

犬肝动脉介入性热疗的安全性*

张洪新 刘燕 梁志会 王执民 郭卫平 曹伟 倪代会
李文献 李波 曹晓明 樊爱玲 刘毅勇

(第四军医大学唐都医院介入放射科 西安 710038)

摘要: 经犬肝动脉灌注入 60℃生理盐水 180 ml,持续 30 min。观察、比较热灌注前后肝脏穿刺活检及肝、肾功能的动态变化情况。结果是,①谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)于灌注后 24 h 开始升高,72 h 达到高峰($P < 0.01$),168 h 后逐渐下降,216 h 后恢复正常,总胆红素(T-BIL)、白蛋白(ALB)、 γ -GT 无明显变化($P > 0.05$);②肝组织可见一过性淋巴细胞浸润、肝细胞混浊肿胀,168 h 后恢复正常;③肾功能尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)无显著性变化($P > 0.05$),尿酸(UA)呈一过性增高($P < 0.05$)。结果说明,经肝动脉 60℃灌注液介入性热疗对犬肝组织有一过性损伤,对肝、肾功能呈一过性影响。

关键词: 介入性热疗;肝肾功能;犬

中图分类号: R-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2002)03-22-05

Safety of Interventional Thermotherapy through Hepatic Artery in the Dog

ZHANG Hong-Xin LIU Yan LIANG Zhi-Hui WANG Zhi-Min GUO Wei-Ping CAO Wei
NI Dai-Hui LI Wen-Xian LI Bo CAO Xiao-Ming FAN Ai-Ling LIU Yi-Yong

(Department of Interventional Radiology, Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University Xi'an 710038, China)

Abstract: To investigate the influence of interventional thermotherapy at 60℃ through hepatic artery on dog's liver and kidney function, 180 ml saline at 60℃ was perfused through hepatic artery in 30 minutes. Changes of the dog's liver and kidney function were observed. Results: ALT and AST increased 24 hours after perfusion and reached the peak ($P < 0.01$) 72 hours later, but recovered in 9 days, while BIL, ALB and γ -GT showed no significant changes ($P > 0.05$). Damage to liver tissue is temporary. BUN and Cr showed no significant changes, too. UA increased temporarily. Conclusion: Interventional thermotherapy has transient influence on dog's liver and kidney function.

Key words: Interventional thermotherapy; Liver and kidney function; Dog

原发性肝癌起病隐匿,大多数患者失去手术机会,肝动脉灌注化疗加栓塞术是中晚期肝癌的首选疗法,但一年以上存活率仅 30% 左右。探讨提高肝癌介入治疗效果有重大临床意义。体外实验表明,热疗对肿瘤细胞的杀伤作用是肯定的,加热与化疗有协同作用^[1]。如果热疗与介入性化疗能够有机结合(介入性热化疗,Interventional thermochemotherapy)将大大提高

肝癌介入疗效。为探讨肝动脉热灌注化疗(介入性热化疗)的安全性,作者以犬为对象,研究了肝动脉热灌注对肝组织及肝、肾功能的影响,

* 全军“十五”医学青年基金(01Q124),第四军医大学创新工程基金(CX99A016)及唐都医院科技苗子基金(2000-07)资助;第一作者介绍 张洪新,男,36岁,硕士,主治医师、讲师;从事肝癌化疗热增敏研究。

收稿日期:2000-08-10,修回日期:2001-10-09

希望为临床应用提供可靠的实验依据。

1 材料与方 法

1.1 仪器和材料 1) Polydoros-100 附带计算机数字减影(DSA)的 1 250 mA 大功率 X 线机(德国 Siemens 公司); 2) 100 ml 高压注射器(德国 Siemens 公司); 3) 恒温高压灌注泵(深圳康泰来医疗设备有限公司生产); 4) 导管、导丝、穿刺针、动脉防漏套鞘(美国 Cook 公司); 76% 泛影葡胺(中国上海信谊药厂), 速眠新合剂(846 合剂)等。

1.2 动物 健康本地草犬 20 只, 体重(20 ± 2) kg, 雌雄各半, 由本院实验外科提供。

1.3 步骤 1) 术前肝功能测定: 清晨、空腹条件下, 从犬后肢浅静脉抽血 2 ml, 缓慢注入干燥管内并立即送检; 2) 肝动脉热灌注: 对犬进行全麻、固定, 腹股沟区脱毛、消毒、铺单。以改良 Seldinger 技术从犬右侧股动脉穿刺、插管, 以 RH3F 导管, 电视透视下, 插入肝固有动脉, 高压注入 38% (速率 1 ml/s, 总量 6 ml) 泛影葡胺, 行正位数字减影(digital subtract angiography, DSA)。DSA 造影证实后, 连接恒温高压灌注泵, 经导管匀速灌注 60℃ 的生理盐水(速率 0.1 ml/s, 总量 180 ml, 持续时间 30 min)。热疗完毕拔管, 穿刺点处加压包扎, 送动物室饲养。操作过程中若犬有清醒征兆, 可肌注安定 5 mg 以确保治疗顺利进行; 3) 术后肝功能测定: 术后 24 h、72 h、120 h、168 h、216 h, 抽取空腹犬后肢浅静

脉血 2 ml, 缓慢注入干燥管内并立即送检; 4) 肝组织穿刺活检: 以 846 合剂对热灌注前及热灌注后 24 h、48 h、72 h、120 h、168 h、216 h 的犬进行全麻(0.13 ml/kg), 仰卧位固定, 右季肋区脱毛、消毒、铺巾, 以 17 号针头沿右肋下右锁骨中线交叉点行肝右叶穿刺, 连接内容 10 ml 生理盐水的 20 ml 注射器, 回抽形成负压, 缓慢退针, 可见粉红色絮状肝组织被吸入注射器内, 将其喷洒于无菌纱布上, 选取肝组织入固定液, 送病理室石蜡包埋、切片、H. E 染色, 光镜下观察。

1.4 统计学处理 肝肾功能用 SPLM 统计软件进行方差分析。

2 结 果

2.1 DSA 显示 肝动脉开口位于犬腰 1 椎体下 1/3 水平向右发出, 导管先端位于肝固有动脉内, 动脉期肝动脉主干及肝左、右动脉分支显影清晰, 毛细血管期可见肝实质显影(图 1)。

2.2 热疗前后犬的肝功各项指标动态变化 同热疗前比较, 灌注热疗后, ALT、AST 第 72 h 达到峰值($P < 0.01$), 此后逐渐下降, 第 216 h 恢复正常。穿刺后第 9 d 与术前比较, 肝功能各项指标无显著差异($P > 0.05$), 即穿刺对肝功不产生影响; 热疗后 72 h ALT、AST 上升($P < 0.01$), 而 γ -GT、白蛋白、胆红素无显著差异($P > 0.05$), 9 天后全部恢复正常; 肾功能热疗后 24 h, UA 上升($P < 0.05$), 而 BUN、Cr 无显著变化($P > 0.05$), 详见表 1。

表 1 60℃ 热疗前后犬的肝肾功能各项指标动态变化($n = 20, \bar{X} \pm S$)

| 各项指标 | 术前 | 术后(h) | | | | |
|-----------------------|------------|-------------------------|---------------------------|-------------|-------------------------|-------------------------|
| | | 24 | 72 | 120 | 168 | 216 |
| ALT(U/L) | 38.9 ± 6.0 | 37.7 ± 4.5 | 361.7 ± 10.7 ^b | 125.3 ± 9.3 | 80.4 ± 3.2 | 35.1 ± 5.6 ^a |
| AST(U/L) | 50.2 ± 5.0 | 49.6 ± 4.4 | 123.2 ± 10.3 ^b | 85.2 ± 8.7 | 60.8 ± 6.2 | 45.8 ± 5.7 ^a |
| γ -GT(U/L) | 41.6 ± 5.8 | 43.2 ± 7.2 | 47.5 ± 6.8 ^a | 50.2 ± 6.5 | 39.6 ± 6.0 | 40.7 ± 5.9 ^a |
| 总胆红素(μ mol/L) | 3.6 ± 0.8 | 3.8 ± 0.7 | 4.2 ± 0.9 ^a | 5.1 ± 1.0 | 4.3 ± 0.7 | 3.6 ± 0.5 ^a |
| 白蛋白(g/L) | 36.0 ± 7.2 | 35.6 ± 8.0 | 36.2 ± 7.5 ^a | 37.5 ± 8.0 | 32.0 ± 6.5 | 33.3 ± 5.8 ^a |
| 尿素氮(Bun, μ mol/L) | 67.0 ± 4.5 | 79.0 ± 5.4 ^c | 76.0 ± 6.1 | 69.0 ± 3.4 | 65.0 ± 4.2 | 68.4 ± 5.1 |
| 肌苷(Cr, μ mmol/L) | 2.4 ± 0.2 | 2.5 ± 0.1 | 2.4 ± 0.3 | 2.5 ± 0.2 | 2.7 ± 0.3 | 2.5 ± 0.8 |
| 尿酸(UA, μ mol/L) | 28.8 ± 2.4 | 85.3 ± 7.1 ^d | 63.2 ± 4.5 | 39.3 ± 2.5 | 27.6 ± 2.8 ^c | 26.6 ± 3.2 |

vs 术前, a. $P > 0.05$; b. $P < 0.01$; c. $P > 0.05$; d. $P < 0.05$

2.3 热疗前后肝脏穿刺活检结果(H. E 染色, 40 倍) 热疗前肝穿刺活检, 见肝细胞大小形

态正常(图 2);热疗后 24 h 肝穿刺活检,见淋巴细胞浸润,肝细胞明显混浊肿胀(图 3);热疗后

168 h 穿刺活检,见肝细胞大小形态恢复正常(图 4)。

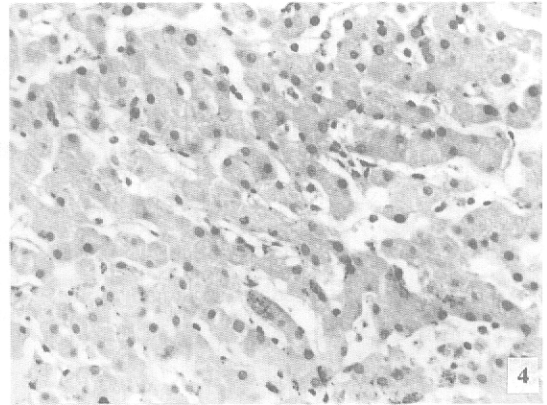
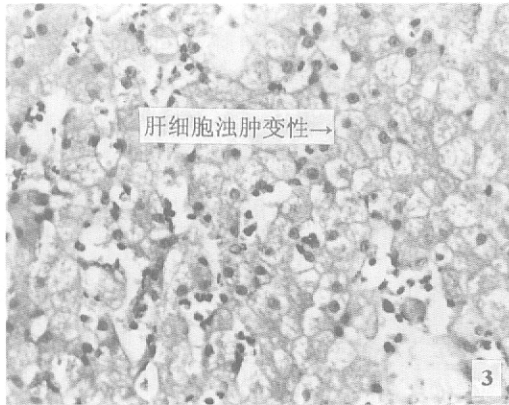
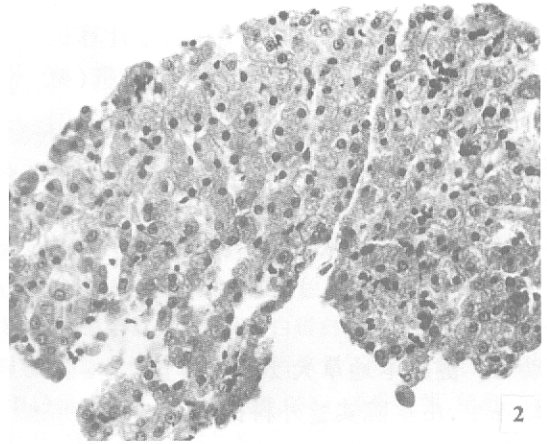
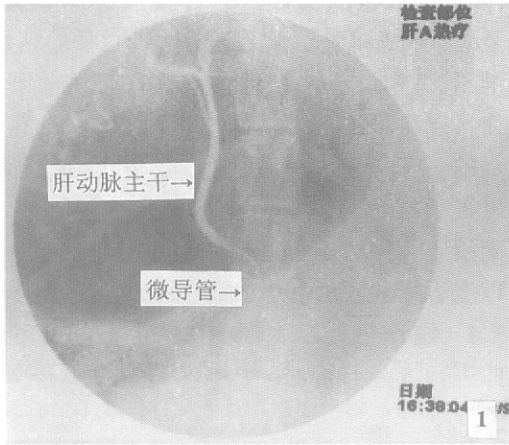


图 1 犬肝动脉正位 DSA; 图 2 60°C 热疗前肝穿刺活检(H.E 染色, 40 倍);
 图 3 60°C 犬肝动脉灌注热疗后 24 h 肝穿刺活检(H.E 染色, 100 倍);
 图 4 犬肝动脉灌注热疗后 168 h 穿刺活检(H.E 染色, 100 倍)

3 讨论

3.1 热疗的理论基础 大量研究表明,热疗可以有效增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,两者具有协同作用,加热 42°C、2 h 可使某些化疗药物细胞毒性增强 10 ~ 100 倍,常温下细胞毒性较弱的化疗药物在加热后杀伤能力成倍增加^[2,3]。文献报道,相同浓度下,42 ~ 43°C 化疗的杀伤作用明显强于 37°C;一定范围内,随着温度提高,达到相同 CI 值所需药物浓度降低,丝裂霉素 C(MMC)杀伤作用随温度升高呈线性增长关系,说明热疗对化疗具有增敏作用^[4]。其原因在于热不仅能够直接杀伤癌细

胞,而且能提高癌细胞胞浆中的药物浓度^[5,6]。因此,加热增敏有可能成为提高化疗效果的一个突破口。

目前的热疗基本上都是体外加热,深部肿瘤加热难。介入技术可以通过导管将药液送到病灶局部,称为介入性灌注化疗,如果将灌注的药液提前加热再以一定温度、持续一定时间灌注到肿瘤局部,可称为介入性热化疗^[1]。介入与热疗的有机结合既增加病灶局部药物浓度(首过效应)^[7],又减少全身毒副作用,从而大大提高了肿瘤的疗效^[1,2,8]。

3.2 选择 60°C 灌注液进行灌注的依据 加热的灌注液是否会对非瘤区的正常组织产生不可

逆的损伤,安全温度应该是多少,经检索,国内外这方面的报道甚少。目前仅有杨继金等粗略估计,认为安全范围应在 50℃ 以下^[9]。本实验以犬为对象,研究将灌注药液温度提高到 60℃ 以后正常肝组织的损伤情况,从而为临床治疗提供可靠的数据。选择 60℃ 而不是其它温度的液体进行灌注并非凭空而来,而是有一定的理论依据。体外实验已证明,将肿瘤均匀加热至 43℃ 并维持 30 min 具有最大的抗肿瘤效果而又不损伤正常组织^[1,2,8]。临床上对肿瘤热疗的加热要求是:使肿瘤组织被均匀加热至 41~45℃ 并维持一定时间^[8]。由于体内测温技术尚不成熟,目前只能通过控制灌注液温度的方法来实现肿瘤治疗的高效安全。理论上,若人的体温以 37℃ 计,那么 60℃ 的灌注液注入肿瘤局部时,混合后的温度应为 $(37 + 60)/2 = 48.5$ ℃。实际上,考虑到推注过程中室温(恒温于 25℃ 左右)对灌注液的冷却作用以及灌注液在导管中的散热,将热灌注后肝组织局部的温度估计为 43~45℃ 是比较合理的。

3.3 介入性热疗的依据 肿瘤组织因血管丰富、管壁发育不良、血流缓慢等自身特点,对热疗的敏感作用远较正常组织为高^[1]。理论上,热疗的温度越高,对肝癌的杀灭作用越强。但是介入性热疗的温度不能无限制地提高,因它对非瘤区的正常组织可能会有一定的损伤。介入性热疗有可能对正常组织产生损伤的原因:①对一部分患者无法超选择至肿瘤供血动脉;②对肝内多发性病灶的病例而言,依次超选择每个肿瘤病灶显然于时间上、技术上都是不现实的,只有于肝固有动脉进行灌注;③对已经发生周围组织或器官转移的病例,则只能进行区域灌注,那样热疗的范围会更大。基于以上三个原因,在进行介入性热疗时,灌注药液向非瘤区正常组织的分流是经常发生的。本文的目的,就是研究在以 60℃ 盐水经肝固有动脉进行热疗时,对正常肝组织会产生多大程度的损伤。

3.4 介入性热疗后肝脏活检及肝功的变化 反映肝组织受损伤的常见的指标是谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)。ALT 主要存在于

肝细胞内,肝细胞受到损伤时释放入血液^[10];后者存在于肝、肾、心等组织内。本实验的结果表明,在进行介入热疗后,ALT、AST 均可明显增高,ALT 最多可升高 7 倍,AST 可升高 9 倍,与热疗前相比有显著差异($P < 0.01$)。这说明肝组织受到了一定程度的损伤。但对两个指标的动态监测表明,二者的升高是一过性的,说明肝组织受到的损伤是短暂而轻微的。

血清(γ -GT)主要来源于肝脏,它的提高主要提示:①肝细胞坏死;②肝细胞癌变;③肝硬化失代偿^[10]。实验热疗前后 γ -GT 无明显差异($P > 0.05$),提示无肝细胞坏死的发生。

合成白蛋白和清除血中的胆红素是肝脏重要的生理功能,当肝受到较严重的损伤时,白蛋白将降低,血清总胆红素将发生异常。本实验对白蛋白和血清胆红素进行了为期一周的监测,未发生有意义的变化($P > 0.05$)。

肝脏穿刺活检结果表明,热疗后肝细胞发生混浊、肿胀,少量淋巴细胞浸润,无肝细胞坏死的发生。当肝功恢复正常后,活检结果也恢复正常。肝组织在灌注热疗前后的这种可逆性变化是 ALT、AST、 γ -GT 等指标变化的物质基础,正因为 60℃ 的介入性热疗使犬肝细胞受到轻微的一过性损伤,才使肝功能受到一过性损伤。而当肝脏发生肿瘤时,肿瘤供血动脉增多、增粗,流向肿瘤区域的血液将明显增多,亦即血流动力学上的“虹吸现象”^[11],这样流向非瘤区的血液(灌注液)明显减少。这种现象将使肝动脉热化疗更安全、可靠。

综上所述,犬肝动脉介入性热灌注对肝组织仅有一过性影响,提示介入性热灌注化疗具有一定的安全保证。

参 考 文 献

- [1] 张洪新,王执民,郭卫平等. 温热化学疗法对恶性肿瘤的细胞毒作用. 第四军医大学学报,1997,18(专刊):67~68.
- [2] 张洪新,王执民,郭卫平等. 温热与化疗对兔 VX-2 细胞毒作用的研究. 中华物理医学与康复杂志,1999,21(2):121.
- [3] 张洪新,王执民,郭卫平等. 高温与阿霉素对兔 VX-2 细

- 胞的协同作用.基础医学与临床,2000,20(3):276~279.
- [4] 张洪新,王执民,郭卫平等.丝裂霉素 C 热化疗对人肝癌细胞-7721 的细胞毒作用.第四军医大学学报,1998,19(6):636~638.
- [5] 张洪新,刘燕,郭卫平等.阿霉素对热处理的人肝癌细胞-7721/Adm 耐药株细胞毒性的影响.癌症,2000,19(12):1 092~1 094.
- [6] 张洪新,刘燕,郭卫平等.阿霉素加热化疗对人肝癌细胞耐药模型-7721/Adm 多药耐药性的影响.中华物理医学与康复杂志,2000,22(6):366~369.
- [7] Fety R C, Lucas P Solere *et al*. Hepatic intra-arterial infusion of fotemsutine. *Pharmacokinetics Cancer Chemother Pharma-*
col, 1992, 31:118~122.
- [8] Murray T G. *In vitro* efficacy of carboplatin and hyperthermia in a murine retinoblastoma cell line. *Invest-Ophthalmol-Vis-Sci*, 1997, 38(12), 2 516~2 522.
- [9] 杨继金,朱永法.经动脉热化疗治疗大鼠肝肿瘤.中华放射学杂志,1995(5):331~333.
- [10] 陶义训,冯仁丰.实用医学检验学.上海:上海科技出版社,1996.343~360.
- [11] 王执民,徐山淡.用数字血管造影观察中晚期肝癌血液动力学改变的临床意义.第四军医大学学报,1993(6):430~435.