

## • 实验研究 Experimental research •

## 射频消融对活体动物肢体长骨损毁后的修复情况

胡继红, 王 会, 赵 卫, 易根发

**【摘要】 目的** 通过对活体猪股骨、胫骨骨端和骨干进行射频消融术 (radiofrequency ablation, RFA), 观察骨端和骨干损毁后的修复情况, 探讨活体动物长骨损毁后 RFA 灶的修复情况, 为骨肿瘤的临床 RFA 治疗提供依据。**方法** 取云南小耳猪 6 头, 在麻醉下, 于不同时间分次对股骨、胫骨骨干、骨端行 RFA, 并于 RFA 后即刻、3、10、24 d 和 5、8、12 周处死动物, 取骨干、骨端标本, 进行骨切片和 HE 染色, 镜下观察 RFA 灶组织学改变。同时采用 X 线和 CT 检查 3、10、24 d 和 5、8、12 周骨干、骨端 RFA 后的骨质修复情况。**结果** RFA 后 3 ~ 10 d, 骨质 RFA 边缘充血出血带内见炎性反应及肉芽组织形成; RFA 后 10 d, RFA 灶边缘可见低密度的骨质吸收带; RFA 后 24 d 可见 RFA 灶外缘最先形成的纤维组织内有新生骨质形成, X 线和 CT 检查见 RFA 灶边缘的骨质吸收带更宽, 而且 RFA 灶骨质吸收带外缘的骨质增生硬化; 5、8、12 周时, RFA 灶修复性骨质增生更明显, 骨端 RFA 灶低密度骨质吸收区缩小, 骨干髓腔因骨质增生而狭窄。RFA 灶邻近的骨外膜可有反应性成骨, 形成骨膜下条状骨痂。**结论** RFA 后 3 ~ 10 d, 在 RFA 灶边缘的出血充血带可见炎性反应及肉芽组织形成, 10 d 时表现纤维性修复, 24 d 时表现骨性修复。

**【关键词】** 骨肿瘤; 射频消融术; 长骨; 动物研究

中图分类号: R681 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2013)-08-0670-04

**The repair process of radiofrequency ablation - induced long bone damages of the limb: an experimental study in vivo** HU Ji-hong, WANG Hui, ZHAO Wei, YI Gen-fa. Medical Imaging Center, the First Affiliated Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650032, China

Corresponding author: ZHAO Wei, E-mail: kyzyzhaowei@vip.km169.net

**【Abstract】 Objective** Through observing the repair process of radiofrequency ablation - induced injuries of the epiphysis and diaphysis of the long bones (pig's femur and tibia) *in vivo* to clarify the repair process of the lesions caused by radiofrequency ablation (RFA) so as to provide the basic theory of RFA treatment for bone tumors. **Methods** Six Yunnan small - ear swine were used for this study. Under anesthesia, RFA was separately carried out to the epiphysis and diaphysis of the left femur and tibia. At 7, 32 and 53 days as well as at 2, 5 and 7 weeks after the initial RFA, second RFA was performed on the epiphysis and diaphysis of the right femur and tibia. The pigs were sacrificed separately each time immediately after as well as at 3, 3, 10, 24 days and 5 weeks after the second RFA. The specimens of the epiphysis and diaphysis (instant, 3, 10, 24 days and 5, 8, 12 weeks after RFA) were collected for pathologic examinations. Bone section and HE dyeing were made, and microscopic examination of RFA lesions was carried out. Radiography and CT scanning performed at 3, 10, 24 days and 5, 8, 12 weeks were used to observe the repair status of the lesions at the epiphysis and diaphysis. The results were analyzed. **Results** At 3 - 10 days after RFA, inflammatory reaction and granulation were seen in the hyperemic and bleeding area around the RFA lesions. Ten days after RFA, low density bone absorption band was observed at the lesion's periphery. Twenty - four days after RFA, new bone formation was demonstrated within the earliest formed peripheral fibrous tissue, and on radiographs and CT images the bone absorption band became wider with bone hyperplasia sclerosis at its outer border. At 5, 8 and 12 weeks after

RFA, the repair bone hyperplasia of the lesion was more obvious, the low density bone absorption area at the epiphysis was reduced, and the medullary cavity of the diaphysis became narrowed due to bone hyperplasia. Reactive osteogenesis was seen at the outer periosteum adjacent to the RFA lesions, which was characterized by strip-like callus beneath the periosteum. **Conclusion** During 3 – 10 days after RFA, inflammatory reaction and granulation appear in the hyperemic and bleeding area around the RFA lesions. At ten days after RFA fibrous repair starts and at 24 days osseous repair emerges. (J Intervent Radiol, 2013, 22: 670-673)

**【Key words】** bone tumor; radiofrequency ablation; long bone; animal study

射频消融(radiofrequency ablation, RFA)是一种微创的局部热损毁技术, 现已广泛应用于肝癌、肺癌、乳腺癌等实体性恶性肿瘤的临床治疗中, 具有疗效确切、安全、创伤小、无毒性作用等特点<sup>[1-3]</sup>。近年 RFA 逐渐应用于骨骼系统疾病, 如骨样骨瘤、软骨母细胞瘤及转移性肿瘤等, 取得较好疗效<sup>[4-8]</sup>。但是, 恶性骨肿瘤对骨质的破坏往往是不规则的, 在进行 RFA 时难免会损伤正常骨组织。而目前对骨髓、松质骨、密质骨等不同骨组织的 RFA 后骨质修复的情况尚少有明确研究, 本研究选择在活体猪正常肢体长骨上进行 RFA, 观察骨损毁后的修复情况, 以得到更接近临床应用的实际情况, 希望能为临床骨肿瘤 RFA 的治疗提供相关依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

取体重  $(55 \pm 3)$  kg 的云南小耳猪 6 头, 由昆明医科大学动物科提供。RFA 仪及电极为北京博莱特公司产品及配套 RFA-1315 型多极消融电极针, 影像导向设备为荷兰飞利浦公司生产的大平板血管造影机, 配套 CT 扫描功能。DVD9SB 型骨科电钻, 由广东妙达工具有限公司提供。

### 1.2 方案设计

6 头猪在麻醉状态下于左侧股骨、胫骨骨干及骨端行 RFA, 分别于 7、32、53 d 和 2、5、7 周后于右侧股骨、胫骨骨干和骨端再次行 RFA, 并于再次 RFA 术后即刻、3、10、24 d 和 5 周分批处死动物, 取 RFA 后不同时间(即刻、3、10、24 d 和 5、8、12 周)的骨端和骨干标本。所有实验猪在处死前均在麻醉状态下行 X 线和 CT 检查。实验猪处死后获取的标本立即用 4% 甲醛固定, 肉眼观察及测量后, 送病理室切片, 行 HE 染色, 镜下观察 RFA 灶组织学改变。获取 RFA 后即刻、3、10、24 d 和 5、8、12 周骨干、骨端系列病理标本及 X 线和 CT 影像资料。

### 1.3 实验步骤

戊巴比妥  $10 \sim 20$  mg/kg 体重, 3% 浓度基础麻

醉后 6 ml/h 开放耳缘静脉静滴维持麻醉, 麻醉满意后, 将实验猪侧放于 DSA 检查床上, 注意让猪的头颈部侧放, 以免麻醉状态下呼吸道不通畅而至实验猪窒息死亡。

C 臂旋转透视下定位、选择后肢胫骨或股骨, 局部皮肤消毒、铺巾, 皮肤穿刺点纵向切口 3 mm。C 臂旋转透视引导下用骨科穿刺针沿皮肤切口穿刺至骨膜并用金属套管逐层扩张软组织通道直至骨皮质表面固定, 形成工作通道, 沿工作通道送入克氏针, 用骨科钻将克氏针钻入骨端或骨干预定的消融部位。C 臂旋转透视下确认针道是否合适, 满意后退出克氏针, 沿套管送入 RFA 电极针并打开, 再次透视确认电极针位置及其子针打开情况, 满意后将 RFA 电极及负极板连接到 RFA 仪, 打开电源启动 RFA 治疗软件, 设置 RFA 条件: 中心温度  $90^{\circ}\text{C}$ , 消融持续时间 15 min。

RFA 完毕后退出 RFA 电极针。消毒包扎消融局部, 小夹板固定肢体。臀部肌注庆大霉素 8 万 u。待实验猪麻醉苏醒, 送回养殖所, 继续观察, 直至完全苏醒。术后每天肌注庆大霉素 8 万 u, 连续注射 5 d。每天喂养 2 次, 饲料量要足够, 这样可减少猪的活动, 尽量降低 REA 后猪因活动至 RFA 长骨骨折的可能。

### 1.4 标本处理

1.4.1 大体标本 按设计时间将实验猪深度麻醉处死后, 取后肢大腿或小腿 RFA 相应部位, 除去外面的皮肤, 保留消融骨骼及附近的肌肉等软组织。C 臂旋转透视确认针道后沿针道用钢锯条分别将标本纵向或横向锯开并进一步锯成  $1.0 \sim 1.5$  cm 的骨片, 4% 甲醛液固定后肉眼观察标本消融灶。

1.4.2 病理切片 将大体骨片标本送至病理室, 对整个标本充分脱钙处理, 乙醇梯度脱水, 石蜡包埋, 平行于切开平面连续切片, 切片厚度为  $5 \mu\text{m}$ , HE 染色。光镜下观察 RFA 灶组织学改变。

## 2 结果

### 2.1 RFA 后即刻

中部为凝固性坏死区,呈灰白色、椭圆形;周围为出血充血带,呈灰褐色,宽窄不均;外围为正常组织区。见图 1。

### 2.2 RFA 后 3 ~ 10 d

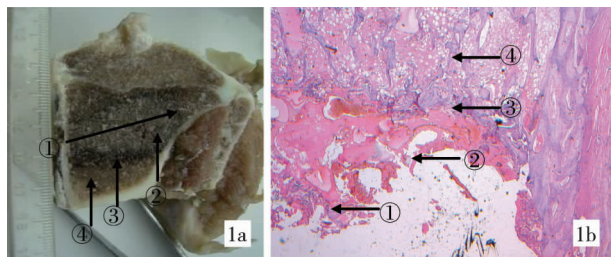
可在 RFA 边缘的充血出血带内见到炎症反应及肉芽组织形成,肉芽组织分解吸收坏死的组织并向内逐步推移,随后肉芽组织按形成的先后顺序逐渐成熟为纤维结缔组织;RFA 后 10 d,X 线和 CT 检查在 RFA 灶边缘可见低密度骨质吸收带。

### 2.3 RFA 后 24 d

可见在 RFA 灶外缘最先形成的纤维组织内有新生骨质形成,X 线和 CT 检查见 RFA 灶边缘的骨质吸收带更宽,并随着肉芽组织向内吸收坏死骨质而向内推移增宽。

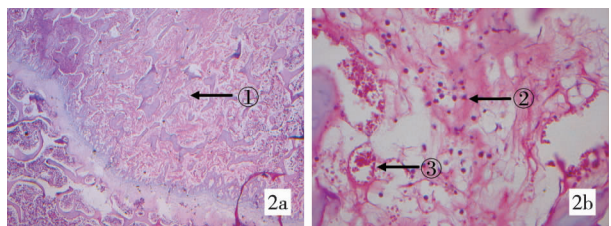
### 2.4 RFA 5、8、12 周

RFA 灶骨质吸收带外缘的骨质增生硬化并随时间推移向内推移,RFA 灶修复性骨质增生更明显,骨端 RFA 灶低密度骨质吸收区缩小,骨干髓腔因骨质增生而狭窄。RFA 灶邻近的骨外膜可有反应性成骨,形成骨膜下条状骨痂。见图 1 ~ 7。



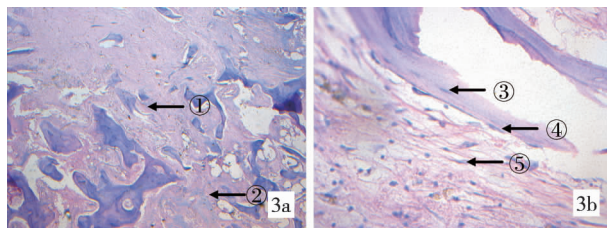
1a ① 电极针道方向,② 1b ① 碎裂的骨小梁和骨髓组织;② RFA 灶凝固性坏死区;③ 出血灶和炎性渗出物;④ 骨小梁及出血 RFA 的充血出血带;⑤ 正常血灶带;⑥ 功能性坏死区(HE)松骨质

图 1 RFA 后即刻胫骨骨端大体标本和组织切片



2a RFA 边缘的充血出血带内 2b 局部区域放大图像 (HE, x 见到炎症反应及肉芽组织形成 400)① 炎性反应及肉芽组织带;② (HE, x 25) 炎性细胞;③ 新生的毛细血管炎

图 2 RFA 后 10 d 胫骨骨端组织切片所见



3a RFA 灶外缘最先形成的纤维 3b 胫骨骨端组织局部区域的组织内有新生骨质形成 (HE, x 放大图(HE, x 400)① 新生骨小梁, ② 纤维组织, ③ 新生骨细胞, ④ 新形成骨细胞, ⑤ 纤维细胞

图 3 RFA 后 24 d 胫骨骨端组织切片所见

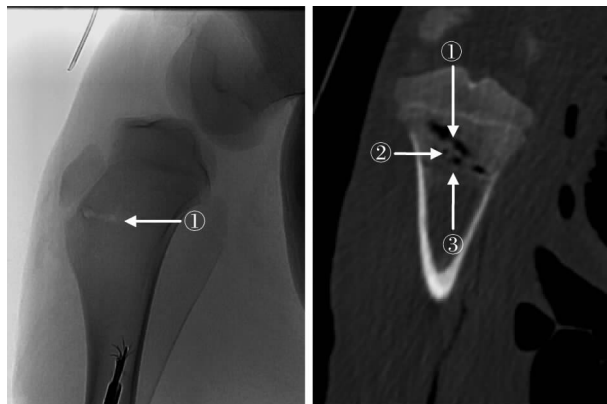


图 4 RFA 后即刻胫骨骨端 X 线表现(① 电极针道) 图 5 RFA 后 10 d 胫骨骨端 CT 表现 (① 电极针道, ② RFA 灶, ③ 骨质吸收带)

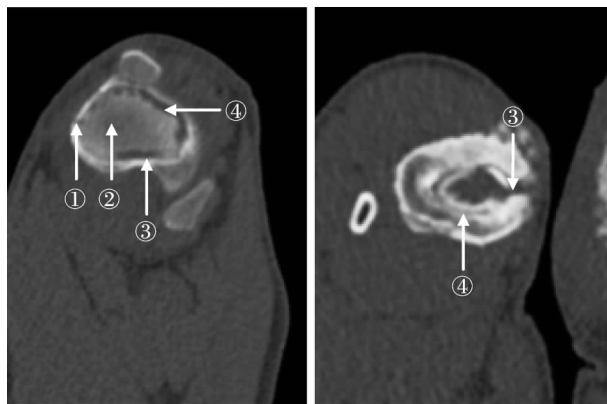


图 6 RFA 后 5 周胫骨骨端 CT 图像(① 消融针道;② 尚 CT 图像 (③ 电极针道;④ 未吸收的消融坏死灶内骨质; 新生骨质) ③ 消融灶边缘的骨质硬化带; ④ 消融坏死灶边缘的骨质吸收带)

## 3 讨论

RFA 是在影像导向下,将电极置入肿瘤中心,通过 RFA 仪测控单元和计算机控制,将频率为 460 ~ 500 kHz 的射频电流通过消融电极传送到肿瘤内的一种热凝固疗法。大量动物及临床研究表



明,骨肿瘤在 50℃时,4~6 min 即可发生不可逆的细胞坏死,30 min 即可杀死全部骨肿瘤细胞<sup>[9-11]</sup>。RFA 治疗是一种微创和局部的治疗手段,可单独应用,亦可联合其他治疗方法综合治疗骨肿瘤,可降低肿瘤复发,缓解患者骨性疼痛,延长生命,提高生活质量,为不愿意手术或不能耐受手术的骨肿瘤患者提供了一种新的治疗方法<sup>[12]</sup>。

RFA 对密质骨的损毁作用明显受限,镜下显示仅针道旁 0.01 cm 范围内密质骨出现坏死,这也与其他研究一致<sup>[13]</sup>。从大体标本及其影像检查发现,将 RFA 前后骨质对比可知 RFA 灶坏死的骨质从边缘开始吸收并逐渐向内延伸,RFA 后 3~10 d,在 RFA 灶边缘的出血充血带可见炎性反应及肉芽组织形成,10 d 时表现纤维性修复,24 d 时表现骨性修复。骨骼具有适应和修复功能<sup>[14]</sup>,骨骼体系的动态平衡通过骨骼的自身修复过程维持。RFA 对骨损毁后修复情况与骨折骨痂的形成过程相类似,其本质上是骨损伤后骨组织的再生过程,损毁区间充质细胞募集、增生,软骨细胞形成、分化、软骨基质钙化,新生血管形成、迁移,成骨细胞形成,骨基质形成、分化和钙化,新生骨组织改建等。骨膜、骨质和骨髓等组织损伤或断裂,同时损伤了骨骼周围的小血管,引起血管破裂、出血,形成血肿。伤后 4~5 h,损伤部位血液开始凝固,形成含有网状纤维素的血凝块。血肿刺激使损伤部位的毛细血管、成纤维细胞等再生,并从两端同时向血肿内生长,犹如树根在土壤内生长一样。这些新生的毛细血管、成纤维细胞和吞噬细胞从各个方向侵入血凝块和坏死组织,并分裂繁殖,最后积血清除,形成肉芽组织,肉芽组织再进一步转成纤维组织,这一时期需 2~3 周完成。在骨的表面有一层骨膜,它对骨的再生和生长有非常重要的作用。在损伤后 1 周,骨膜内的成骨细胞开始大量分裂增生,形成新生骨,并从损伤两端沿血肿机化后变成纤维组织,最后两端连接,将纤维组织变成骨组织,这一时期需 4~6 周完成。

由于骨组织在不同种属的动物之间存在高度的同源性<sup>[15]</sup>,本实验初步探讨了活体动物长骨在 RFA 损毁后的修复过程,希望为临床开展骨肿瘤的 RFA 治疗提供有价值的参考信息。

#### [参考文献]

[1] Massarweh NN, Park JO, Farjah F, et al. Trends in the

utilization and impact of radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma[J]. J Am Coll Surg, 2010, 210: 441 - 448.

- [2] Pavlovich CP, Walther M, Choyke PL, et al. Percutaneous Radio frequency ablation of small renal tumors: initial results [J]. World J Urol, 2002, 167: 10 - 15.
- [3] Steinke K. Radiofrequency ablation of pulmonary tumours: current status[J]. Cancer Imaging, 2008, 8: 27 - 35.
- [4] Rimondi E, Mavrogenis AF, Rossi G, et al. Radiofrequency ablation for non-spinal osteoid osteomas in 557 patients[J]. Eur Radiol, 2012, 22: 181 - 188.
- [5] Georgy BA. Bone cement deposition patterns with plasma - mediated radio-frequency ablation and cement augmentation for advanced metastatic spine lesions [J]. Am J Neuroradiol, 2009, 30: 1197 - 1202.
- [6] Majerović M, Augustin G, Jelincić Z, et al. Endomedullary radiofrequency ablation of metastatic lesion of the right femur 5 years after primary breast carcinoma: a case report [J]. Coll Antropol, 2008, 32: 1267 - 1269.
- [7] Munk PL, Malfair D, Rashid F, et al. Radiofrequency ablation of solitary eosinophilic granuloma of bone[J]. Am J Roentgenol, 2008, 191: W320 - W321.
- [8] Nakatsuka A, Yamakado K, Takaki H, et al. Percutaneous radiofrequency ablation of painful spinal tumors adjacent to the spinal cord with real - time monitoring of spinal canal temperature: a prospective study [J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2009, 32: 70 - 75.
- [9] 汝 鸣, 蔡郑东, 郑龙坡, 等. Paiban 骨组织单电极射频消融的范围及热场分布[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12: 5865 - 5868.
- [10] 彭赵宏, 赵 卫, 沈 进, 等. 离体猪椎体多极射频消融范围及热场分布[J]. 介入放射学杂志, 2009, 18: 927 - 929.
- [11] 王 会, 胡继红, 赵 卫. 骨肿瘤的消融治疗[J]. 介入放射学杂志, 2012, 21: 879 - 883.
- [12] 张丽云, 陈克敏, 王忠敏. 骨肿瘤射频消融治疗研究进展[J]. 介入放射学杂志, 2009, 18: 395 - 397.
- [13] Rachbauer F, Mangat J, Bodner G, et al. Heat distribution and heat transport in bone during radiofrequency catheter ablation [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2003, 123: 86 - 90.
- [14] Tezuka K, Wada Y, Takahashi A, et al. Computer - simulated bone architecture in a simple bone-remodeling model based on a reaction-diffusion system[J]. J Bone Miner Metab, 2005, 23: 1 - 7.
- [15] 戴景兴, 杨林林, 曲戎梅, 等. 猪源性骨支架材料的制备及性能研究[J]. 中国临床解剖学杂志, 2007, 25: 439 - 442.

(收稿日期:2012-11-01)

(本文编辑:侯虹鲁)