

透明质酸注射诱发静脉栓塞机理的实验研究 ——不同注射方向与并发症的关系

于广兰 石华堂 张 威

佳木斯大学附属医院整形外科 黑龙江佳木斯 154002

【摘要】目的 分析不同注射方向透明质酸(HA)对皮肤坏死的影响。方法 随机将新西兰大白兔分为2大组,分别从近心端向远心端(实验A组)以及远心端向近心端(实验B组)注射。免耳血管结扎方法构建皮瓣后,分别注射生理盐水(对照组)以及0.08、0.16、0.24毫升不同剂量的HA(实验组),于术后1、3、7d,分别观察皮肤颜色、血流变化及坏死面积。结果 远心端向近心端注射,2只实验兔猝死(占最大剂量组的33%,猝死剂量从0.24毫升起),其余存活下来的实验兔耳皮肤坏死面积从大到小依次为从近心端向远心端注射组 $17.09 \pm 0.83\%$ 、从远心端向近心端注射组 $12.58 \pm 0.73\%$ 、对照组 $0.54 \pm 0.12\%$ 。两实验组分别与对照组之间以及两实验组之间,三组配对T检验,均具有极显著差异($P < 0.01$)。结论 静脉栓塞同样可以产生坏死,且并发症的种类及严重程度与注射的剂量以及注射的方向有关。

【关键词】透明质酸; 静脉内注射; 栓塞; 坏死; 实验研究

医美已经进入微整时代,特别是针对皮肤除皱和局部组织与器官填充塑形,HA用途之广、使用人数之多、发展速度之快,已经超出人们的想象^[1,2]。同时由于面部血管丰富,如果操作者经验不足或者操作疏忽,注射HA时很容易误入血管并产生并发症^[3]。随着注射人数的增加,发生相应并发症的人数越来越多。并发症包括:疼痛、肿胀、淤青、皮肤坏死、失明、偏瘫甚至是死亡等^[4-6]。其中,由于血管闭塞导致的组织坏死作为一种比较严重的并发症,对于求美者来说伤害极大,而且留下不可挽回的损失^[7]。因此,有必要寻找更好的方法来避免因HA注射而导致的组织坏死等并发症。

1 材料和方法

1.1 实验动物 采用体重约2.3~2.7kg的新西兰大白兔,雌雄不限,50只(两只猝死,存活48只)为实验对象,由佳木斯大学实验动物中心提供。随机将其分为2大组,每大组分为四小组,每小组6只,分别注射生理盐水(对照组)及0.08、0.16、0.24毫升HA。HA由(YVOIRE Volume, LGLife Sciences, Korea)公司提供。

1.2 动物模型制备 实验兔麻醉前4小时禁食,用生理盐水调配乌拉坦,按照每公斤体重1克的剂量在实验兔腹腔内注射麻醉。等待麻药起效后,进行剃毛备皮、画线定位。用碘伏常规消毒三遍、脱碘,再用1%的利多卡因浸润麻醉。确定结扎血管部位:内侧支结扎部位在中央动静脉总干与内侧支分叉后1厘米处;外侧支在耳缘中部(距离兔耳根部约5~6cm左右)的耳缘动静脉处结扎血管(图1)。

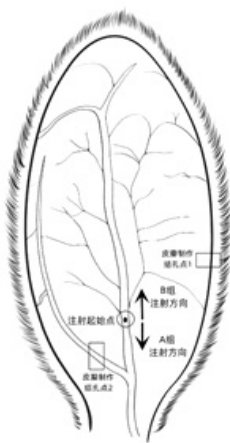


图1 预制皮瓣示意图

1.3 实验操作 使用27G针头,由同一人、大致相同位置进针、同一的推药速度注射(约40微升/分钟)。A大组为从远心端往近心端方向注射组,剂量从0、0.08、0.16、0.24毫升(注:0为等量生理盐水对照组)分别标记为A1组、A2组、A3组、A4组。B大组为从近心端往远心端方

向注射组,剂量从0、0.08、0.16、0.24毫升分别标记为B1组、B2组、B3组、B4组。分别于注射后即刻及第1、3、7天进行肉眼大体观察和强光照射下血流变化观察,皮肤坏死的面积计算等。第14天用过量戊巴妥钠处死,行组织学检查。

1.4 观察指标

1.4.1 肉眼观察和透光照射下观察 直接观察实验兔耳的皮肤的颜色、水肿、瘀斑,组织渗出、坏死等情况;强灯光照射下观察血管血流情况以及血管内是否有透明栓子(HA)残留物以及凝血所致的红色栓子等情况。

1.4.2 皮肤坏死面积的观察和测量 分别观察不同剂量组坏死发生的部位,坏死的面积以及计算每一实验动物兔耳坏死面积占兔耳总面积的百分比。

1.4.3 组织学观察 在术后第14天的时候,用过量的戊巴妥钠处死实验兔,然后切取兔耳组织块(含猝死实验兔心、肺标本留存备用),所有的标本均经过10%的甲醛固定,再经常规梯度的乙醇脱水、石蜡包埋之后,按常规切片,观察标本中血管,静脉血管内栓塞物、血管周围组织的损伤情况以及炎症细胞的浸润程度,组织变性、增生、坏死等。

1.5 数据收集与统计分析

采用SPSS 26.0统计软件进行统计分析。资料统计量以 $\bar{x} \pm s$ 表示,资料比较采用配对t检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 皮瓣大体观察

实验A组:HA大剂量注射组,一只实验兔在注射中猝死,另一只在注射24小时候后发生猝死。存活下来的实验兔:术后1d观察,0.08毫升组,血管微增粗,其它无明显异常改变;0.16及0.24毫升组,血管明显扩张,组织水肿明显。预估兔耳的重量可达到是平常兔耳重量的2~3倍以上。术后3~5d,出现皮瓣缺血局部及部分点状坏死现象。7d水肿逐渐减轻,并出现部分组织坏死区。坏死部位主要发生在兔耳的边缘区(图2)。

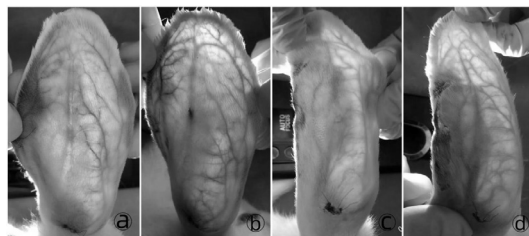


图2 远心端向近心端注射 a 术后即刻,局部缺血、变暗;图b术后1天,严重水肿,强光照下血管轮廓模糊呈磨砂玻璃状;图c 术后3天,部分耳缘区干燥、变黑,周围血管扩张明显;图d 术后7天,坏死组织加重并脱落,遗留创面。

实验B组:术后1d观察,0.08毫升组,血管微增粗,轻度水肿;0.16

及 0.24 毫升组, 血管明显扩张, 后半段注射阻力明显增大。术后 3~5d, 中高剂量组, 皮肤出现组织缺血及点状发黑的现象, 剂量越大坏死区域越重。坏死部位主要以发生在以栓塞血管为中心的区域(图 3)。

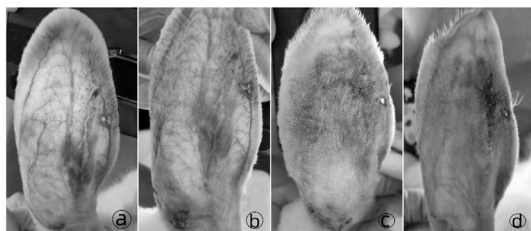


图 3 近心端向远心端注射 a 术后即刻, 可见兔耳中心区血管屈曲扩张, 皮肤颜色变白; b 术后 1 天, 大部分兔耳血管周围淤血; c 术后 3 天, 部分区干燥发黑, 血管轮廓模糊; d 术后 7 天, 缺血坏死加重。

ImageJ 软件分析结果显示, HA 注射术后 7d, 坏死区与正常组织有较清晰边界线。由表 1 所见, 兔耳皮肤坏死面积从大到小依次为从近心端向远心端注射组 $17.09 \pm 0.83\%$ 、从远心端向远心端注射组 $12.58 \pm 0.73\%$ 、对照组 $0.54 \pm 0.12\%$ 。两实验组分别与对照组之间以及两实验组之间, 三组配对 T 检验, 均具有极显著差异 ($P < 0.01$)。

表 1 坏死面积配对 T 检验分析

组别 ^a	坏死面积 ^b	配对差值			T(P) ^c
		A-C ^d	B-C ^d	A-B ^d	
A ^e	$(\bar{x} \pm s) \%$				
A ^e	17.09 ± 0.83	16.55 ^f	— ^g	— ^g	51.47/0.000 ^h
B ^e	12.58 ± 0.73	— ^g	12.04 ^f	— ^g	44.35/0.000 ^h
C ^e	0.54 ± 0.12	— ^g	— ^g	4.51 ^f	13.16/0.000 ^h

表 1 不同注射方向坏死面积配对 T 检验 A 组为远心端向近心端注射组, B 组为近心端向远心端注射组, C 组为正常生理盐水对照组, 三组两两比较均有极显著差异 ($p < 0.01$)。

2.2.2 组织学观察

HE 染色结果 可见血管内透明栓子以及继发红色血栓, 大量的巨噬细胞、淋巴细胞和中性粒细胞浸润; 广泛蜂窝织炎, 大量的脓细胞及部分组织坏死等(图 4 a~c)。

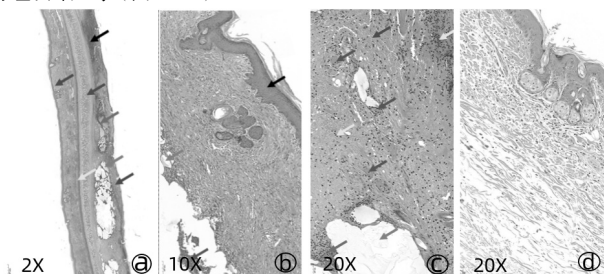


图 4 a~c 为实验组, 可见表皮真皮坏死(黑色箭头); 固有层可见 HA 凝集物(蓝色箭头), 周围可见大量的脓细胞(绿色箭头); 可见极大量的中性粒细胞浸润(黄色箭头), 伴严重出血(红色箭头); 个别血管中可见血栓形成(棕色箭头); 软骨增生变厚(紫色箭头)。d 为正常皮肤对照组。

猝死兔的肺脏与心脏的组织学检查 如图 5 所示, 可见肺脏组织内见微血管明显扩张, 腔中充满了透明的栓塞物质, 较多的肺泡腔内可见出血以及嗜酸性蛋白液渗出。心脏的组织学检查: 右心室明显扩张, 腔内大量淤血, 瓣膜处可见较多的炎性血栓黏附。

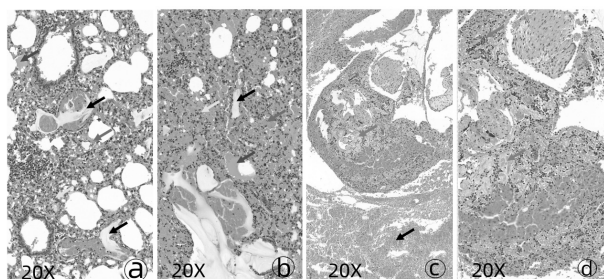


图 5 a, b 肺脏组织内见微血管明显扩张(黑色箭头), 腔中充满了透明的栓塞物质, 气道腔内可见少许红细胞(蓝色箭头); 较多的肺泡腔内可见出血(绿色箭头)以及嗜酸性蛋白液渗出(红色箭头)。c 心脏的组织病理学检查: 右心室明显扩张, 腔内大量淤血(黑色箭头), d 瓣膜处可见较多的炎性血栓黏附(蓝色箭头)。

3 讨论

HA 注射作为一种非手术技术, 能为爱美者提供安全、有效并立竿见影的美学效果^[9], 所以是一种良好的皮肤美容填充材料。然而, 我们必须注意到所有填充物注射都可能产生不良反应, 包括: 注射反应、荨麻疹、血管性水肿、肿胀、丁达尔现象、充填物移位、感染、炎性肉芽肿, 血管栓塞等^[9-12]。其中最严重的并发症就是组织坏死, 一般认为坏死主要发生于动脉栓塞。但是, 本文作者并不完全赞同这一观点。理由是: 由于静脉管腔大, 管壁薄, 所以发生误入静脉的概率可能更高。为此作者通过动物实验的方法对静脉栓塞的危险性加以研究。

HA 误入静脉后是否会发生组织坏死 本实验结果表明: 如果从远心端向近心端注射, 可以增加肺栓塞猝死的风险, 即短时间内, 有大量栓塞物质集中回流至右心房, 然后到右心室, 最后堵塞肺动脉发生猝死。但是, 为什么局部组织也会发生坏死呢? 即在注射点相反方向的远端也会发生皮肤组织坏死呢? 通过本次实验观察到的一种现象, 那就是当注射前方血管阻力加大时, 除了本血管“返流”以外, 还会在下一级以及更远端的各级血管形成与注射方向“相反方向”流动, 进而影响远端的局部组织静脉回流。当堵塞达到一定的程度时候, 血流中断就会发生坏死。实验再一次证实静脉注射 HA 同样可以产生组织坏死, 而且观察到“返流”与“反流”现象。

注射方向与并发症的关系 对此学术界少有报道, 本实验证实: 远心端向近心端注射易发生猝死; 近心端向远心端注射时候, 显示血管快速膨胀, 阻力加大, 最终导致以栓塞血管为中心的组织坏死区。

实验结果的临床意义 临床上发生组织坏死的主要原因可能是由于填充物误注入血管所致, 多数学者认为只有动脉栓塞才会引起坏死。本实验证实, 即静脉栓塞同样会产生组织坏死以及猝死。这也可以解释在临床工作中, 我们也常常听说有关于“湿性坏死”说法提供理论依据。

4 结论

1) HA 误入静脉可导致静脉栓塞和微循环障碍, 严重者可以发生组织坏死或猝死, 否定了只有动脉栓塞才会坏死的观点。2) HA 误入静脉后, 组织坏死发生与注射剂量以及注射的方向相关。远心端向近心端注射容易发生猝死(猝死剂量从 0.24 毫升起), 但局部皮肤组织坏死轻微; 而近心端向远心端注射, 不容易发生猝死, 但局部组织坏死较重。本研究的局限性 由于使用单一品牌的单一颗粒大小的透明质酸, 故具有局限性, 不能判断其他品牌及不同粒子的 HA 是否能够产生相似的实验结果。

References:

- [1]Vasvani S, Kulkarni P, Rawtani D (2020) Hyaluronic acid: A review on its biology, aspects of drug delivery, route of administrations and a special emphasis on its approved marketed products and recent clinical studies. Int J Biol Macromol. 151: 1012-1029
- [2]Placik O J, Devgan L (2019) Female genital and vaginal plastic surgery: an overview. Plast Reconstr Surg 144 (2): 284e-297e.
- [3]Scheuer JF 3rd, Sieber DA, Pezeshk RA, et al (2017) . Anatomy of the Facial danger zones: maximizing safety during soft- tissue filler injections . Plast Reconstr Surg 139 (1): 50e- 58e.
- [4]Ozturk C N, LI Y, Tung R, et al (2013) Complications following injection of soft-tissue fillers. Aesthet Surg J 33 (6): 862-877.
- [5]Mohammed H. Abduljabbar, Mohammad A (2016) Complications of hyaluronic acid fillers and their managements. Journal of Dermatology & Dermatologic Surgery, 20 (2): 100-106
- [6]Weinberg M J, Solish N. (2009) Complications of hyaluronic acid fillers . Facial Plast Surg 25: 324-328
- [7]Zhou SB, Chiang CA, Liu K (2020) False Sense of Safety: Blunt Cannulas Cause the Majority of Severe Vascular Complications in Hyaluronic Acid Injection. Plast Reconstr Surg 146 (2): 240e-241e
- [8]PRADO G, RODRIGUEZ-FELIZ J (2017) Ocular pain and impending blindness during facial cosmetic injections: is your office pre- pared?. Aesthetic Plast Surg 41 (1): 199-203