

急性缺血性脑卒中颅内血栓病理研究进展

宋朝阳, 朱良付, 郑春玲, 王丽娜, 邢莹

基金项目: 河南省医学科技攻关计划重点项目(编号:201502019); 河南省自然科学基金项目(编号:182300410315); 河南省医学科技攻关计划项目(编号:201702343)

作者单位: 450003 郑州, 河南省人民医院 河南省脑血管病医院(郑州大学人民医院)脑血管病介入科(宋朝阳, 朱良付, 王丽娜, 邢莹); 462000 河南, 漯河市中心医院神经内科(宋朝阳, 郑春玲)

作者简介: 宋朝阳(1980-), 男, 医学硕士, 主治医师, 研究方向: 脑血管病血管内治疗, 急性缺血性卒中血栓病理。E-mail: xyzmy007@sina.com

通讯作者: 朱良付(1974-), 男, 医学博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 脑血管病基础及临床, 神经介入。E-mail: sumslfzhu@163.com



朱良付, 博士, 主任医师, 教授, 硕士生导师。河南省人民医院、河南省脑血管病医院国家高级卒中中心副主任兼办公室主任、脑卒中绿色通道组长、颅内狭窄专科主任、河南省介入治疗中心副主任。国家卫生健康委员会脑卒中防治工程委员会中青年专家委员会常务委员、缺血性脑卒中介入专业委员会常务委员, 中华医学会神经内科学分会神经介入协作组委员, 中国医师协会神经内科医师分会神经介入专业委员会常务委员、青年医师委员会副主任委员, 河南省医学会介入治疗专业委员会副主任委员、神经介入学组副组长, 河南省医学会脑卒中分会副主任委员, 河南省医师协会神经介入专业委员会副主任委员。曾赴美国加利福尼亚大学洛杉矶分校卒中中心(UCLA Stroke Center)学习 1 年余。长期从事脑血管病的内科防治和血管内诊疗工作, 致力于缺血性脑卒中分型、血管内再通治疗、血栓病理学、装置评估等方向的临床和基础研究。主持国家级、省级科研项目 10 余项, 发表论文 50 余篇, 其中 SCI 论文 3 篇。曾获河南省医学科技成果奖新技术引进奖一等奖、二等奖, 被评为河南省科技创新人才、国家卫生健康委员会脑卒中防治工程“优秀中青年专家”。

[摘要] 急性缺血性脑卒中(AIS)占新发脑卒中总体的 69.6%~70.8%。血管内治疗可去除闭塞颅内大血管的血栓和改善患者预后。分析颅内血栓的组成成分、来源、物理特性及其与血管之间的相互作用有助于判定 AIS 开通策略、临床预后、病因及二级预防。该文综述了近年来发表的有关 AIS 颅内血栓的研究文献, 指出了未来该领域内的部分研究方向。

[关键词] 卒中; 缺血; 血管内; 血栓切除术; 血栓; 病理

[中图分类号] R 743 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2019)06-0604-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2019.06.06

Advances in pathological research on intracranial thrombosis in acute ischemic stroke SONG Zhao-yang, ZHU Liang-fu, ZHENG Chun-ling, et al. Department of Interventional Therapy of Cerebrovascular Diseases, Henan Provincial People's Hospital, Henan Cerebrovascular Hospital (People's Hospital of Zhengzhou University), Zhengzhou 450003, China

[Abstract] Acute ischemic stroke (AIS) accounts for 69.6%~70.8% of all new stroke cases. Endovascular thrombectomy (ET) can remove the thrombi from occluded intracranial large vessels and improve the outcome of AIS. The components, sources, physical characteristics of intracranial thrombi and their interactions with blood vessels might be helpful for the judgement of recanalization strategies, clinical prognosis, etiology and secondary prevention. This review summarizes the literatures published in recent years and predicts some further researches of this field in the future.

[Key words] Stroke; Ischemia; Endovascular; Thrombectomy; Thrombus; Pathology

脑中具有高发病率、高致残率、高病死率及高复发率的特点,已是我国患者死亡和残疾的第一位因素^[1]。中国每年新发脑卒中患者达250万例^[2],其中急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)占新发脑卒中的69.6%~70.8%^[3,4]。闭塞动脉的及时再通是治疗AIS的关键,现阶段再通治疗的方法主要包括静脉溶栓和血管内治疗。系列临床试验^[5-11]已证实血管内治疗可通过机械方法开通闭塞血管和改善临床预后,所取血栓也使研究AIS颅内血栓成为了可能。迄今尽管已经取得了许多进展,但有关急性大血管闭塞(large vessel occlusion, LVO)AIS血栓的病理研究报道有限,且并不一致。研究血栓的组成成分、来源、物理特性及其与血管之间的相互作用可能会有益于AIS的治疗,改善患者的临床预后,特别是对于AIS病因的确定及二级预防意义重大。本文综述了近年来对AIS颅内血栓的研究文献,并对未来的研究提出了展望。

1 血栓的形成及AIS颅内血栓来源分类

在生理条件下止血、凝血系统与抗凝血和纤维蛋白溶解系统相互制约,处于动态平衡状态。血栓形成是指人体血管系统内部形成凝血块,并阻碍血液流动、阻塞局部血管的病理过程。通常是由于血管壁损伤导致继发的血小板黏附于损伤处内皮下胶原组织,进一步血小板聚集并释放出促进血栓形成的相关物质;之后,血液中的凝血因子被相继激活,启动凝血过程,最终产生不溶性的血凝块或血栓^[12]。导致AIS的血栓主要为血液凝固形成的血凝块,少数为含有其他成分的栓子。来源可分为颅内原位形成的血栓和从其他部位通过血循环到达颅内的血栓或栓子。颅内原位形成的血栓大多是在颅内动脉粥样硬化(intracranial atherosclerotic disease, ICAD)基础上由于血管狭窄或斑块破裂形成;来源于其他部位的血栓大多来自心脏(心腔、室壁及瓣膜等)、主动脉弓及颅外的颈动脉和椎动脉,或是其他部位的血栓通过异常右向左分流的心脏结构进入颅内,如卵圆孔未闭、房间隔缺损、室间隔缺损等。

2 AIS颅内血栓研究现状

当前有关AIS颅内血栓的研究方法缺乏统一标准,报道也不是很一致。血栓研究涉及影像学特征、开通效果、病因和预后等领域。具体分述如下:

2.1 血栓标本的采集和处理 研究者们对AIS颅内血栓标本的收集、标本的处理有所不同。首先是血栓标本固定液不同,有用10%中性磷酸福尔马林^[13-26],也有用2.5%戊二醛^[13]。其次是血栓染色

方法不同,大多都应用了苏木精-伊红(HE)染色^[13-26],因研究目的不同也有应用特殊染色^[14-16]和免疫组化^[17-21]者,但鲜有用电镜研究者^[14,22]。

2.2 术语及相关描述标准 目前没有统一标准的术语描述AIS颅内血栓,术语的规范化是一个亟待解决的问题。如描述从AIS颅内血管内取出物会用“血凝块(clot)”与“血栓(thrombus)”等,描述血管内再通手术时会用“血栓切除术(thrombectomy)”与“栓子切除术(embolectomy)”等。血凝块是半固体、凝固或不溶性的块状物,而血栓可能是一种不同组成成分的血管内物质(可能包括非血液成分^[13,23-25]),故笔者认为将取出物称为“栓子(embolus)”可能更为确切。另外,有关血栓新旧即“栓龄”的描述,目前有“陈旧的”、“成熟的”、“年轻的”或“新鲜的”(血栓形成不到1d)、“溶解性的”(血栓形成在1~5d之间)和“机化性的”(血栓形成>5d)^[26]等术语。将来标准化的栓龄判别和描述更有临床指导意义^[27]。当前,对血栓组织病理学描述也缺乏一致性。在已发表的文献中,手术所获血栓的组织学描述涉及各种血栓组成成分的量化,比如红细胞、纤维蛋白(fibrin)、白细胞及血小板(platelet)等血栓成分在血栓中的构成占比,以及它们之间的聚集构成方式等。Marder等^[13]通过观察和描述颅内血栓的组织形态,将血栓结构描述为分层或蛇纹石样。笔者认为,对血栓组织形态需要更准确、更一致的表述,建议使用标准化的染色方法和量化软件,甚或规范使用免疫组化鉴定血栓中的各种细胞和分子成分^[27]。大体血栓的描述,也有待规范化。虽然开通操作可导致血凝块的碎裂、变形,可改变所取出的血凝块的大体特征,但大体血栓标本的描述信息仍然是有用的。如血凝块的颜色、质地、形状、大小、完整性及取出血栓的动脉段的信息(血管位置、直径大小、是否狭窄等)可反映血栓取出的难易程度。将术语规范化,包括血栓总体外观结构、血栓的组织病理学特征以及血栓“栓龄”的界定和描述的标准化,可提高不同研究结果之间的可比性,并能为大规模分析提供多中心数据支持。事实上,最近发表的关于AIS血栓成分的汇总分析表明,缺乏标准术语限制了研究结果的推广应用^[27]。

2.3 血栓成分分析 有关AIS血栓病理组织学结构的信息对于更好地了解其发病机制和临床处理措施至关重要。在血栓中特定生物标记物的存在和数量可能指导AIS的二级预防治疗^[15,20,23,26,28-30]。由于血栓是AIS血管内开通治疗的主要目标,其成分组成很可能影响再通治疗效果。然而血栓成分在治

疗之前多是未知的,因此现如今对所有 AIS 患者都以相同的方法进行救治。除了常规的 HE 染色之外,也应用其他组织学染色方法来分析血栓,包括弹性范吉森染色、马洛里氏磷钨酸-苏木精染色(识别纤维蛋白)、马休猩红蓝染色(区分纤维蛋白和红细胞)和冯科萨染色(识别钙化)^[28]。此外尚应用了一些免疫组化染色技术来研究特定的细胞和分子,如血小板(CD31, CD61)^[26,29]、T 细胞(CD3)^[20]、内皮细胞(CD34)^[17]等。血栓组成成分(红细胞、纤维蛋白、血小板、白细胞)与 AIS 病因、影像学资料及临床治疗结果之间的相关性已有报道,但结果并不一致^[28]。最近的几项研究调查了 AIS 患者脑血栓的组织病理学组成,因其采用的标本处理、分析方法及研究侧重点不同,他们的研究结果不尽相同,甚至相互矛盾^[13,15,26,29,31]。Liebeskind 等^[32]对 50 例经血管内血栓切除术的 AIS 患者进行血栓检查的组织病理学分析,认为血栓组成成分与 AIS 病因学的最终确定无关,但他们并没有提供有关的详细数据。Niessen 等^[26]研究了 22 例 AIS 患者机械性血栓切除术后的血栓,认为来自大动脉粥样硬化性血栓的红细胞比例高于其他中风亚型,而不同 AIS 亚型之间纤维蛋白和血小板的比例无显著差异。在他们的研究中,患者样本群体中仅包括 8 例大动脉粥样硬化型和 6 例心源性栓塞的患者,样本量较少是其主要研究缺点。Boeckh-Behrens 等^[15]发表的一项研究调查了 34 例急性前循环 AIS 患者血栓的组织病理学,报道称与其他脑卒中亚型相比,心源性栓塞患者血栓中白细胞比例明显较高;在其研究中,患者人群包括 16 例心源性栓塞患者,但仅有 3 例是大动脉粥样硬化性栓塞患者,并且他们也没有提供有关不同 AIS 亚型之间红细胞和纤维蛋白比例的详细资料。Kim 等^[29]的研究支持传统的观念,他们认为在 AIS 患者中,在瘀滞或缓慢流动区域形成的心源性血栓主要是由红细胞组成,而在动脉粥样硬化基础上大动脉内形成的血栓主要由纤维蛋白和血小板组成;他们研究发现与大动脉粥样硬化患者相比,心源性栓塞患者红细胞组分的比例较高,而与心源性卒中患者相比,大动脉粥样硬化患者的纤维蛋白组成比例较高;在他们的研究中大动脉粥样硬化和心源性栓塞之间的血小板和白细胞的比例没有差异。Almekhlafi 等^[30]在用 Merci 取栓系统治疗的 5 例患者中发现 2 例血栓具有钙化成分,钙化成分嵌入在细小的粉末状、不典型动脉粥样物质形成的血栓中。他们认为可能是动脉粥样斑块破裂导致含有钙化成分的粥样物质形成

血栓,也可能是取栓装置损伤斑块而导致斑块内成分被取出,但他们并没有发现胆固醇结晶,血栓中钙化成分的发现在其他的报道中很少提及。虽然已有报道从不同角度和侧重点报道了血栓的相关研究结果,但直到现在仍然有一个问题无法解决,就是对于那些较难治的血栓栓塞,栓子无法取出,手术失败,而其本身则不能用于病理分析。

2.4 AIS 颅内血栓的物理特性 血栓的物理特性可能因为血栓组成的不同而不同,且影响血管内开通效果。描述性的物理性质是经常用软硬程度、易碎性、坚韧性等来描述。Chueh 等^[14]研究了人体血栓的弹性和刚度特性,并研究了不同血栓类似物和凝血酶诱导的人血液血栓的行为。事实上,全面而准确地描述 AIS 颅内血栓的物理特性是比较困难的。由于在血栓切除手术中可能会引起的血栓原有结构的变化,因此会导致取出血栓的物理性质与其在血管内的物理性质有所不同,可能会阻碍其与在闭塞血管中结构的比较。

2.5 有关 AIS 血栓的体外研究 有关 AIS 血栓的体外研究不多^[14,33~36]。显而易见的是,体外血栓类似物的制备及研究与体内血栓可能存在差距。由于血栓形成时体内血管系统的复杂情况,体外可能无法制备出完全与体内相同的血栓。

3 展望

目前,有关 AIS 血栓的研究没有统一的标准。因研究的侧重点和方法不同,导致研究结果也不是很一致。迄今鲜有对 AIS 血栓的超微形态结构的研究。颅内大血管的闭塞在病理生理上是动态的。血栓的性质对于开通策略的制定和预后可能起着很大的作用。深入研究血栓的结构和特性及其随着时间的动态变化,有助改进 AIS 的治疗措施和改善 AIS 的预后。探究血栓超微形态结构特征和提高血栓病因诊断的特异性对 AIS 的治疗及二级预防有重要意义,可能是下一步 AIS 血栓研究的方向。

参考文献

- 1 Zhou M, Wang H, Zhu J, et al. Cause-specific mortality for 240 causes in China during 1990–2013: a systematic subnational analysis for the Global Burden of Disease Study 2013[J]. *Lancet*, 2016, 387(10015): 251–272.
- 2 Liu L, Wang D, Wong KS, et al. Stroke and stroke care in China: huge burden, significant workload, and a national priority[J]. *Stroke*, 2011, 42(12): 3651–3654.
- 3 Wang D, Liu J, Liu M, et al. Patterns of Stroke Between University Hospitals and Nonuniversity Hospitals in Mainland China: Prospective Multicenter Hospital-Based Registry Study[J]. *World Neurosurg*, 2017, 98:258–265.

- 4 Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, Incidence, and Mortality of Stroke in China: Results from a Nationwide Population-Based Survey of 480687 Adults[J]. *Circulation*, 2017, 135(8): 759-771.
- 5 Berkhemer OA, Fransen PS, Beumer D, et al. A randomized trial of intraarterial treatment for acute ischemic stroke[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(1): 11-20.
- 6 Campbell BC, Mitchell PJ, Kleinig TJ, et al. Endovascular therapy for ischemic stroke with perfusion-imaging selection[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(11): 1009-1018.
- 7 Goyal M, Demchuk AM, Menon BK, et al. Randomized assessment of rapid endovascular treatment of ischemic stroke[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(11): 1019-1030.
- 8 Jovin TG, Chamorro A, Cobo E, et al. Thrombectomy within 8 hours after symptom onset in ischemic stroke[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(24): 2296-2306.
- 9 Saver JL, Goyal M, Bonafe A, et al. Stent-retriever thrombectomy after intravenous t-PA vs. t-PA alone in stroke[J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(24): 2285-2295.
- 10 Albers GW, Marks MP, Kemp S, et al. Thrombectomy for Stroke at 6 to 16 Hours with Selection by Perfusion Imaging[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(8): 708-718.
- 11 Nogueira RG, Jadhav AP, Haussen DC, et al. Thrombectomy 6 to 24 Hours after Stroke with a Mismatch between Deficit and Infarct[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(1): 11-21.
- 12 李家增, 贺石林, 王鸿利, 等. 临床血栓病学[M]. 上海: 上海交通大学出版社, 2014: 84-165.
- 13 Marder VJ, Chute DJ, Starkman S, et al. Analysis of thrombi retrieved from cerebral arteries of patients with acute ischemic stroke[J]. *Stroke*, 2006, 37(8): 2086-2093.
- 14 Chueh JY, Wakhloo AK, Hendricks GH, et al. Mechanical characterization of thromboemboli in acute ischemic stroke and laboratory embolus analogs[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2011, 32(7): 1237-1244.
- 15 Boeckh-Behrens T, Schubert M, Förschler A, et al. The Impact of Histological Clot Composition in Embolic Stroke[J]. *Clin Neuroradiol*, 2016, 26(2): 189-197.
- 16 Choi MH, Park GH, Lee JS, et al. Erythrocyte Fraction Within Retrieved Thrombi Contributes to Thrombolytic Response in Acute Ischemic Stroke[J]. *Stroke*, 2018, 49(3): 652-659.
- 17 Singh P, Doostkam S, Reinhard M, et al. Immunohistochemical analysis of thrombi retrieved during treatment of acute ischemic stroke: does stent-retriever cause intimal damage? [J]. *Stroke*, 2013, 44(6): 1720-1722.
- 18 Simons N, Mitchell P, Dowling R, et al. Thrombus composition in acute ischemic stroke: a histopathological study of thrombus extracted by endovascular retrieval[J]. *J Neuroradiol*, 2015, 42(2): 86-92.
- 19 Schuhmann MK, Gunreben I, Kleinschnitz C, et al. Immunohistochemical Analysis of Cerebral Thrombi Retrieved by Mechanical Thrombectomy from Patients with Acute Ischemic Stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(3): 298.
- 20 Dargazanli C, Rigau V, Eker O, et al. High CD3+ Cells in Intracranial Thrombi Represent a Biomarker of Atherothrombotic Stroke[J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0154945.
- 21 Sporns PB, Hanning U, Schwandt W, et al. Ischemic Stroke: What Does the Histological Composition Tell Us About the Origin of the Thrombus? [J]. *Stroke*, 2017, 48(8): 2206-2210.
- 22 Autar ASA, Hund HM, Ramlal SA, et al. High-Resolution Imaging of Interaction Between Thrombus and Stent-Retriever in Patients With Acute Ischemic Stroke[J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(13): pii: e008563.
- 23 Hashimoto T, Hayakawa M, Funatsu N, et al. Histopathologic Analysis of Retrieved Thrombi Associated With Successful Reperfusion After Acute Stroke Thrombectomy[J]. *Stroke*, 2016, 47(12): 3035-3037.
- 24 Hernández-Fernández F, Rojas-Bartolomé L, García-García J, et al. Histopathological and Bacteriological Analysis of Thrombus Material Extracted During Mechanical Thrombectomy in Acute Stroke Patients [J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2017, 40(12): 1851-1860.
- 25 宋朝阳, 朱良付, 李天晓, 等. 急性缺血性卒中血管内治疗血栓标本胆固醇结晶分析[J]. *中国现代神经疾病杂志*, 2018, 18(5): 360-365.
- 26 Niesten JM, van der Schaaf IC, van Dam L, et al. Histopathologic composition of cerebral thrombi of acute stroke patients is correlated with stroke subtype and thrombus attenuation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88882.
- 27 De Meyer SF, Andersson T, Baxter B, et al. Analyses of thrombi in acute ischemic stroke: A consensus statement on current knowledge and future directions[J]. *Int J Stroke*, 2017, 12(6): 606-614.
- 28 Brinjikji W, Duffy S, Burrows A, et al. Correlation of imaging and histopathology of thrombi in acute ischemic stroke with etiology and outcome: a systematic review[J]. *J Neurointerv Surg*, 2017, 9(6): 529-534.
- 29 Kim SK, Yoon W, Kim TS, et al. Histologic Analysis of Retrieved Clots in Acute Ischemic Stroke: Correlation with Stroke Etiology and Gradient-Echo MRI[J]. *AJNR Am J Neuroradiol*, 2015, 36(9): 1756-1762.
- 30 Almekhlafi MA, Hu WY, Hill MD, et al. Calcification and endothelialization of thrombi in acute stroke[J]. *Ann Neurol*, 2008, 64(3): 344-348.
- 31 Maekawa K, Shibata M, Nakajima H, et al. Erythrocyte-Rich Thrombus Is Associated with Reduced Number of Maneuvers and Procedure Time in Patients with Acute Ischemic Stroke Undergoing Mechanical Thrombectomy[J]. *Cerebrovasc Dis Extra*, 2018, 8(1): 39-49.
- 32 Liebeskind DS, Sanossian N, Yong WH, et al. CT and MRI early vessel signs reflect clot composition in acute stroke [J]. *Stroke*, 2011, 42(5): 1237-1243.
- 33 Zhu L, Shao Q, Li T, et al. Evaluation of the JRecan device for thrombus retrieval: efficacy and safety in a swine model of acute arterial occlusion[J]. *J Neurointerv Surg*, 2016, 8(5): 526-530.
- 34 Shao Q, Zhu L, Li T, et al. New method of thrombus preparation using a fluid model for evaluation of thrombectomy devices in a swine model[J]. *Thromb Res*, 2014, 134(5): 1087-1092.
- 35 Denorme F, Langhauser F, Desender L, et al. ADAMTS13-mediated thrombolysis of t-PA-resistant occlusions in ischemic stroke in mice [J]. *Blood*, 2016, 127(19): 2337-2345.
- 36 Ohshima T, Goto S, Yamamoto T, et al. Experimental evaluation and training of stent clot retrieval: the confront clot scrambling method [J]. *Nagoya J Med Sci*, 2017, 79(3): 401-406.