

·实验研究 Experimental research·

一级微铜圈肾动脉栓塞的实验研究

姜 华, 闫 东, 孙 勇, 濮进敏, 王家平, 李迎春, 童玉云, 赵 洁

【摘要】 目的 评价一级微铜圈在动物体内的栓塞性能和生物相容性。**方法** 用直径 0.1 ~ 0.23 mm 导电用铜丝(纯度 99.9%)制成直径 0.48 ~ 0.74 mm 的一级微铜圈,经 3 F 微导管释放栓塞兔肾动脉末梢支,于栓塞术后不同时间观察血管闭塞情况和病理学改变,同时对实验动物栓塞前后的实验室检查指标进行比较。**结果** 栓塞术后 3 d、1、2、4、6 和 12 周,动脉造影血管腔闭塞时可见到血栓形成。栓塞后 4 周,组织学检查均可见小动脉内微球,动脉周围有炎性反应,并可见肾实质梗死灶;栓塞术后,血清铜离子术后 2 周内较术前升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),术后 4 周与术前比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);肝、肾功能 2 周后恢复至术前水平。**结论** 自制一级微铜圈具有明确的栓塞效果和良好的生物相容性。

【关键词】 弹簧圈,金属铜; 栓塞,动脉; 肾脏; 家兔

中图分类号:R543.5 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2015)-01-0064-05

Renal artery embolization with first level copper coils: an experimental study JIANG Hua, YAN Dong, SUN Yong, FU Jin-min, WANG Jia-ping, LI Ying-chun, TONG Yu-yun, ZHAO Jie. Department of Radiology, Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan Province 650001, China

Corresponding author: WANG Jia-ping, E-mail: jh2006327@yeah.net

【Abstract】 Objective To evaluate the embolization effect and biocompatibility of self-made first level copper coils in experimental animal in vivo. **Methods** First level of pure copper micro-coil (Φ : 0.48 – 0.74 mm), which was made of 0.1 – 0.23 mm diameter pure copper wire, was used in this study. Renal artery embolization with first level pure copper coil was performed through a 3 F catheter in rabbits. After the embolization, the arteriography and the pathological examination were carried out at different points of time. Hematological and biochemical examinations, including the serum level of copper ions, the hepatic and renal function tests, were conducted before and after embolization. The results were analyzed. **Results** Three days, and one, 2, 4, 6, 12 weeks after the embolization, arteriography was performed, which showed that the vascular lumen was obstructed with thrombus in all experimental rabbits. Four weeks after embolization, micro-spheres could be seen within the embolized small arteries, and inflammatory reactions could be noted around the arteries. Infarction focus was demonstrated in the renal parenchyma. Two weeks after the treatment, the serum level of copper ions was significantly increased when compared with preoperative one ($P < 0.05$), but four weeks after the embolization the serum level of copper ions was not significantly different from the preoperative one ($P > 0.05$). Two weeks after the embolization, both the renal and hepatic functions restored to preoperative levels. **Conclusion** Self-made first level copper coils have definite embolization effect and satisfactory biocompatibility. (J Intervent Radiol, 2015, 24: 64-68)

【Key words】 copper; coil; embolization; artery; kidney; rabbit

目前,自行研制栓塞剂已多见于报道^[1-2]。本

研究系自制一级微铜圈经微导管栓塞兔肾动脉段或段以下血管,观察栓塞效果和生物相容性。为其进一步临床应用提供基础理论依据,并寻找一种与目前临床应用的微弹簧圈栓塞作用相当但价格低廉的国产微弹簧圈。

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2015.01.015

作者单位: 650101 昆明 昆明医科大学第二附属医院放射科介入室

通信作者: 王家平 E-mail: jh2006327@yeah.net

1 材料与方法

1.1 一级微铜圈的制备

将直径 0.1 ~ 0.23 mm 导电用铜丝 (纯度 99.9%) 致密缠绕在直径 0.28 mm 的芯上 (神经介入用导丝的尾端) 制成直径 0.48 ~ 0.74 的微铜圈, 长度可任意切割制备。铜圈应用前用碘伏浸泡 5 min, 消毒并去除表面氧化层后, 再用无菌生理盐水冲洗干净 (图 1)。

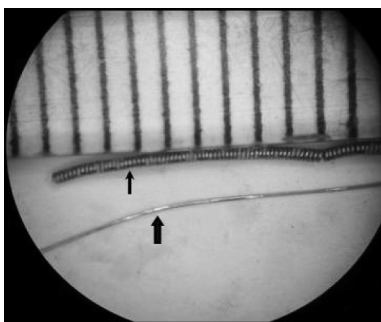


图 1 光镜下自制一级微铜圈的铜丝 (粗箭头) 及制备好的自制一级微铜圈 (细箭头)

1.2 实验动物

昆明医科大学动物实验中心提供的有合格证的新西兰大耳兔 15 只, 体质量 2.0 ~ 3.0 kg, 雌雄不限。

1.3 栓塞方法

用 3% 戊巴比妥钠, 1 ml/kg 体质量经实验兔耳缘静脉推注麻醉后, 固定、备皮、消毒铺巾; 切开皮肤, 钝性分离一侧股动脉, 用剪刀在股动脉剪开一小横切口, 通过导丝导入 4 F 动脉鞘, 肝素化后, 再插入 4 F Yashiro 导管置于腹主动脉的肾动脉开口水平, 手推浓度为 320 mgI/ml 非离子型对比剂碘佛醇 3 ~ 5 ml 行 DSA (美国 GE 公司 LCV-plus 数字减影血管机, 矩阵 1 024 × 1 024, 图像采集速率 1 帧/s), 清楚地显示出一侧肾动脉 (图 2)。将 3 F 微导管超选择至一侧肾动脉前后或上下支中的段分支, 用 1 ~ 2 枚直径 0.48 mm、长度 10 mm 的自制一级微铜圈栓塞, 栓塞面积约 15%; 分别于栓塞后 10、30 min 行动脉造影观察早期栓塞效果。退出导管后结扎股动脉, 皮肤缝合, 麻醉清醒后, 送动物房饲养, 适当补液和酌情应用抗生素。

1.4 观察及取材

分别于栓塞术后 3 d (组 1, 2 只)、1 周 (组 2, 2 只)、2 周 (组 3, 3 只)、4 周 (组 4, 2 只)、6 周 (组 5, 3 只)、12 周 (组 6, 3 只) 用上述方法再次造影了解栓塞后动脉的闭塞、再通及侧支情况后, 处死实验兔。



图 2 兔正常的升主动脉、颈动脉及锁骨下动脉

解剖兔取出肾脏作为标本, 用 4% 甲醛固定后, 送病理检查。

1.5 实验室检查

所有动物栓塞前以及复查前抽取的外周静脉血及时送检验科行血铜含量测定 (空气-乙炔标准曲线法, 试剂盒由英国 Randox 公司生产) 及肝、肾功能 (日立 7170A 全自动生化分析仪) 测定。

1.6 统计学分析

应用 SPSS17.0 软件包, 对实验动物栓塞前后的血铜含量及肝功、肾功指标行配对 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

栓塞后所有动物存活, 术后 1 ~ 2 d 有不同程度的精神差、食欲下降、活动减少, 一般在 2 d 后自然恢复。栓塞效果较为满意, 栓塞过程没有发生弹簧圈无法释放的情况。

2.2 栓塞后不同时间血管造影情况

经 3 F 导管释放一级微铜圈栓塞左肾动脉段分支 9 支、右肾动脉段分支 13 支, 共用弹簧圈 22 枚。栓塞术后即刻造影大部分血管为血流缓慢, 3 d 后可以见到栓塞血管完全闭塞, 没有侧支循环建立 (见表 1)。

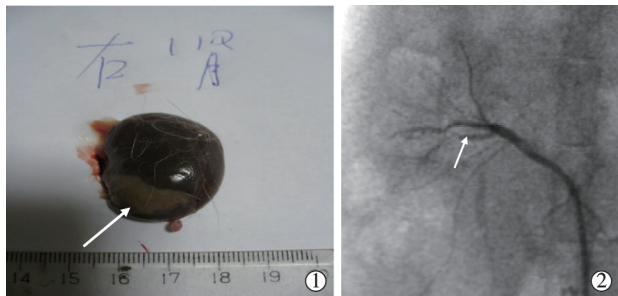
表 1 铜圈栓塞肾动脉后不同时间造影表现 (支)

栓后时间	血管造影表现				
	栓塞血管支数	通畅	血流缓慢	闭塞	侧支循环
30 min	22	0	20	2	0
3 d	3	0	0	3	0
1 周	4	0	0	4	0
2 周	4	0	0	4	0
4 周	3	0	0	3	0
6 周	4	0	0	4	0
12 周	4	0	0	4	0
合计	44	0	20	24	0

2.3 肉眼及镜下病理情况

2.3.1 肉眼大体病理观 栓塞后 1 周, 栓塞侧肾脏大小形态与对侧比较无明显改变, 表面光滑, 可见片状白色缺血梗死区; 栓塞后 2、4、6 周, 栓塞侧肾脏体积较对侧略有缩小, 栓塞后局部梗死区表面欠

光滑, 梗死区纤维瘢痕形成, 牵拉肾皮质下陷(图 3)。栓塞后 12 周: 栓塞侧肾脏体积缩小更明显, 表面不光整, 局部梗死区纤维瘢痕形成, 肾皮质局部明显受牵拉下(图 4)。



①栓塞后 1 周的右肾下段局部见片状白色缺血梗死区; ②1 枚自制一级微铜圈栓塞右肾动脉下段

图 3 右肾段栓塞的造影图及大体标本对照

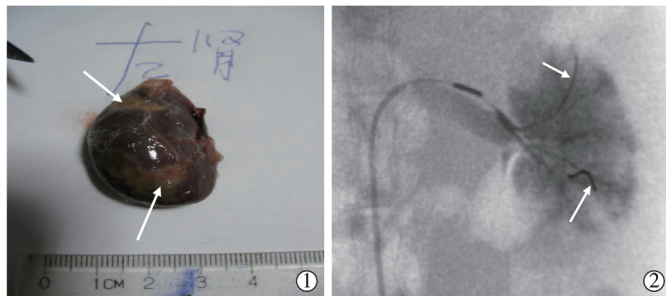
2.3.2 镜下病理表现 见表 2。栓塞后 1 周, 部分肾小管上皮细胞肿胀, 近曲小管上皮细胞空泡样及颗粒样变性, 远曲小管上皮与基膜分离。弥漫性间质血管扩张、淤血, 血管腔内可见均一粉染不定型物(血栓), 小血管周围可见均一粉染水肿液(图 5)。栓塞后 2、4、6 周, 胞核结构消失, 部分小管上皮细胞萎缩, 小管腔明显扩张, 局部肾组织呈片灶状纤维化改变, 伴有内部组织钙化。肾间质纤维结缔组织增生, 局部小血管内可见血栓形成, 动脉壁增厚, 间质血管周围可见炎性细胞浸润(图 6)。栓塞后 12 周, 肾组织结构稀疏, 小球小管结构大多消失, 肾小球萎缩、玻璃样变性, 肾小管上皮细胞颗粒样变性, 肾组织呈弥漫性颗粒样变性, 间质小血管管壁透明变性, 血管周围可见少量炎性细胞浸润, 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(图 7)。

表 2 铜圈栓塞肾动脉后不同时间的肾标本镜下病理表现 (条)

栓后时间(组)	病理表现			
	样本数	血管内膜脱落	血栓形成	血管壁炎性浸润
3 d	3	2	2	+ ~ ++
1 周	4	3	3	+ ~ +++
2 周	4	4	4	++ ~ +++
4 周	3	3	3	++ ~ +++
6 周	4	4	4	+ ~ ++
12 周	4	4	4	- ~ +
合计	22	20	20	

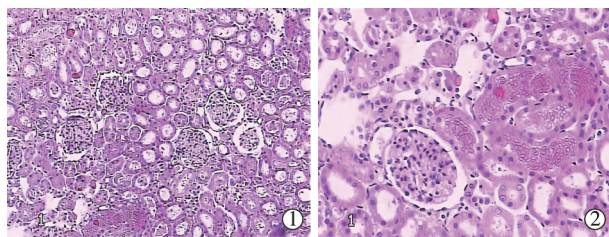
2.4 术后肝肾功及血铜情况

实验兔血液铜离子浓度于栓后 3 d, 1、2 周内较术前明显升高, 以第 3 天最高, 但未超过正常值的 3 倍。栓塞后 4、6 和 12 周血中铜离子呈下降趋势, 随



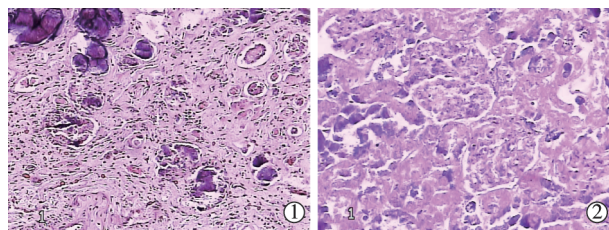
①栓塞后 12 周的左肾上、下段局部梗死区表面欠光滑, 梗死区纤维瘢痕形成, 牵拉肾皮质下陷; ②2 枚自制一级微铜圈栓塞左肾动脉上、下段

图 4 左肾上下段动脉栓塞的造影图及大体标本对照



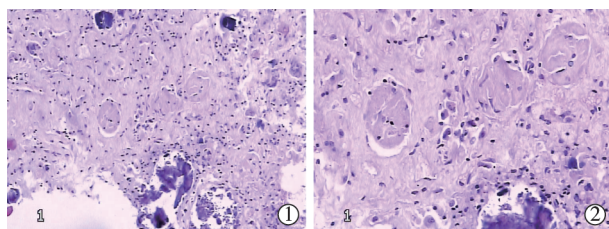
①②100 倍和 200 倍电镜下弥漫性间质血管扩张、淤血, 血管腔内可见均一粉染不定型物(血栓), 小血管周围可见均一粉染水肿液

图 5 栓塞 1 周后的兔肾脏镜下标本



①②100 倍和 200 倍电镜下局部肾组织呈片灶状纤维化改变, 伴有内部组织钙化, 局部小血管内可见血栓形成, 血管周围可见炎性细胞浸润

图 6 栓塞 4 周后的兔肾脏镜下标本



①②100 倍和 200 倍电镜下间质小血管管壁透明变性, 周围可见少量炎性细胞浸润, 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

图 7 栓塞 12 周后的兔肾脏镜下标本

机体代谢 4 周内可恢复至术前水平。术后肝、肾功

在 3 天或者 1 周内异常改变,在 1 周后都恢复术前水平(表 3)。

表 3 实验兔栓塞血管前后不同时间的肝肾功及血铜情况比较

组别	血 Cu ²⁺ /(μmol/L)	ALT/(u/L)	AST/(u/L)	总胆红素/(μmol/L)	UN/(mmol/L)	Cr/(mmol/L)
术前	13.21 ± 5.26	35.07 ± 12.67	40.92 ± 13.22	0.74 ± 0.47	7.48 ± 1.70	93.28 ± 9.53
术后 3 d	30.63 ± 7.85	157.57 ± 12.27	119.57 ± 89.78	1.40 ± 0.97	12.17 ± 4.82	107.78 ± 25.23
术后 1 周	26.15 ± 8.00	63.27 ± 13.22	67.36 ± 22.42	0.84 ± 0.48	7.39 ± 1.15	98.81 ± 32.06
术后 2 周	22.88 ± 8.13	30.66 ± 14.27	46.22 ± 16.85	0.78 ± 0.40	6.79 ± 1.02	96.55 ± 10.51
术后 4 周	14.74 ± 8.41	29.71 ± 8.67	41.42 ± 11.02	0.44 ± 0.22	7.88 ± 2.38	95.85 ± 9.87
术后 6 周	14.61 ± 9.94	26.00 ± 6.28	36.00 ± 10.95	0.48 ± 0.19	9.89 ± 3.17	94.80 ± 11.90
术后 12 周	13.01 ± 7.21	23.00 ± 4.24	35.50 ± 2.12	0.51 ± 0.14	6.20 ± 1.04	82.00 ± 1.41

注:实验兔栓塞血管前后不同时间的肝肾功及血铜情况比较经配对设计 *t* 检验。栓塞术后 3 d,1、2 周血清铜离子与术前相比明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);术后 4、6、12 周血清铜离子与术前相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。栓塞术后 3 d,1 周 ALT、AST 与术前相比有明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);栓塞术后 2、4、6、12 周 ALT、AST 与术前相比差异没有统计学意义($P > 0.05$)。栓塞术后 3 d 总胆红素、UN、Cr 与术前相比有明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);栓塞术后 1、2、4、6、12 周总胆红素、UN、Cr 与术前相比差异无统计学意义($P > 0.05$)

3 讨论

3.1 一级微铜圈的栓塞作用及效果

现流行的金属栓塞剂栓塞后组织,即动脉或瘤腔闭塞镜下无栓子形成及无机化血栓和纤维结缔组织形成^[3-5]。而一级微铜圈栓塞后动脉造影管腔闭塞与镜下病理栓子形成关系的对照表明,动脉造影管腔闭塞时,一般可见到病理栓子的形成。提示铜圈闭塞血管不仅是机械作用,而且启动了机体的凝血系统,这是自制一级微铜圈不同于目前一些金属栓塞剂之处。

Mullan^[6]于 1972 年首先采用铜丝填塞海绵窦诱导血栓形成的方法治疗 CCF 并成功地为 31 例患者施治,取得了良好的临床疗效,证实海绵窦铜丝填塞法是一种疗效可靠、并发症少、适用范围广的治疗方法。其后许多学者进行这方面的研究,也同样证实了铜具有良好的致血凝性且疗效确实^[7-8],并明确了铜性栓塞剂的栓塞机制是:① 铜圈的机械性阻塞作用,引起血液产生涡流,改变了正常的层流,血细胞纤维素黏附于管壁,释放出导致血液凝固的物质,形成血栓;② 铜与其他金属栓塞剂相比稳定性较差,可诱发血管内膜炎,血管内膜受损,血管内皮细胞破坏后暴露内皮下胶原,启动外源性凝血途径促使血栓形成,激活血小板和血浆中的凝血系统而加速血栓形成;③ 铜在血液中电离而带正电荷,而且螺旋状的铜圈可增加铜与血液接触的表面积,吸引带负电荷的血小板、白细胞、红细胞积聚形成早期血栓;④ 铜在维持同源蛋白 V、vWF 等凝血因子的结构完整性、稳定性方面有重要作用,且能促进上述凝血因子的活化,从而加速凝血及血栓形成。

本实验中,用一级微铜圈超选择性栓塞肾动脉的段或段以下 30 min 后肾动脉造影显示被栓塞血管血流明显变缓慢,少数完全闭塞,这说明短时间

内金属栓塞剂还没有形成血栓,仅仅是依赖铜圈的机械阻塞作用。而栓塞后 1 周肾动脉造影显示被栓塞血管完全闭塞,而且没有明显的侧支循环建立,说明铜圈启动了机体的凝血系统形成大量血栓;大体标本组织可见肾组织有局限性梗死区;组织学检查也显示血管腔内可见血栓形成及少量血管炎性浸润。而且随时间延长,血栓逐渐机化,血管内的弹簧圈由坚硬的纤维组织固定,2 ~ 12 周造影显示被栓塞血管完全闭塞,而且没有明显的侧支循环建立;大体标本组织可见肾脏体积缩小更明显,表面不光整,局部梗死区纤维瘢痕形成;组织学检查也显示血管腔内可见血栓形成及血管炎性浸润,同时可见间质纤维化与小钙化灶。这些都显示一级微铜圈具备明确的栓塞作用。

3.2 一级微铜圈的生物相容性

铜是一种广泛存在于自然界中的有色金属,理化性质较活跃。正常血清含铜量 11 ~ 22 μmol/L。文献报道,当血清铜达到 45 μmol/L 时只发生胃肠炎症状;达到 125.6 μmol/L,在数日后可出现肝肾功损害。许多临床研究发现铜针留置治疗血管瘤不会导致静脉血铜明显升高及肾功能异常,铜针治疗血管瘤安全可靠、无明显不良反应^[9-11]。支爱华等^[7]自制的纯铜圈在动脉血管中释放铜离子缓慢,铜离子对血管壁有轻微的致炎性,能促使血栓大量形成,但无明显不良反应。

目前评价生物材料生物相容性的方法主要有体外复合细胞培养法和体内直接植入法。在本实验中我们采用了体内直接植入法。

实验中,所有实验动物存活,仅表现为术后 1 ~ 2 d 有不同程度的精神差、食欲下降、活动减少,2 d 后自然恢复,无严重并发症发生;实验兔血液铜离子浓度于栓后 3 d,1、2 周内较术前升高,以第 3

天最高,但未超过正常值的 3 倍。但栓塞后 4、6 和 12 周血中铜离子呈下降趋势,与术前比较差异无统计学意义。表明该铜圈栓塞后血铜有升高但为暂时性,随机体代谢 4 周内可恢复至术前水平。术后肝、肾功能在 3 d 或者 1 周内异常改变,1 周后恢复至术前水平。血清铜离子和肝肾功能异常时间无明显对应关系,提示术后肝肾功能短暂损伤与血铜升高相关,还是与手术中动物失血、麻醉剂、对比剂及栓塞后组织损伤有关,有待进一步研究。组织学检查显示被栓塞的小动脉周围出现炎症反应,在栓塞后 2、4 周时比较明显,但呈逐渐减轻、慢性化的趋势,12 周时显示的部分肾脏组织结构有接近正常的表现。这表明一级微铜圈对动物机体的影响比较小,生物相容性良好,提示一级微铜圈是安全的。

3.3 一级微铜圈栓塞肾动脉的临床应用

目前用于肾动脉栓塞材料主要有弹簧钢圈、微弹簧钢圈、PVA 颗粒、明胶海绵颗粒等。栓塞剂的选择应根据损伤动脉的大小、损伤程度、出血量多少等情况而定。栓塞较大的肾动脉时可直接将 4 F 导管超选择进入靶血管,注入弹簧圈或(和)其他栓塞材料。对段或段以下动脉的栓塞,通过微导管注入微弹簧圈或 PVA 颗粒栓塞可取得理想的治疗效果。但所用微弹簧圈及 PVA 颗粒价格相对较高,会导致总的治疗费用偏高,目前微弹簧圈栓塞治疗肾出血的报道尚不多见^[12-13]。

本实验中所有的栓塞都是超选择性栓塞,将 3 F 微导管超选择至肾动脉的段或段以下分支后通过其释放自制一级微铜圈栓塞靶血管,栓塞过程没有发生弹簧圈无法释放的情况。对于栓塞的效果,采用定期随访观察 DSA 造影、完整取出的栓塞肾大体标本及组织病理学检查。栓后不同时期的 DSA 造影均提示栓塞效果肯定,未出现靶血管再通或者是侧支循环建立的情况,同时非靶血管未见明显影响。肾的大体标本提示靶血管相对应的肾组织出血梗死,而其余区域的肾组织未出梗死。组织病理学显示栓塞区域的肾组织出现缺血坏死的病理过程。在实际临床工作中,对肾出血的患者行超选择性肾动脉栓塞,可准确栓塞引起出血的最小血管分支,最大限度地保存了肾功能,达到彻底的止血,已广泛被人们认可和接受。对栓塞后的肾形态、血管、功能进行仔细观察,发现节段性肾动脉栓塞后,早期可见栓塞动脉所支配的区域肾梗死,长期观察呈肾局

部萎缩状态,肾边缘可见收缩,肾功能正常,未见肾坏死、感染征象,微弹簧圈圈无移位,对侧正常肾形态、大小正常或呈代偿性增大,说明自制一级微铜圈栓塞肾动脉安全可行。

本动物肾动脉栓塞的体内实验研究表明:我们应用的自制一级微铜圈(2 枚内)近期具有明确的栓塞效果和良好的生物相容性。

[参考文献]

- [1] 桑琳,魏志勇,刘克亮,等.具有 X-射线自显影功能的碘代聚氨酯栓塞剂材料的研究[J].高分子学报,2014:31-39.
- [2] 朱国庆,虞希祥,肖池金,等.三丙烯微球栓塞肾动脉的实验研究[J].介入放射学杂志,2013,22:578-581.
- [3] Spetzger U, Reul J, Weis J, et al. Microsurgically produced bifurcation aneurysms in a rabbit model for endovascular coil embolization[J]. J Neurosurg, 1996, 85: 488-495.
- [4] Dai D, Ding YH, Danielson MA, et al. Endovascular treatment of experimental aneurysms by use of fibroblast-coated Platinum coils: an angiographic and histopathologic study [J]. Stroke, 2007, 38: 170-176.
- [5] Ding YH, Dai D, Kadirvel R, et al. Relationship between aneurysm volume and histologic healing after coil embolization in elastase-induced aneurysms: a retrospective study [J]. AJNR, 2008, 29: 98-101.
- [6] Mullan S. Treatment of carotid-cavernous fistulas by cavernous sinus occlusion[J]. J Neurosurg, 1979, 50: 131-144.
- [7] 支爱华,阎东,韩正林,等.自制铜圈栓塞兔髂动脉及肾动脉的实验研究[J].中华放射学杂志,2003,37:205-209.
- [8] 何松坚,吴铿,叶少强,等.介入法置入栓塞弹簧圈制作猪急性心肌梗死模型[J].中国介入心脏病学杂志,2012,20:105-109.
- [9] 彭智,梁杰,李平.铜针栓塞术治疗血管瘤 21 例[J].广东医学院学报,2007,25:29-31.
- [10] 沈卫民,王顺荣,崔杰,等.持续小电流低电压直流电铜针治疗海绵状血管瘤[J].生物医学工程与临床,2005,9:222-224.
- [11] 王永洁,高尚,陈忠存,等.铜针治疗血管瘤的疗效分析[J].中华整形外科杂志,2006,22:279-282.
- [12] Breyer BN, Meaninch JW, Elliott SP, et al. Minimally invasive endovascular techniques to treat acute renal hemorrhage [J]. J Urol, 2008, 179: 2248-2252.
- [13] Pappas P, Leonardou P, Papadoukakis S, et al. Urgent superselective segmental renal artery embolization in the treatment of life-threatening renal hemorrhage [J]. Urol Int, 2006, 77: 34-41.

(收稿日期:2014-05-30)

(本文编辑:李欣)