

## • 实验研究 Experimental research •

## 支气管镜引导下圈套器电灼损伤在犬气管狭窄模型中的应用

赵 纯, 向述天, 苏 伟, 曾俊仁, 徐 松, 赵娟娟, 毛崇文, 代洪妍

**【摘要】 目的** 探讨纤维支气管镜引导下圈套器电灼犬气管建立气管狭窄模型的可行性、安全性和有效性。**方法** 支气管镜引导下用电圈套器灼伤 10 只健康比格犬气管中段。术后观察犬气促、喘息等情况,每周行支气管镜、CT 检查,计算狭窄程度。术后 2、4 周各处死 1 只犬,取气管组织行苏木精-伊红(HE)和 Masson 染色,观察组织炎症和纤维化程度。**结果** 所有犬气管电灼伤术均获成功。术后 14 d、19 d,所有犬均出现喘息和肋间隙凹陷。术后 7 d、14 d、21 d、28 d 气管狭窄程度中位数分别为 26%、72%、86%、90%。组织病理学观察显示,术后 14 d 气管黏膜见重度炎症浸润,伴少量纤维组织生长;术后 25 d 炎症浸润以淋巴细胞为主,见多量纤维化。**结论** 支气管镜引导下圈套器电灼法建立犬气管狭窄模型,具有操作简便、快速、安全,可重复性强,临床相似度高等优点。

**【关键词】** 气管狭窄; 动物模型; 电灼; 圈套器

中图分类号:R562.1 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2020)-11-1116-04

**Application of bronchoscope-guided snare electrocautery injury of airway in establishing canine tracheal stenosis model** ZHAO Chun, XIANG Shuntian, SU Wei, ZENG Junren, XU Song, ZHAO Juanjuan, MAO Chongwen, DAI Hongyan. Department of Radiology, Forth Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan Province 650021, China

Corresponding author: XIANG Shuntian, E-mail: xiangshutian@sina.com

**【Abstract】 Objective** To discuss the feasibility, safety and effectiveness of fiberoptic bronchoscope-guided snare electrocautery injury of airway in establishing canine tracheal stenosis model. **Methods** Bronchoscope-guided snare electrocautery injury of tracheal middle segment was performed in 10 healthy beagle dogs. The postoperative conditions such as shortness of breath and wheezing were recorded. The fiberoptic bronchoscopy and CT examinations were performed every week to calculate the stenosis degree. One dog was sacrificed each time at postoperative 2 and 4 weeks, the tracheal tissue was collected, stained with hematoxylin-eosin(HE) and Masson, and sent for pathological examination to observe the tissue inflammation and fibrosis. **Results** Successful bronchoscope-guided snare electrocautery injury of trachea was accomplished in all the experimental dogs. Fourteen and 19 days after treatment, all dogs developed wheezing and intercostal depression. The median tracheal stenosis degrees at 1, 2, 3 and 4 weeks after treatment were 26%, 72%, 86% and 90%, respectively. Histopathological examination showed that severe inflammation of tracheal mucosa was observed at 14 days after treatment, and large amount of fibrosis with mainly lymphocytic infiltration was seen at 25 days after treatment. **Conclusion** For the establishment of tracheal stenosis model in experimental dogs, fiberoptic bronchoscope-guided snare electrocautery injury method is technically easy and fast, and clinically safe, besides, it can be repeatedly adopted. Moreover, the pathological characteristics of this model are highly similar to the clinical features of tracheal stenosis. (J Intervent Radiol, 2020, 29; 1116-1119)

**【Key words】** tracheal stenosis; animal model; electrical cauterization; snare

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2020.11.012

基金项目: 云南省科技厅-昆明医科大学联合专项基金项目(2017FE468-087)

作者单位: 650021 昆明医科大学第四附属医院放射科

通信作者: 向述天 E-mail: xiangshutian@sina.com

气管支气管狭窄包括肿瘤所致恶性狭窄,气管内插管、气管切开术及气管支气管良性疾病等所致良性狭窄<sup>[1]</sup>。随着气管插管技术普遍应用,1%~4%患者拔管后出现不同程度气管狭窄<sup>[2]</sup>。目前良性气管狭窄处理技术仍不尽如人意,手术切除存在显著并发症,金属支架植入后再狭窄发生率较高。为探寻预防和治疗气管狭窄方法,建立操作可靠、简单且重复性良好的气管狭窄模型显得尤为重要。本研究旨在探讨纤维支气管镜引导下圈套器电灼损伤在犬气管狭窄模型构建中的应用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与设备器材

选择健康成年比格犬 10 只(昆明医科大学动物实验中心),年龄(1.0±0.2)岁,体重 9~12 kg,雌雄不限。手术前行 CT 检查,排除先天性气管畸形。主要设备器材:MBC-5 型便携式纤维支气管镜(上海澳华光电内窥镜公司)、Aquilion ONE 型 640 层动态容积 CT 机(日本 Toshiba 公司)、一次性息肉切除器(常州市久虹医疗器械公司)

### 1.2 气管狭窄模型构建

实验犬术前常规禁食、禁水 6 h。实验犬在 3%戊巴比妥钠(25 mg/kg)静脉内麻醉后,仰卧位固定于手术台上,固定头后仰;拉伸犬舌头,将开口器置于口腔一侧;大腿外侧备皮。术中遇犬恢复反射时,按 3 mg/kg 静脉内追加戊巴比妥钠。电圈套器通过纤维支气管镜导引入气管后,打开二分之一圈套环并置于鞘管外,准确定位距离声门 8 cm 中段气管软骨上;圈套器通过绝缘手柄与高频电刀相连,电极片紧贴已备皮区域大腿皮肤,高频电刀参数设置为 35 W、1 MHz,在气管 C 形软骨环上定位 8 个烧灼点(均匀分布),分别烧灼 3 次,每次持续 6 s。注意操作时尽量环状损伤气管软骨部,灼烧深度约至气管软骨层,避免直接烧灼气管膜部,以防止发生食管瘘。术后保存支气管镜图像,CT 检查观察有无纵膈气胸等并发症,保温下犬麻醉复苏。

### 1.3 术后观察

①一般情况:术后观察并记录实验犬气管损伤后存活与否,有无急性呼吸窘迫、咳嗽,进水后有无呛咳等,记录出现气促、肋间隙凹陷时间。②支气管镜检查:术后每周 1 次,观察气管内膜损伤修复及气管狭窄情况,评价损伤表面炎症、肉芽增生程度。为保证图像同质性,采集图像时将镜头置于距损伤部位上约 1 cm 处。③CT 检查:术后每周 1 次,观察

气管内壁厚度、气管狭窄程度、软骨环情况及肺部感染等并发症。④组织病理学分析:观察气管结构是否完整、肉芽组织增生情况。狭窄最明显段切片行苏木精-伊红(HE)和 Masson 染色,采用校准显微镜、数字视频成像系统检测气管狭窄段黏膜层、黏膜下层厚度,黏膜下炎症细胞浸润和纤维化程度,Olympus 摄像系统摄影。

### 1.4 狭窄程度计算

术后实验犬气管狭窄程度计算公式为:(S-s)/S×100%,其中 S 指插管前气管腔面积,s 指检查时气管腔面积,均在 CT 检查图像上测取。每次图像采集后均计算狭窄率。狭窄程度用中位数(M)及 4 分位数间距(QR)表示。根据 Carolina 分级<sup>[3]</sup>对气管狭窄程度进行分级:0 级,无狭窄;1 级,1%~20%狭窄;2 级,21%~40%狭窄;3 级,41%~60%狭窄;4 级,61%~80%狭窄;5 级,>80%狭窄。犬气管狭窄程度>80%,即视为造模成功。

## 2 结果

10 只实验犬顺利完成气管电灼伤术,造模成功。术后均出现轻微咳嗽症状,观察期内无加重,无进水后呛咳。1 只犬于术后 14 d 处死,另 1 只严重气管狭窄,呼吸困难,于术后 25 d 处死(稍短于设计的 28 d),8 只犬存活至 1 个月观察终点。所有犬最迟至术后 14 d、19 d 分别出现喘息、肋间隙凹陷,见表 1。

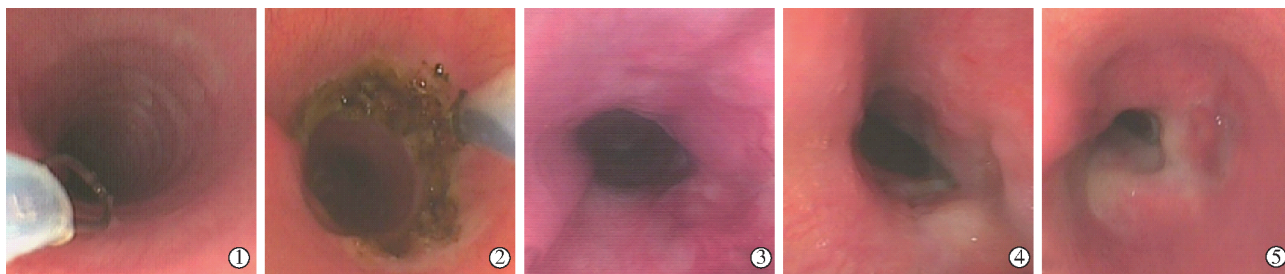
表 1 实验犬气管狭窄程度与呼吸时出现喘息、肋间隙凹陷时间

| 实验犬 | 术后气管狭窄程度/% |      |      |      | 出现喘息<br>时间/d | 出现肋间隙<br>凹陷时间/d | Carolina<br>分级 |
|-----|------------|------|------|------|--------------|-----------------|----------------|
|     | 7 d        | 14 d | 21 d | 28 d |              |                 |                |
| 1   | 26         | 67   | 86   | 92   | 12           | 17              | 5              |
| 2   | 30         | 76   | 81   | 85   | 10           | 15              | 5              |
| 3   | 31         | 75   | 87   | 94   | 9            | 14              | 5              |
| 4   | 28         | 69   | 84   | 87   | 14           | 19              | 5              |
| 5   | 20         | 70   | 85   | 90   | 11           | 16              | 5              |
| 6   | 25         | 72   | 84   | 89   | 10           | 16              | 5              |
| 7   | 32         | 76   | 86   | 90   | 8            | 13              | 5              |
| 8   | 27         | 74   | 85   | 93   | 12           | 14              | 5              |
| 9   | 28         | 79   | 93   | —    | 12           | 12              | 5              |
| 10  | 25         | 72   | —    | —    | 11           | 14              | 4              |
| 中位数 | 26         | 72   | 86   | 90   | 11           | 16              | 5              |
| QR  | 7          | 9    | 2    | 3    | 2            | 2               | 0              |

支气管镜检查显示,术前犬气管黏膜光滑、完整,术后形态正常无塌陷;术后 14 d 气管损伤处黏膜充血、水肿缓解,部分区域出血、溃疡,可见中度肉芽组织增生,管腔内少许分泌物,气管狭窄明显;

术后 21 d 可见大量肉芽组织形成,溃疡减轻、无出血,表面分泌物附着;术后 28 d 肉芽增生严重,管腔

严重狭窄,表面黏膜生长恢复,狭窄后方大量分泌物堵塞,见图 1。

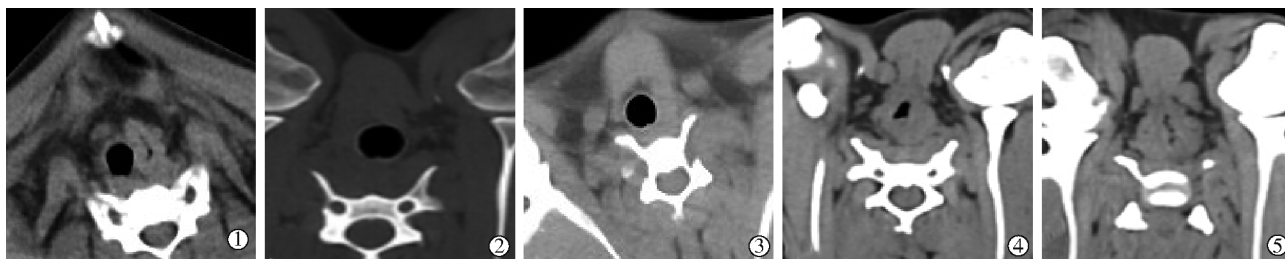


①打开二分之一电圈套器圈套环;②灼烧深度气管软骨层面;③术后 14 d 时可见溃疡、出血,肉芽组织增生;④21 d 时大量肉芽组织增生,黏膜表面毛躁;⑤28 d 时气管狭窄严重,表面黏膜光滑

图 1 气管狭窄支气管镜检查结果

CT 检查显示,术前犬气管软骨完整、内壁厚度均匀一致;术后 7 d CT 骨窗见部分气管内壁缺损和软骨缺损、断裂;术后 14 d 气管腔稍狭窄;术后 21 d 可见大量肉芽组织伴气管软骨环塌陷,重度气管狭窄形成,狭窄长度 1 cm;术后 28 d 狭窄程度进一步

加重,见图 2。气管狭窄程度中位数在术后 7 d、14 d 分别为 26%、72%,术后 21 d、28 d 分别可达 86%、90%(表 1),随后狭窄进展逐渐减缓。术后 14 d 所有犬气管狭窄程度均已达 5 级狭窄(表 1)。不同时间点狭窄程度变化见图 3。



①术前正常气管结构层次清楚、光整;②术后 7 d 时软骨缺损,管腔无狭窄;③14 d 时管腔环形狭窄;④21 d 时软骨环塌陷,狭窄面不规则;⑤28 d 时管腔肉芽组织增生严重,管腔呈线样

图 2 气管狭窄 CT 检查结果

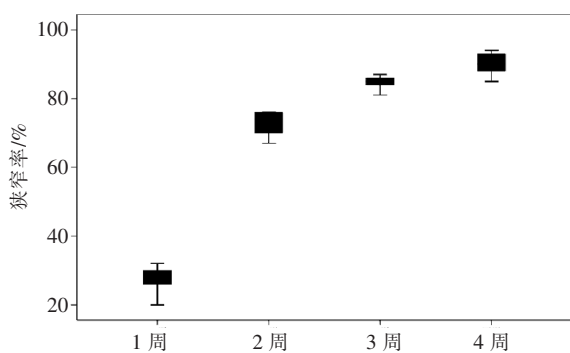


图 3 不同时间点狭窄程度变化

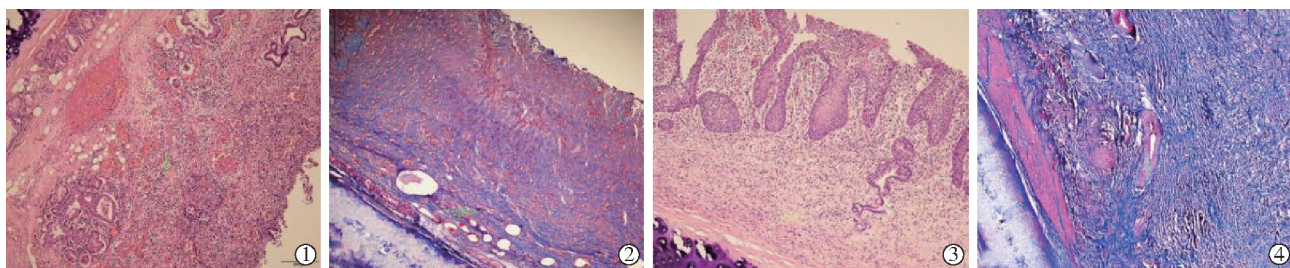
分别于术后 14 d、25 d 处死 2 只犬,气管整体大体解剖观察显示损伤部位气管外膜塌陷,软骨支撑结构破坏、塌陷,中间通过结缔组织和肌性组织相连。组织病理学观察结果显示,术后 14 d 气管内膜上皮不连续,多发溃疡形成,其下腺体减少,黏膜中量肉芽组织增生(新生血管、炎性细胞浸润),见重度炎症浸润,伴少量纤维组织生长;术后 25 d 气

管软骨变性吸收、部分被肉芽组织取代,黏膜下中度炎症浸润,以淋巴细胞浸润为主,见多量纤维化,见图 4。

### 3 讨论

为探寻气管狭窄预防和治疗的有効方法,构建操作便捷、可靠且重复性良好的气管狭窄动物模型显得尤为重要。正确选择实验动物建模是获得有效实验研究结果的基础和关键。目前用于气管狭窄实验的动物主要有犬、猪、兔等。普通中型犬气管长径、管腔内径均与人类相似<sup>[4]</sup>。相较于兔等小型动物,犬气管内径宽,允许一定程度肉芽组织生长,不仅便于气管内多种器械诊疗,还可为后期诊疗观察创造时间与空间,有效增加实验结果的准确性和可靠性<sup>[5]</sup>。而且犬气管后方膜部含肌层组织,可刺激收缩并促进排痰,解剖学和生理学上最大程度接近于人类<sup>[6]</sup>。本研究选择犬作为理想的气管狭窄建模实验动物。





①术后 14 d, 新生血管形成, 肉芽组织增生明显, 以炎性细胞浸润为主 (HE 染色); ②气管软骨断裂, 少量纤维组织增生 (Masson 染色); ③术后 25 d 气管软骨部分缺损, 炎症浸润明显减少 (HE 染色); ④炎性肉芽多被纤维细胞取代 (Masson 染色)

图 4 气管狭窄组织病理学观察结果 (×40 倍光镜下)

本研究采用支气管镜引导下圈套器电灼损伤气管技术建模。电圈套器在支气管镜引导下进入深部气管, 其电极呈椭圆形, 可随意控制工作电极长度, 在控制局部产热的同时损伤范围广, 达到损伤位置与程度俱佳效果。研究表明犬气管颈段全厚黏膜创面小于 15 mm 时伤口愈合不会产生狭窄, 只有创面宽度达 20~25 mm 时才会出现狭窄<sup>[7]</sup>。本实验在操作过程中仅部分打开电圈套器, 形成半椭圆形圈套环; 为防止食管气管瘘, 实施损伤时避开后壁膜部, 对前壁气管软骨环均匀分布的 8 个定位点分别烧灼 3 次, 在确保有效损伤面积的同时通过接近于环形损伤创面, 模拟临床气管插管后气管狭窄。气管壁损伤深度与气管狭窄密切相关, 气管黏膜和黏膜下层损伤仅会引起正常伤口愈合, 对气管软骨和结缔组织损伤则引起肉芽组织增生而非再生, 从而导致气管狭窄。本实验方法既可保证气管损伤深度, 又避免单次高功率损伤贯穿气管壁, 造成气胸后气管塌陷等严重并发症<sup>[8]</sup>。

本实验观察结果显示, 术后 14 d 损伤部位水肿和少量肉芽组织增生, 21 d 时肉芽组织明显增生, 管腔明显环形狭窄; 与之对应的是最迟于术后 14 d、19 d 所有犬分别出现喘息和肋间隙凹陷, 21 d、28 d 气管狭窄程度中位数分别达 86%、90%。这与 Su 等<sup>[9]</sup>犬气管插管建模法拔管后 14~21 d 出现肋间隙凹陷时间, 21 d 时 88%~93% 狭窄结果相接近, 与王超等<sup>[4]</sup>犬气管支架置入 14 d 后出现气管狭窄也接近, 由此反映本实验造模病理形成机制与临床气管插管和支架置入后狭窄机制相似。

近年来有研究报道采用电圈套器治疗恶性中心气管肿瘤, 结果表明电圈套器在气管内应用是安全、有效的<sup>[10]</sup>。电圈套器与电极相当, 有电气化和电凝效果, 对周围组织损伤较少<sup>[8]</sup>。与机械损伤建模狭窄率低<sup>[11]</sup>、气管插管建模耗时长<sup>[8]</sup>相比, 电损伤具有相对快速、精确, 可定量损伤, 并发症少和重复性好的特点, 可满足气管狭窄基础研究构建动物模型需求。

由于实验动物较少, 本研究仅获取 2 只犬组织病理学标本, 但通过一般情况、支气管镜及 CT 检测观察得出高度相似的实验结果, 且相互验证, 为实验结果提供了可靠依据。

#### [参考文献]

- [1] 陈延伟, 金发光, 李王平, 等. 我国近五年成人良性中心气管狭窄的病因及类型现状[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 36:221-223.
- [2] Shin YS, Choi JW, Park JK, et al. Tissue-engineered tracheal reconstruction using mesenchymal stem cells seeded on a porcine cartilage powder scaffold [J]. Ann Biomed Eng, 2015, 43: 1003-1013.
- [3] Goldberg M, Pearson FG. Pathogenesis of tracheal stenosis following tracheostomy with a cuffed tube. An experimental study in dogs [J]. Thorax, 1972, 27: 678-691.
- [4] 王超, 王勇, 朱光宇, 等. 端口改良型气管支架动物实验研究[J]. 介入放射学杂志, 2016, 25:793-797.
- [5] 李宗明, 刘耿, 张全会, 等. 可降解镁合金气管支架在兔气管狭窄模型中初步应用[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27:353-356.
- [6] 郭家武. 120 只实验狗的气管、支气管测量及应用[J]. 昆明医学院学报, 1986, 7:57-63.
- [7] Wang Z, Chi RC, Chen WX, et al. Mucosal wound and cicatricial stricture formation in the dog trachea: an experimental study[J]. J Laryngol Otol, 1991, 105: 207-209.
- [8] Wang HW, Zhang N, Li DM, et al. Interventional bronchoscopies for the treatment of 112 cases with complex malignant central airway diseases involved in bifurcation[J]. Zhongguo Fei Ai Za Zhi, 2016, 19: 854-858.
- [9] Su ZQ, Li SY, Zhou ZQ, et al. A canine model of tracheal stenosis induced by cuffed endotracheal intubation[J]. Sci Rep, 2017, 7: 45357.
- [10] 宋宣克, 苏彦河, 王恒, 等. 双极电刀在胸廓入口肿瘤切除术中的应用[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32:1730-1731.
- [11] Serrano C, Lostale F, Rodríguez-Panadero F, et al. Tracheal self-expandable metallic stents: a comparative study of three different stents in a rabbit model[J]. Arch Bronconeumol, 2016, 52: 123-130.

(收稿日期:2019-12-23)

(本文编辑:边 倩)