 DSA 证实建模成功)12~57 min,平均 (23.04 ± 10.05) min。溶栓后即刻造影显示 3 组兔眼动脉末梢血供均较差;溶栓 10 min 后,A、B 及 C 组兔眼动脉开通率分别为 11.11%(1/9)、22.22%(2/9)及 44.44%(4/9);溶栓 30 min 后,各组眼动脉开通率分别为 11.11%(1/9)、22.22%(2/9)及 55.56%(5/9),两两比较差异均无统计学意义(P 均 >0.05),但 B 及 C 组眼动脉主干未能开通的兔眼球周围血运较溶栓前明显增多(图 2D)。

A、B 组各 1 只、C 组 2 只兔于溶栓 30 min 后猝死。

3 讨论

注射透明质酸填充为微创美容手术中的常见操作;若注射时针头误刺入面动脉或压力过高,透明质酸可进入面动脉并流至眼动脉,导致眼动脉分支栓塞,甚至可使患者失明^[4-5];有未经规范培训及非法操作者以非专业注射器进行操作,进一步增加眼动脉分支栓塞风险^[6]。针对 130 例面部注射透明质酸致视力受损患者开展的临床研究^[7]结果显示,以血管再通技术结合透明质酸溶解酶进行溶栓治疗后,124 例眼部外观(如上睑下垂)获得改善,但仅 17 例基本恢复视力。本研究以透明质酸诱导建立兔眼动脉栓塞模型,观察经导管动脉注射玻璃酸酶联合尿激酶溶栓治疗兔眼动脉栓塞的价值。

目前用于眼动脉栓塞性疾病实验的动物模型主要为兔、猫及猴等,其中兔最为常用。预实验中,本研究尝试穿刺兔腹腔动脉置管及经兔耳缘动脉置管;前者耗时较少,但兔生存时间过短,可能与开腹操作及保暖措施不完善有关,且搬运开腹兔行眼底镜检查较为不便;而后者虽置管成功率较高,但以微导管超选择眼动

脉较为耗时,因耳缘动脉发自颈内动脉,与眼动脉成锐角,操作较为困难。兔眼血供系统主要来源于眼内动脉和眼外动脉,其中眼外动脉为主要供血血管,与人眼差异较大^[8];熟练掌握兔解剖学特点是建模成功的关键。本研究建立兔眼动脉栓塞模型耗时 12~57 min,平均 (23.04 ± 10.05) min;其中 1 只分离、穿刺兔右侧股动脉失败,再对左侧股动脉进行相关操作后方获成功,导致用时长达 57 min;且随操作者对建模操作的熟练程度提高,耗时逐渐减少。针对建模,本研究获得以下经验:①微导管到达颈总动脉后,因兔血管存在变异,需多次造影以确认兔眼主要供血动脉;②预实验中采用高浓度碘克沙醇造影,流率及总量均相对较大,显示血管清晰,但兔存活时间较短;主体实验中采用低流率手动推注低浓度碘克沙醇,一旦“冒烟”发现目标血管,即停止推注;③术中导管和导丝移动均可刺激管腔内壁而诱发血管痉挛或血栓形成,通过 Y 阀门连接肝素盐水进行冲洗并注射罂粟碱扩张血管,可防止血栓形成及血管痉挛;④由于透明质酸较为黏稠,可堵塞导管,参照 CHEN 等^[9]经验,本研究将透明质酸、碘克沙醇及生理盐水按 1:2:2 比例混合,获得较好效果。

透明质酸酶为溶酶,可利用血管床扩散特异性而将透明质酸水解为小分子,实现血管再通及再灌注。血管外(球后)注射玻璃酸酶为治疗注射透明质酸所致眼动脉栓塞的主要措施。既往临床研究^[7]结果显示,经眼动脉注射透明质酸酶可改善部分眼动脉栓塞患者视力及眼部外观情况;但也有学者^[10]认为该法的有效性尚待进一步观察。CHEN 等^[9]的兔眼动脉模型实验结果显示,向眼动脉内注射透明质酸酶未能明显溶解栓塞物质。CARRUTHERS 等^[11]提出,治疗注射透明质酸致眼动脉栓塞时,需于 60~90 min 内恢复闭塞视网膜循环。姚勇等^[12]经颈动脉灌注尿激酶 1.25 万 U/kg 体质量,以治疗猫视网膜中央动脉阻塞。

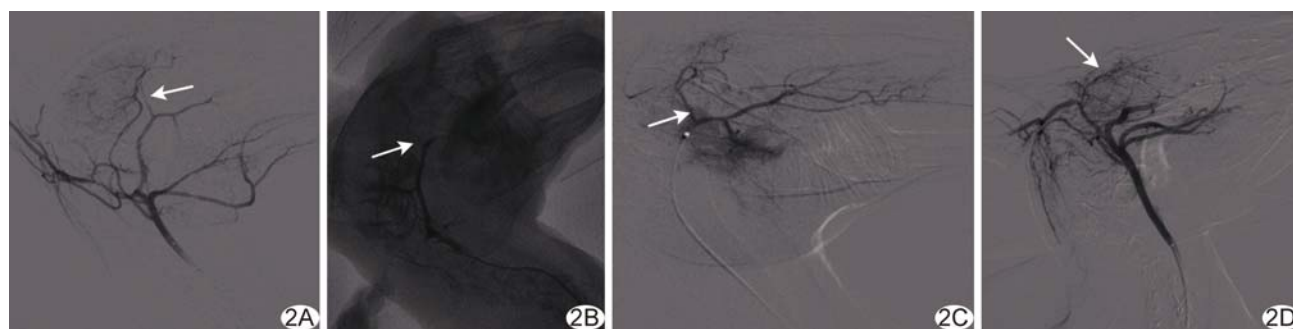


图 2 C 组兔颈总动脉及眼动脉 DSA A. 栓塞前 DSA 图示兔眼动脉(箭); B. 建模型后 DSA 图示兔眼动脉(箭)截断; C. 溶栓 10 min 后 DSA 图示兔眼动脉主干再通(箭); D. 溶栓 30 min 后,另一只兔眼动脉主干未见显影,但眼球周围血运(箭)较溶栓前明显增多

本研究经眼动脉注射玻璃酸酶 250 U/kg 联合尿激酶 1.5 万 U/kg 体质量对兔眼动脉栓塞模型进行溶栓,且于溶栓后以微导丝反复于眼动脉进行机械再通,并与单独注射玻璃酸酶及单独注射尿激酶进行对比;虽然结果显示 3 组眼动脉再通率无显著统计学差异,但治疗后 A、B、C 组再通率依序呈现升高趋势,且 B 及 C 组未能开通眼动脉兔眼球周围血运较栓塞后溶栓前明显增多,提示透明玻璃酸酶联合尿激酶治疗眼动脉栓塞具有一定协同作用,差异无统计学意义可能在于样本量过小。

本研究的主要不足:①样本量小;②所用 Tokai 2.2F 微导管头端最细处 1.8F,但相对兔眼动脉仍较粗,超选择至兔眼动脉远端难度较大,故仅将微导管头端选择兔眼动脉开口,注射透明质酸时可能逆流至颈外动脉其他分支而影响结果;③未能分析溶栓药物剂量与疗效的关系。

综上所述,经导管动脉注射玻璃酸酶联合尿激酶溶栓可用于治疗透明质酸诱导兔眼动脉栓塞。

[参考文献]

- [1] 中国医药教育协会介入微创治疗专业委员会,于友涛,沈海洋,等.介入血管再通术治疗额面部注射透明质酸美容致眼动脉栓塞视力受损专家共识[J].中国介入影像与治疗学,2021,18(7):385-388.
- [2] LOH K T, CHUA J J, LEE H M, et al. Prevention and management of vision loss relating to facial filler injections[J]. Singapore Med J, 2016,57(8):438-443.
- [3] DANIELS A B, FROEHLER M T, PIERCE J M, et al. Pharmacokinetics, tissue localization, toxicity, and treatment efficacy in the first small animal (rabbit) model of intra-arterial chemotherapy for retinoblastoma[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018,59(1):446-454.
- [4] GOODMAN G J, CLAGUE M D. A rethink on hyaluronidase injection, intraarterial injection, and blindness: Is there another option for treatment of retinal artery embolism caused by intraarterial injection of hyaluronic acid? [J]. Dermatol Surg, 2016,42(4):547-549.
- [5] PARK S W, WOO S J, PARK K H, et al. Iatrogenic retinal artery occlusion caused by cosmetic facial filler injections[J]. Am J Ophthalmol, 2012,154(4):653-662.
- [6] HUMZAH M D, ATAULLAH S, CHIANG C, et al. The treatment of hyaluronic acid aesthetic interventional induced visual loss (AIIVL): A consensus on practical guidance[J]. J Cosmet Dermatol, 2019,18(1):71-76.
- [7] WANG J, SHEN H, LIU T, et al. An Efficacy and safety study of intra-arterial recanalization of occluded ophthalmic arteries in patients with monocular blindness caused by injection of hyaluronic acid in facial tissues[J]. Aesthetic Plast Surg, 2021,45(4):1573-1578.
- [8] CULP B C, BROWN A T, ERDEM E, et al. Selective intracranial magnification angiography of the rabbit: Basic techniques and anatomy[J]. J Vasc Interv Radiol, 2007,18(2):187-192.
- [9] CHEN J, RUAN J, WANG W, et al. Superselective arterial hyaluronidase thrombolysis is not an effective treatment for hyaluronic acid-induced treatment for hyaluronic acid-induced model[J]. Plast Reconstr Surg, 2021,147(1):69-75.
- [10] ZHANG L, FENG X, SHI H, et al. Blindness after facial filler injections: The role of extravascular hyaluronidase on intravascular hyaluronic acid embolism in the rabbit experimental model[J]. Aesthet Surg J, 2019,40(3):319-326.
- [11] CARRUTHERS J D A, FAGIEN S, ROHRICH R J, et al. Blindness caused by cosmetic filler injection: A review of cause and therapy[J]. Plast Reconstr Surg, 2014,134(6):1197-1201.
- [12] 姚勇,蔡季平,沈晓文.经颈内动脉灌注溶栓药治疗实验性视网膜中央动脉阻塞[J].中华眼底病杂志,2004,20(3):186-188.