

• 实验研究 Experiment research •

犬肝内动脉覆膜支架置入的实验研究

周 兵, 刘林祥, 李明华, 王永利, 程永德

【摘要】 目的 从支架置入的成功率、贴壁性、支架内狭窄率及支架内皮化等诸方面探讨犬肝内动脉覆膜支架置入的可行性。**方法** 成年毕格犬 8 只,全麻下采用介入技术在其肝右动脉/肝固有动脉内置入球囊扩张式可膨胀聚四氟乙烯(ePTFE)覆膜膜支架,置入后即刻及术后 2、4 和 12 周行 DSA 复查,观察支架置入过程及其造影表现、标本的组织病理学表现,对参数进行统计学分析。**结果** 支架均输送到位并顺利置入 8 只犬肝右动脉/肝固有动脉;支架释放后贴壁性能良好,所隔绝的动脉分支未显影;以管腔丢失 > 50%为明显狭窄标准,2 周复查时有 2 只犬出现支架内明显狭窄,12 周复查时有 3 只犬出现支架内明显狭窄(3/8)。病理显示 2 只犬为血栓形成、1 只犬为内膜增生所致;5 只犬支架出现完全内皮化(标本 3 个不同取材部位均完全内皮化),3 只犬支架内皮化不完全(标本 3 个取材部位至少有 1 处未内皮化);支架两端较中央部更易形成内皮化;支架置入前后,所有犬肝功能均未出现显著改变。**结论** 球囊扩张式覆膜膜支架能够顺利置入犬肝动脉,并且具有良好的贴壁性,能形成完整的内皮化,不会对肝功能带来影响。覆膜支架的犬肝内动脉置入是可行的。

【关键词】 肝动脉;覆膜支架;贴壁性;内皮化

中图分类号:R735.7 文献标识码:A 文章编号:1008-794X(2007)-09-0618-05

Experimental research of covered stent implanted in canine hepatic artery ZHOU Bing, LIU Lin-xiang, LI Ming-hua, WANG Yong-li, CHENG Yong-de. *Institution of Radiology, Taishan Medical College, Taian 271016, China*

【Abstract】 Objective To evaluate the feasibility of success rate of implantation, post-procedure stenosis rate, apposition ability and endothelialization level, etc. for implantation with balloon-expandable covered stent in canine hepatic artery. **Methods** 8 adult canines were implanted with balloon-expandable stents covered by expandable poly Teflon ester membrane (e-PTFEM). Follow-up DSA was performed immediately, 2, 4 and 12 wk after the procedure. The canines were sacrificed for histopathologic examination and statistical analysis with correlation of implantation manenvor and angiographic manifestations. **Results** 8 cases were all implanted with the covered stents in proper hepatic artery/right hepatic artery successfully; showing good apposition ability and non-opacification of the separated branches. 2 cases showed intraluminal obvious stenosis (> 50%) of the stent at 2 weeks follow-up, so did 3 cases at 12 weeks follow-up, and the total stenosis rate was 37.5% and 5 cases manifested full endothelialization (3 different locations of the sample all manifested full endothelialization), 3 cases manifested partial endothelialization (at least 1 location of the sample didn't show full endothelialization), and the two terminal parts were easier to get endothelialization than the central part. Before and after the stent implantation, hepatic function of all cases didn't demonstrate any obvious changes. **Conclusions** Balloon-expandable covered stent can be implanted in canine hepatic artery successfully, with good apposition ability, full endothelialization, and no influence on hepatic function. (J Intervent Radiol, 2007, 16: 618-622)

【Key words】 Hepatic artery; Covered stent; Apposition; Endothelialization

作者单位:271016 山东省泰山医学院放射学院(周 兵、刘林祥);上海市第六人民医院放射科(李明华、王永利);《介入放射学杂志》编辑部(程永德)

通讯作者:程永德

肝动静脉分流是肝脏疾病中常见的病理现象,其对患者机体和疾病的预后具有重要影响。在肝动静脉分流中,对人体影响较大的是中央型肝动脉-门静脉分流。以往对动-门脉分流的处理主要是以微粒、明胶海绵、微弹簧钢圈和无水乙醇等对分流通道进行栓塞^[1,2]。

但分流道结构的复杂性和上述材料的不可控性,往往导致治疗失败。覆膜支架作为一种新型材料已在周围血管病变血管内治疗中取得良好效果,这就启发我们能否用覆膜支架对分流道进行封堵。本研究主要是从动物实验角度论证覆膜支架治疗肝动静脉分流的可能,并为进一步应用于临床打下基础。

1 材料与方法

1.1 材料

成年毕格犬 8 只,其中雄性 5 只,雌性 3 只,8 ~ 15 月龄,体重 15 ~ 20 kg,均体健。动物实验用覆膜支架系统是由不锈钢金属支架外覆可膨胀聚四氟乙烯膜 (expanding poly tetrafluoroethylene, ePTFE) 制成。金属支架采用 316 L 不锈钢经过激光切割及表面抛光处理,支架在主体结构上采用正弦波设计,结合 n 形连接杆螺旋形排列,提高支架自身柔顺性。覆膜支架系统制成后直径 3 F,支架长度 1.0 ~ 1.5 cm,膨胀后直径 3 ~ 3.5 mm。手术过程需穿刺针、导管鞘、造影导管及导引导管、介入治疗手术包,血管切开包等介入治疗器械。用飞利浦 V3000 血管造影机。

1.2 方法

实验犬采用 5.0% 硫喷妥钠按 0.5 ml/kg 体重行全身麻醉后取仰卧位固定于手术台上。先行犬肝动脉造影,然后引入导引导管,尽量将导引导管置入腹腔动脉,如果不能进入腹腔动脉则将其置于开口位置。透视下参照球囊两端金属标志将支架置于肝左、右动脉分叉处,准确定位后尾端接压力泵,根据具体情况以 6 ~ 10 个大气压释放支架并隔绝肝左动脉。支架释放后即刻行肝动脉造影,观察支架通畅情况及肝左动脉是否还显影。术后肌注抗生素 3 d,术后 3 d 按 100 u·kg⁻¹·d⁻¹ 肌注低分子肝素钙,同时给予口服抗凝药。术后分别于第 2、4、12 周再次行肝动脉的血管造影检查,观察其通畅情况、有无移位、被隔离的动脉分支有无显影。第 12 周造影后将实验动物处死,取材,标本固定后进行病理检查。术前及第 2、4 周复查时分别抽取实验犬血液进行肝功能检查。测量实验犬肝动脉及其分支管径、记录数据并进行统计。

1.3 统计学处理

对实验数据采用 SPSS.V 13.0 软件包进行分析,测量数据采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,计量资料的组间比较采用配对 *t* 检验及方差分析, $P <$

0.05 判为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 认为存在非常显著性差异。

2 结果

2.1 血管造影情况及覆膜支架置放情况

8 只实验犬肝动脉造影均顺利完成,其中 4 只使用 RH 导管完成,3 只在 RH 导管超选失败后换用猎人头导管完成,1 只换用小西蒙导管完成造影,造影后测量犬肝动脉及各级分支管径并进行统计。8 枚支架均成功置入,其中 7 枚置入肝右动脉隔离肝左动脉分支,1 枚置入肝固有动脉并阻塞胃十二指肠动脉分支,置入技术成功率为 100%。8 枚支架置入后均即刻行血管造影,显示支架能够良好贴壁,被隔离的动脉分支未再显影,第 2、4、12 周复查被隔离动脉仍未见显影。以狭窄超过管径 50% 为判断标准,8 只犬中共有 3 只形成明显狭窄,其中 2 只为术后 2 周复查血管造影时发现,1 只为第 12 周复查造影时发现,总狭窄率为 3/8。全部支架经随访均未见明显移位。测量犬肝固有、肝左和肝右动脉直径,分别为 (3.2 ± 0.5) mm、 (2.0 ± 0.4) mm、 (2.6 ± 0.33) mm。全部实验动物均健康成活,无死亡或致残(图 1 ~ 3)。

2.2 组织病理学检查及生化检查

2.2.1 光学显微镜检查 光镜下可见支架表面内皮覆盖并见局部内膜增厚,以支架两端比较明显,而中央部分较轻。管腔内可见部分附壁血栓及纤维素沉积,部分血栓已经机化。部分区域血管中膜的平滑肌受压、萎缩,少部分区域可见轻度增厚。支架表面所覆 e-PTFE 膜大部分连续,2 例有部分断裂,可能与球囊撑开时压力过大或标本切片时损害有关。造影显示血管狭窄的标本光镜下可见 2 例血管内血栓形成明显,1 例内膜明显不规则增厚,按血管管径减少 50% 为明显狭窄标准,此 3 只犬均为明显狭窄,12 周后的总狭窄率 3/8。部分管腔内可见肉芽组织增生和纤维化等慢性炎症改变(图 4)。

2.2.2 电子显微镜检查 支架表面可见明显内皮化,并基本覆盖支架。8 只犬支架两端均见血管内皮覆盖较完全,3 只犬中央部未形成完整内皮化,仅见散在的岛状内皮细胞覆盖,统计学处理显示支架两端较中央部更易形成内皮化(表 1)。大部分区域内皮细胞排列规则,比较紧密,少部分区域内皮细胞排列松散。部分区域内可见血栓形成和纤维素沉积较明显。支架两端可见内膜增生较明显,中央部位较轻。

2.2.3 生化检查 8 只实验犬均于术前及术后 3 d、



图1 超选后肝动脉造影

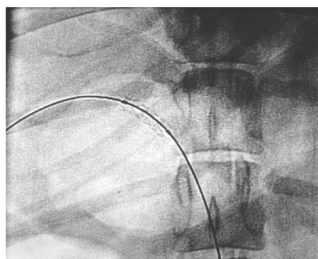


图2 覆膜支架置入清晰显示

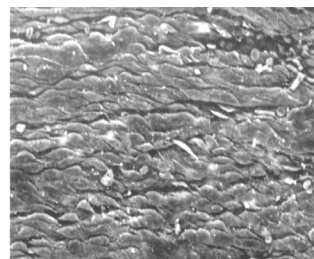
图3 支架释放后即刻造影,肝左
动脉未再显影图4 内皮细胞覆盖完整,排列规
则

表1 8只犬两端部和中央部内皮化比较

部 位	内皮化	未内皮化	合 计
两端部	16	0	16
中央部	5	3	8

经 Fisher's 精确概率检验法, $P < 0.05$, 两组差别有统计学意义

第2、4周抽取静脉血,作肝功能检查,然后分别记录丙氨酸转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、总胆红素(TBIL)三项指标并进行统计学处理,以评价支架置入后对肝功能是否有损害,结果在术后各组与术前组比较,均无统计学意义。

3 讨论

3.1 犬肝动脉内置入覆膜支架的技术探讨

覆膜支架能否顺利到达病变部位,是实现治疗的前提和基础。肝动脉、门脉中央型分流主要发生于肝段动脉、肝叶动脉水平。人类肝叶动脉直径多在3~5 mm,肝段动脉直径多在2~3 mm。本组实验犬的肝固有动脉和肝右动脉平均直径为3.2 mm和2.6 mm,与人肝叶动脉和肝段动脉的管径相仿。本组动物实验所用覆膜支架直径撑开后为2~4 mm,压握于球囊上为3 F。因此从管径角度考虑,只要能顺利置入犬的肝固有或肝右动脉内,支架同样可以置入人的肝叶或肝段动脉支架。

覆膜支架能否顺利到达病变部位,支架良好的柔顺性也是重要条件。由于主动脉或周围血管的管径较粗,走行平直,应用时对支架的柔顺性要求较低,所以覆膜支架在这些部位的应用较早。支架的柔顺性主要和支架的结构和材料有关,通过改变支架结构和支架的合金成分可以改变其柔顺性。Mori等^[3]报道,17%的病例由于血管迂曲,冠状动脉支架柔顺性不够理想而无法通过迂曲的血管到达病变部位,使介入治疗失败。与冠状动脉相比,犬的肝动脉及其分支走行更加迂曲。腹腔动脉通常是以直角或锐角从腹主动脉发出,肝总动脉及其分支往往在腹腔内蜿蜒前行,形成多个明显弯曲,变异较大。

并且,因为覆膜本身也有一定张力,同一种支架在覆膜后与未覆膜时比较柔顺性降低。迂曲的血管走行和支架覆膜后柔顺性减低,对于能否成功置入犬肝内动脉预定位置是一个挑战。

本实验中所用支架在主体结构上采用正弦波设计,结合n形连接杆螺旋形排列,提高支架自身的柔顺性,所覆ePTFE膜厚度仅100 μm,大大减小了其对柔顺性的影响。在支架置入时,先尽量使导引导管能进入腹腔动脉,以克服腹腔动脉从主动脉发出时的直角或锐角结构。在支架置入时,加大灌注线流量,利用液体向前的冲击,以利于支架输送。在进球囊导管的同时适当后撤导丝,以增强支撑力。在支架通过阻力较大时,避免粗暴操作,强行通过,以免支架变形、脱落或引起血管内膜损伤、血管痉挛而导致血管急性闭塞,而要换用支撑力较强的微导丝并且将微导丝尽量超选得深一些。支架到位以后,再适当后撤微导丝,以减低张力,可以避免球囊撑开时由于血流冲击向前移位。本组实验中,有2只犬导引导管始终无法进入腹腔动脉,只能将导引导管放于腹腔动脉口部将微导丝超选血管内较深一段距离后,才引入支架,最后成功置入支架。

3.2 覆膜支架的封堵效果

覆膜支架以一层物理屏障在保持动脉通畅的同时迅速隔离病变,促进病变内部的血栓形成或血流动力学的改变,从而达到治疗目的。覆膜支架目前主要用于外周动脉、主动脉真性或假性动脉瘤、部分夹层动脉瘤、外伤或手术引起的动静脉瘘的治疗,并取得了良好效果,有代替外科手术的趋势,其相关内容在国内外文献中均有较多报道^[4,5]。然而,不管是在主动脉、周围血管还是在颈内动脉的应用,内漏始终是影响治疗效果、甚至是导致治疗失败的一个重要因素。内漏的形成主要原因有:①支架撑开后和血管壁贴合不紧密,即支架的贴壁性较差。Boudghene等^[6]报道临床在主动脉瘤的介入治疗中内漏的发生率为47%。Gui等^[7]在建立的0.08、0.1、

0.12 和 0.15 mm 不同厚度的硅酮覆膜支架模型进行有限元分析中显示,支架覆膜后,支架和膜的接触影响了支架的力学行为,这可能是贴壁不良的原因之一。少量的内漏可因血流减慢而自动中止,内漏量较多可使动脉瘤或夹层持续增大而破裂,导致治疗失败。②支架覆膜撕裂导致的内漏。覆膜支架拟应用于较小血管,其组装后直径不能太大。覆膜支架的直径变小可通过减小支架金属厚度和降低覆膜的厚度来实现。金属支架的厚度一般是 0.1 mm,厚度太小会影响支架径向支撑力。减小膜厚度在一定程度上能够减小覆膜支架直径,但覆膜太薄在支架膨胀时容易断裂,从而造成内漏。

本组实验在支架置入即刻及其后随访中均未见明显内漏,贴壁性较好,考虑因素有:①目标血管为较细的弹力肌型血管,无动脉硬化,管腔较规则,覆膜支架撑开后与血管壁贴合较好。②覆膜支架直径较血管管径稍大,使其对血管壁保持较高张力。虽然本组造影均未见明显内漏,但光镜下观察发现,2 只犬确实出现覆膜的断裂。这就提示我们,在膜材料的选择中,不仅要从其厚度、生物相容性等方面考虑,具有良好的机械抗拉力也是一个重要的指标。

3.3 覆膜支架置入后的再狭窄问题

急性和亚急性血栓形成是支架置入后早期狭窄的最常见原因。众多学者认为,小口径血管(管径 < 4 mm)使用覆膜支架治疗并不可行。因为小口径血管内血液流速明显减慢,纤维蛋白和血小板更容易在支架表面沉积。而与裸支架相比,覆膜支架与血液的接触界面更大,从而更易导致血栓形成。支架置入后狭窄的另一个重要原因是血管内膜的过度增生。支架置入后不可避免的引起内皮细胞损伤,从而使内皮细胞产生和释放多种细胞因子,同时引起血液内的各种细胞因子进入内膜下,引起中膜的平滑肌细胞向内膜增殖、迁移,并合成和分泌细胞外基质,引起内膜增生。过度增生的过程最早发生于 2 周,延续至 6 个月,是支架晚期狭窄的主要原因。

机体的自身条件是支架置入后是否再狭窄的重要影响因素之一。同一种支架置入不同的患者体内,发生狭窄的概率不同。对冠状动脉支架置入后再狭窄的相关因素研究表明:年龄、性别、血压、血脂水平、吸烟、糖尿病和病变的部位和形式均是引起狭窄的独立危险因素^[8]。糖尿病、高血压和高血脂患者术后支架狭窄较多,可能与内皮细胞功能异常

和某些促平滑肌细胞增生的生长因子的过度表达有关,而吸烟能够直接损害内皮细胞。研究还表明血管内皮生长因子(VEGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、转化生长因子 $\beta 1$ 均对支架置入后的再狭窄有重要作用,它们能够促进血管收缩,诱导血管平滑肌细胞的增殖、迁移和转化,从而导致内膜过度增生^[9,10]。

支架如被置于内径较小、易出现低血流的血管,则可出现支架两端血流压差变小和血流的持续减慢,从而导致血栓性物质在支架内表面持续沉积,导致管腔狭窄以致闭塞。支架的金属覆盖率对支架内血栓形成也有较大影响,金属覆盖率是指金属表面和其展开表面的比值。因为金属与合金表面都有促凝作用,覆盖率大,形成血栓的概率增大。因此,支架在设计时应在保证一定支撑力的条件下尽量减小金属覆盖率。目前各种类型的金属覆盖率在 10% ~ 20%。

覆膜材料的性质对支架置入后狭窄也有影响。有理论认为 PTFE 生物相容性较好、血栓并发症少、扩展性较好(有一定的伸缩范围),以及可制成较薄的被膜,其多微孔结构可减少细胞扩散,阻止血小板聚集、炎症细胞移动,从而降低了血管狭窄的可能性。但 Tepe 等^[11]通过动物实验和临床试验认为,由于聚合物本身具有一定的致炎性,可以引起严重的炎症、纤维化和血栓形成。李文涛等^[12]进行了国产硅酮覆膜支架的研究,显示国产硅酮覆膜支架的血液相容性不优于裸支架。

本研究所用 ePTFE 膜和不锈钢支架均未经过表面改性处理,在理论上具有较强的致栓性。造影及术后病理证实,本组有 3 只犬出现支架置入后明显狭窄:2 只犬为血栓形成,并可见血栓部分机化;1 只犬可见内膜明显增生,内皮化不完全的标本;有 2 只犬出现血栓性狭窄,1 只犬虽然未达到明显狭窄标准,但也可见支架表面有明显纤维蛋白沉积。本实验结果也提示未经特殊处理的不锈钢支架和多聚物覆膜材料确实存在再狭窄率偏高和内皮化不良的问题,有待于进一步改进。

[参考文献]

- [1] Ngan H, Phe WC. Arteriovenous shunting in hepatocellular carcinoma: its prevalence and clinical significance [J]. Clin Radiol, 1997, 52: 36 - 40.
- [2] 姜在波, 李征然, 单 鸿, 等. 原发性肝癌合并肝动-门脉瘘的介入治疗: 105 例临床分析 [J]. 中华放射学杂志, 2004,

- 38: 36 - 39.
- [3] Mori T, Kazita K, Chokyu K, et al. Short-term arteriographic and clinical outcome after cerebral angioplasty and stenting for intracranial vertebr-basilar and carotid at athrosclerosis occlusive disease[J]. AJNR, 2000, 21: 249 - 254.
- [4] Sherif A, Karacagil S, Magnusson A, et al. Endovascular approach to treating secondary arteriouretal fistula [J]. Scand J Urol Nephrol, 2002, 36: 80 - 82.
- [5] Maras D, Lioupis C, Magoufis G, et al. Covered-stent graft treatment of traumatic internat carotid artery pseudoaneurysms;a review[J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2006, 29: 958 - 968.
- [6] Boudghene FP, Sapoval MR, Bonneau M, et al. Abdominal aortic aneurysms in sheep: prevention of rupture with endoluminal stent-grafts[J]. Radiology, 1998, 206: 447 - 454.
- [7] Gua LX, Santrab S, Mericle RA, et al. Finite element analysis of covered microstents [J]. Biomachanics, 2005, 38: 1221 - 1227.
- [8] 牛 杰, 郭静萱, 毛节明, 等. 冠状动脉支架内再狭窄的相关因素分析[J]. 中国介入心脏病学杂志, 2003, 11: 5 - 7.
- [9] Boudghene FP, Sapoval MR, Bonneau M, et al. Abdominal aortic aneurysms in sheep: prevention of rupture with endoluminal stent-grafts[J]. Radiology, 1998, 206: 447 - 454.
- [10] 王永利, 贺能树, 张家兴, 等. 血管成形术后外膜细胞表型转化和迁移的实验研究[J]. 介入放射学杂志, 2006, 15: 424 - 429.
- [11] Tepe G, Duda S, Hanke H, et al. Covered stents for prevention of restenosis: experimental and clinical results with different stent designs[J]. Invest Radiol, 1996, 31: 223 - 229.
- [12] 李文涛, 王建华, 刘清欣, 等. 国产硅酮覆膜支架血液相容性的实验研究[J]. 介入放射学杂志, 2005, 14: 175 - 177.

(收稿日期:2007-05-15)