论著

文章编号:1000-5404(2014)03-0244-04

新型射频消融肝组织凝胶模型的构建

孙 海[1],吴国栋[1],张丰深[1],马宽生[2],陈 焱[1],邓小明[1],李志强[1],杨 星[1] (400020 重庆,解放军第324医院肝胆外科[1];400038 重庆,第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所[2])

[摘要] **目的** 构建一种新型的能应用于射频消融(radio frequency ablation, RFA),并且与人肝组织特征相似的仿真模型。**方法** 用新鲜动物离体肝组织匀浆、琼脂糖凝胶、脱气水制成仿正常肝组织的固体模型,测定其物理特性,并对模型进行RFA操作,测量单次RFA的消融体积,评估模型行RFA的生物特性。**结果** 肝组织凝胶模型密度为(1 055.75±9.29)kg/m^3,比热容为(3 446±137)J/(kg·℃),导电率为(0.123±0.004)s/m (470 kHz),CT值为(25.68±5.85)HU,与人体肝脏的物理特征类似;单次RFA后剖开模型可见清晰消融灶,肉眼或CT扫描下均可测量毁损灶大小。**结论** 新型肝组织凝胶模型具有较好的仿人肝组织的特点。

[关键词] 射频消融;仿组织模型;消融体积

[中图法分类号] R-332;R322.47;R454.1 [文献标志码] A

A new type of hepatic tissue-mimicking gel phantom for radiofrequency ablation

Sun Hai[1], Wu Guodong[1], Zhang Fengshen[1], Ma Kuansheng[2], Chen Yan[1], Deng Xiaoming[1], Li Zhiqiang[1], Yang Xing[1] ([1]Department of Hepatobiliary Surgery, No. 324 Hospital of PLA, Chongqing, 400020; [2]Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To build a new type of tissue-mimicking gel phantom for radiofrequency ablation (RFA), which has similar characteristics with human hepatic tissue. **Methods** The hepatic tissue-mimicking gel phantom was made from de-aerated water, agar gel and some fresh animal hepatic tissues. The physical characteristics of this new phantom were measured. RFA was performed on this phantom. The ablation volume was measured after RFA, and the efficacy of RFA was evaluated. **Results** The gel phantom showed density of (1 055.75±9.29)kg/m^3, specific heat capacity of (3 446±137)J/(kg·℃), conductivity of (0.123±0.004)s/m (470 kHz) and the CT value of (25.68±5.85)HU, which were similar with the physical characteristics of the human liver. The ablation area could be clearly observed after RFA, which can be measured immediately or through CT scanning. **Conclusion** The new type of hepatic tissue-mimicking gel phantom was similar with the human liver.

[**Key words**] radiofrequency ablation; tissue-mimicking phantom; ablation volume

Supported by the Natural Science Foundation of Chongqing (2008GG0132). Corresponding author: Zhang Fengshen, Tel: 86-23-68762040, E-mail: zfs-cq@sohu.com

近年来,随着射频消融(radio frequency ablation, RFA)在肝脏肿瘤治疗中占据越来越重要的地位,其相关的基础研究亦逐渐受到重视。在射频消融疗效的研究中发现,单次RFA毁损体积的大小是影响疗效的重要因素[1],因此RFA毁损体积的实验研究一直是关注的焦点,但现有仿肝脏模型均存在各种缺陷,限制了RFA生物效应研究的进展。

目前的基础研究中,肝脏RFA使用的模型包括动物肝脏和仿动物肝脏两大类。小动物肝脏无法满足大体积的RFA,而且活体动物肝脏无法排除血流沉降效应的混杂干扰。Clasen等[2]用离体牛肝脏作为实验对

[基金项目] 重庆市自然科学基金(2008GG0132)

[通信作者] 张丰深,电话:(023)68762040,E-mail:zfs-cq@sohu.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20131014.1035.014.html(2013-10-14)

象,虽然去除了血流灌注对消融灶的影响,但每例动物肝脏血管和胆管分布的个体化特点使实验模型缺乏均一性。而仿肝脏的模型主要是聚丙烯酰胺凝胶模型,此类模型虽不受体积、均质性和血流沉降效应的影响,但单纯的聚丙烯酰胺凝胶模型无法得到成形的 RFA 毁损灶且存在神经毒性。因此,本研究拟建立一种新型的肝组织匀浆与琼脂糖凝胶混合的固体模型,能克服现有模型的缺陷,旨在为 RFA 的基础研究提供一个均质性良好的模型平台。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料 新鲜离体动物肝脏(健康猪屠宰 6 h 内),琼脂糖(Gene Tech 上海有限公司),脱气水。

1.1.2 主要实验设备 LDRF-120S 多级射频消融系统(四川绵阳立德电子技术有限公司)、射频针为集束电极针、电极板大小为 15 cm×15 cm、肝组织匀浆机、恒温水浴箱、电动搅拌机、微波炉、各种烧杯及量杯。

1.2 实验步骤

1.2.1 肝组织匀浆制备 解剖新鲜离体动物肝脏,尽可能去掉肝内主要胆管及血管(肝动脉、门静脉和肝静脉)后;将肝组织切成小块放入匀浆机中捣碎并搅匀,放入恒温水浴箱(温度 40 ℃)保温 1 h。

1.2.2 琼脂糖凝胶制备 琼脂糖溶于一定量的脱气水中,微波炉加热至其充分溶解制成琼脂溶液,在 42 ℃恒温水浴箱中降温,保温备用。

1.2.3 肝组织琼脂糖凝胶模型的建立 将已制备好的肝组织匀浆与琼脂溶液按适当比例混合,电动搅拌器充分搅匀;冷却后即形成肝组织琼脂糖凝胶模型,常温下放置 6 h 后备用。

1.3 肝组织模型的评估

1.3.1 模型的一般特征 观察模型的外观、颜色、质地、稳定性;剖开模型观察其内部情况。

1.3.2 模型的物理参数测定 测量模型的密度,根据阿基米德原理,测量出模型的体积(V),电子秤称量出模型的质量(m),利用公式 $\rho = m/V$ 计算模型的密度;比热容测定,采用热流式差式扫描仪对体模的比热进行测量;导电性测定,用安捷伦 E4980A 精密 LCR 表测量体模在 470 kHz 下的电阻 R(37 ℃),由公式 $R = d/(\sigma S)$ 求得导电率(R 为电阻,σ 为导电率,d 为测量时电极间距离,S 为电流通过的横截面的面积)。同时对模型进行 B 超及 CT 扫描,测量模型 CT 值,并与人体肝脏物理参数[3]比较。

1.3.3 RFA 生物学效应测试 采用 LDRF-120S 多级 RFA 系统(四川绵阳立德电子技术有限公司)实施 RFA 操作。将肝匀浆组织模型置于 2 块大小为 15 cm×15 cm 的电极板上,将集束电极针插入模型中央 2.5 m 后展开。起始功率为 50 W,每分钟增加 5 W,至阻抗突然增加,功率迅速下降时停机;收回展开的射频针,将其旋转 90°后展开再次消融,起始功率为 50 W,每分钟增加 5 W,至阻抗突然增加,功率迅速下降关闭射频仪,宣告单次 RFA 结束。模型经 RFA 操作后放置一定时间,行 B 超或 CT 检查后沿插入针道剖开模型,观察消融灶颜色、形状、范围、质地变化,测量消融灶大小。

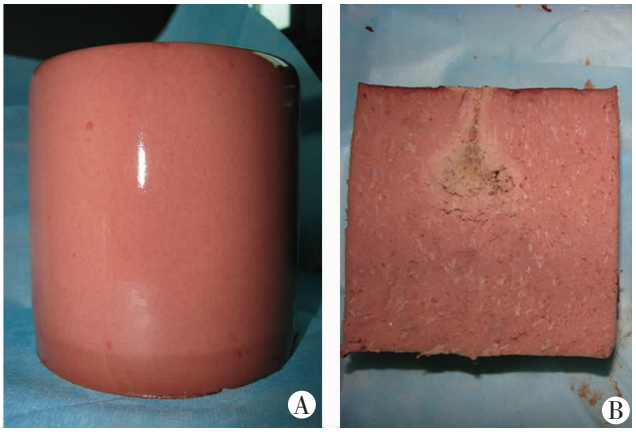
1.4 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据统计,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 肝组织模型的一般特征

制得的肝组织模型颜色呈肝褐色,外表光滑,具有较好的韧性及稳定性(图 1A);剖开后见内部结构均匀、细腻,可见 RFA 的针道,毁损病灶清晰(图 1B)。



A:外观;B:剖面观

图 1 肝组织模型的大体观察

2.2 肝组织模型的物理参数

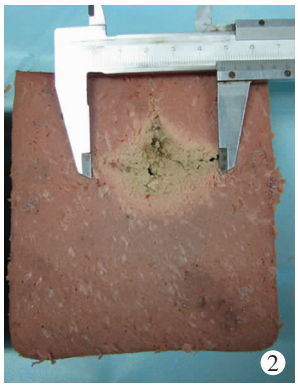
肝组织模型的物理参数与人肝类似(表 1)。

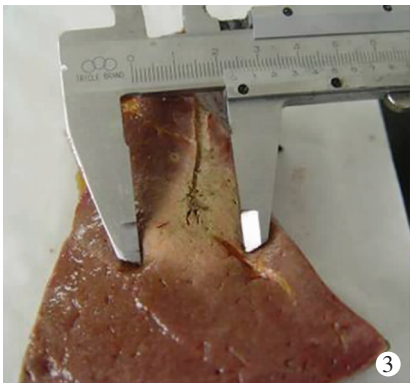
表 1 肝组织模型和人肝脏物理参数比较

肝组织	密度 (kg/m³)	比热容 [J/(kg·℃)]	导电率 (s/m,470 kHz)	CT 值 (HU)
模型	1 055.75±9.29	3 446±137	0.123±0.004	25.68±5.85
人体肝脏	1 060	3 600	0.148	40~70

2.3 RFA 生物学效应测试

单次 RFA 后模型固态保持良好,外观颜色无明显变化,无裂口、塌陷等情况;剖开后肉眼可见清晰毁损灶,毁损灶呈灰褐色,周围有一淡红色水肿带(图 2),与离体牛肝 RFA 后毁损灶相似(图 3)。B 超无法显示毁损病灶,CT 扫描下可见密度明显增高的毁损病灶(图 4)。





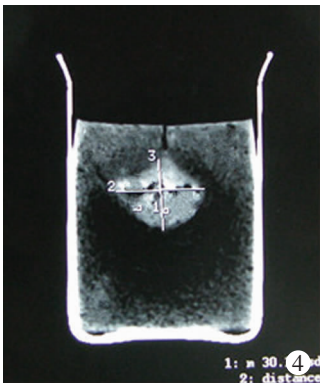


图2 肝组织模型射频消融后测量毁损灶

图3 离体牛肝射频消融后测量毁损灶

图4 肝组织模型的毁损灶CT表现

集束射频电极针展开3 cm和4.5 cm行RFA,游标卡尺和CT测量毁损灶(图5、6),后者明显大于前者;集束电极针展开的直径越大,形成的毁损灶越大。

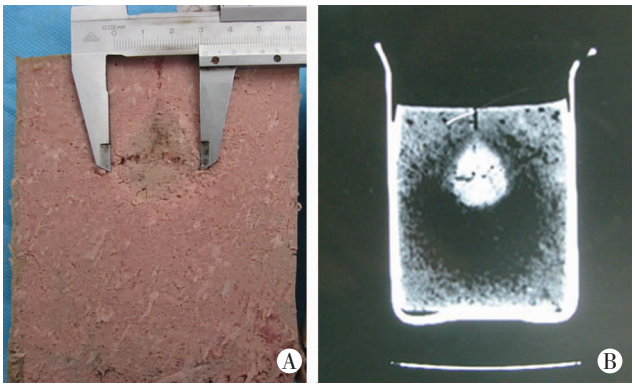


图5 射频针展开3.0 cm行射频消融游标卡尺测量(A)和CT测量(B)模型毁损灶

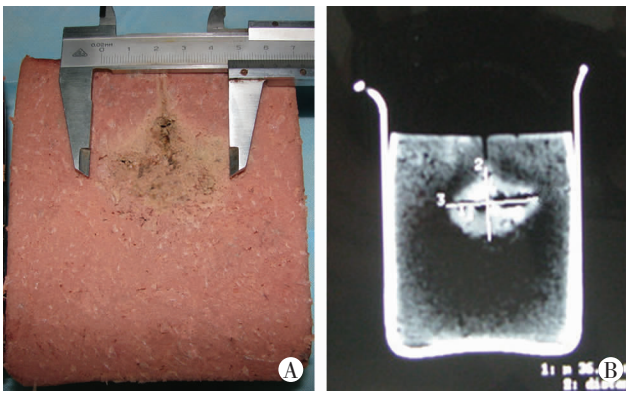


图6 射频针展开4.5 cm行射频消融游标卡尺测量(A)和CT测量(B)模型毁损灶

3 讨论

射频消融术是一种微创性肿瘤原位治疗术,借助于超声或CT等影像技术引导,将电极针直接插入肿瘤内,通过射频能量使病灶局部组织产生高温、干燥,最终凝固和灭活软组织及肿瘤。单次RFA毁损体积的大小是评估疗效的关键指标。因此RFA生物效应的模型研究是其临床应用的基础。既往的研究中,动物肝脏是使用最多的实验模型。但活体动物肝脏受肝脏体积、血流沉降效应等因素影响;而离体动物肝脏之间也存在个体差异,使模型缺乏均一性。随着RFA技术在临床中的广泛运用,仿肝组织模型的研究受到重视。然而近几年来,仿肝组织模型构建的研究徘徊不前,国内外研究没有明显的创新和发展。本研究突破以往常用的模型构建模式,把仿组织模型构建推向一个新的高度。

早期有学者将新鲜的鸡蛋清用于RFA毁损体积的研究,显然很难模拟肝脏RFA的实际情况[4]。目前RFA的非动物肝脏模型实验中,牛血清白蛋白-聚丙烯酰胺凝胶模型是热消融生物效应最常用的模型[5-6]。单纯的聚丙烯酰胺凝胶(PAG)模型与人体软组织具有相似的理化特性,透明度高、韧性和热稳定性好[7-9]。加入牛血红蛋白、牛血清白蛋白(BSA)等生物活性成分可以显示热消融后的毁损体积[3,10-12]。目前以聚丙烯酰胺凝胶为基础的模型在实验研究中广泛应用,但模型原料丙烯酰胺有中等神经毒性,对于需长期或大量从事模型制作的人员,该模型的制作过程存在安全风险,因此有必要替换一种更安全的模型原料。

琼脂糖同样具有人体软组织相似的理化特性[13],其相对密度为1.81 g/cm^3,在水中加热到90 ℃以上溶解,温度下降到35~40 ℃时形成良好的半固体状的凝胶。琼脂糖具有亲水性,几乎不存在带电基团,对敏感的生物大分子极少引起变性和吸附,是理想的载体。目前有研究证明琼脂凝胶制作的仿组织体模,其机械

性能、热学及电学性能与人体脊髓和肝脏组织接近[14]。国外已有学者将琼脂糖凝胶模型用于 RFA 生物效应的研究[15-17]。本研究以琼脂糖凝胶代替聚丙烯酰胺凝胶作为模型的基础材料,消除了安全风险。

单纯的琼脂糖凝胶模型在 RFA 达到一定温度时融化,而 RFA 结束后因温度下降又很快凝固,无法测得 RFA 的毁损体积是其一个明显的缺陷。本研究将琼脂糖凝胶与肝组织匀浆直接混合制作成新型仿肝组织体模。肝组织匀浆保留了正常肝组织的复杂成分,克服了蛋白添加剂的单一性,能更好地模拟正常肝组织的复杂环境。同时,该模型具有良好的固态性,光滑的外观和均匀的结构,经测试该模型具有与人体肝组织相近的理化特性;而且经 RFA 操作后,由于肝细胞变性,在模型中可留下典型的消融灶,与正常肝组织中消融灶相似,消融灶的颜色形状与周围正常组织有明显区别,可清晰观察消融灶大小及形状,准确测量每次 RFA 的毁损体积。同时,初步的研究显示,在不同的 RFA 参数条件下,毁损灶体积有明显的差别。

总的来说,本研究成功构建了一种新型的仿肝组织的凝胶混合模型。它具有以下特点:①模型内无动物肝脏中各种管道的影响,均质性良好;②排除了活体动物肝脏中血流热沉降效应的干扰;③模型不受体积大小的限制,可根据使用需求定制其大小,测定各种 RFA 设备的极限参数;④模型经 RFA 后固态性良好,剖面观与动物肝脏 RFA 后的毁损灶相似,可肉眼或经 CT 测量毁损灶的大小;⑤模型基本的理化参数与人肝组织相近。当然,本研究尚处于初级阶段,对于本模型的优缺点尚需通过与其他模型的对比研究进行进一步的评估。但我们认为,该模型为 RFA 在肝脏肿瘤疾病中的应用提供了一个全新的基础研究平台,在此模型的基础上给予加工处理,可研究血流灌注等多种因素对 RFA 生物效应的影响。因此,该模型在 RFA 设备的开发、效能测试、操作人员培训、临床治疗计划的制订等方面有广阔的应用前景。

参考文献:

[1] Zytoon A A, Ishii H, Murakami K, *et al*. Recurrence-free survival after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. A registry report of the impact of risk factors on outcome[J]. Jpn J Clin Oncol, 2007, 37(9): 658-672.

[2] Clasen S, Schmidt D, Boss A, *et al*. Multipolar radiofrequency ablation with internally cooled electrodes: experimental study *in ex vivo* bovine liver with mathematic modeling[J]. Radiology, 2006, 238(3): 881-890.

[3] 张步林, 胡兵, 邝胜利, 等. 一种与生物组织热凝固温度相似的可视化仿组织体模[J]. 中国医学影像技术, 2007, 23(9): 1405-1408.

[4] Takegami K, Kaneko Y, Watanabe T, *et al*. Polyacrylamide gel containing egg white as new model for irradiation experiments using focused ultrasound[J]. Ultrasound Med Biol, 2004, 30(10): 1419-1422.

[5] Bu-Lin Z, Bing H, Sheng-Li K, *et al*. A polyacrylamide gel phantom for radiofrequency ablation[J]. Int J Hyperthermia, 2008, 24(7): 568-576.

[6] Casciaro S, Conversano F, Musio S, *et al*. Full experimental modelling of a liver tissue mimicking phantom for medical ultrasound studies employing different hydrogels[J]. J Mater Sci Mater Med, 2009, 20(4): 983-989.

[7] 张敬安, 胡兵, 申锣, 等. 体外模拟射频消融热沉没效应对消融灶温度场的影响[J]. 临床超声医学杂志, 2010, 12(5): 289-292.

[8] Lobo S M, Afzal K S, Ahmed M, *et al*. Radiofrequency ablation: modeling the enhanced temperature response to adjuvant NaCl pretreatment[J]. Radiology, 2004, 230(1): 175-182.

[9] Lazebnik M, Madsen E L, Frank G R, *et al*. Tissue-mimicking phantom materials for narrowband and ultrawideband microwave applications[J]. Phys Med Biol, 2005, 50(18): 4245-4258.

[10] Divkovic G W, Liebler M, Braun K, *et al*. Thermal properties and changes of acoustic parameters in an egg white phantom during heating and coagulation by high intensity focused ultrasound[J]. Ultrasound Med Biol, 2007, 33(6): 981-986.

[11] Choi M J, Guntur S R, Lee K I, *et al*. A tissue mimicking polyacrylamide hydrogel phantom for visualizing thermal lesions generated by high intensity focused ultrasound[J]. Ultrasound Med Biol, 2013, 39(3): 439-448.

[12] Bazrafshan B, Hubner F, Farshid P, *et al*. A liver-mimicking MRI phantom for thermal ablation experiments[J]. Med Phys, 2011, 38(5): 2674-2684.

[13] Madsen E L, Hobson M A, Shi H, *et al*. Tissue-mimicking agar/gelatin materials for use in heterogeneous elastography phantoms[J]. Phys Med Biol, 2005, 50(23): 5597-5618.

[14] Chen R K, Shih A J. Multi-modality gellan gum-based tissue-mimicking phantom with targeted mechanical, electrical, and thermal properties[J]. Phys Med Biol, 2013, 58(16): 5511-5525.

[15] Chen C C, Miga M I, Galloway R L. Characterization of tracked radiofrequency ablation in phantom[J]. Med Phys, 2007, 34(10): 4030-4040.

[16] Schutt D J, Haemmerich D. Tumor ablation at low frequencies for preferential tumor heating: initial *ex-vivo* tissue studies[J]. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2008, 2008: 238-241.

[17] Solazzo S A, Liu Z, Lobo S M, *et al*. Radiofrequency ablation: importance of background tissue electrical conductivity--an agar phantom and computer modeling study[J]. Radiology, 2005, 236(2): 495-502.

(**收稿**:2013-08-07;**修回**:2013-09-10)

(编辑 王 红)