

• 实验研究 Experimental research •

三丙烯微球栓塞肾动脉的实验研究

朱国庆, 虞希祥, 肖池金, 施振静, 施昌盛

【摘要】 目的 探讨三丙烯微球的动脉栓塞效果、不良反应及组织相容性。**方法** 将 36 只日本大耳白兔随机分成 A、B 两组, 每组 18 只。A 组用三丙烯微球(300 ~ 500 μm)栓塞右肾动脉; B 组用聚乙烯醇(PVA)颗粒(300 ~ 500 μm)栓塞右肾动脉。两组于术后 1、4 和 8 周分别随机抽取 6 只动物行肾动脉造影复查, 并取肾脏行病理检查。**结果** 两组栓塞后组织形态改变相似, 在复通率、误栓率方面组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。A 组栓塞时间为(11.4 ± 2.1)min, B 组为(29.2 ± 4.3)min, A 组栓塞时间明显较 B 组缩短($P < 0.05$)。A 组栓塞后血管周围炎症反应均较 B 组低($P < 0.05$), 栓塞血管相符率较 B 组高。**结论** 三丙烯微球与 PVA 颗粒动脉栓塞效果相似, 安全有效, 但三丙烯微球比 PVA 颗粒操作简便, 可预见性强, 组织相容性好, 是值得临床应用和推广的栓塞剂。

【关键词】 肾动脉; 栓塞; 三丙烯微球; 动物实验

中图分类号: R543.5 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2013)-07-0578-04

Tris - acryl gelatin microspheres used as an embolic agent for renal artery embolization: an experimental study in rabbits ZHU Guo-qing, YU Xi-xiang, XIAO Chi-jin, SHI Zhen-jing, SHI Chang-sheng. Department of Interventional Radiology, the Third Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou, Zhejiang Province 325200, China

Corresponding author: ZHU Guo-qing, E-mail: zhuguoqing2007@126.com

【Abstract】 Objective To study the embolic effects of tris-acryl gelatin microspheres for renal artery embolization in experimental rabbits, and to discuss the side effects and tissue compatibility of tris-acryl gelatin microspheres. **Methods** A total of 36 Japanese white rabbits were randomly and equally divided into Group A and Group B. Group A ($n = 18$) received right renal artery embolization by using tris-acryl gelatin microspheres (300 - 500 μm) as the embolic agent, while Group B ($n = 18$) received right renal artery embolization by using PVA particles (300 - 500 μm) as the embolic agent. Every six rabbits from group A and group B each time at one, 4 and 8 weeks after the embolization procedure were sacrificed after renal angiography. The kidneys were removed and sent for pathologic examination. The angiographic findings were analyzed. The results were compared between the two groups. **Results** After the embolization procedure the renal morphological changes in the two groups were similar. No statistically significant difference in re-canalization rate and non-target tissue embolization rate existed between the two groups ($P > 0.05$). The average operation time in group A and group B was (11.4 ± 2.1) min. and (29.2 ± 4.3) min. respectively. The operation time in group A was significantly shorter than that in Group B ($P < 0.05$). Post-embolization perivascular inflammatory reaction in group A was distinctly slighter than that in group B ($P < 0.05$). The coincidence rate of obstructed vessels with scheduled target vessels in group A was higher than that in group B. **Conclusion** Both tris-acryl gelatin microspheres and PVA particles are effective and safe embolic agents. But the performance of embolization with tris-acryl gelatin microspheres is technically simple with reliable predictability. Moreover, tris-acryl gelatin microsphere has better histological compatibility. Therefore, the use of tris-acryl gelatin microspheres as embolic agent should be advocated in clinical practice. (J Intervent Radiol, 2013, 22: 578-581)

【Key words】 renal artery; embolization; tris - acryl gelatin microsphere; animal experiment

基金项目: 瑞安市科技局资助项目(201102035)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2013.07.013

作者单位: 325200 浙江瑞安 温州医学院附属第三医院介入科

通信作者: 朱国庆 E-mail: zhuguoqing2007@126.com

随着介入放射学的迅速发展,经导管血管栓塞术(transcatheter embolization, TAE)在临床工作中发挥着越来越重要的作用。聚乙烯醇(PVA)颗粒是目前临床应用较广的颗粒性血管栓塞剂,然而其形状不规则,摩擦系数高,容易聚集阻塞导管,给临床治疗操作带来不便^[1]。三丙烯微球是一种较新的球形动脉末梢栓塞剂,具有亲水性、大小均一、不易聚集和操控性强等特点。本实验分别用 300 ~ 500 μm 三丙烯微球与 PVA 颗粒选择性栓塞兔肾动脉,观察三丙烯微球的栓塞效果和组织相容性,并与 PVA 颗粒进行比较。

1 材料与方法

1.1 实验材料

成年健康日本大耳白兔 36 只,雌雄不限,体重 2.0 ~ 3.0 kg,分为 A 组和 B 组,每组 18 只。A 组用三丙烯微球栓塞右肾动脉,B 组用 PVA 颗粒栓塞右肾动脉。

1.2 实验方法

两组动物于栓塞完毕后 5 min 造影,右肾及右肾门节段动脉不显影者作为适合继续观察的对象。术后第 1、4、8 周,两组各随机抽取 6 只动物行双侧肾动脉造影,术后取双侧肾脏行苏木精-伊红(HE)染色和血管弹力纤维染色检查。HE 染色的切片在光学纤维镜下观察栓塞剂所栓塞的动脉及周围细胞成分、炎症反应、肾实质及肾间质改变,评判标准采用国家技术监督局发布的“医用有机硅材料生物学评价试验方法”^[2]。炎症细胞反应分级标准:Ⅰ级

为试样周围未见或仅见极少量淋巴细胞;Ⅱ级为试样周围可见少量淋巴细胞;Ⅲ级为试样周围有少量中性粒细胞、淋巴细胞浸润和巨细胞反应;Ⅳ级为试样周围可见以中性粒细胞浸润为主的炎症反应,可见吞噬细胞。弹力纤维染色切片观察栓塞剂所在动脉的弹力层破坏程度,评判标准采用 Schwartz 方法^[3]。动脉内膜弹力层破坏分级标准:0 级为动脉内膜弹力层完整;Ⅰ级为动脉内膜弹力层破坏,中弹力层及外弹力层完整;Ⅱ级为动脉内膜弹力层、中弹力层破坏,外弹力层完整;Ⅲ级为动脉内膜弹力层、中弹力层及外弹力层均破坏。

1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 软件包进行分析,两组间计数资料比较采用卡方检验,计量资料采用均数 \pm 标准差表示,两两比较采用 *t* 检验,重复测量数据采用重复测量设计的方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验室指标分析

从表 1 可见,丙氨酸转氨酶(ALT)、尿素氮(BUN)和肌酐(CRE)在术后第 3 天升高最明显,第 1 周时 ALT 大部分恢复正常,栓塞后 2 周基本恢复至正常水平;而 BUN 和 CRE 在栓塞后第 3 天 ~ 1 周时仍明显高于栓塞前水平($P < 0.05$),至 2 周时基本维持在正常水平,4 周以后虽然大多数维持在基础水平,但天冬氨酸转氨酶(AST)术后一直升高,第 7 天升高最明显,2 周以后恢复至栓塞前水平。

表 1 两组动物栓塞后不同时间实验室指标的变化

组别	时间	动物数	血液生化指标			
			ALT(U/L)	AST(U/L)	CRE($\mu\text{mol/L}$)	BUN($\mu\text{mol/L}$)
A 组	术前	18	49.4 \pm 13.3	29.0 \pm 8.0	92.8 \pm 13.1	9.25 \pm 0.87
	术后 3 d	18	108.8 \pm 25.0	47.8 \pm 11.9	159.6 \pm 32.3	16.89 \pm 2.35
	术后 7 d	18	54.2 \pm 12.2	71.1 \pm 15.5	124.4 \pm 21.4	11.99 \pm 2.33
	术后 14 d	12	49.8 \pm 10.4	30.5 \pm 6.7	97.4 \pm 11.6	9.68 \pm 1.32
	术后 30 d	6	48.7 \pm 9.3	29.3 \pm 7.1	94.7 \pm 15.9	9.49 \pm 0.97
B 组	术前	18	50.2 \pm 13.3	29.6 \pm 7.9	91.6 \pm 7.6	9.21 \pm 0.83
	术后 3 d	18	108.6 \pm 23.9	48.1 \pm 10.9	160.3 \pm 24.7	17.42 \pm 1.99
	术后 7 d	18	53.6 \pm 11.6	72.9 \pm 12.5	126.5 \pm 18.0	12.57 \pm 2.26
	术后 14 d	12	48.9 \pm 9.5	30.0 \pm 6.3	103.7 \pm 11.7	10.21 \pm 1.10
	术后 30 d	6	49.0 \pm 8.7	29.7 \pm 8.3	96.3 \pm 13.1	9.65 \pm 0.74

注:ALT = 丙氨酸转氨酶,BUN = 尿素氮,CRE = 肌酐,AST = 天冬氨酸转氨酶

2.2 栓塞结果

所有实验手术由 2 位经验丰富的主治医师操作,均获成功。在栓塞过程中,A 组三丙烯微球通过导管较 B 组 PVA 颗粒顺畅,操作时间明显缩短;A 组未出现导管阻塞,B 组有 3 只出现导管阻塞,经更换

导管后完成栓塞操作。栓塞及造影复查结果见表 2。

2.3 病理组织学变化

2.3.1 相同点 1 周后栓塞肾周围组织出现粘连,肾脏大小形态与对侧比较无明显改变,表面较健侧肾毛糙,栓塞侧肾脏栓塞后均可见局灶性肾小球萎

表 2 两组血管栓塞后再通及操作时间比较

组别	动物数	复查再通血管(支)	健侧肾误栓(只)	栓塞时间(min) ^a
A 组	18	6(79)	1(18)	11.4 ± 2.1
B 组	18	5(73)	3(18)	29.2 ± 4.3
P 值		0.86	0.60	0.00

注:^a 微导管选择性插入右肾动脉开始注入栓塞剂至栓塞完成时间

缩、变性、坏死,肾小管变性及炎性细胞浸润,弥漫性间质血管扩张、淤血。4 周后栓塞肾周围组织明显粘连,肾脏明显萎缩,体积变小,表面凹凸不平,纤维瘢痕形成。广泛性肾小球萎缩、玻璃样变性,肾小管上皮细胞颗粒样变性,胞核结构消失,部分小管上皮细胞萎缩,局部肾组织呈片灶状纤维化改变,伴有内部组织钙化,肾间质纤维结缔组织增生。8 周后栓塞纤维化更明显,质地明显硬韧,体积更小。肾组织结构稀疏,小球小管结构大多消失,肾组织呈弥漫性颗粒样变性,肾组织内可见钙化灶,钙化周围可见大量纤维结缔组织形成。

2.3.2 不同点 A 组三丙烯微球除了集中在叶间动脉,弓形动脉外,还有大部分在肾门节段动脉、肾动脉主干内;B 组 PVA 颗粒主要集中在肾门节段动脉、肾动脉主干,少部分在叶间动脉内。三丙烯微球在镜下为圆形,少部分成椭圆形;PVA 颗粒镜下为不规则、尖角状。三丙烯微球靶血管栓塞相符率高,大部分栓塞血管的微球颗粒只有 1 粒,与动脉管腔间隙小,达到致密栓塞,微球表面无血栓包裹(图 1);PVA 颗粒栓塞血管直径大于 PVA 颗粒直径,栓塞相符率低,呈不规则聚集,混合血栓(图 2)。三丙烯微球与 PVA 颗粒栓塞动脉后均出现炎症反应,三丙烯微球动脉周围炎症反应较 PVA 颗粒轻微,炎症持续 1 周左右(表 3)。炎症反应早期主要以中性粒细胞浸润为主,在 1 周后炎症反应以淋巴细胞和中性粒细胞浸润为主。异物巨细胞反应在栓塞后 1 ~ 2 周开始出现,至第 8 周研究结束时仍较明显。两组栓塞后不同时间肾门节段动脉病理改变分析结果见表 4。

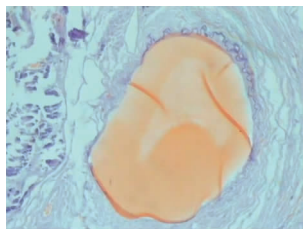


图 1 三丙烯微球栓塞后血管内微球达到致密栓塞,动脉壁轻度增厚,周围几乎未见炎症细胞

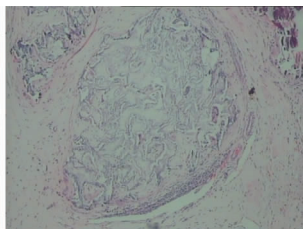


图 2 PVA 栓塞后 PVA 颗粒聚集填充血管腔,血栓基本消失,动脉壁增厚,血管内可见异物巨细胞及动脉壁炎症细胞

表 3 栓塞剂周围炎症反应的平均级别 ($\bar{x} \pm s$)

组别	周围炎症反应级别		
	1 周	4 周	8 周
A 组	2.17 ± 0.75	1.33 ± 0.52	1.17 ± 0.52
B 组	3.33 ± 0.82	2.33 ± 0.82	2.00 ± 0.63
t	2.57	2.54	2.71
P	0.03	0.03	0.02

表 4 动脉内膜弹力层破坏的平均级别 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动脉内膜弹力层破坏的平均级别		
	1 周	4 周	8 周
A 组	1.17 ± 0.75	1.00 ± 0.63	1.17 ± 0.41
B 组	2.17 ± 0.75	2.33 ± 0.52	2.17 ± 0.41
t	2.30	4.00	4.24
P	0.04	0.003	0.002

3 讨论

三丙烯微球是一种包裹胶原蛋白的丙烯酸树脂微球,是亲水而不可吸收的栓塞材料,其特点是微球形态均一,表面光滑,不易聚集,易通过微导管,即使直径大于微导管的微球也可以变形通过,能到达所要栓塞的终末部位^[3-5]。栓塞后造影复查两组血管再通率差异无统计学意义,且术后第 1 周复查均未发生再通,但病理学提示两组栓塞后都达到栓塞肾缺血,梗死完全,最后萎缩,钙化伴瘢痕形成,我们分析再通原因可能与 PVA 呈不规则状、聚集成簇、混合血栓有关,颗粒堵塞的动脉仍有空隙,随着时间的进展,再通可能由于血栓的吸收和血管再生所致^[6]。对于三丙烯微球栓塞后出现再通现象,与 Stampfl 等^[7]报道的结果相似,但目前不能明确原因,因为三丙烯微球栓塞血管直径与栓塞剂直径相符率高,微球与动脉管腔间隙小,微球表面无血栓形成,主要以机械栓塞为主^[8],可能与微球和栓塞血管锚定不牢固有关,栓塞侧血管由于缺血缺氧调节毛细血管网开放,栓塞剂迟发性地向远端血管移行,使血管内栓塞再分布。另外,栓塞时微球吸收对比剂膨胀,栓塞后微球脱水变小,可能对栓塞后再通起一定的作用。

300 ~ 500 μm PVA 颗粒是临床上较常用的栓塞剂,由于其形状不规则,已成簇阻塞微导管,给临床治疗带来不便。故本研究采用 300 ~ 500 μm 三丙烯微球与聚乙烯醇对比,两组栓塞后都达到栓塞肾完全梗死,病理示 PVA 颗粒主要集中在肾门节段动脉,三丙烯微球主要集中在叶间动脉,弓形动脉。所有实验兔由 2 位经验丰富的主治医师操作完成,两组采用相同的栓塞剂浓度栓塞(50%盐水和 50%优维显混合液稀释栓塞材料),三丙烯微球组通过导管顺畅,无导管阻塞,推注阻力小,操作时间明显

缩短;而 PVA 组注射栓塞剂时阻力较大,通过导管不顺畅,推注压力大,有 3 只因 PVA 团聚出现导管阻塞,经更换导管后完成栓塞操作,操作时间明显延长。本研究表明 PVA 形状不规则,大小不均,表面粗糙,摩擦力大,高粘附力,使得易在导管、血管内聚集成簇^[9],故容易堵塞导管,需要反复冲洗导管,给操作带来不便,增加操作时间,也容易引起返流,出现异位栓塞。而三丙烯微球具有均一圆球形、亲水性等特点,防止其在导管腔内聚集,便于输送等特点^[10],有效的解决 PVA 的不足之处,无堵管发生,缩短操作时间,给临床治疗带来便利。另外,三丙烯微球组健侧肾出现误栓 1 只,表现为左肾点状坏死;PVA 组健侧肾出现误栓 3 只,表现为左肾片状坏死;可能与 PVA 颗粒容易团聚、栓塞血管直径大于栓塞剂直径有关。栓塞时以右肾及右肾门节段动脉不显影为标准,两组都发生健侧肾轻微误栓,我们考虑与栓塞剂返流有关,可能与术中动脉痉挛、导管阻塞等操作有关,目前样本量较少,有待进一步研究。

两组栓塞剂具有一致的栓塞效果,此结果与国外报道相似^[6]。但 PVA 组栓塞后血管炎症反应及动脉内膜弹力层破坏情况均较微球组加重,这可能与 PVA 栓塞机制有关^[11],PVA 吸水后膨胀,机械性地阻塞血管,表面粗糙 PVA 能导致血管炎症反应和异物反应,从而使血管壁破坏及最终血栓形成。而三丙烯微球是包裹胶原蛋白的高亲水性丙烯酸树脂微球,表面附有带电粒子,具有良好的生物相容性^[6]。

综上所述,三丙烯微球与 PVA 颗粒动脉栓塞效果相似,安全有效,但三丙烯微球比 PVA 颗粒操作简便,省时,可预见性强,组织相容性好,不易聚集,未见堵管现象发生。

[参 考 文 献]

- [1] 国家食品药品监督管理局. 医用有机硅材料生物学平价试验方法[M]. 北京, 中国标准出版社, 2008.
- [2] Schwartz RS, Huber KC, Murphy JG, et al. Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model [J]. J Am Coll Cardiol, 1992, 19: 267 - 274.
- [3] Yamamoto A, Imai S, Kobatake M, et al. Evaluation of tris - acryl gelatin microsphere embolization with monochromatic X Rays: comparison with polyvinyl alcohol particles [J]. J Vasc Interv Radiol, 2006, 17: 1797 - 1802.
- [4] Ohta S, Nitta N, Takahashi M, et al. Degradable gelatin microspheres as an embolic agent: an experimental study in a rabbit renal model[J]. Korean J Radiol, 2007, 8: 418 - 428.
- [5] Laurent A, Beaujeux R, Wassef M, et al. Trisacryl gelatin microspheres for therapeutic embolization, I: development and in vitro evaluation[J]. Am J Neuroradiol, 1996, 17: 533 - 540.
- [6] Khankan AA, Osuga K, Hori S, et al. Embolic effects of superabsorbent polymer microspheres in rabbit renal model: comparison with tris - acryl gelatin microspheres and polyvinyl alcohol[J]. Radiat Med, 2004, 22: 384 - 390.
- [7] Stampfl S, Stampfl U, Rehnitz C, et al. Experimental evaluation of early and long - term effects of microparticle embolization in two different mini - pig models. Part I: kidney [J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2007, 30: 257 - 267.
- [8] Derdeyn CP, Graves VB, Salamat MS, et al. Collagen - coated acrylic microspheres for embolotherapy: in vivo and in vitro characteristics[J]. Am J Neuroradiol, 1997, 18: 647 - 653.
- [9] Pelage JP, Laurent A, Wassef M, et al. Uterine artery embolization in sheep: comparison of acute effects with polyvinyl alcohol particles and calibrated microspheres [J]. Radiology, 2002, 224: 436 - 445.
- [10] Siskin GP, Dowling K, Virmani R, et al. Pathologic evaluation of a spherical polyvinyl alcohol embolic agent in a porcine renal model[J]. J Vasc Interv Radiol, 2003, 14: 89 - 98.
- [11] Germano IM, Davis RL, Wilson CB, et al. Histopathological follow - up study of 66 cerebral arteriovenous malformations after therapeutic embolization with polyvinyl alcohol[J]. J Neurosurg, 1992, 76: 607 - 614.

(收稿日期:2012-11-01)

(本文编辑:侯虹鲁)

[1] 国家食品药品监督管理局. 医用有机硅材料生物学平价试验