

实验兔肾动脉使用医用胶栓塞的可行性研究*

蒋天鹏,王黎洲,李兴,宋杰,吴晓萍,安天志,周石[△]

(贵阳医学院附属医院放射科,贵阳 550004)

[摘要] **目的** 通过动物实验观察医用胶栓塞实验兔肾动脉的可行性及安全性,探讨不同栓塞剂浓度对血管栓塞过程及效果的影响,为其临床应用提供指导。**方法** 用不同比例的超液化碘油与医用胶组成的混悬液对 18 只实验兔肾动脉进行栓塞,观察栓塞情况及效果。**结果** 栓塞剂经导管注射顺利,可经微导管行反复栓塞,安全有效,栓塞可靠,均未见血管再通和造影剂外溢。术后病理检查 HE 染色后光学显微镜下见动脉内栓塞剂呈不规则形或分支状折光性透亮物质,其中,5:1、4:1 组以细、小动脉栓塞为主,二者比较差异无统计学意义($P>0.05$),3:1 组以中型动脉栓塞为主,与 5:1 组、4:1 组比较差异有统计学意义($P<0.05$),肾组织可见充血、变性、凝固性坏死、钙化及纤维组织增生等不同改变。术后肾功能呈一过性损害,白细胞一过性升高,1 周后均恢复至术前水平,术后肝功能未见明显异常。**结论** 医用胶栓塞实验兔肾动脉可行,不同浓度的医用胶可以选择性栓塞肾动脉各级分支。

[关键词] 动物实验;肾动脉;栓塞;医用胶**[中图分类号]** R816.7**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)35-4917-05**Feasibility study of embolization with medical adhesive on renal artery in rabbits***Jiang Tianpeng, Wang Lizhou, Li Xing, Song Jie, Wu Xiaoping, An Tianzhi, Zhou Shi[△]

(Department of Radiology, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou 550004, China)

[Abstract] **Objective** To observe the feasibility and security of the embolization with medical adhesive on renal artery in rabbits by animal experiments, and explore the effectiveness of different concentration of embolic agents on the process and the effect of embolization for vascular, and provide guidance for clinical application of medical adhesive. **Methods** A mixture of different ratios of lipiodol and medical adhesive were used to embolize the renal artery in 18 rabbits, the usage and effects of embolization were observed. **Results** Embolic agents were seen under the fluoroscopy, easy to control and inject transcatheter, also repeated injected by one micro-catheter safety and effectively. Angiography review showed a reliable embolization, no vascular recanalization and no spill-over of contrast agent. Optical microscope, after HE staining in postoperative pathological examination, showed irregular shaped embolic agents or branch like refractive index of transparent material in the embolized artery. In 5:1 group and 4:1 group, arteriole and small artery were mainly embolized, there was no significant difference between the two groups($P>0.05$); Whereas medium sized artery was mainly embolized in 3:1 group, compared with the 5:1 group and 4:1 group, the differences was statistically significant($P<0.05$). After operation, renal function was transient damage, leukocyte was transient increasing, one week later, both of renal function and leukocyte were recovered, and there was no significantly renal function anomaly. **Conclusion** It is feasible, safe and effective for medical adhesive to embolize rabbits renal artery, the different concentration of the embolic agents can embolize the different branches of rabbit renal artery.

[Key words] animal experiments; renal artery; embolization; medical adhesive

1989 年 Brothers 等^[1]首先报道了 IBCA 用于脑动静脉畸形的血管内栓塞治疗,拉开了液体栓塞剂广泛应用的序幕^[2-3]。开发寻找既便宜、安全、有效的液体栓塞剂是当前介入放射学的重点和难点。本实验应用介入放射学技术,经股动脉穿刺选择性插管至实验兔肾动脉行栓塞治疗,观察医用胶栓塞实验兔肾动脉的可行性,探讨医用胶与超液化碘化油的不同配比在实验兔肾动脉栓塞中的有效性和安全性,从而为其在介入放射中的临床应用提供实验依据。

1 材料与方

1.1 实验对象及栓塞剂制备 选择健康的新西兰大白兔 18 只,体质量(2.9±0.5)kg,雌雄不限,月龄 8~12 个月(由贵阳医学院动物实验中心提供)。根据栓塞剂浓度配比不同随机分为 3 组,每组 6 只,超液化碘油与医用胶按 5:1、4:1、3:1 比例配制成 3 种浓度,分别用于上述 3 组实验兔肾动脉的栓塞。

1.2 实验材料

1.2.1 器材 BD 密闭式静脉留置针 18 G(中国,苏州碧迪医疗器械有限公司),塑形后的 2.7 F 同轴微导管系统(日本,泰尔茂株式会社)。

1.2.2 设备 数字减影血管造影机(AXIOM Artis,德国,西门子公司),石蜡切片机,光学显微镜,多媒体彩色病理图文分析系统。

1.2.3 药剂 医用胶(每套 0.5 mL,中国,北京福爱乐科技发展有限公司),超液化碘油注射液(每支 10 mL,法国,加柏);碘佛醇(每瓶 50 mL,中国,江苏恒瑞医药股份有限公司);盐酸氯胺酮注射液(2 mL:0.1 g,中国,江苏恒瑞医药股份有限公司),肝素钠注射液(2 mL:1.25 万 U,中国,成都市海通药业有限公司)。

1.3 栓塞方法及过程

1.3.1 术前准备 所有大白兔术前均禁食 4 h, 仰卧位固定于手术台上, 予盐酸氯胺酮 1 mL 加生理盐水 5 mL 经耳缘静脉注入麻醉, 然后予氯胺酮 2 mL 溶于 5% 葡萄糖水 150 mL 持续缓慢静脉滴注维持^[4-5], 双侧腹股沟区备皮、消毒。

1.3.2 栓塞剂的配置 使用规格 1.0 mL 的注射器抽取 0.1 mL 医用胶, 与超液化碘油按照 1:5、1:4、1:3 3 种比例混合成栓塞剂, 分别用于 3 组大白兔肾动脉栓塞。

1.3.3 动脉插管 根据股动脉搏动确定穿刺点后, 使用 BD 静脉留置针以 Seldinger 法穿刺股动脉成功后, 经套管引入微导管系统。先行腹主动脉造影, 了解双侧肾动脉情况, 再选择性插管至一侧肾动脉主干开口处行造影检查, 观察其主要分支走行。

1.3.4 栓塞 将微导管头端置于一侧肾动脉开口处, 然后将配置好的不同浓度的超液化碘油和医用胶栓塞剂以低压流控技术^[6]缓慢注入, 在透视下严密监视, 血流变缓时停止栓塞, 严防栓塞剂反流, 栓塞结束后用 5% 葡萄糖水冲管, 每次栓塞结束后再次行肾动脉造影以证实栓塞效果。

1.3.5 穿刺点处理 栓塞及肾动脉再次造影结束后拔出微导管及静脉留置针, 股动脉穿刺点局部压迫止血 2~3 min 后予以绷带包扎, 6 h 后拆除绷带。

1.4 观察指标 分别于术后 1、7、30 d 分别处死实验兔, 取出肾脏观察大体标本, 然后以 10% 甲醛固定, 送组织切片(HE 染色)行病理学检查观察肾脏细胞坏死情况及肾动脉血管栓塞情况。肾动脉栓塞前及栓塞术后 1、7 d 复查兔肝功能[谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate Transaminase, AST)]; 肾功能[血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、血肌酐(creatinine, Cr)]; 血常规[白细胞(white blood cells, WBC)、红细胞(red blood cells, RBC)、血小板(platelet, PLT)]。

1.5 统计学处理 采用 SPSS11.5 统计软件对数据进行分析处理, 实验数据采用配对设计 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 肾动脉插管栓塞情况 兔肾动脉插管较易, 微导管在相应导丝的引导下均较容易进入肾动脉主干或者一级分支, 所配置的栓塞剂在透视下显影清晰, 经导管注射顺利, 易于控制。栓塞后即时造影, 见肾动脉从其中部或远端阻断呈残根状, 不同浓度栓塞剂肾动脉栓塞情况有所不同。术后亚急性和慢性期再次行对侧股动脉穿刺插管复查造影示栓塞可靠, 均未见血管再通现象和造影剂的外溢, 亦未见侧支循环形成, 见图 1~3。

2.2 实验室检查 肾功能 BUN、Cr 于治疗后 1 d 升明显升高, 于 7 d 后恢复正常; 肝功能中的 ALT、AST 指标在栓塞前、后则无明显变化; 血常规中 RBC、PLT 的波动差异无统计学意义($P > 0.05$), WBC 治疗后 1 d 增加, 7 d 后复查降至正常, 见表 1。

2.3 组织病理学结果

2.3.1 肉眼大体标本所见 栓塞后 24 h 栓塞肾稍肿大、质硬, 表面充血并可见散在分布点状出血灶, 皮髓质界限及髓放线尚清楚(图 4~5); 栓塞后 7 d 肾脏表面可见散在分布的缺血性梗死灶, 皮髓质界限尚清, 髓放线模糊(图 6~7); 1 周内, 栓塞肾重量与对侧相比无明显差异。栓塞后 30 d, 栓侧肾脏明显机化缩小, 且栓侧肾脏与周围组织严重粘连, 游离困难, 肾脏包膜增厚, 不易剥离, 切面呈灰黄色, 皮髓质界限不清, 髓放线消失(图 8~9), 与对侧正常肾脏相比, 栓塞肾重量明显减轻。



图 1 栓塞后再次造影可见肾动脉末梢分支消失(5:1 组)

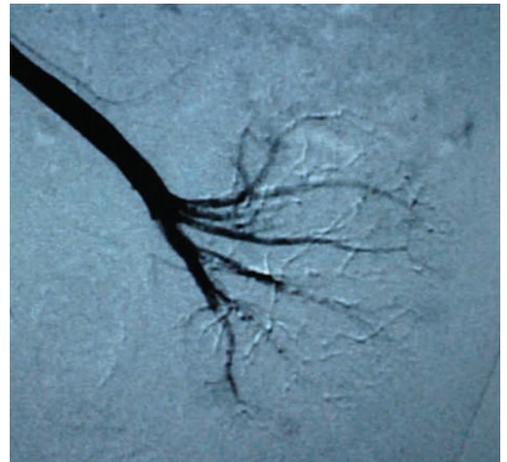


图 2 栓塞后再次造影示肾动脉主干及一级分支仍正常显影(4:1 组)

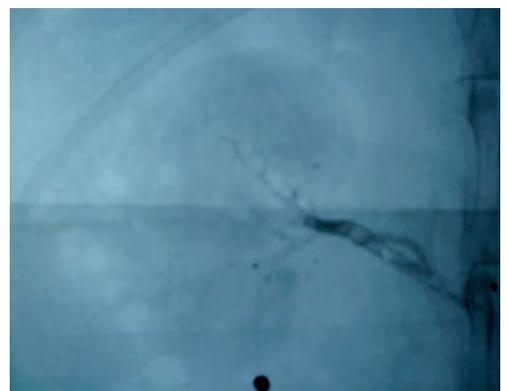


图 3 栓塞后再次造影示肾动脉主干及一级分支呈“铸型”改变, 远端分支消失未显影(3:1 组)

表 1 肾动脉栓塞前、后肝肾功能及血常规的改变($\bar{x} \pm s$)

指标	术前	术后 1 d	术后 7 d
ALT($\mu\text{mol/L}$)	36.80 \pm 0.89	39.50 \pm 1.35	37.19 \pm 1.12
AST($\mu\text{mol/L}$)	46.20 \pm 2.78	50.43 \pm 3.54	48.91 \pm 2.56
WBC(10^9)	6.89 \pm 0.56	10.12 \pm 0.75*	6.94 \pm 0.62
RBC(10^{12})	6.82 \pm 0.31	6.94 \pm 0.47	6.85 \pm 0.41
PLT(10^9)	428.00 \pm 9.52	435.00 \pm 10.21	431.00 \pm 9.86
BUN(mmol/L)	8.10 \pm 0.98	25.42 \pm 3.57*	15.31 \pm 2.82
Cr(mmml/L)	102.68 \pm 3.8	190.25 \pm 6.45*	125.74 \pm 3.89

*: $P < 0.05$, 与术前比较。



图 4 栓塞 24 h 后肾稍肿大、质硬,表面充血并可见散在分布点状出血灶



图 5 栓塞 24 h 后肾切面皮髓质界限及髓放线尚清楚



图 6 栓塞 7 d 后肾脏表面可见散在分布的缺血性梗死灶



图 7 栓塞 7 d 后肾切面皮髓质界限尚清,髓放线模糊

2.3.2 光学显微镜下观察表现 见表 2。病理评判标准:(1)肾细动脉栓塞:肾组织内细动脉管腔内见不溶于血液的异常物质填充。无该病变:阴性(-),1~5 个细动脉栓塞:轻度(+),6~15 个细动脉栓塞:中度(++),16 个以上细动脉栓塞:重度

(+++);(2)肾小动脉栓塞:肾组织内小动脉(血管壁无平滑肌)管腔内见不溶于血液的异常物质填充。无该病变:阴性(-),1~3 个小动脉栓塞:轻度(+),4~10 个小动脉栓塞:中度(+++),11 个以上小动脉栓塞:重度(+++);(3)肾中型动脉(肌型动脉)栓塞:肾组织内中型动脉(血管壁主要由平滑肌构成)管腔内见不溶于血液的异常物质填充。无该病变:阴性(-),1 个中型动脉栓塞:轻度(+),2~3 个中型动脉栓塞:中度(++),4 个以上中型动脉栓塞:重度(+++)

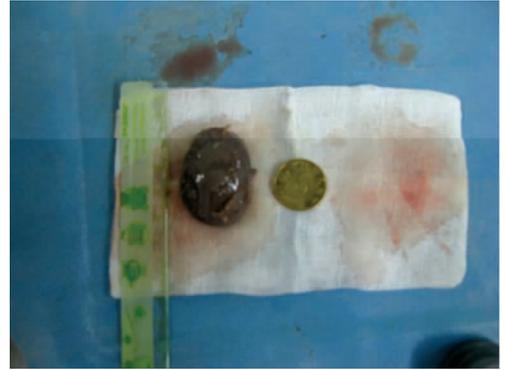


图 8 栓塞 30 d 后肾明显机化缩小

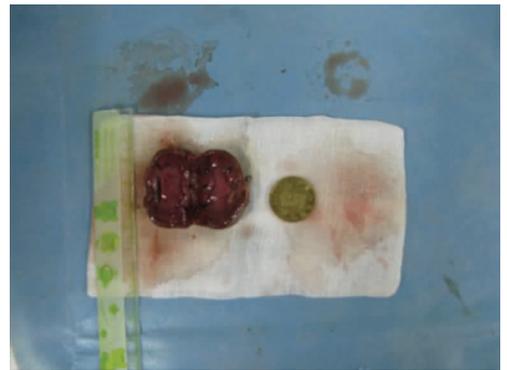


图 9 栓塞 30 d 后肾切面呈灰黄色,皮髓质界限不清,髓放线消失

表 2 各组大鼠肾动脉栓塞情况

时间	3:1 组			4:1 组			5:1 组		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
24 h	-	+	++	+	++	+	++	++	-
24 h	-	+	++	+	++	-	++	++	+
7 d	-	+	+++	++	++	+	++	++	-
7 d	-	+	++	++	+++	++	++	++	+
30 d	-	+	++	++	++	-	+++	+++	-
30 d	+	++	++	+	++	+	++	++	+

A:代表细动脉;B:代表小动脉;C:代表中型动脉。

术后病理 HE 染色后光学显微镜下观察,上述各期栓塞肾中,肾血管内可发现不规则形或分支状折光性物质(图 10),此种物质可阻塞肾动脉各级分支,其中,5:1 组、4:1 组以细动脉及小动脉栓塞为主,二者比较差异无统计学意义($P > 0.05$);3:1 组以中型动脉栓塞为主,可见部分小动脉栓塞,但细动脉栓塞极少见,与 5:1 组、4:1 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),3 组间肾组织变性坏死差异无统计学意义($P > 0.05$)。在肾动脉较大分支内,这种具有折光性的物质常使血管腔部分阻塞,但其周围往往有较多纤维素沉积而使血管腔完全闭塞(图 11~12),小血管腔常因被此种物质堵塞而显著扩张(图 13),但通常并不进入肾小球内。急性期肾组织内血管

扩张充血,血管壁未见明显破坏,肾组织变性,见轻度炎细胞浸润,未见明显凝固性坏死及纤维组织增生(图 14),亚急性和慢性期局部血管壁仍多数正常,只见少部分变性,部分小血管内有纤维素性血栓形成,肾组织可见广泛变性、凝固性坏死,坏死周边见广泛炎性细胞浸润带,其中慢性期可见钙化形成,见图 15~16。

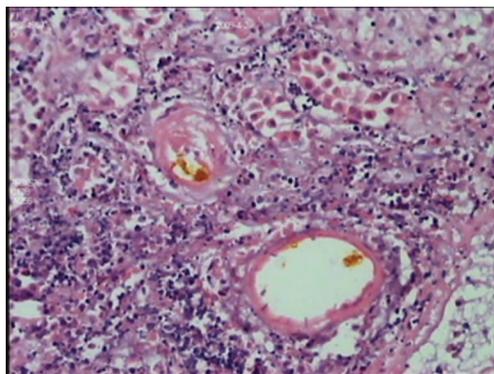


图 10 细、小动脉栓塞($\times 100$)

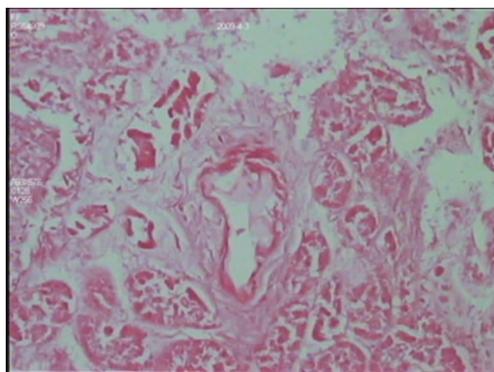


图 11 细动脉栓塞伴血栓形成($\times 200$)

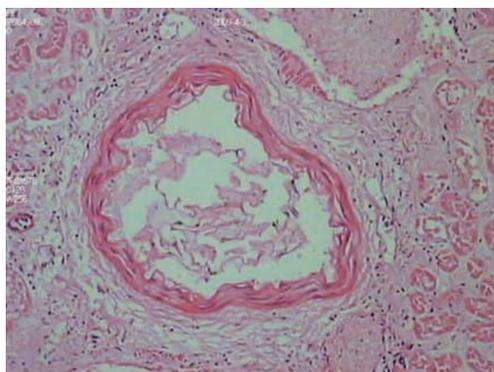


图 12 中型动脉栓塞伴血栓($\times 100$)

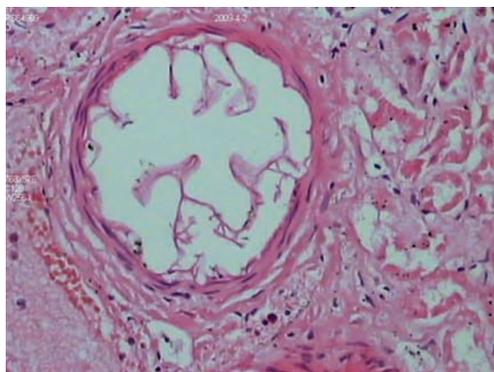


图 13 小动脉栓塞($\times 200$)

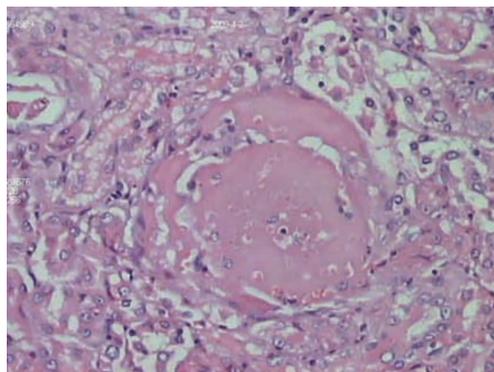


图 14 肾小球玻璃样变性伴炎性细胞浸润($\times 200$)

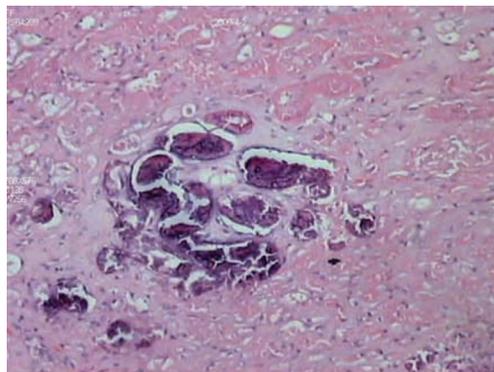


图 15 坏死、钙化($\times 100$)

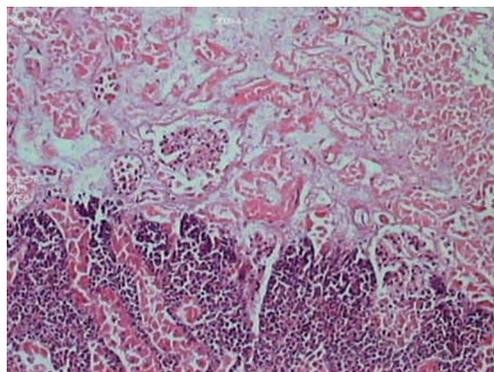


图 16 坏死、炎性细胞浸润($\times 100$)

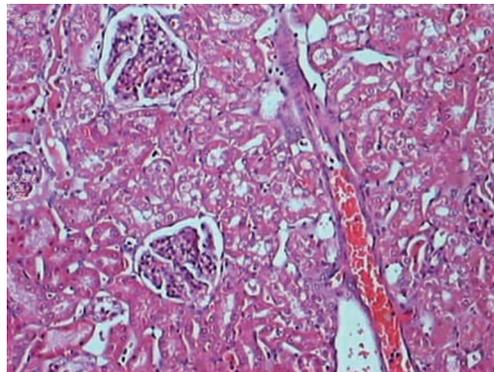


图 17 正常肾图($\times 100$)

3 讨论

液体栓塞剂的应用是介入放射工作的重要部分。理想的液体栓塞材料应具备以下条件:(1)生物相容性好;(2)能有效栓塞血管;(3)无毒、无致癌、无致畸作用;(4)材料容易获得;(5)能通过各种不同的输送微导管;(6)能够有效引起无损害性

炎症反应和血栓形成;(7)栓塞可控性,能够判断栓塞开始和结束点,不透 X 射线^[7-8];(8)易于通过细长的输送微导管,具有非黏附性,能自动脉端弥散到毛细血管,而且栓塞效果具有永久性,无血管再通现象^[9]。

医用胶由含量均为 99% 以上的 α -氰基丙烯酸甲氧基乙酯(ethyl-methoxy- α -cyanoacrylate)、 α -氰基丙烯酸正辛酯(N-Octyl- α -cyanoacrylate)、 α -氰基丙烯酸正丁酯(N-butyl- α -cyanoacrylate)等不同酯基的氰基丙烯酸酯配伍单组分组成。第四军医大学药理学、西安医科大学组胚教研室及病理室、同济医科大学公共卫生学院等对近 1 000 只小鼠、大鼠、家兔、家犬体内注入医用胶后分别在 1、3、6 个月和 1、2 年进行解剖,对脑、心、肺、肝、脾、胰、肾、前列腺、睾丸等进行病理观察,结果均无致畸、致癌、促癌、染色体畸变等损害^[10-12]。目前广泛应用于普外科、心胸外科、神经外科、耳鼻喉科、骨科、烧伤科、产科、肿瘤科、美容整形外科等科室手术中,具有止血、封闭、粘合、堵漏、栓塞、防粘连、固定粉碎性骨折等作用^[13-15]。

作者通过对栓塞肾病理学观察发现,医用胶进入动脉后随血流阻塞在不同级别的分支内,在血管内均匀弥散,呈铸型,引起靶组织血管闭塞,其中,5:1 组、4:1 组以细动脉及小动脉栓塞为主,但两组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);3:1 组以中型动脉栓塞为主,可见部分小动脉栓塞,但细动脉栓塞极少见,与 5:1 组、4:1 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。这充分证明了不同浓度栓塞剂可栓塞不同级别的肾动脉分支,其中,5:1 组、4:1 组栓塞剂可栓塞直径小于 2 μm 的细动脉,达到末梢栓塞的效果,3:1 组以肾动脉主干及一级分支栓塞为主,且相对于 5:1 组和 4:1 组较易出现粘管、反流等严重并发症,需严格掌握栓塞技巧。肾脏是终末动脉供血的器官,其对缺血缺氧的耐受性低,其动脉被栓塞后,不能形成侧支循环,故栓塞剂致靶动脉闭塞后均可导致相应肾脏组织变性坏死,各组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。急性期可见肾组织内血管管腔扩大,管壁变薄,管腔内充满红细胞,肾组织结构不清,肾小球内细胞肿胀,可有淋巴细胞、浆细胞、巨嗜细胞、中性粒细胞等炎细胞浸润。亚急性期和慢性期,血管腔内仍可见栓塞剂存在,这与复查肾动脉造影结果相符合,但肾组织结构模糊不清,并有明显破坏,细胞核消失,仅见肾组织轮廓,红染加深,肾组织内可见钙化,各期均未见明显血管壁坏死,亦无明显异物巨细胞反应,说明医用胶不仅栓塞效果可靠,慢性期仍无血管再通,而且生物相容性比较好,安全,结合栓塞前、后生化指标提示肾功能仅为一次性损伤,进一步说明了医用胶作为血管内栓塞剂安全可靠,无明显毒性反应。

本研究发现医用胶作为血管内栓塞剂的优点为:(1)在血管中弥散程度好,栓塞完全;(2)栓塞远期效果肯定,不会发生再通;(3)术后病理反应温和,未见血管壁的坏死等较为严重的不良反应;(4)费用相对低廉,适合中国的国情;(5)医用胶虽属于黏附性液体栓塞剂,具有聚合速度适当、聚合热低、扩散性能好、价格相对便宜等特点。且只要严格按照实验技巧操作,可以达到根据造影效果经同一导管多次注射,既保证了栓塞效果,又节省了费用;(6)与 Onyx 胶等非黏性液体栓塞剂相比亦具有价格低、无血管毒性,而且可通过普通导管注射等优点;(7)与无水乙醇、碘化油等只能栓塞末梢血管相比,医用胶可根据不同浓度配置栓塞不同级别的靶血管,进而为其临床应用于多种不同类型疾病的血管内栓塞治疗奠定了基础;(8)医用胶与超液化碘油可混合而不发生凝固,超液化碘油既可起到稀释医用胶的作用,又可在透视下显影,从而在栓塞过程中可密切监视栓塞情况。

本研究初步结果表明医用胶栓塞实验兔肾动脉简单易行,易于控制,栓塞效果可靠、时间长久,而对血管的刺激性小,无明显的并发症。不同浓度的医用胶具有不同的凝固时间,栓塞水平亦不相同,临床工作中可以根据病灶的情况而选择不同的浓度。总之,医用胶是一种安全高效的血管内栓塞剂,有着广泛的临床应用前景。

参考文献

- [1] Brothers MF, Kaufmann JC, Fox AJ, et al. n-Butyl 2-cyanoacrylate—substitute for IBCA in interventional neuroradiology: histopathologic and polymerization time studies [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 1989, 10(4): 777-786.
- [2] Frodsham A, Berkmen T, Ananian C, et al. Initial experience using N-butyl cyanoacrylate for embolization of lower gastrointestinal hemorrhage [J]. J Vasc Interv Radiol, 2009, 20(10): 1312-1319.
- [3] Huang CC, Lee CW, Hsiao JK, et al. N-butyl cyanoacrylate embolization as the primary treatment of acute hemodynamically unstable lower gastrointestinal hemorrhage [J]. J Vasc Interv Radiol, 2011, 22(11): 1594-1599.
- [4] 郑占乐, 潘进社, 马利杰, 等. 实验兔血管外科手术不同麻醉药物的比较 [J]. 河北医科大学学报, 2008, 29(3): 384-387.
- [5] 李尧清, 杨小玲, 秦建琼, 等. 氯胺酮在实验动物麻醉中的应用分析 [J]. 上海实验动物科学, 2001, 21(3): 169-170.
- [6] Kerber CW. Flow-controlled therapeutic embolization: a physiologic and safe technique [J]. AJR Am J Roentgenol, 1980, 134(3): 557-561.
- [7] Klisch J, Yin L, Requejo F, et al. Liquid 2-poly-hydroxyethyl-methacrylate embolization of experimental arteriovenous malformations: feasibility study [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2002, 23(3): 422-429.
- [8] Turjman F, Massoud TF, Vinters HV, et al. Collagen microbeads: experimental evaluation of an embolic agent in the rete mirabile of the swine [J]. AJNR Am J Neuroradiol, 1995, 16(5): 1031-1036.
- [9] Ezura M, Takahashi A, Yoshimoto T. Successful treatment of an arteriovenous malformation by chemical embolization with estrogen followed by conventional radiotherapy [J]. Neurosurgery, 1992, 31(6): 1105-1107.
- [10] 宋惠民, 宋光民, 李跃华, 等. 福爱乐医用胶的临床应用 [J]. 临床外科杂志, 2003, 11(1): 61-62.
- [11] 夏穗生, 田霞, 卢永顺. 新一代喷涂型福爱乐医用胶(基础研究) [J]. 临床外科杂志, 2003, 11(2): 120-121.
- [12] 夏穗生, 田霞, 卢永顺. 新一代喷涂型福爱乐医用胶(临床应用) [J]. 临床外科杂志, 2003, 11(3): 190-191.
- [13] 田霞, 卢永顺. 福爱乐医用胶及其应用 [J]. 国际外科学杂志, 2006, 33(1): 74-79.
- [14] 田霞, 卢永顺. 福爱乐医用胶及其应用 [J]. 国际外科学杂志, 2006, 33(2): 145-149.
- [15] 李传贵, 宋波, 郑宗钊, 等. 生物胶在兔肾部分切除术中的止血效果 [J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(19): 2021-2024.