

· 实验研究 Experimental research ·

Habib VesOpen 消融导管治疗小型猪模拟门静脉癌栓的安全性研究

张 林, 付金鑫, 宋 鹏, 袁 凯, 阎洁羽, 段 峰, 王茂强, 刘凤永

【摘要】 目的 探索射频消融(RFA)导管治疗门静脉癌栓(PVTT)的安全性。方法 将 10 头实验小型猪分为 3 组:A 组($n=6$)直接行正常门静脉 RFA 治疗;B 组($n=2$)先行门静脉球囊封堵,然后行门静脉新鲜血栓 RFA 治疗;C 组($n=2$)先建立 PVTT 模型,待门静脉血栓机化后行门静脉 RFA 治疗。术后 1、3、4 周作 MRI 检查,4 周后处死动物作病理学检查。**结果** A 组动物在功率 5 W 条件下接受 RFA 治疗 0.6~3.6 min, MRI 检查及 1 个月后病理学检查均未发现明确异常。B 组动物 RFA 后 MRI 检查提示门静脉区损伤较 A 组明显,术后 1、3、4 周内膜 MRI 检查提示门静脉水肿逐渐减轻;术后 1 个月病理学检查证实邻近肝组织损伤严重。C 组在功率 7 W 条件下接受 RFA 治疗 1.5 min,术后 MRI 检查未见消融区明显水肿,病理学检查可见机化的血栓坏死、血管内皮细胞受损。**结论** 采用 Habib VesOpen 双极 RFA 导管治疗 PVTT,应根据 PVTT 严重程度选择合适的 RFA 功率与时间。PVTT 较轻时采用大功率、短时间 RFA 可能较安全,PVTT 较重时改用小功率、长时间 RFA 更为安全可靠。

【关键词】 门静脉癌栓;血栓;射频消融;小型猪;数字减影血管造影

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2015)-06-0515-05

The safety of Habib VesOpen bipolar radiofrequency ablation catheter used in the treatment of portal vein tumor thrombus: an experimental study in miniature pig models ZHANG Lin, FU Jin-xin, SONG Peng, YUAN Kai, YAN Jie-yu, DUAN Feng, WANG Mao-qiang, LIU Feng-yong Department of Interventional Radiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: LIU Feng-yong, E-mail: fengyongliu@aliyun.com

【Abstract】 Objective To explore the safety of Habib VesOpen bipolar radiofrequency ablation (RFA) catheter used in the treatment of portal vein tumor thrombus (PVTT). **Methods** A total of 10 miniature pigs were randomly divided into 3 groups. Group A ($n=6$): RFA of normal portal vein was directly performed; group B ($n=2$): balloon obstruction of the portal vein was performed first, which was followed by RFA for the fresh thrombus in the portal vein; group C ($n=2$): PVTT model was established first, and RFA of the portal vein was carried out when the portal thrombus became organized. MRI examination was employed at one, 3 and 4 weeks after RFA; the animals were sacrificed 4 weeks after RFA and pathological examination of portal vein was performed. **Results** Pigs of group A received portal vein RFA under the condition of 5 W power for 0.6–3.6 min. No obvious abnormality was detected by MRI and pathological examination, which were performed one month after the treatment. In the pigs of group B, MRI performed after RFA showed that the damage of portal vein area was more serious than that in the pigs of group A; abdominal MRI examination performed at one, 3 and 4 weeks after RFA showed that the portal venous edema was gradually decreased; pathological examination at one month after RFA demonstrated serious injury of adjacent liver tissue. Pigs of group C received portal vein RFA under the condition of 7 W power for 1.5 min; no obvious edema of the ablated area was observed on MRI performed after RFA, and pathological examination revealed organized

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2015.06.012

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81271673)、解放军总医院临床科研扶持基金(2012FC-TSYS-1027)

作者单位:100853 北京 解放军总医院介入放射科

通信作者:刘凤永 E-mail: fengyongliu@aliyun.com

thrombus necrosis and vascular endothelial cell damage. **Conclusion** When Habib VesOpen bipolar RFA catheter is used for the treatment of PVTT, the RFA power and time should be properly selected according to the severity of PVTT. In order to ensure a safer procedure, high power and short ablation time should be used when the severity of PVTT is mild, while low power and longer ablation time are recommended when the PVTT is more severe. (J Intervent Radiol, 2015, 24: 515-519)

【Key words】 portal vein tumor thrombus; thrombus; radiofrequency ablation; miniature pig; digital subtraction angiography

原发性肝细胞癌(HCC)发病隐匿,患者就诊时多已属晚期,且常伴发血管侵犯。门静脉癌栓(PVTT)是 HCC 常见并发症之一。PVTT 使门静脉压力升高,腹胀、腹水加重,易发生消化道出血,是 HCC 患者短期死亡的主要原因之一。如果对伴发 PVTT 的 HCC 患者不进行治疗,预后很差。虽然近年国内外对 HCC 伴发 PVTT 的治疗取得了一些进展,但单一疗法仍无法取得满意疗效,成为临床治疗的难点之一。射频消融(RFA)是 HCC 局部治疗的一大进展,旨在通过热传导使肿瘤细胞发生凝固坏死,从而达到治疗目的。Habib VesOpen 导管是一种较为新型的腔内双极 RFA 导管,与其结构相似的 EndoHPB 双极 RFA 导管消融胆管癌栓的有效性及其安全性已见报道证实^[1]。近期多篇文献报道采用 Habib 导管行 RFA 治疗胆道狭窄或胆道支架再狭窄患者均未发生严重并发症,且中位胆道通畅时间长达 50~102.5 d^[2-4]。本实验通过经皮经肝穿刺行局部 Habib VesOpen 导管热消融小型猪门静脉,在厂商推荐的功率范围内最大程度地延长功率输出时间,并建立门静脉模拟癌栓行 RFA 治疗,观察分析该方法的安全性。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本研究采用的实验动物系试验用健康小型猪(解放军总医院动物实验中心提供),共 10 头,雌雄不限,体重(40.0±2.5)kg。将实验动物编号后按随机数字法分成 3 组,A 组 6 头,B 组 2 头,C 组 2 头。动物实验经过解放军总医院动物管理委员会批准。

1.2 实验耗材

Habib VesOpen 双极 RFA 导管(英国 EMcision 公司产品),套管直径 5 F,长 1.1 m,可通过 0.014 英寸导丝,含 2 个电极,长度 5 mm、节距 0.2 mm,电极之间间隔 6 mm,发热区最小长度 20 mm。

1.3 实验方法

RFA 治疗实验在探索与模拟真实 PVTT 环境

下进行。对 A 组小型猪($n=6$),直接行正常门静脉 RFA 治疗,使消融时间尽可能长,以获得正常门静脉 RFA 治疗的安全范围;为减少血流所致热量损失,对 B 组猪($n=2$)先行门静脉球囊封堵,然后行门静脉新鲜血栓 RFA 治疗;为缩小新鲜血栓与真实 PVTT 间在热传导上的差异,对 C 组猪($n=2$)先建立门静脉模拟癌栓(根据文献报道,血栓形成后 2 周时大量成纤维细胞长入血栓内,形成机化组织^[5-6]),性质接近真实实体肿瘤后再行门静脉 RFA 治疗。

RFA 治疗前后作腹部 MRI 检查,4 周后处死动物取门静脉,并作病理学检查。根据消融区水肿情况与损伤、坏死情况,评价 RFA 治疗的安全性。

1.4 实验步骤

实验动物术前禁食过夜,自由饮水。

采用速眠新注射液(0.1 ml/kg)、盐酸氯胺酮注射液(10 mg/kg)肌肉注射麻醉。麻醉后给予气管插管,观察动物角膜反射、疼痛刺激反应,心率、血压、呼吸等生命体征,并确认平稳。

采用美国通用公司 1.5 T 超导 MRI 仪,选择体部相控阵线圈。动物麻醉成功后取仰卧位固定于检查床,肝脏位于线圈中央位置,腹部加压包扎以减轻呼吸运动影响,加呼吸门控。矩阵 256×256,层厚 5 mm,层间距 3 mm,视野 40 cm×40 cm,T1WI-FFE 序列、T2WI-FFE 序列、T2WI-SPAIR 脂肪抑制序列。造影增强为人工手推注射器经耳缘静脉快速注入钆贝葡胺注射液(0.4 ml/kg),注射速率约为 1.5 ml/s,由本院磁共振成像室医师协助完成。

将动物以仰卧位固定于血管造影床上,给予气管插管,同时耳缘静脉开通静脉通路,以乳酸钠林格注射液维持静脉通路。透视下确定穿刺点(右侧第 11 肋间,腋前线),采用 22 G 胆道微穿刺套装穿刺肝内门静脉分支成功后,交换超滑导丝,导入 5 F 动脉鞘。在超滑导丝引导下将 4 F 肝动脉导管选择性插入门静脉,行门静脉 DSA 造影。

实验 A 组:撤出导引导管,交换导入 Habib VesOpen 导管,并连接 RITA 1500X 型射频发生器。

根据 DSA 造影所见动物门静脉走行特点选择门静脉主干或一级分支行 RFA 术,起始功率分别为 5 W 或 10 W,不设定功率最大输出时间,持续消融直至射频发生器因阻抗饱和和自动转为待机模式。

实验 B 组:撤出导引导管,交换导入球囊导管(直径 10 mm,长度 4 cm,美国 Cook 公司),用非离子型对比剂碘克沙醇显与生理盐水 1:1 混合液充盈球囊,阻断门静脉主干,导入 Habib VesOpen 导管,设定消融功率与时间后行 RFA 治疗。

实验 C 组:撤出导引导管,交换导入球囊导管,将球囊定位于门静脉主干,经球囊导管取血 50 ml 与凝血酶冻干粉 500 U 混合,待其形成血凝块后制成直径 3~5 mm 碎粒,从球囊导管注入门静脉主干。注入血栓 30 min 后抽空并撤出球囊,沿留置导丝交换置入 4 F 导管行肠系膜上静脉-门静脉造影,证实肠系膜上静脉-门静脉血栓形成。撤出导管及血管鞘,用直径 5~7 mm 海绵颗粒封堵穿刺道^[7]。

将建好模型的小型猪送至动物中心,肌内注射庆大霉素 8 万单位/d,连用 3 d 预防感染;饲养 2 周,门静脉超声检查可见仍有血栓存在。

再次麻醉动物行气管插管,经皮经肝门静脉穿刺置入导丝,交换 5 F 动脉鞘,经导管置入 4 F 造影导管行门静脉造影检查,可见门静脉充盈缺损,证明门静脉血栓仍在,交换 Habib VesOpen 导管,置于血栓区行门静脉 RFA 治疗。

RFA 治疗结束后撤出 Habib VesOpen 导管及血管鞘,用直径 5~7 mm 明胶海绵颗粒封堵穿刺道。

1.5 术后处理及观察指标

术后处理:术后 2 周内观察动物生命体征变化,肌肉注射庆大霉素 8 万 U/d,连用 3 d 预防感染。

影像学观察:A 组、C 组动物在术后 1 个月,B 组动物在术后 1、3、4 周分别复查腹部 MRI,重点比较观察门静脉及周围组织变化。

动物大体标本及病理学检查:术后 1 个月在麻醉状态下于耳缘静脉快速静推 10%氯化钾注射液处死实验动物,结扎门静脉并分离肝脏,观察大体标本并置于 4%甲醛固定液中固定 24 h,经梯度乙醇脱水后石蜡包埋并制成 5 μ m 切片,进行苏木精伊红(HE)染色,显微镜下观察门静脉病理学改变。

2 结果

2.1 一般情况

2 头小型猪因门静脉纤细,门静脉未穿刺成功。

其余实验过程顺利,实验 A 组术后存活 3 头,术后第 1 天死亡 1 头(尸检提示死亡原因为门静脉破裂出血);B 组存活 2 头;C 组存活 1 头,建模后第 1 天死亡 1 头(尸检提示死亡原因为穿刺道出血)(图 1)。



图 1 腹腔内大量血性液体及条带状血栓(箭头)

实验中 RFA 参数见表 1。A 组治疗中尽可能使 RFA 时间延长,其中射频输出时间并非按预期一次性达到,射频发生器因阻抗饱和和多次转为待机模式,遂间隔数秒后,在保持消融功率不变的情况下重复消融,直至射频发生器因阻抗饱和自动停止。消融时间依据累积达到的时间,功率为 5 W、消融时间为 0.6~3.6 min 时,RFA 治疗安全。

表 1 RFA 参数

组别	动物编号	消融部位	消融功率/W	消融时间/min	存活情况
A 组	P1	主干	5	3.6	存活
	P2	右支	5	6.0	存活
	P3	右支	5	0.6	存活
	P4	左支	10	14.5	死亡
B 组	P5	右支	5	3.1	存活
	P6	主干	10	3.6	存活
C 组	P7	主干	7	1.5	存活

2.2 DSA 造影表现

A 组:经皮经肝穿刺门静脉成功后将 4 F 导管插至门静脉,门静脉造影显示正常门脉血流通畅,管壁光滑,肝内分支显示清楚。B 组:导入球囊导管(直径 10 mm,长度 4 cm),用对比剂充盈球囊后阻断门静脉主干,经球囊导管造影显示门静脉血流减慢,肝内分支显影明显减少。C 组:建立门静脉血栓后抽空球囊,门静脉造影可见门静脉被新鲜血栓堵塞,未见明确分支显影,2 周后门静脉造影可见仍有对比剂充盈缺损,提示门静脉主干仍有血栓残存(图 2)。

2.3 MRI 表现

RFA 治疗后,MRI 检查提示门静脉消融区水

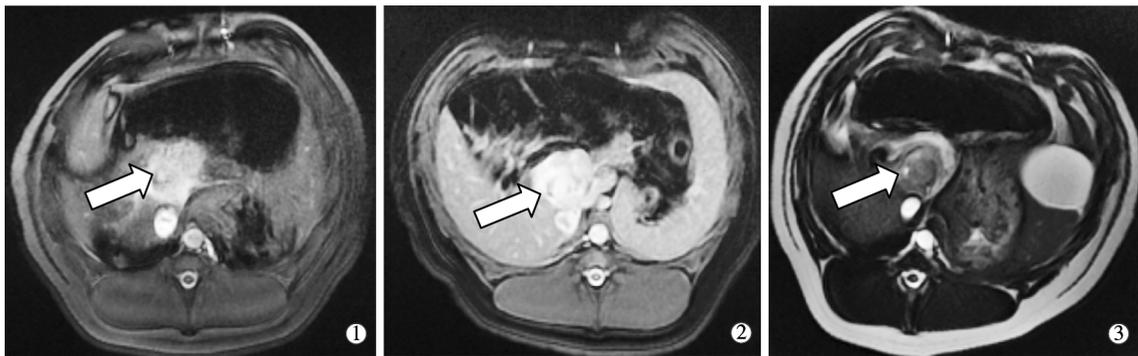


①A 组门静脉 DSA 造影可见门静脉分支清晰,充盈良好;②B 组球囊(箭头所示)封堵后可见门静脉分支显影明显减少;③C 组门静脉模拟癌栓建成后造影可见门静脉主干被血栓完全堵塞(箭头),分支显影;④C 组门静脉模拟癌栓建成后 2 周造影可见门静脉主干部分充盈缺损,提示门脉仍存有血栓(箭头)

图 2 A、B、C 组 RFA 后门静脉 DSA 表现

肿。A 组门静脉周围水肿较轻;B 组 RFA 后 1、3、4 周腹部 MRI 检查显示水肿较重,且随时间逐渐消退

(图 3);C 组因 RFA 时间较短,门静脉周围未见明显水肿。



①RFA 后 1 周 MRI 检查可见门静脉消融区水肿严重(箭头);②RFA 后 3 周可见门静脉消融区水肿略有减轻(箭头);③RFA 后 4 周可见门静脉消融区水肿较前明显减轻(箭头)

图 3 B 组 RFA 后 1 周、3 周、4 周腹部 MRI 表现

1.4 病理学观察结果

A 组:大体标本见门静脉局部僵硬,可见血栓形成。显微镜下见 P1、P2 门静脉内膜广泛损伤,中膜部分缺失,外膜完整,但有大量以淋巴细胞为主的炎性细胞渗出,门静脉管腔内可见附壁血栓,其内富含中性粒细胞。P3 未见明显异常。

B 组:大体标本见门静脉局部僵硬,可见血栓形成;门静脉周围可见大小不等的淋巴结形成。显微镜下见门静脉内膜缺损,有大量以淋巴细胞为主的炎性细胞渗出,管腔内可见附壁血栓,其内富含中性粒细胞,部分门静脉内有红细胞浸润;邻近胆管壁破坏,胆管、肝静脉内可见血栓形成。肝脏呈炎性反应。淋巴结血供丰富,白细胞等炎性细胞渗出。

C 组:大体标本见门静脉机化血栓与新鲜血栓并存。显微镜下见门静脉机化血栓组织、消融后坏死组织、新鲜血栓并存,可见血管内皮损伤,血管周围未见明确水肿(图 4)。

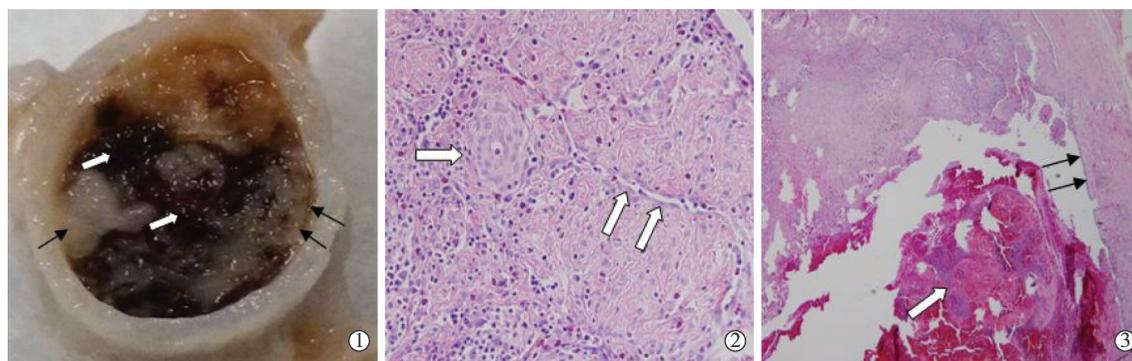
3 讨论

经导管肝动脉化疗栓塞术(TACE)为晚期 HCC 首选治疗方法,能明显延长患者生存期^[8]。HCC 伴发 PVTT 时,目前的治疗方法有癌栓取出术、TACE 术、放射治疗等,但治疗效果有限。

本研究采用的 Habib VesOpen 导管是英国 EMcision 公司研制的一种新型双极 RFA 导管,旨在通过加热杀死肿瘤细胞,在门静脉区形成圆柱形坏死区,从而起到开通门静脉的作用。

猪和人肝门静脉在组织学上无显著差异,管壁可分为内膜、中膜和外膜等 3 层^[9]。门静脉结构相似性是选用猪作为实验对象的原因。

本实验 A 组治疗功率设定在厂商推荐的 5~10 W、2 min 范围内,但尽量延长射频时间,观察其对门静脉的损伤程度,评价其对正常门静脉治疗的安全性。我们设立 B 组,用小球囊阻断门静脉主干,减少血流散热效应,再进行 RFA 实验;此外,为减少与真实 PVTT 在热传导方面的差异,又设计了 C 组,



①门静脉可见机化血栓(黑箭头)与新鲜血栓(白箭头)并存;②机化的血栓组织中可见新生的毛细血管(箭头);③机化血栓经 RFA 治疗后可见部分血栓坏死(白箭头),血管内皮受损(黑箭头)

图 4 C 组大体标本和显微镜下病理学观察

对机化的门静脉血栓行 RFA 治疗。

A 组实验结果证明,在 5 W 功率、RFA 时间 0.6~3.6 min 条件下,影像学检查及 1 个月后病理学检查均未发现明确异常;将功率调至 10 W、时间延长至 14.5 min,则直接导致了动物门静脉穿孔死亡。文献提示门静脉壁很薄,只有约 0.61 mm^[6],增大 RFA 功率、延长作用时间后发生门静脉穿孔和周围组织损伤的风险也随之增加。基于以上情况,当 PVTT 占门静脉横截面积较小,即 PVTT 较轻时,大功率、短时间 RFA 治疗方法可能较之小功率、长时间 RFA 治疗更安全可靠。

B 组 RFA 术后 MRI 检查提示门静脉病变范围较 A 组明显广泛,术后 1、3、4 周内膜 MRI 检查提示门静脉水肿逐渐减轻,术后 1 个月病理学检查证实 P5 (5 W、3.1 min) 邻近组织损伤较轻,而 P6 (10 W、3.6 min) 邻近肝组织损伤严重。由此推断, PVTT 占门静脉横截面积较大,即 PVTT 较重时,选用小功率 RFA 更为安全。

为减少血液或新鲜血栓与真实 PVTT 在热传导方面的差异,C 组用门静脉机化血栓替代 PVTT 模型行 RFA 治疗(功率 7 W、90 s),术后 MRI 检查消融区未见明显水肿,大体标本可见机化血栓与新生成血栓,病理学检查可见机化血栓坏死、血管内皮细胞受损,但未见明确的周围组织水肿。分析原因可能有:①实验所采用的 RFA 功率与时间均较低,未能造成明显毁损;②建好的门静脉血栓再通严重,血流带走部分热量使得消融效果明显降低。因而推测,治疗中应增大 RFA 功率或延长消融时间。

本实验的局限性在于,实验动物数量少,只能得出实验变化趋势,无法建立大规模样本进行统计学分析。此外,本实验建立的机化血栓用于替代 PVTT 模型,而血栓在机体自身调节作用下很容易再通、消失,导致建模失败,且机化血栓无癌栓的侵袭性,

因此门静脉机化血栓的消融参数对于真实 PVTT 消融术仅可作为借鉴。

本实验结果提示采用 Habib VesOpen 双极 RFA 导管治疗 PVTT 时,应根据 PVTT 严重程度设定个体化射频功率及时间。实验提示 PVTT 较轻时采用大功率、短时间 RFA 治疗可能较安全,PVTT 较重时改用小功率、长时间 RFA 更为安全可靠。

[参考文献]

- [1] Steel AW, Postgate AJ, Khorsandi S, et al. Endoscopically applied radiofrequency ablation appears to be safe in the treatment of malignant biliary obstruction[J]. *Gastrointest Endosc*, 2011, 73: 149-153.
- [2] Pai M, Valek V, Tomas A, et al. Percutaneous intraductal radiofrequency ablation for clearance of occluded metal stent in malignant biliary obstruction: feasibility and early results[J]. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2014, 37: 235-240.
- [3] 崔宁, 李晓群. 经皮经肝双极射频消融导管恶性梗阻性黄疸 20 例[J]. *介入放射学杂志*, 2014, 8: 693-697.
- [4] 鲁东, 吕维富, 肖景坤, 等. 经皮肝穿刺胆道腔内射频消融联合支架植入治疗恶性梗阻性黄疸(附 2 例报告)[J]. *介入放射学杂志*, 2014, 23: 593-596.
- [5] 葛智儒, 王乐民, 徐文俊, 等. 实验性肺栓塞血栓演变及其意义[J]. *中国医药导刊*, 2005, 7: 374-375.
- [6] 杨军, 奚九一. 静脉血栓早期机化阶段动物模型的建立[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2005, 11: 199-201.
- [7] 宋鹏, 王茂强, 段留新, 等. 肠系膜上静脉-门静脉血栓动物模型的建立[J]. *中华消化外科杂志*, 2009, 8: 463-465.
- [8] Biolato M, Marrone G, Racco S, et al. Transarterial chemoembolization (TACE) for unresectable HCC: a new life begins?[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2010, 14: 356-362.
- [9] 张一飞, 王配军, 李文春, 等. 人与猪肝门静脉壁的细胞核密度的形态定量比较研究[J]. *解剖学研究*, 2005, 27: 126-128.

(收稿日期:2014-12-15)

(本文编辑:边 倩)