·短篇论著·

· 753 ·

MR 导引冷冻消融猪胰腺的影像与病理及 淀粉酶浓度的对照实验研究

包守刚 李成利 柳明 吕玉波

胰腺癌是一种发病隐匿、恶性度高、预后极差的肿瘤,患者5年生存率仅为5%¹¹。对于肿瘤不能切除的患者,影像引导下微创治疗已成为提高生存质量、延长生存期的方法之一^[2-3]。笔者通过对开放性 MR 导向下,氩氦冷冻消融小型实验猪正常胰腺组织后不同时期病理表现与 MR 影像表现的比较,希望为临床应用氩氦冷冻消融治疗胰腺病变的安全 性及可行性提供动物实验依据。

一、资料与方法

 1. 实验动物与材料:实验动物为6头五指山猪(来自中国农业科学院),2~3个月龄,体质量(30±2)kg,标准圈养。 设备为 Siemens 1.5 T 超导型 MR(德国),Phillips 0.23 T 常导开放式 MR 及 ipath 200 光学导航系统(荷兰),以色列氩 氦冷冻消融系统及 MR 兼容性 1.47 mm 冷冻探针。

2. 方法:(1)麻醉:对实验动物采用3% 戊巴比妥钠复合 麻醉法麻醉。麻醉前 30 min 在实验动物耳后肌内注射阿托 品 0.05 mg/kg, 麻醉时, 以 1 ml/kg 体质量 3% 浓度的戊巴比 妥钠肌内注射行基础麻醉,耳背静脉注射 12 mg/kg 体质量 氯胺酮维持麻醉,并建立静脉通道。(2)冷冻消融:将麻醉 好的实验猪仰卧位置于 MR 兼容性固定架上,在 ipath 200 光 学导航系统实时导向下,利用快速自旋回波(FSE T₁WI 序 列,参数 TR 430.0 ms、TE 16.0 ms、FA 90°、FOV 300 mm × 300 mm) 和三维完全平衡稳态序列(CBASS 3D, 参数 TR 8.4 ms、TE 4.2 ms, FA 45°, FOV 300 mm × 300 mm)进行横 断面、冠状面及矢状面扫描。以肝门静脉、下腔静脉、腹主动 脉之间的正常胰腺头部组织作为靶点。将冷冻消融探针安 装在无菌持针板上重新扫描,在实时导向下成功穿刺至靶 点,确定无误后,开启冷冻系统,使氩气压力始终保持在 3600 psi(1 psi = 6.895 kPa)冷冻 12 min,升温消融;然后使氦 气压力始终保持 2200 psi 消融 3 次,每次 1 min,间隔 1 min, 共进行2个循环。术中应用 CBASS 3D 及 FSE 序列不间断 扫描监测冰球形成的大小、探针的温度变化及周边脏器情 况,确保冷冻的范围完全在胰腺内,避免损伤周围肠管等邻 近脏器。6头实验猪分3个时间点(每个时间点2头)进行 冷冻消融,以观察消融后不同时间胰腺组织的病理和影像表 现。实验动物消融术后,均肌内注射青霉素,预防感染。

3. 高场 MR 扫描:于冷冻消融术后 1、14、30 d 时间点对

实验猪均行 1.5 T MR 胰腺平扫及增强扫描,观察冷冻消融的部位、范围及信号变化。

4. 病理检查:实验猪行冷冻消融影像检查后,进行麻醉、腹正中线切口暴露胰腺组织,确定冷冻消融部位,将整个胰腺组织分离并取出放置于生理盐水内。快速切下待检组织,分为2块,一块立即放人4%的甲醛溶液固定48~72h,以2.5 mm 层厚,横轴位切片,石蜡固定;另一块切成一薄片,再切成6~7小块,大小为1 mm×1 mm,放入2.5%戊二醛内固定。放人4%的甲醛溶液的标本分别对冷冻中心、冷冻边缘及周围正常胰腺组织进行 HE 染色观察,放入2.5%戊二醛内的标本分别对冷冻中心、冷冻边缘及周围正常胰腺组织进行 光学显微镜观察。

5. 猪 α-淀粉酶(AMS/AMY)酶联免疫分析(ELISA 方法):本实验中,于术前及术后 1、7、14、30 d 均抽血采用 ELISA 方法测实验猪血浆 α-淀粉酶的浓度,测量波长 450 nm,采用公式计算出样品的实际浓度。

统计学方法:实验数据以 x ± s 表示,结果应用 SPSS
12.0统计软件进行分析。对冷冻消融术前及术后 1、7、14、
30 d 实验猪的血浆 α-淀粉酶浓度进行对比分析,对差异有统计学意义的资料再进行两两比较。P < 0.05 为差异有统计学意义。

二、结果

1.0.23 T MR 引导下氦氦靶向冷冻消融术中消融部位 的影像表现:本组实验动物的冷冻消融採针均一次性成功植 入靶点部位,严格按照临床治疗肿瘤的方式冷冻消融成功。 MR 显示,术中冰球体积逐渐增大,为椭圆形极低信号缺失 区,当冷冻时间达到 10 min 时,冰球体积达到最大。靶点区 域的胰腺组织被冰球完全包裹,与周围胰腺组织分界清楚并 完全在胰腺内,未观察到邻近的肠管等脏器受到损伤的征象 (图1,2)。

2. 冷冻消融术后高场 MR 消融部位的影像表现:术后 1 d(图 3,4)冷冻区域呈等长 T₁、长短 T₂ 混杂信号,其内见 斑片状短 T₁、长 T₂ 信号的渗血,周围水肿呈长 T₁、长 T₂ 信 号。注入 Gd-DTPA 后冷冻中心无明显强化,周边呈环形强 化。术后 14 d 及 30 d(图 5,6)消融部位的 MR 表现与术后 1 d 相比无明显变化。

3. 病理组织改变:大体观正常胰腺呈"三叶草"形,粉红 色、湿润,腺体呈菊闭状。术后1d:冷冻区域组织坏死,与周 围胰腺分界欠清楚,其间存在消融过渡带,坏死区周围见环 状出血带包绕;术后14d:胰腺肿胀不明显,冷冻坏死区与正

DOI:10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2012.08.021 作者单位:250021 济南,山东省医学影像学研究所

通信作者: 李成利, Email; chenglilichina@ yahoo. com. cn



图 1,2 lpath 200 光学导航系统的导向确定靶点(图 1);术中监控氩氦冷冻消融形成冰球的情况(图 2);红圆点所指为靶点,蓝线为虚拟 针,极低信号缺失区为冰球 图 3,4 术后1d冷冻灶示FSE T₂WI(图 3)及FSE T₁WI(图 4)呈低信号,其内有散在斑片状渗血呈高信号,周 围水肿渗出呈环状高信号 图 5,6 术后14 d 增强扫描冷冻中心无明显强化,周边呈环状强化(图 5);术后 30 d,T₁WI 肿瘤呈等低信号 (图 6) 图 7~9 术后1d光镜下,冷冻区域胰腺细胞结构紊乱、分界不清,细胞模糊、碎裂、核消失(图 7,HE ×40);术后14 d,冷冻区域 间质变性、空泡化,周围纤维结缔组织增生(图 8,HE ×40);术后 30 d 胰腺细胞坏死,间质纤维化(图 9,HE ×100) 图 10~12 电镜 下,术后1 d 冷冻区域胰腺泡细胞超微结构损伤明显,观察不到正常细胞核,线粒体嵴呈絮状,内皮细胞固缩(图 10, ×20 000);术后14 d 冷冻区域细胞器肿胀或空泡化,自嗜体(星号)多,内质网膜结构模糊,细胞凋亡(图 11, ×20 000);术后 30 d 电镜表现毛细血管腔不明 显,内皮细胞部分浊肿(图 12 ×20 000)

常胰腺分界相对清楚且有缩小改变;术后 30 d:冷冻坏死灶 更加缩小,与周围胰腺分界较清晰。术后光镜下观察 (图7~9):术后1d,胰腺细胞结构紊乱、分界不清,细胞模 糊、碎裂、核消失,大片胰腺细胞水肿、坏死较为严重,胰岛细 胞未见显示;术后14d,细胞水肿、排列紊乱,局部间质变性、 空泡化,周围可见胰腺纤维结缔组织增生;术后 30 d,胰腺组 织部分细胞空泡变性,可见细胞凋亡,间质可见纤维化成分 存在。术后电镜下观察(图 10~12):术后1d,胰腺细胞中 观察不到正常细胞核,染色质呈高密度浓集状,周围分布有 高密度条索状结构,细胞器肿胀或空泡化,内质网膜结构模 糊;毛细血管腔不明显,内皮细胞固缩。术后 14 d,线粒体嵴 呈絮状,自嗜体较多,上皮细胞损伤明显,几乎看不到正常结 构,细胞凋亡。术后 30 d,部分细胞器肿胀,部分线粒体和内 质网结构基本正常,内皮细胞部分结构可分辨,但浊肿。

4. 消融术后猪血浆 α-淀粉酶浓度的变化情况:术后 1、 3、7、14 d 实验动物血浆 α-淀粉酶的浓度均高于术前,术后 7 d时 α-淀粉酶的浓度达到最高值,14 d 时有所降低,30 d 时 低于术后 14 d 而接近于术前水平(表 1)。本实验血浆 α-淀 粉酶浓度采用单因素方差分析,根据 α=0.05, $\lambda_1 = \lambda$ 组间 = 5, $\lambda_2 = \lambda$ 组内 = 20,查F界值表,得F界值, $F_{0.01}$ (5,20) =

<u>中华放射学杂志 2012 年 8 月第 46 卷第 8 期</u> Chin J Radiol, August 2012, Vol. 46, No. 8

表1 6头实验猪不同时间点血浆 α -淀粉酶浓度的变化($ng/ml_x \pm s$)

分组	动物数	术前	术后 1 d	术后 3 d	术后 7d	术后 14 d	术后 30 d
A组	2	363. 7 ± 1. 5	391.7 ± 6.9				
B组	2	342. 6 ± 5. 8	354.1 ± 5.9	539.6 ± 2.8	543. 5 ± 55. 2	492. 2 ± 6. 2	_
C 组	2	364. 6 ± 7. 4	378.3 ±11.5	525. 9 ± 17. 9	587.9 ± 0.7	446. 2 ± 55. 9	361.3 ± 9.0

注: A 组: 术后 1 d 处死; B 组: 术后 7 d 处死; C 组: 术后 30 d 处死; --: 未检测; 数据为各组 2 头猪多个孔检测获得数据的均值

4.10。本例 *F* = 19.159,大于界值 *F*₀₀₁(5,20) = 4.10,则 *P* < 0.01。在 α = 0.05 的水准上差异有统计学意义。

三、讨论

MR 导引的经皮肿瘤冷冻消融治疗已成功应用于临床^[4-7],但在胰腺癌方面的应用少见报道。猪胰腺的 MR 平 扫及增强扫描方案与人有许多相似之处,可作为胰腺疾病影 像学研究的理想模型^{(8]}。

 术后高场 MR 随访情况:本研究中,实验动物冷冻 术后采用 MR 进行随访。扫描采用呼吸触发扫描技术,以避 免呼吸运动伪影。但本实验中,图像质量欠佳,考虑原因为:
(1)动物无法配合屏气;(2)呼吸触发时间长、动物易躁动;
(3)本实验采用的是人的表面线圈,接受的信号相对弱,要 提高成像质量需采用动物专用小线圈等。但从影像表现来 看,冷冻消融区域的胰腺组织冷冻坏死,内部有一定量的渗 血,周围水肿;强化扫描时冷冻消融中心无明显强化,说明 此处已无血供;周边的环形强化表明此处组织未完全坏死, 存在一些具有血供的胰腺组织。动态观察凝固性坏死灶大 小呈逐渐回缩,是一种序贯的过程。MR 扫描显示,冷冻消 融已造成冷冻组织内确切的凝固坏死灶,但临床治疗时冷冻 消融范围一定要包裹整个病灶,防止残留肿瘤组织存在,以 达到预期的治疗效果。

2. 实验动物胰腺冷冻后的病理改变:牛立志等^[9]报道, 冷冻治疗后光镜下观察可见明显的冷冻坏死灶,但未见有关 电镜下表现及消融部位周边损伤后恢复情况的报道。本实 验结果显示,冷冻术后随着时间的延续,坏死灶逐渐缩小,冰 球周边的胰腺组织于冷冻后 30 d 时已经开始修复,出现部 分增生的细胞,但修复尚不完全。氩氦冷冻消融是一种不可 逆的严重损伤过程,但冰球的周边组织未见确切的坏死灶, 这进一步提示临床上在进行氩氦冷冻消融手术时,要尽可能 地把冷冻消融的范围扩大,完全包裹肿瘤,并且有必要超过 肿瘤一定的范围。具体超出多少有待进一步研究明确。

3.冷冻消融术后不同时期猪血浆α-淀粉酶的变化:本实验结果显示,对猪胰腺行氨氮冷冻消融后,猪血浆α-淀粉酶一过性明显升高,但小于正常值的2倍。这与氨氮冷冻消融胰腺头部组织时,冷冻灶发生凝固坏死且冷冻范围局限,胰管在冷冻过程中受损伤,周围发生水肿等变化,暂时堵塞胰液的分泌,胰液外溢有关。具体是否会造成严重的胰腺炎并发症,有待于大样本实验进一步研究子以证实。

参考文献

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer Statistics. CA Cancer J Clin, 2007, 57:43-66.
- [2] 孙高峰, 叶风平, 田建明, 等. CT 引导下射频消融对猪正常胰 腺影响的实验研究.介人放射学杂志, 2009, 5:373-376.
- [3] Marberger M. Editorial comment on; complications of laparoscopic and percutaneous renal cryoablation in a single tertiary referral center. Eur Urol, 2010, 58:147-148.
- [4] Li C, Wu L, Song J, et al. MR imaging-guided cryoablation of metastatic brain tumours: initial experience in six patients. Eur Radiol, 2010; 20 404-20 409.
- [5] Weisbrod AJ, Atwell TD, Frank I, et al. Percutaneous cryoablation of masses in a solitary kidney. AJR, 2010, 194;1620-1625.
- [6] 李成利,武乐斌,吕玉波,等.磁共振导引微创诊疗学.北京: 人民卫生出版社,2010:3.
- [7] 王建华,左长京,邵成伟,等.猪正常胰腺的 CT、MRI 表现及 多期增强扫描方案的研究. 医学影像学杂志,2009,19:88-92.
- [8] 吴斌,肖越勇,张肖,等. 肝癌冷冻消融治疗中 CT 和 MRI 引导效果对照研究. 中华放射学杂志,2010,44:856-862.
- [9] 牛立志,李海波,文卫锋,等. MR 导引微创诊疗学.北京:人 民卫生出版社,2011:1-4.

(收稿日期:2012-02-26) (本文编辑:高宏)