

• 实验研究 Experimental research •

经门静脉药物灌注化疗栓塞治疗大鼠
肝泡状棘球蚴病的电镜观察

朱帝文, 穆 民, 任伟新, 胡汉华, 汤朝安, 温 浩

【摘要】 目的 观察并探讨经门静脉灌注阿苯达唑脂质体与碘化油混悬液后大鼠肝泡状棘球蚴组织的电镜下形态学变化过程。方法 以 1 只正常饲养大鼠为空白对照组, 1 只感染泡球蚴病大鼠为实验对照组, 19 只复制成功模型大鼠为实验组分为三组。将 19 只模型大鼠开腹直视下穿刺门静脉, 灌注阿苯达唑脂质体(0.1 ml)和碘化油(0.1 ml)混悬液共 0.2 ml, 分别在 4、7、10 d 后处死动物, 采集标本, 行电镜观察。结果 灌注化疗栓塞后, 4 d 内泡球蚴周边组织结构以炎性改变为主, 泡球蚴组织基本正常。7 d 时可见泡球蚴组织结构发生变性改变, 10 d 可见肝泡球蚴组织结构破坏, 囊泡塌陷, 生发层、角质层结构退变等坏死表现。结论 门静脉途径介入治疗肝泡状棘球蚴病是一种有效的治疗技术方法, 疗效迅速、确切。

【关键词】 肝泡状棘球蚴病; 门静脉; 阿苯达唑; 碘油; 超微结构

中图分类号: R53 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2013)-08-0674-04

Trans-portal vein chemoembolization for the treatment of alveolar echinococcosis in experimental rats: pathologic observation with electron microscope ZHU Di-wen, MU Min, REN Wei-xin, HU Han-hua, TANG Chao-an, WEN Hao. Department of Interventional Radiology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Wulumuqi, Xinjiang Uygur Autonomous Region 830000, China

Corresponding author: REN Wei-xin

【Abstract】 Objective To observe the pathologic changes of alveolar echinococcosis after trans-portal vein infusion of liposome entrapped albendazole and iodinated oil suspension with the help of electron microscope, and to discuss the therapeutic effect of this technique. Methods One normal rat was used as blank control group. One rat with alveolar echinococcosis was used as experimental control group. Laparotomy was performed in nineteen model rats, then, under direct vision the portal vein was punctured, which was followed by an injection of 0.2 ml suspension (0.1 ml liposome entrapped albendazole and 0.1 ml iodinated oil). The experimental rats were divided into three groups. The rats of the three groups were sacrificed at 4, 7 and 10 days after the procedure respectively. The specimens were collected and sent for examination with electron microscope. The pathological results were analyzed. Results Four days after the treatment, the main finding on microscopic examination was inflammatory reaction around the alveolar echinococcosis lesions, while the alveolar echinococcosis structure was basically normal. Seven days after the treatment, degeneration of alveolar echinococcosis tissue began to emerge. And ten days after the treatment, obvious structure destruction of alveolar echinococcosis, collapse of vesicae, degeneration or necrosis of germinal layer and horny layer, etc. could be seen. Conclusion For the treatment of alveolar echinococcosis in experimental rats, trans-portal vein interventional therapy is effective and reliable with prompt response. (J Intervent Radiol, 2013, 22: 674-677)

【Key words】 alveolar echinococcosis; portal vein; albendazole; iodinated oil; extra-microstructure

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2009211A15)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2013.08.014

作者单位: 830000 乌鲁木齐 新疆医科大学第一附属医院介入放射科

通信作者: 任伟新

肝泡状棘球蚴病(泡球蚴病)是一种对人体危害极大的人畜共患寄生虫病,有“虫癌”之称。大多数患者早期症状轻微,诊治较晚,已有较广泛的肝脏和邻近脏器的浸润,手术切除率较低,10年内死

亡率可高达80%^[1]。目前,阿苯达唑被认为是治疗泡球蚴病的首选药物。但该药的治愈率仅为 30%左右,并且疗效不稳定,个体差异大^[2]。

本研究通过建立肝泡球蚴病大鼠模型,开腹门静脉穿刺直接灌注阿苯达唑脂质体及碘化油混悬液,模拟介入治疗途径,观察治疗后大鼠的肝脏组织病理学变化,并探讨其治疗效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物模型复制及分组

1.1.1 实验动物 种鼠为长沙爪鼠 1 只,体重 65 g。清洁级 Wistar 大鼠 40 只,雄性 38 只,雌性 2 只,鼠龄 2 ~ 3 月,体重(200 ± 18)g。

1.1.2 模型建立 40 只 Wistar 大鼠用 10%水合氯醛按 3 ml/kg 腹腔注射麻醉,用 1 ml 注射器经皮肝脏穿刺肝右叶注射 20%泡球蚴原头节悬液 0.2 ml,接种 6 个月后进行超声检查及开腹探查。

1.1.3 动物分组 利用随机数字表将实验动物分为对照组 5 只和实验组 35 只。接种 6 个月后,取复制成功的大鼠肝泡球蚴病模型,对照组大鼠开腹,采集标本,行超微结构观察;实验组大鼠门静脉穿刺缓慢注入阿苯达唑脂质体 0.1 ml 和超液态碘化油 0.1 ml,共 0.2 ml,分别于 4、7、10 d 后处死动物,采集标本。

1.2 电镜标本制备

手术刀切取组织标本,固定 2 h,用缓冲液漂洗 5 min 后依次进行梯度脱水、浸透、包埋、聚合。在甲苯胺蓝染色干燥后光镜下观察,对照定位后,60 ~ 80 nm 超薄切片,再进行染色,电镜观察,拍片。

2 结果

2.1 模型复制

40 只 Wistar 大鼠接种 6 个月后,行超声检查示 21 只大鼠感染泡球蚴,19 只未感染,经开腹探查后证实超声检查 21 只阳性中有 1 只未感染。实际成功复制模型为 20 只。20 只阳性大鼠中单发病灶 17 只,2 个或多个病灶 3 只,病灶最大直径为 3.2 cm。将 20 只阳性大鼠分为对照组 1 只,实验组 19 只。

2.2 电镜超微结构观察

对照组泡球蚴组织角质层、生发层清晰,生发层微绒毛致密排列,分布均匀(图 1)。实验组第 4 天泡球蚴囊壁角质层外侧处聚集大量溶酶体,可见有巨噬细胞、浆细胞等炎性细胞;囊壁内侧溶酶体数量较外侧少,并观察到髓鞘样结构。泡球蚴生发层、

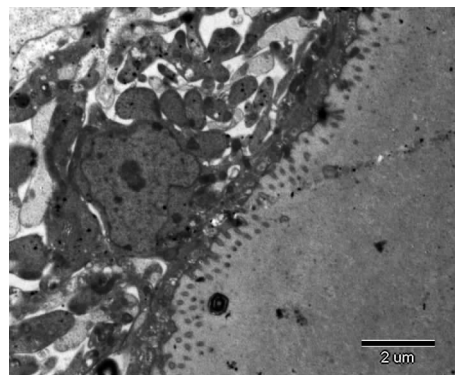
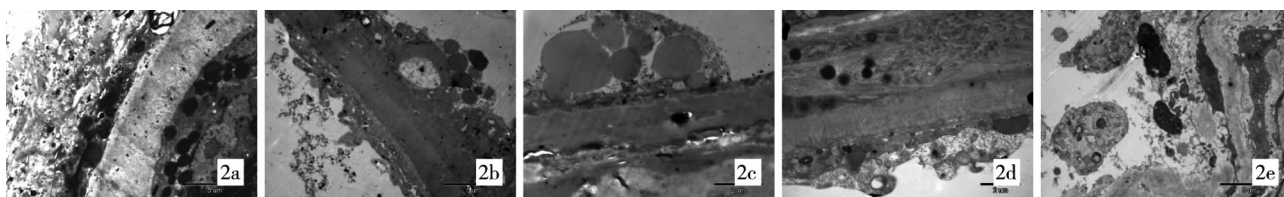


图 1 对照组角质层、生发层清晰,生发层微绒毛致密排列,分布均匀(× 8 000)

角质层结构未见明显改变(图 2a)。第 7 天生发层微绒毛增粗变短,排列稀疏,部分阙如,角质层结构疏松。皮层细胞区内细胞数量稍有减少,细胞排列较疏松。皮层细胞突起减少,其内有少量空泡,内质网增多,稍有扩张,溶酶体数量较前减少,部分转化为次级溶酶体,糖原颗粒较多,囊壁内有较多脂质体颗粒(图 2b ~ 2d)。第 10 天囊壁部分皱缩,其外可见成纤维细胞和胶原纤维,呈纤维化表现;生发层、角质层部分融合,或难以辨认,微绒毛少量或阙如;皮层区变薄或消失,内部结构被破坏,表面微毛很难见到。皮层细胞变少,部分脱落坏死,可见凋亡小体形成。脂质体被分解为直径较小的颗粒,广泛分布于囊泡内,皮层区。有少量溶酶体、次级溶酶体及空泡形成(图 2e)。

3 讨论

肝泡球蚴病的首选治疗方式为根治性手术切除,但大部分患者就诊时肝内重要血管、胆管及周围脏器受侵,根治性切除率低^[3],且术后并发症较多^[4]。而肝移植术治疗晚期肝泡球蚴病,术中根治性切除面临很大困难,术后长期免疫抑制剂的应用使泡球蚴病的复发和再感染率增加,治疗费用增加,难以推广^[5]。非根治性手术治疗方法,如肝泡球蚴不完全切除术、经皮穿刺液化坏死引流、肝泡球蚴经皮肝穿刺胆管引流等,能够改善患者症状,但术后存在胆瘘等并发症,生存期并未延长^[6]。对无法行根治性切除治疗的晚期泡球蚴病患者,阿苯达唑仍是目前首选的治疗方法^[3],但其效果不理想,主要原因是由于血液与病变区的药物浓度差异显著,囊液和囊壁的药物只有血液中的十分之一到百分之一,而大剂量则使药物毒性反应明显^[7]。在目前尚无新的、有效的抗包虫药物应用于临床,如何提高阿苯达唑的治疗效果显得尤为重要。



2a 治疗 4 d, 泡球蚴囊壁 2b 治疗 7 d, 生发层微绒毛增粗变短, 排列稀疏, 部微绒毛阙如, 角质层结构皮内质网增多, 稍有扩张, 溶 2c 治疗 7 d, 生发层变薄, 2d 治疗 7 d, 微绒毛稀少, 2e 治疗 10 d, 囊壁部分皱
处聚集大量溶酶体, 可见有 毛增粗变短, 排列稀疏, 部 微绒毛阙如, 角质层结构皮 内质网增多, 稍有扩张, 溶 缩, 其外可见成纤维细胞和
巨噬细胞、髓鞘样结构($\times 6\ 000$) 分阙如, 角质层结构疏松。层细胞减少, 囊壁内有较多 酶体数量较前减少, 部分转 胶原纤维; 生发层、角质层
6 000) 皮层区细胞数量减少, 有少 脂质体颗粒($\times 12\ 000$) 化为次级溶酶体($\times 10\ 000$) 部分融合, 难以辨认(\times
量空泡($\times 6\ 000$) 6 000)

图 2 实验组治疗不同时间内超微结构所见

介入治疗通过靶血管药物灌注及栓塞, 能够消除口服药物治疗的缺点, 使药物定向或集中于肝泡球蚴组织, 提高药物在局部病变组织的浓度, 从而提高阿苯达唑等药物的治疗效果。根据国内外报道的血管造影表现, 显示肝动脉是泡球蚴病灶的主要血供来源, 实验研究表明门静脉亦参与了部分血供^[8]。目前, 经肝动脉介入治疗已应用于临床^[9], 单纯经动脉化疗栓塞可能对泡球蚴病灶有直接的治疗效果, 但如门静脉参与供血, 直接动脉内给药不能完全阻断肝泡球蚴病灶的滋养血管, 治疗效果将会下降。

本研究中, 电子显微镜观察发现, 治疗后第 4 天泡球蚴组织基本正常, 可见有巨噬细胞、浆细胞等炎性细胞聚集, 以炎性改变为主。阿苯达唑脂质体及碘油到达病灶部位后需要通过一系列反应, 经过一段时间才能发挥作用, 引起组织与形态变化。第 7 天可见泡球蚴组织结构发生变性改变, 生发层微绒毛稀少, 角质层结构疏松。泡球蚴囊壁内有较多脂质体颗粒。第 10 天可见肝泡球蚴组织结构破坏, 囊泡塌陷, 生发层、角质层结构坏死退变, 原头蚴形态、结构紊乱, 部分发生坏死。脂质体被分解为直径较小的颗粒, 广泛分布于囊泡内, 皮层区。从实验结果分析, 治疗后肝泡球蚴组织病理学的改变是一个渐进的过程, 表明经门静脉注射阿苯达唑脂质体碘化油混悬液后, 能够引起泡球蚴组织退化改变, 甚至死亡, 从而发挥抗包虫病作用。

张金辉等^[10]报道, 以 50 mg/kg 剂量, 每周 3 次, 连续 10 周, 口服及腹腔注射阿苯达唑脂质体治疗长沙爪鼠肝泡球蚴病, 病理观察以 I 级和 II 级改变为主。刘章锁等^[11]分别以 37.5、75、150 mg/kg 的不同剂量, 每周 3 次, 连续 6 周, 口服及腹腔注射阿苯达唑脂质体治疗小白鼠肝泡球蚴病, 泡球蚴呈变性和坏死改变。口服和腹腔注射两种给药途径间, 不同

给药剂量之间变化无显著性差异。Rodrigues 等^[12], 静脉注射阿苯达唑纳米粒子胶体注射液, 治疗 6 周, 总剂量分别为 6、12、24 mg/kg, 结果表明其作用与口服 6 周, 总剂量 1 500 mg/kg 的原粉等效, 未见毒性反应, 且不同剂量间无明显差异。本实验采用门静脉灌注阿苯达唑脂质体碘化油混悬液, 阿苯达唑脂质体剂量参照 Rodrigues 等^[12]的实验研究, 阿苯达唑脂质体为 0.1 ml, 约 20 mg/kg, 与 0.1 ml 碘化油混合成混悬液。治疗后 7、10 d 即观察到泡球蚴组织变性、坏死改变。与口服、腹腔注射、静脉注射相比, 从组织学上观察, 门静脉介入途径在较短时间内获得了相近的疗效。其主要原因可能为: ① 门静脉直接灌注阿苯达唑脂质体, 可以显著增加局部药物浓度, 同时阿苯达唑脂质体具有良好的肝脏靶向性, 大部分在肝脏内代谢, 在肝脏内转化为阿苯达唑亚砷与阿苯达唑砷, 迅速、有效的发挥杀伤泡球蚴的作用^[13], 从而消除口服及静脉给药的局部药物浓度低、全身不良反应大的缺点, 提高治疗效果。② 碘化油具持续化疗和部分栓塞作用。治疗第 4、7 天, 在泡球蚴囊壁及囊腔内均可见碘化油颗粒沉积。第 10 天仍可观察到碘油颗粒, 未被清除。碘油颗粒能够滞留于泡球蚴病灶的可能原因为泡球蚴组织缺乏能够清除碘油的单核-巨噬细胞系统和淋巴系统。说明碘油能够携带阿苯达唑进入泡球蚴组织内, 缓慢释放阿苯达唑, 发挥持续化疗作用。并且碘油颗粒存留于泡球蚴组织能够阻断营养供给, 发挥部分栓塞作用, 加速泡球蚴组织的缺血坏死和钙化。

此外, 在实验组中, 因手术、实验干预及其他不可预料的意外原因, 在开腹门静脉穿刺直接灌注阿苯达唑脂质体及碘化油混悬液后, 第 4~7 天死亡 1 只, 第 7~10 天死亡 2 只。其主要原因可能为: ① 实验方法为开腹门静脉穿刺进行化疗栓塞, 未能进行超选择性动脉栓塞, 对肝功能损害较大, 引起肝

功能衰竭死亡。② 相对于大鼠门脉血管,碘油脂质体混悬液颗粒粒径较大,正常肝组织清除较为困难,阻断门静脉血液供应可加重肝功能损害。

总之,门静脉灌注阿苯达唑脂质体碘油混悬液治疗肝泡球蚴病疗效迅速、确切。其意义在于通过门静脉介入治疗使治疗期明显缩短或获得二期手术机会。同时可阻断泡球蚴门静脉分支血供,减少其通过血行扩散转移的概率。门静脉灌注阿苯达唑脂质体的体内药物代谢动力学、肝动脉与门静脉的双重介入化疗栓塞治疗有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Manton G, Bresson-Hadni S, Vuitton DA, et al. Treatment of alveolar echinococcosis: a multidisciplinary task [J]. Bull Acad Natl Med, 2008, 192: 1151 - 1157.
- [2] Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, et al. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern [M]. Paris, World Organisation for Animal Health and World Health Organization, 2001: 30 - 50.
- [3] Brunetti E, Kern P, Vuitton DA, et al. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans[J]. Acta Trop, 2010, 114: 1 - 16.
- [4] Parsak CK, Demiryurek HH, Inal M, et al. Alveolar hydatid disease: imaging findings and surgical approach [J]. Acta Chir

- Belg, 2007, 107: 572 - 577.
- [5] Bresson - Hadni S, Blagosklonov O, Knapp J, et al. Should possible recurrence of disease contraindicate liver transplantation in patients with end-stage alveolar echinococcosis? A 20-year follow-up study[J]. Liver Transpl, 2011, 17: 855 - 865.
- [6] 唐群科, 张 瑛, 李永寿, 等. 肝泡球蚴病的非根治性手术治疗观察[J]. 中国地方病学杂志, 2009, 28: 668 - 669.
- [7] 蒋次鹏. 包虫病学[M]. 北京: 台海出版社, 2001: 121 - 123.
- [8] 任伟新, 肖湘生. 肝泡状棘球蚴病门静脉血供的影像学研究[J]. 首都医科大学学报, 2007, 28: 732 - 736.
- [9] 任伟新, 肖湘生, 陈 鹏, 等. 肝泡状棘球蚴病的 DSA 表现及介入治疗[J]. 介入放射学杂志, 2004, 13: 496 - 498.
- [10] 张金辉, 温 浩, 栾梅香, 等. 阿苯达唑新剂型抗包虫病的药理学实验研究[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2003, 16: 162 - 166.
- [11] 刘章锁, 杨文光, 温 浩, 等. 阿苯达唑脂质体对泡状棘球蚴作用的病理形态学观察 [J]. 新疆医科大学学报, 2000, 23: 192 - 194.
- [12] Rodrigues JM Jr, Bories C, Emery I, et al. Development of an injectable formulation of albendazole and in vivo evaluation of its efficacy against Echinococcus multilocularis metacestode [J]. Int J Parasitol, 1995, 25: 1437 - 1441.
- [13] Adas G, Arikan S, Kemik O, et al. Use of albendazole sulfoxide, albendazole sulfone, and combined solutions as scolocidal agents on hydatid cysts (in vitro study)[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15: 112 - 116.

(收稿日期:2013-04-01)

(本文编辑:侯虹鲁)

• 病例报告 Case report •

肺隔离症弹簧圈介入栓塞治疗一例

陈硕飞, 杜亚辉, 田锦林, 王 伟, 李云松, 郭跃辉, 李春雷, 王海峰

【关键词】肺隔离症; 介入栓塞

中图分类号:R563 文献标志码:D 文章编号:1008-794X(2013)-08-0677-02

Interventional embolization with steel coils for the treatment of pulmonary sequestration: report of one case CHEN Shuo-fei, DU Ya-hui, TIAN Jin-lin, WANG Wei, LI Yun-song, GUO Yue-hui, LI Chun-lei, WANG Hai-feng. Department of Interventional Vascular Surgery, No.252 Hospital of PLA, Baoding, Hebei Province 071000, China(J Intervent Radiol, 2013, 22: 677-678)

Corresponding author: CHEN Shuo-fei, E-mail: doctorchen2008@163.com

【Key words】pulmonary sequestration; interventional embolization

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2013.08.015

作者单位: 071000 河北保定 解放军第二五二医院介入血管外科

通信作者: 陈硕飞 E-mail: doctorchen2008@163.com

1 临床资料

患者男, 31 岁。因咳血 1 周, 于 2012 年 7 月 7 日入院。患