

氩氦刀治疗实验性肝肿瘤并发出血的原因研究

易峰涛¹, 卢绮萍², 吴坤¹

1. 广州军区武汉总医院放射治疗科, 湖北 武汉 430070; 2. 广州军区武汉总医院普通外科, 湖北 武汉 430070

摘要: **目的** 探讨肝癌氩氦刀冷冻治疗并发出血的原因,探索出血防治方法。**方法** 将 VX2 肿瘤细胞株移植于 45 只大白兔肝内建立实验性肝肿瘤模型,对 45 只荷瘤兔的 61 个肿瘤进行氩氦刀治疗,观察出血的发生;术后 3 d 对大白兔进行 320 排 CT 增强扫描,观察治疗靶区血流灌注情况。**结果** (1)61 个肿瘤中出血阳性判定者 6 个,出血发生率为 9.8%。有 3 个肿瘤是因为冰球破裂出血,其中 2 个肿瘤位于同一只大白兔肝上(该 2 个肿瘤中的 1 个第 2 次氩氦刀时因为进针过深,导致肿瘤本身及毗邻肿瘤的冰球破裂出血),另 1 例是氩氦刀结束时,冰球尚未完全融化,拔刀时用力过猛导致冰球破裂出血。其余 3 例中,1 例是在冻融过程中由于用力牵拉冰球,导致冰球与正常肝组织连接处撕裂出血;2 例是在氩氦刀结束后,冰球融化,穿刺通道出血。(2)术后 3 d 行 CT 扫描发现治疗靶区小血管闭塞,大血管血流正常。**结论** 肝癌氩氦刀作为一种微创技术,仍有出血的风险存在。出血的时间主要发生在围手术期,与不规范操作及操作过急有关,术后 24 h 后治疗靶区小血管闭塞,死亡风险较低。

关键词: 肝肿瘤; 兔 VX2 移植肿瘤; 氩氦刀; 出血; X 线电子计算机断层扫描

中图分类号: R 730.8 R 73-36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)02-0166-03

Reasons of hemorrhage after argon-helium cryoablation in rabbits with experimental liver tumor

YI Feng-tao*, LU Qi-ping, WU Kun

* Department of Radiotherapy, Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Region, Wuhan, Hubei 430070, China

Corresponding author: LU Qi-ping, E-mail: pttwklqp111@163.com

Abstract: **Objective** To explore the bleeding causes in argon-helium cryoablation treatment of hepatocarcinoma and the prevention and treatment method. **Methods** The rabbit hepatocarcinoma model was established by transplanting VX2 tumor cell line to the rabbit liver. A total of 61 tumors of 45 tumor-bearing rabbits were treated by argon-helium cryoablation. The occurrence of bleeding was observed. The 320 row CT enhanced scan was performed three days after operation to observe the blood perfusion of treatment target regions. **Results** Hemorrhage sign appeared in 6 out of 61 tumors, thus the incidence of hemorrhage was 9.4%. The bleeding of three tumors (two located in the same rabbit) was due to fracture of ice ball; the hemorrhage in one of two tumor in same rabbit occurred in the ice balls of tumor itself and adjacent tumor because cryoprobe was inserted deeply at the second time of argon-helium cryoablation treatment to cause bleeding; the hemorrhage in the tumor of another rabbit occurred in the end of argon-helium cryoablation treatment because of excessive force in pulling out the cryoprobe when the ice ball was not melted enough. In the remaining three tumors, bleeding of one tumor was laceration bleeding in joining position of ice ball and normal liver tissues because of excessive force in stretching the ice ball during process of freeze-thaw; the bleeding of other 2 tumors occurred in puncturing passage because of ice ball thawing after the end of argon-helium cryoablation treatment. The CT scanning three days after operation demonstrated that the small vessels in target region of treatment were occluded, but the blood flow of large vessels was normal. **Conclusions** As a minimally invasive technique for the treatment of hepatocarcinoma, argon-helium cryoablation still exists bleeding risk. The hemorrhage occurs mainly in the perioperative period, and it is related to irregular and reckless operation. Twenty-four hours after the cryoablation, the death risk decreases because the small vessels of the treatment target regions are occluded.

Key words: Hepatic tumor; Rabbit transplanted VX2 tumors; Argon-helium cryoprobe; Hemorrhage; X-ray computed tomography

肝癌是常见的恶性肿瘤之一,手术切除是其主要治疗方法,但是由于其恶性程度高,早期症状不明显,发现时能进行手术的患者只有 20% ~ 30%^[1]。氩氦刀(cryocareTM targeted cryoablation therapy, 又称氩氦靶向冷冻治疗系统)作为一项新的微创治疗技术,在无法手术切除的肝癌治疗方面有较为成熟的应用经验^[2-3]。但是由于肝脏血供丰富及自身的解剖结构等特点,出血是肝癌氩氦刀治疗的常见并发症。兔 VX2 肝癌模型在肿瘤的生理、病理及介入治疗方面的研究已经十分成熟^[4]。本实验通过对肝内成功移植 VX2 肿瘤株的 45 只大白兔共 61 个肿瘤进行氩氦刀治疗,术后通过 320 排 CT 动态观察肿瘤区血流灌注情况,对氩氦刀治疗并发出血的原因进行分析。

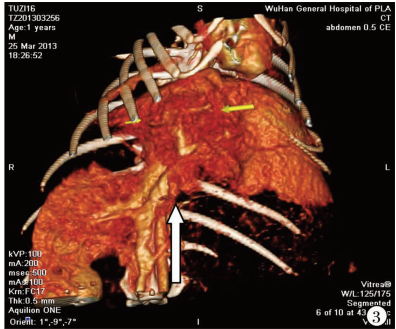
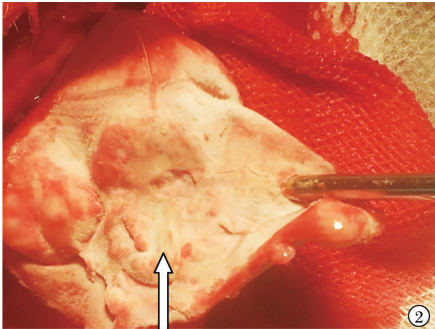
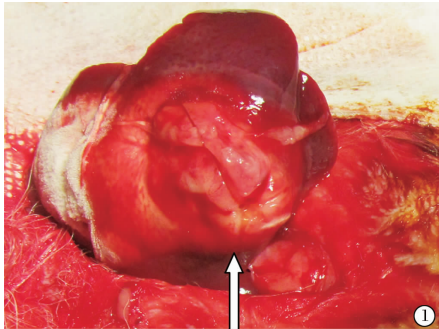
1 材料与方法

- 1.1 氩氦刀 美国 Endocare 公司研制的 CryocareTM4 刀氩氦低温手术系统。
- 1.2 动物 日本大白兔 45 只,雌雄不限,兔龄 5 ~ 8 个月,体质量 3 ~ 5 kg。
- 1.3 兔 VX2 肝癌模型建立 对健康日本大白兔麻醉后,将头部和四肢固定在兔实验专用的手术台上。腹部剃毛,消毒,放置无菌洞巾,切开皮肤,剖开腹壁,暴露少许肝脏。用眼科无齿镊将 VX2 肿瘤组织分别植入 2 个肝叶,用无菌明胶海绵填塞植入孔,然后缝合腹腔。共手术 45 只大白兔,移植 64 个肿瘤。3 周后超声探查,可见肿瘤生长,直径 < 0.5 cm 者呈结节状,直径 > 0.5 cm,可见囊性坏死。
- 1.4 氩氦刀冻融过程 移植后 3 周,将带有 VX2 肿瘤的荷瘤兔麻醉后,四肢固定,仰卧位。腹部剃毛,消毒,放置无菌洞巾,切开肿瘤部位皮肤,暴露肿瘤,45 只大白兔共发现 61 个肿瘤,肿瘤存活率 95.3% (61/64)。将 2 mm 冷刀从肿瘤中间插入,穿过肿瘤约

- 0.2 cm。插入到位后,接通常温高压氩气,进行冷冻治疗,刀尖温度在 30 s 内降至 -135℃ 左右,持续 5 ~ 10 min 后,停止氩气的输注;改输常温高压氦气,刀尖温度在 3 min 内上升到 15℃ 可见冰球融化,然后再冷冻—复温循环 1 次,拔除冷刀,填塞明胶海绵止血,消毒、缝合皮肤。治疗过程中主要记录氩氦刀治疗后肿瘤出血的量和时间。
- 1.5 320 排 CT 增强扫描 术后第 3 天进行 320 排 CT 动态增强扫描:兔子麻醉后仰卧扫描床,进行动态容积采集,共 13 个容积。扫描参数:电压 100 kV,电流 100 mA,层距 0.5 mm。经兔耳静脉高压注射碘必乐(370 mgI/100ml),流率 1 ml/s,总量 1 ml/kg。全程扫描时间 30 s。扫描完成后将数据传输到 VITREA fxViion 3.0 工作站进行图像后处理,应用各种重建方法进行观察。观察术后肿瘤有无出血及肿瘤的血流灌注情况。
- 1.6 出血标准的判定 术中出血浸湿 2 块纱布(出血量约 30 ml)或持续出血时间大于 10 min 经处理效果不佳判定为出血阳性。

2 结果

- 2.1 氩氦刀术中观察结果 (1)对 45 只大白兔共 61 个肿瘤进行氩氦刀治疗,肿瘤出血阳性判定者有 6 个,出血发生率为 9.8%。45 只大白兔术后存活 44 只,1 只因出血不止死亡。除外 6 个肿瘤出血阳性判定者外,其余肿瘤在氩氦刀结束时,无明显出血。(2) 6 个肿瘤阳性出血具体情况如下:有 3 个肿瘤是因为冰球破裂出血,其中 2 个肿瘤位于同一只大白兔肝上[该 2 个肿瘤中的 1 个第 2 次氩氦刀时因为进针过深,导致肿瘤本身及毗邻肿瘤的冰球破裂,出血量大,止血效果不佳,最后致大白兔死亡(见图 1)];第 3 个肿瘤是氩氦刀治疗第 1 次冷冻结束时,冰球尚未



注:箭头示冰球破裂出血,以穿刺点为中心,出现多个裂缝。

注:箭头示冰球破裂,碎块脱落。

注:箭头示靶区缺损,但大血管完好。

图 1 兔 VX2 移植肿瘤氩氦刀治疗进针过深致出血

图 2 兔 VX2 移植肿瘤氩氦刀治疗用力过猛导致冰球碎裂

图 3 兔 VX2 移植肿瘤靶区 320 排 CT 三维重建图像

完全融化,拟调整冷刀位置,用力过猛导致冰球碎裂,且可见碎块脱落(见图 2)。其余 3 例中,1 例是在冻融过程中由于用力牵拉冰球,导致冰球与正常肝组织连接处撕裂出血,出血量浸湿 2 块纱布(约 30 ml),按压止血时间 10 min 以上;2 例是在氩氦刀结束后,冰球融化,穿刺通道出血较多,给予明胶海绵填塞止血 10 min 以上好转。

2.2 氩氦刀术后 3 d 行 320 排 CT 扫描结果 对 44 只大白兔行 320 排 CT 动态增强扫描及图像三维重建观察治疗靶区血流灌注情况,发现三维重建可见肿瘤治疗靶区为一空洞,肿瘤治疗靶区的血管未显示,但大血管血流不受影响(见图 3)。

3 讨论

氩氦刀是一个局部微创的治疗方法,其治疗机制主要包括:细胞内冰晶形成、反复冻融导致细胞裂解、微血管因缺氧闭塞、特异性抑瘤因子形成等^[5-6]。氩氦刀目前被认为是治疗肝癌的一种比较安全、有效的方法。但是仍有并发症出现的风险,有研究报道肝癌氩氦刀治疗严重并发症的发生率有 6.3%,其中出血是较常见的并发症之一^[7]。虽然从氩氦刀的机制上来看,其可以使治疗靶区微血管闭塞,起到局部止血的作用,但是因为肝脏组织血供丰富,冷刀需要经过肝组织插入肿瘤内部甚至超过肿瘤,将损伤多血的肝组织,必然引起出血。本实验中 2 例刀道出血及 1 例肝组织撕裂出血都证实肝组织血供丰富,损伤易出血。第二个容易出血的原因是冻融过程中由于冰球内外的温差较大,冰球容易发生张力性断裂,加上操作不当用力过大可能会导致冰球破裂而出血。本实验中有 3 例出血就是因冰球破裂而出血。国外多个实验也证实肝癌的氩氦刀治疗具有发生出血的风险,并且发现肿瘤的出血与冷刀的直径有关,冷刀的直径越大,损伤越大,出血的几率也增大^[8-9]。

研究表明,正常组织肝动脉供血与门脉供血之比在 1/4 ~ 1/3,多数肝脏肿瘤包括移植瘤则主要为肝动脉供血^[10]。本实验采用 320 排容积 CT 灌注成像来评价 VX2 移植瘤氩氦刀术后治疗靶区血流灌注情况,320 排 CT 通过获得各个层面内每一像素对比剂在该组织、器官中浓度变化的时间密度曲线(TDC),可以动态观察治疗靶区的血管分布及血流灌注情况,其能更好地观察肿瘤对治疗的反应^[11]。本实验发现:CT 三维重建可见肿瘤治疗靶区为一空洞,其内小血管闭塞,未见血流灌注,而大血管的血流未受影响

(见图 3)。说明氩氦刀术 24 h 后,肿瘤治疗靶区小血管闭塞,肿瘤无出血,大白兔死亡风险较低。

本实验共治疗 61 个肿瘤,6 个判定为出血阳性,都发生在围手术期,且主要与手术过程中的操作有关。术后 3 d 行 320 排 CT 扫描未发现出血。因此我们认为,出血的预防主要是在围手术期,应注意规范化的手术操作,尽量选择 2 mm 或更细的冷刀进行操作,在很大程度上可以减少出血的发生。

综上所述,氩氦刀作为一种冷冻消融微创治疗技术,仍有出血的风险存在。出血的时间主要发生在围手术期,主要与不规则操作及操作过急有关,冻融治疗 24 h 后治疗靶区小血管闭塞,死亡风险较低。对于出血的防治主要应集中在围手术期的操作上。

参考文献

[1] Poon RT, Fan ST, Lo CM, et al. Improving survival results after resection of hepatocellular carcinoma: a prospective study of 377 patients over 10 years [J]. *Ann Surg*, 2001, 234(1): 63 - 70.

[2] Rapaccini GL. Percutaneous ablative treatments of hepatocellular carcinoma [J]. *Hepatology*, 2015, 61(5): 1465 - 1466.

[3] Shimizu T, Sakuhara Y, Abo D, et al. Outcome of MR - guided percutaneous cryoablation for hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2009, 16(6): 816 - 823.

[4] Duan X, Zhou G, Han X, et al. Radiofrequency ablation combined with transcatheter therapy in rabbit VX2 liver tumors: effects and histopathological characteristics [J]. *Acta Radiol*, 2015, 56(1): 87 - 96.

[5] Sabel MS. Cryo-immunology: a review of the literature and proposed mechanisms for stimulatory versus suppressive immune responses [J]. *Cryobiology*, 2009, 58(1): 1 - 11.

[6] Osada S, Imai H, Tomita H, et al. Serum cytokine levels in response to hepatic cryoablation [J]. *J Surg Oncol*, 2007, 95(6): 491 - 498.

[7] Yang Y, Wang C, Lu Y, et al. Outcomes of ultrasound-guided percutaneous argon-helium cryoablation of hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2012, 19(6): 674 - 684.

[8] Shock SA, Laeseke PF, Sampson LA, et al. Hepatic hemorrhage caused by percutaneous tumor ablation: radiofrequency ablation versus cryoablation in a porcine model [J]. *Radiology*, 2005, 236(1): 125 - 131.

[9] Onishi Y, Hashiguchi S, Yoshikawa H, et al. Postoperative analgesia for hepatic cryosurgery [J]. *Masui*, 2010, 59(6): 749 - 752.

[10] 古杰洪, 黄云海, 郭永梅, 等. 320 排 CT 全肝灌注成像临床应用初探 [J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2012, 10(2): 62 - 64, 80.

[11] Wang H, Shu S, Li J, et al. Management of Liver Cancer Argon-helium Knife Therapy with Functional Computer Tomography Perfusion Imaging [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2014 Nov 26. [Epub ahead of print].