

微球栓塞剂对 Beagle 犬肾动脉栓塞的病理学观察

邱 波¹, 王 艳², 英 永¹, 屈卉锦¹, 王韶艳¹, 王凤乾¹, 胡建廷¹

(1. 山东省药学院新药评价中心, 济南 250101; 2. 山东英才学院, 济南 250104)

【摘要】 目的 采用微球栓塞剂建立犬肾动脉栓塞模型, 评价对犬单侧肾动脉栓塞效果及局部组织观察。**方法** 实验动物为 8 条 beagle 犬, 试验分为栓塞后即刻、4 周、12 周、26 周四组, 每组 2 只, 选择自身对照, 分别为微球栓塞组和正常对照组。首先利用微球栓塞剂全部进行左肾动脉栓塞, 分别于栓塞后即刻、4 周、12 周、26 周肾动脉造影与 DSA 复查肾脏栓塞后变化, 随后处死实验动物, 对肾脏进行病理组织学观察。**结果** 肉眼大体病理观察: 被栓塞肾脏的大小与对侧肾脏相比较, 栓塞后 4 周、12 周、26 周的肾脏逐渐变小, 随着被栓塞时间的延长, 变小的程度越明显; 被栓塞肾脏的颜色变浅、不均匀; 被栓塞肾脏的表面逐渐不光滑、凹凸不平, 肾被膜不易分离。光镜观察表现: 栓塞后 4 周、12 周、26 周; 弓状动脉小分支内仍可见微球充填, 动脉壁呈玻璃样变, 动脉周围纤维化; 随着被栓塞时间的延长, 早期肾组织可见多种退行性变化如萎缩、变性、陈旧性肾梗死表现; 后期可见肾组织的多种进行性变化如肾小管再生、肉芽组织形成及改建等病理变化。但是, 栓塞侧肾脏仍可见近乎正常的肾小球、肾小管结构。**结论** 微球栓塞剂对犬单侧肾动脉具有明确的栓塞效果。

【关键词】 微球; 栓塞; 肾脏; 退行性变化; 进行性变化

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 01-0065-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2016.001.012

Histopathological observation of renal arterial embolization with microspheres in beagle dog

QIU Bo¹, WANG Yan², YING Yong¹, QU Hui-jin¹, WANG Shao-yan¹, WANG Feng-qian¹, HU Jian-ting¹

(1. Center for New Drug Evaluation of Shandong Pharmaceutical Academy, Jinan 250101;

2. Shan Dong Ying Cai University, Jinan 250104, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the efficacy and renal histopathological observation, microsphere was used as an embolic agent for unilateral renal artery. **Methods** Eight beagle dogs are included in this study. According to the experimental design, eight beagle dogs were randomly divided into 4 groups with each group 2 dogs. At the first, fourth, twelfth and twenty-sixth week after embolization, Each dog was divided into embolization group and normal control group by self-control. The left renal arteries were selected as the target organs for embolization with microspheres. Two dogs were chosen for the examination of angiography and DSA to observe the change of the embolized kidneys, respectively. Then the dogs were sacrificed and histological evaluation of the embolized kidneys was performed. **Results** Gross examination showed the size of the kidney was gradually smaller than the contralateral kidney at the fourth, twelfth and twenty-sixth week after embolization. The kidney was light colored, uneven. The surface of the kidney was gradually rough, uneven. Renal capsule was hard to separated from the kidney. Light microscopy showed that microspheres may still be seen in the small

[作者简介] 邱波(1983-)男, 硕士生, 研究方向: 药物的毒性病理学。E-mail: qiubo.1983@163.com。

[通讯作者] 胡建廷(1979-)男, 硕士, 副研究员, 研究方向: 药物的毒性病理学。E-mail: jiantinghu@126.com。

branches of arcuate artery at the fourth, twelfth and twenty-sixth week after embolization. Arterial wall hyaline, peripheral arterial fibrosis. With the time of embolism extended, A variety of degenerative changes such as atrophy, degeneration, renal infarction can be seen in the early stage; Many progressive changes such as renal tubule regeneration, granulation tissue and remodeling and other pathological changes can be seen in later stage. There is almost normal glomerulus and renal tubule structure in the embolismic kidney. **Conclusions** Microsphere has an specific effect of embolization on unilateral renal artery.

【Key words】 Microsphere; Embolization; Kidney; Degenerative changes; Progressive changes

介入治疗作为现代临床治疗学中的第三大诊疗体系,以其微创性、定位准确、可重复性强、并发症发生率低和疗效高的鲜明特点,得到医疗学术界和广大患者的认同。介入治疗中,血管介入栓塞作为导管栓塞术治疗肿瘤的一种方法,正随着医学影像设备、导管技术和栓塞剂的发展和应用引起人们越来越多的关注。相比于传统的化疗治疗,血管介入栓塞具有明显的优势^[1]。介入栓塞不仅阻断了肿瘤的血供,使肿瘤缺少必要的营养供应,也增强了药物对肿瘤的杀伤力,化疗药物的缓释还可降低药物的系统毒性。

血管介入栓塞中,栓塞剂的选择及其剂型是血管栓塞化疗治疗的研究重点^[2-4]。近年来微球作为一种新型的栓塞材料,它在发挥栓塞作用的同时,微球内的药物可在病灶局部持续缓慢释放,使病灶局部较长时间保持较高药物浓度,具有末梢栓塞、缓释、靶向的多重功效^[5]。日本学者 Dr. Yamada 于 1977 年提出该项技术^[1],最早应用于肝癌的治疗。同样,这项技术也应用于肾和肾上腺肿瘤的治疗。国内外多项研究^[6-9]表明,肾动脉栓塞可以起到抑制肿瘤、终止血尿、缓解疼痛、提高生存质量和延长患者生存时间的作用。肾动脉栓塞术作为姑息疗法用于治疗肾和肾上腺肿瘤是安全有效的。针对肾动脉栓塞术治疗肾脏肿瘤疾病的优势,本实验采用微球栓塞剂建立犬肾动脉栓塞模型,以评价对犬单侧肾动脉栓塞效果及栓塞后各个时间内肾组织的病理学观察。

1 材料和方法

1.1 试剂及药品

微球栓塞剂(规格:500~700 μm),戊巴比妥钠,肝素钠 3%,庆大霉素 1 mL/kg,碘海醇造影剂,10%福尔马林溶液。

1.2 仪器用品

GEInnova3100IQ 血管造影机,4F 动脉鞘(带穿刺针),4FCobra 导管,超滑导丝,高压注射器等。

1.3 实验分组及手术方案

普通级 Beagle 犬 8 只,体重 10 kg,24 月龄,购自广州市医药工业研究所【SCXK(粤)2010-0007】。动物饲养于本中心屏障环境(普通级)动物房【SYXK(鲁)2010 0004】。试验分为栓塞后即刻、4 周、12 周、26 周 4 组,每组 2 只,选择自身对照,分为微球栓塞组和正常对照组。每组动物按实验设计选定的时间点进行剖杀。麻醉后的动物仰卧位固定于 GEInnova3100IQ 血管造影机检查床上,经套管针分别注入肝素钠 4000 单位对动物行全身肝素化和庆大霉素 16 万单位预防感染,双侧腹股沟区常规备皮消毒铺巾,以 Seldinger 技术穿刺股动脉(左右侧不拘)成功后,置入 4F 导管鞘,引入 4F 的 Cobra 导管分别行双肾动脉注射碘海醇造影后,选择左侧肾动脉,在透视下经导管缓慢间断注入微球栓塞剂与碘海醇的混合液对肾动脉进行栓塞,以透视监视下不产生返流为原则,直至血流明显减慢或接近停滞。栓塞后再次行左肾动脉造影显示栓塞效果。术毕,拔出导管及导管鞘,并局部压迫止血,将动物送回动物室自然苏醒。

1.4 组织病理学检查

血管造影(DSA)检查后,给予静脉注射过量 5%戊巴比妥钠后处死动物,开腹取出双侧肾脏,先行肉眼大体病理观察,随后取栓塞的肾脏送组织学检查:10%福尔马林溶液固定标本,酒精梯度脱水,石蜡包埋,4 μm 切片,苏木素-伊红(HE)染色,光学显微镜下观察。

2 结果

2.1 肉眼形态学观察

肉眼观察,栓塞后即刻,双侧肾脏体积未见明显变化。栓塞后 4 周、12 周、26 周后,栓塞侧侧肾体积缩小,重量减轻,单侧肾质地变硬,表面呈均匀弥漫的细颗粒状。切面,肾皮质变薄,髓质变化较少,肾盂周围脂肪组织填充性增生。肾的梗死灶呈锥形,颜色灰白,尖端指向血管阻塞的部位,底部位于

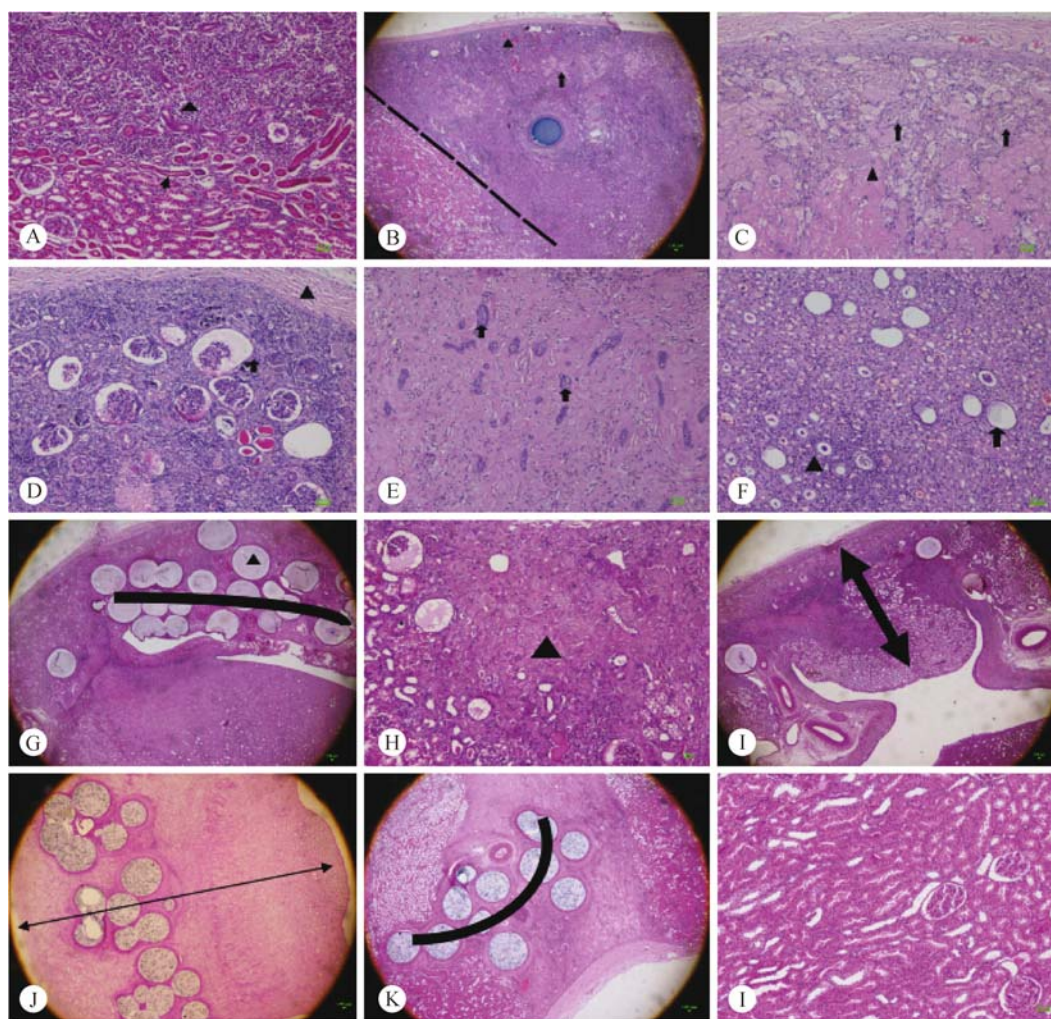


图 1 肾脏的组织病理学观察

Fig. 1 Histopathological observation of the kidney

脏器表面,浆膜面常有纤维性渗出物被覆。由于机化和瘢痕收缩,梗死灶表面下陷,呈固缩肾表现。病变较轻区域尚存的肾小球因功能代偿而肥大,所属肾小管相应地代偿性扩张,向肾表面突起。从而形成肉眼所见肾表面的小颗粒。

2.2 光学显微镜观察

栓塞后即刻:栓塞侧肾脏间质内可见弥漫性的炎细胞浸润(图 1A 三角形所示 $\times 10$),部分肾小管萎缩(图 1A 箭头所示)。栓塞后 4 周:栓塞侧肾脏,肾组织呈现的为陈旧性梗死灶病理变化。梗死灶呈楔状,部分肾小管呈蛋白管型,腔内充满嗜酸性蛋白样物质(图 1B 三角形所示 $\times 4$)。梗死区细胞出现核固缩、核碎裂、核溶解,细胞质呈嗜伊红颗粒状,仍能辨认肾小球、肾小管和血管的轮廓(图 1C 箭头、三角形所示 $\times 2$)。另外,还可见数个肾小球毛细血管襻内有蛋白样物积聚(图 1D 箭头所示 $\times 10$);肾脏皮质最外层被膜增厚,被肉芽组织所机化

(图 1D 三角形所示 $\times 10$),部分肾小管再生(图 1E 箭头所示 $\times 10$)以及肾脏髓质间质内纤维组织增生,部分集合管呈囊状扩张(图 1F 三角形所示 $\times 10$)。

栓塞后 12 周:肾脏皮质和髓质分界不清。皮质变薄(图 1I 双箭头所示 $\times 2$)。间质纤维结缔组织增生(图 1H 三角形所示 $\times 10$),少量集合管呈囊状扩张,呈大小不等的小囊或小孔。数量不等的动脉被微球栓塞剂栓塞(图 1G 三角形所示 $\times 2$ 弧线所示为动脉走向)。

栓塞后 26 周:肾脏皮质和髓质分界不清。间质纤维结缔组织增生(图 1J 双箭头所示 $\times 2$)。数量不等的动脉被微球栓塞剂栓塞。可见被微球栓塞的血管的大体走向(图 1K 弧线所示 $\times 2$)。另外,还可见梗死区经过修复最终被瘢痕组织代替。由于机化和瘢痕收缩,梗死灶表面下陷,以致肾脏表面凹凸不平,呈固缩肾表现(图 1K $\times 2$)。

栓塞后 4 周、12 周、26 周,各时间点的未栓塞侧肾脏未观察到病理变化,肾脏皮髓分界清晰,肾小球主要由毛细血管组成,球囊腔清晰可见。肾小管无变性坏死,间质无纤维化(图 1L ×10)。

3 讨论

肾动脉栓塞术是一种微创手术,作为姑息疗法用于治疗肾和肾上腺肿瘤。微球作为栓塞剂的治疗效果更加安全有效,它具有独特的球形外观和良好的栓塞性能,是目前最常用的栓塞剂。本实验中,Beagle 犬肾动脉经栓塞后即刻、4 周、12 周、26 周后血管造影及镜下观察,弓状动脉小分支内仍可见颗粒均匀的微球充填,体内未见非靶器官被误栓,说明该微球的栓塞效果、生物组织相容性较好。栓子周围血管损伤较小,适合作为血管内栓塞材料。肾动脉微球栓塞模型的研究可为后期微球联合靶向分子药物所进行的经导管动脉化学栓塞(TACE)的建立打下良好的基础。

另外,我们从肾脏的解剖学、肾功能及病理学角度来分析肾脏内各部位的血流改变、肾功能代偿及肾组织的病理组织学改变。从肾脏的解剖学分析,肾脏重量小于身体重量的 1%,血流量却占心输出量的 25%,进入肾脏的 90% 血液到达皮质,髓质血流量少,小于肾血流量的 0.8%,易受缺血缺氧的损伤。而又因每支小叶间动脉供应一个皮质迷路。所有肾动脉分支都是终末动脉,没有明显的侧支供应。所以,经微球栓塞剂栓塞肾动脉后,可见小叶间动脉阻塞的后果所形成的皮质楔形坏死区。长时间缺血(超过 2 h)导致皮质梗死,进而闭塞静脉回流,导致髓质梗死。

从肾功能分析,肾脏对肾功能丧失有很强的补偿能力。微穿刺实验表明单侧肾切除后,剩余肾的 GFR 增加了大约 40% ~ 60%。这一效应与肾小球血流速率和液体压力在早期的代偿性增加有关^[10]。用标准的临床试验检测总体肾功能是正常的。因此,肾功能改变在肾单位损失和/或损伤超过这些代偿机制之前是检测不到的。从病理学角度分析,肾组织受栓塞的损伤较为严重,栓塞后 4 周,镜下可见肾组织呈现陈旧性梗死灶病理变化。针对损伤,肾组织以非完全再生的形式,栓塞后 12 周、26 周,肉芽组织最终被瘢痕组织代替。由于机化和瘢痕收缩,梗死灶表面下陷,以致肾脏表面凹凸不平,呈固缩肾表现。栓塞侧肾脏还可见正常的肾组织,是

因为肾脏对于损伤有许多细胞和分子水平的反应。当肾脏内大量细胞死亡和损失,肾单位功能丧失时,受损的细胞最终通过胀亡和凋亡过程死亡。未致死的细胞可进行修复和适应。未受损的细胞以及与受损区域邻近的细胞可能发生去分化、增殖、迁移和分化,未受损的细胞可通过代偿性增生对细胞丧失和损伤产生反应。这有助于肾单位结构和功能的恢复。另外,还有一些细胞没有受到损伤,这些细胞可能经历代偿性的肥大、细胞适应和细胞增殖。细胞的增殖和代偿性肥大有助于肾单位结构和功能的恢复。这也解释了为什么试验中未栓塞侧肾脏的体积和重量之所以增大的缘故。

参考文献:

- [1] Liu X, Heng WS, Paul, *et al.* Novel polymeric microspheres containing norcantharidin for chemoembolization[J]. J Control Release, 2006, 116(1): 35-41.
- [2] Kamada K, Nakanishi T, Kitamoto M, *et al.* Long-term prognosis of patients undergoing transcatheter arterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: comparison of cisplatin lipiodol suspension and doxorubicin hydrochloride emulsion[J]. J Vasc Interv Radiol 2001, 12: 847-854.
- [3] Chen MS, Li JQ, Zhang YQ, *et al.* High-dose iodized oil transcatheter arterial chemo emboli zation for patients with large hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol 2002, 8: 74-78.
- [4] Kamada K, Kitamoto M, Aikata H, *et al.* Combination of transcatheter arterialchemoemboli zation using cisplatinlipiodol suspension and percutaneous ethanol injection for treatment of advanced small hepatocellular carcinoma[J]. Am J Surg 2002, 184: 284-290.
- [5] Tamura T, Fujita F, Tanimoto M, *et al.* Anti-tumor effect of intraperitoneal administration of cisplatin-loaded microspheres to human tumor xenografted nude mice[J]. J Control Release, 2002, 80: 295-277.
- [6] Jaganjac S, Sarajlic-Durovic V, Duheric A, *et al.* Percutaneous transarterial kidney embolization[J]. Med Arh, 2007, 61 (4): 233-235.
- [7] Ginat DT, Saad WE, Turba UC. Transcatheter renal artery embolization for management of renal and adrenal tumors[J]. Tech Vasc Interv Radiol, 2010, 13 (2): 75-88.
- [8] 朱朝辉,曾甫清,程平,等. 肾动脉栓塞术在肾癌治疗中的应用(附 67 例报告)[J]. 临床泌尿外科, 2002, 17(10): 521-522.
- [9] 陈仲武,陈济铭,官怀文,等. 中晚期肾癌术前介入治疗的临床价值[J]. 生物医学工程与临床, 2006, 10(2): 79-81.
- [10] Curtis D. Klaassen. 毒理学教程[M]. 周宗灿主编. 3 版. 北京:北京大学医学出版社,2006.

[修回日期]2015-10-21