DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.14.013

论著

文章编号:1000-5404(2003)14-1250-04

射频消融治疗狗充血性脾大和脾功能亢进的实验研究

刘全达,何振平,马宽生,董家鸿,黄建生 (第三军医大学附属西南医院全军肝胆外科研究所、西南肝胆外科医院,重庆 400038)

提 要:目的 探讨射频消融(RFA)脾脏治疗继发性脾肿大和脾功能亢进的可行性和有效性。方法 26只健康杂种狗分为Ⅰ组(对照组,$n=4$)为对照组、Ⅱ组(脾静脉结扎,$n=10$)和Ⅲ组(脾静脉结扎+RFA,$n=12$)为治疗组。Ⅱ、Ⅲ组通过结扎脾静脉主干和脾静脉属支引起继发性脾大和脾亢模型,3周末Ⅲ组剖腹行脾脏RFA。RFA后观察动物并发症,行外周血小板计数、CT和组织病理学检查。结果 全组动物无死亡和并发症。脾静脉结扎后可以成功建立脾肿大和血小板减少、红细胞减少的脾亢模型。RFA后的脾脏CT病灶呈节段性毁损,包括高密度的坏死区和低密度的梗死区;梗死区在RFA后4~6周内消失。RFA毁损灶包括凝固性坏死和广泛的血栓性梗死灶;梗死灶逐渐吸收、纤维化,坏死灶被包裹;血管闭塞、脾窦消失和组织少血管化等"残脾实性变"改变是残脾缩小和纠正脾亢的重要病理学变化。结论 RFA治疗实验性脾大和脾亢是可行和有效的,具有临床应用前景。脾脏RFA后特殊的影像学和病理学改变也可作为临床疗效观察和随访的重要指标。

关键词:射频消融;脾脏;脾功能亢进;脾肿大;狗
中图法分类号:R-332;R540.4+6;R551.1 文献标识码:A

An experimental study of radiofrequency ablation for the treatment of congestive splenomagely and hypersplenism in dog

LIU Quan-da, HE Zhen-ping, MA Kuan-sheng, DONG Jia-hong, HUANG Jian-sheng (Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the feasibility and effectiveness of radiofrequency ablation (RFA) for the treatment of secondary splenomagely and hypersplenism in dog. Methods Twenty-six healthy mongrel dogs were randomly divided into 3 groups, the first group ($n=4$) as control, the second group ($n=10$) and third group ($n=12$), both undergoing ligation of the splenic vein and its collateral branches to induce congestive splenomegaly and hypersplenism. At the end of the third week, radiofrequency thermal ablation of spleen was performed in the third group *via* laparotomy. Enhanced CT scan, peripheral blood cell counts and observation of histopathological changes of the spleen were performed regularly. RFA-related complications following RFA procedure were observed. Results There were no death and complications in experimental dogs. Models of thrombocytopenia, erythropenia and splenomegaly were established successfully by ligation of splenic veins. The CT findings revealed that the segmental RFA lesions included hyperintense zone of coagulative necrosis and more extensive peripheral hypointense infarcted zone. The infarcted zone could be absorbed and subsequently disappeared between 4 and 6 weeks after RFA. The histopathological changes of splenic lesions caused by RF thermal energy also included necrotic and thrombotic infarcted lesions. Infarcted lesion was gradually absorbed and fibrosed and meanwhile, the necrosis was encapsulated. Occluded vessels, disappearance of normal splenic sinuses and sparsely neovascularized vessels were the most important pathological changes occurring in viable remnant spleen, which was called as "consolidated transformation". This pathological transformation underlies the shrinkage of remnant spleen and correction of secondary hypersplenism. Conclusion RFA is feasible and effective for experimental splenomegaly and hypersplenism and is potential for clinical application. The unique radiological and pathological changes after splenic RFA could be used as a significant index for therapeutic effect and follow-up.

Key words: radiofrequency ablation; spleen; hypersplenism; splenomegaly; dog

脾切除术是治疗继发性脾功能亢进(脾亢)的传统手段,但随着对脾脏免疫功能的认识[1,2]和微创外科概念的接受,选择性脾动脉栓塞术(Partial splenic embolization, PSE)[3]已成为脾亢治疗的主要措施之一。但

基金项目:全军"十五"医学科研计划重点课题(02Z005)
作者简介:刘全达(1971-),男,江苏省宜兴市人,博士研究生,主治医师,主要从事肝胆胰脾的外科基础和临床方面的研究,发表论文10篇。
电话:(023)65398541
收稿日期:2003-03-03;修回日期:2003-05-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

PSE 存在较高的并发症[3], 脾脓肿和胸腔积液发生率达30%, 死亡率为 6%～15%。我们采用当前肿瘤微创治疗最常用的射频消融(Radiofrequency ablation, RFA), 对脾静脉结扎建立的继发性脾脏肿大犬模型[4]行脾脏消融, 探讨 RFA 治疗脾亢的临床应用前景。

1　材料与方法

1.1　动物分组及动物处理

健康成年杂种狗 26 只(第三军医大学实验动物中心提供), 雌雄不拘, 体质量 12～17 kg, 分为 3 组: Ⅰ组(对照组, n=4); Ⅱ组(脾静脉结扎, n=10); Ⅲ组(脾静脉结扎+RFA, n=12)为治疗组。参照文献[5]行脾静脉主干及属枝结扎建立继发性脾亢犬模型[4]。脾静脉结扎后第3 周行开腹脾脏 RFA。

1.2　RFA 操作

应用 RF 2000 系统(RadioTherapeutics)的 90 W 的射频发生器、15 gauge 的 leVeen 针状电极(最大展开直径 3.5 cm)。脾脏与周围脏器和皮肤隔离, 将电极垂直插入脾脏上极或下极外侧缘的脾实质, 避开脾门和脾脏大血管。90 W 射频发生器作为能源, 最初输出功率为 30 W, 每隔 60 s 手工调高功率 10 W 直至最大, 此后采用脉冲模式直至输出功率中止; 拔针时射频针烧灼针道。RFA 时用冰生理盐水纱布湿敷脾蒂和胰尾防止热能副损伤。RFA 后静脉补充生理盐水 500 ml 和青霉素 80 万 U。

1.3　CT、病理学检查和外周血细胞计数

RFA 术后行增强 CT 检查, 观察脾脏 RFA 病灶改变; 每周处死 1 只治疗用动物, 实验 9 周动物全部处死, 切除脾脏、肝脏和胰腺组织均经 10%福尔马林固定、石蜡包埋、切片后 HE 染色镜检。

术前和术后每周采动物送我院检验科行外周血行血细胞计数(白细胞、红细胞和血小板), 由自动血细胞计数仪 Sysmex (K-4500)完成。

1.4　统计学处理

计量数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 行组间 t 检验。

2　结果

2.1　围手术期的动物观察

整个 RFA 过程一般持续 30～58 min, 阻抗最大时毁损组织温度均> 100 ℃, 脾蒂用冰生理盐水湿敷后温度在 42 ℃以下。刚进针时穿刺点有出血, 但随着温度升高出血逐渐停止。动物对脾脏 RFA 耐受性好, RFA 后第 1 天即恢复正常饮水、进食, 无烦躁、呕吐、厌食等症状, 动物体重无明显变化。动物无并发症(胃肠穿孔、腹腔内出血、脾脏破裂、胸腔积液)和死亡。

2.2　脾脏影像学表现

CT 扫描提示脾静脉结扎后脾肿大可维持到 9 周。RFA 后的增强 CT 证实, RFA 毁损灶直径通常达 7～10 cm, 涵盖一个或多个脾脏解剖叶、段, 见图 1; 毁损灶由高密度的凝固性坏死区和低密度的梗死区 2 部分组成, 后者范围更广, 无脾脏及脾周脓肿形成; 梗死区在 RFA 后 4～6 周被吸收, 至 2 个月时完全消失, 而凝固性坏死灶不被吸收, 残脾显著缩小。我们把脾脏 RFA 获得远超过射频针 3.5 cm 直径的现象称为"旁观者效应"。

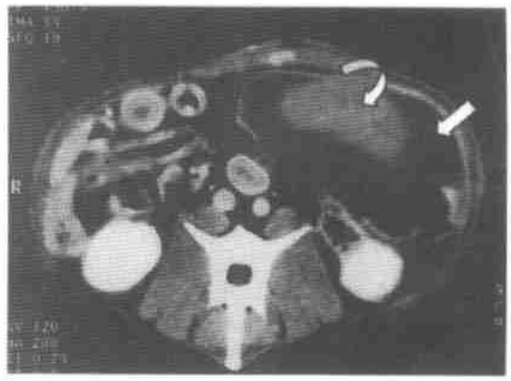


图 1　增强 CT 显示 RFA 后第 2 周末的 RFA 病灶, 包括高密度凝固性坏死区和低密度梗死区 2 部分

Fig 1　Enhanced CT demonstrates ablated lesion of hyperintense zone of coagulative necrosis and hypointense infarcted zone

2.3　组织病理学结果

脾静脉结扎后的脾脏肿大, 脾窦明显扩张、充血, 内见大量红细胞破坏后形成的含铁血黄素巨噬细胞。RFA 毁损病灶与网膜粘连明显, 其大体标本与影像学结果一致, 9 周时残脾明显缩小; 脾毁损灶由燥砖黄色的坏死区和血栓性梗死区组成, 梗死区吸收后 RFA 病灶仅余下坏死灶及外周完整的包膜。镜下观察, 除脾脏凝固坏死灶外, 还可见血管闭塞和广泛微血栓血栓引起的梗死性病灶。血栓性梗死灶 4～6 周左右为巨噬细胞吸收; 另外大量成纤维细胞增生纤维化, 包裹坏死灶, 见图 2; 外观"正常"残脾组织血管、闭塞、纤维样结构沉积, 残脾内仅见少量由连续内皮细胞构成的新生血管, 见图 3。我们也把有丰富血窦的脾脏 RFA 转变为"少血管化"组织的过程命名为"残脾实性变"。RFA 后胰腺和肝脏组织学均正常。

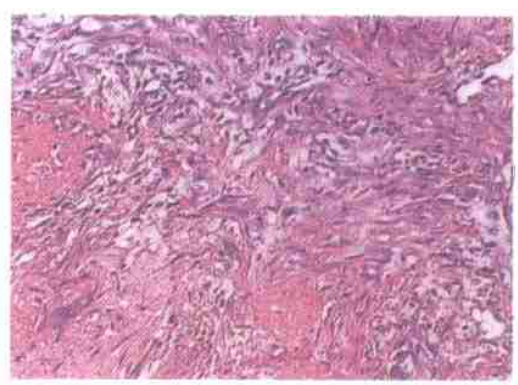


图 2　RFA 后第 2 周末, 可见大量成纤维细胞增生、聚集, 微血栓已被吸收　(HE× 100)

Fig 2　Massive proliferated and aggregated fibroblasts and dissolved microthrombus at 2 weeks after RFA　(HE× 100)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

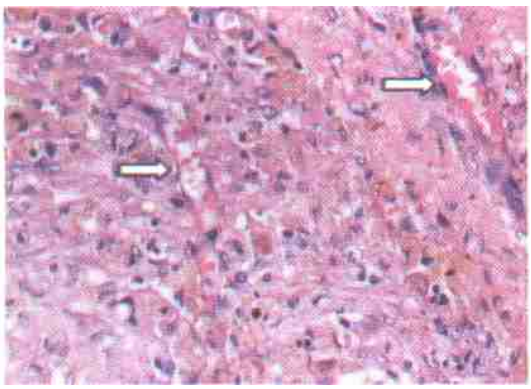


图3 RFA后残脾结构重塑，血窦结构消失 血管网稀少 （HE ×200）

Fig 3 Structure remodeling of remnant spleen after RFA: disappearance of splenic sinus and sparsely neovascularized vessels （HE × 200）

2.4 外周血细胞计数的变化

与Ⅰ组（对照组）相比，Ⅱ、Ⅲ组动物在脾静脉结扎后第1周即出现红细胞和血小板计数下降，在第3周血小板、红细胞计数与显著下降。Ⅲ组动物的血小板、红细胞计数在脾RFA后开始逐渐升高，分别于RFA后第2周和3周比Ⅱ组动物显著升高（$P<0.05$），于RFA后第3周和4周接近正常水平（$P>0.05$）。Ⅱ组在9周末血小板和红细胞仍保持在低水平。整个实验过程中3组白细胞水平变化均不显著（$P>0.05$）。见图4~6。

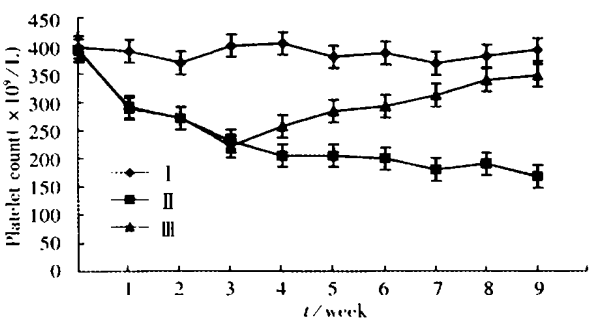


图4 血小板水平的时间动态变化

Fig 4 Temporal dynamic variation of the platelet levels

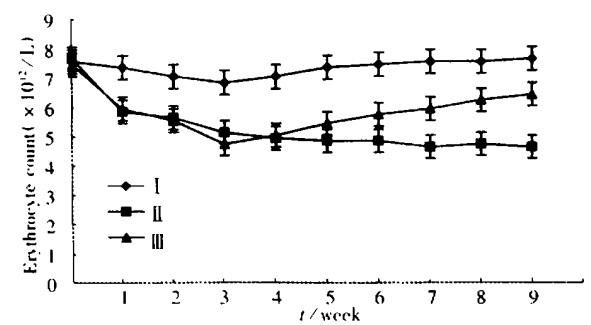


图5 红细胞水平的时间动态变化

Fig 5 Temporal dynamic variation of the erythrocyte levels

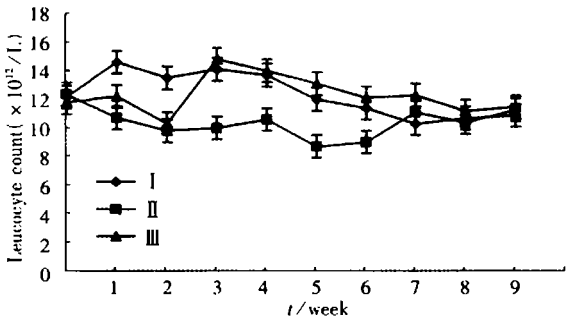


图6 白细胞水平的时间动态变化

Fig 6 Temporal dynamic variation of the leucocyte levels

3 讨论

脾切除术和选择性脾动脉栓塞是目前治疗继发性脾亢最常用的方法，前者除削弱机体免疫功能外，还有较高的手术并发症和死亡率；后者虽然明显降低了并发症率和死亡率，但也存在诸多局限性和不良反应[3]。因此临床亟须更有效和安全的新的微创措施出现，作为上述治疗的补充和替代。

RFA具有微创、安全、缩短住院时间和可反复操作等优点。RFA已成功应用于治疗实质脏器肿瘤[6]，也有安全消融脾脏转移癌的报道[7,8]。但目前尚无RFA治疗脾亢的相关实验和临床报道。

我们研究发现，对脾脏实施RFA是安全的。进针穿刺点虽有穿刺针道的出血，但随着温度升高出血很快停止。这是因为RFA具有电凝止血功效，同时周围血管被射频热毁损、闭塞。其实，脾脏穿刺也相对安全；文献[9~12]报道应用18~22 gauge活检针行脾组织活检，并发症率仅为0%~5.2%。为减少并发症发生，穿刺点应避开脾门和脾脏大血管；脾脏与周围脏器、皮肤严格隔离防止副损伤；脾蒂和胰尾处降温防止胰腺热损伤。另外，RFA后动物无并发症和死亡，1 d后即恢复正常进食和活动。与PSE类似，将来实施脾脏RFA时为了防止膈肌无菌性炎症引起肺部并发症和脾脏牵涉痛，脾脏中下极是RFA的首选部位。

研究还显示，射频热能对脾脏的“旁观者效应”以及“残脾实性变”是RFA毁损足够脾体积和脾脏缩小并有效纠正血细胞减少的主要机制。肝脏RFA通常毁损直径3~5 cm组织，脾脏则出现直径7~10 cm的毁损灶，而且RFA后外观正常的残脾也存在明显的脾窦和血管栓塞。这些说明，射频热能通过脾内血液的传导，作用范围包括3部分：①中央凝固性坏死灶；②周围血栓性梗死灶；③热能沉积导致血管、脾窦内皮受损累及整个脾脏。血栓性梗死灶被吸收、血管内皮受损的残脾血管重建、结缔组织化以及“少血管化”的组

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

织结构重塑, 使得脾脏缩小, 从而达到治疗目的。我们应用增强 CT 测定 RFA 毁损灶约占全脾体积的 31% (资料未显示), 而 PSE 需要栓塞 50%~80%体积才能达到治疗脾亢, 这说明"残脾实性变"是治疗脾亢的最只要机制。并且少血管化的脾脏可以预防脾亢复发。

本模型与胰腺癌、慢性胰腺炎等[12] 累及脾静脉引起脾静脉血栓形成/脾静脉闭塞导致的"区域性门脉高压"类似。由于闭塞不全、血管再通和属枝代偿等原因使得后者仅 30%~50%病例出现脾亢、脾大表现。因此, 脾静脉主干联合侧枝血管的结扎提高了脾亢模型的成功率, 这种继发性脾亢可被 RFA 有效纠正。

该模型与临床常见的肝炎后性门脉高压合并的脾亢不同, 无法观察 RFA 对门脉血流动力学的影响。但 RFA 后脾血管网减少可以减少脾静脉血液回流, 另外 RFA 病灶周围炎性反应也可建立潜在的门-腔静脉间侧枝循环, 这些都可以降低门静脉压力。

从上述动物实验结果看, RFA 治疗继发性脾大、脾亢是安全、可行和有效的。RFA 对脾亢等脾脏良性疾病的治疗前景值得进一步研究。脾脏 RFA 后特殊的影像学和病理学改变, 可作为将来应用 RFA 后临床疗效观察和随访的重要指标。

参考文献:

[1] Zhang H, Chen J, Kaiser G M, *et al*. The value of partial splenic autotransplantation in patients with portal hypertension: a prospective randomized study[J]. Arch Surg, 2002, 137(1): 89-93.

[2] Jiang H C, Sun B, Qiao H Q, *et al*. Clinical application of serial operations with preserving spleen[J]. World J Gastroenterol, 2001, 7(6): 876-879.

[3] Sakai T, Shiraki K, Inoue H, *et al*. Complications of partial splenic embolization in cirrhotic patients[J]. Dig Dis Sci, 2002, 47(2): 388-391.

[4] 刘全达, 马宽生, 何振平, 等. 快速建立继发性脾功能亢进的犬动物模型[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(4): 301-304.

[5] Sahin M, Tekin S, Aksoy F, *et al*. The effects of splenic artery ligation in an experimental model of secondary hypersplenism[J]. J R Coll Surg Edinb, 2000, 45(3): 148-152.

[6] Primrose J N. Treatment of colorectal metastases: surgery, cryotherapy, or radiofrequency ablation[J]. Gut, 2002, 50(1): 1-5.

[7] Marangio A, Prati U, Luinetti O, *et al*. Radiofrequency ablation of colorectal splenic metastasis[J]. AJR Am J Roentgenol, 2002, 178(6): 1481-1482.

[8] Wood B J, Bates S. Radiofrequency thermal ablation of a splenic metastasis [J]. J Vasc Interv Radiol, 2001, 12(2): 261-263.

[9] Muraca S, Chait P G, Connolly B L, *et al*. US-guided core biopsy of the spleen in children[J]. Radiology, 2001, 218(1): 200-206.

[10] Keogan M T, Freed K S, Paulson E K, *et al*. Imaging-guided percutaneous biopsy of focal splenic lesions: update on safety and effectiveness[J]. AJR Am J Roentgenol, 1999, 172(4): 933-937.

[11] Civardi G, Vallisa D, Berte R, *et al*. Ultrasound-guided fine needle biopsy of the spleen: high clinical efficacy and low risk in a multicenter Italian study[J]. Am J Hematol, 2001, 67(2): 93-99.

[12] Sakorafas G H, Tsiotou A G. Splenic-vein thrombosis complicating chronic pancreatitis[J]. Scand J Gastroenterol, 1999, 34(12): 1171-1177.

(编辑　张大春)

(上接 1249 页)

2　讨论

腹膜间皮瘤(Peritoneal mesothelioma) 为原发于腹膜间皮组织的肿瘤, 临床少见。病理上分为腺瘤样间皮瘤(Adenomatoid mesothelioma)、囊性间皮瘤(Cystic mesothelioma)和恶性间皮瘤(Peritoneal malignant mesothelioma, PMM)。前两者属良性肿瘤。病因不明, 好发于盆腔或附件周围, 呈单个或多个囊性肿块; 病人常因扪及腹块而就诊。其发生与接触石棉有密切关系[1], 也与某些病毒感染有关。

腹膜恶性间皮瘤临床表现缺乏特异性, 可出现腹痛、便秘、腹胀、体重减轻及肠梗阻的表现。体检可发现腹水或腹块等。临床上相关检查阳性率低、特异性不强, 诊断十分困难。其临床表现可与结核性腹膜炎、腹膜转移癌相似, 容易误诊[3]。本组 6 例中, 2 例有结核中毒症状, 被误诊为结核性腹膜炎, 1 例腹腔镜下诊断为结核性腹膜炎, 而腹膜活检病理证实为腹膜恶性间皮瘤。对于腹膜恶性间皮瘤的诊断。本组 6 例患者腹水均未找到恶性间皮细胞, 提示腹水检查阳性率低。腹部 B 超和 CT 亦未提出明确诊断意见。4 例经腹腔镜下腹膜活检病理证实, 1 例因肠梗阻经剖腹探查, 术后病理证实, 1 例因腹部包块经 B 超引导下穿刺活检病理证实。因此腹膜组织活检是诊断腹膜间皮瘤较理想的方法。而腹腔镜下腹膜活检术提供了迅速、安全、创伤小的方法。

关键词: 腹膜恶性间皮瘤; 诊断; 治疗

中图法分类号: R735.5　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Barbieri P G, Iombardi S, Candela A. Incidence of malignant mesothelioma (1980~1999) and asbestos exposure in 190 cases diagnosed among residents of the province of Brescia[J]. Med-Law, 2001, 92(4): 249-262.

[2] 李艳芳, 李孟达, 吴秋良. 腹膜间皮瘤 5 例临床分析[J]. 中华妇产科杂志, 1994, 29(11): 664.

[3] 彭德银. 国内腹膜间皮瘤 236 例临床分析[J]. 中国肿瘤临床与康复, 1996, 3(2): 73.

(编辑　薛国文)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net