

• 实验研究 Experimental research •

热控电极与传统电极不可逆电穿孔消融小鼠
肝脏对照研究

张 科, 王 杰, 魏旭辉, 刘中一

【摘要】 目的 探讨热控电极与传统电极在不可逆电穿孔(IRE)消融小鼠肝脏组织中的异同。**方法** 实验组采用热控电极,对照组采用传统电极,分别在 CT 导引下对 18 只小鼠(每组 9 只)经皮肝穿刺释放相同剂量电脉冲。对比两组电极温度变化、消融速率、消融截面积、术后恢复情况、存活率、有效率及组织病理学改变。**结果** 两组经皮肝穿刺均获成功(9/9)。小鼠接受 20 个电压 600 V、场强 1 800 V/cm、脉宽 100 μ s、脉冲频率 1 Hz 的电脉冲处理后,实验组消融用时(32.5 ± 3.5 s),慢于对照组用时(20.0 ± 0 s) ($P<0.05$);电极温度上升(5.3 ± 0.8) $^{\circ}\text{C}$,低于对照组(18.6 ± 2.3) $^{\circ}\text{C}$ ($P<0.05$)。术后两组小鼠均存活,消融有效均为 7 只。实验组有效消融面积(15.2 ± 3.6) mm^2 ,小于对照组(21.3 ± 5.2) mm^2 ($P<0.05$)。有效消融区均出现细胞凋亡、消融边界呈细胞级过渡、消融区管腔结构保留完好等典型 IRE 病理表现。对照组苏木精-伊红(HE)染色出现脱染现象,实验组染色均匀。**结论** 在合理的消融参数下,CT 引导经皮穿刺行小鼠肝脏 IRE 消融实验安全、微创、有效。在同等脉冲剂量条件下,热控电极消融效率不及传统电极,但能有效控制消融中的热效应,使消融更均一,实现真正意义上的非热消融。

【关键词】 不可逆电穿孔; 消融; 热控电极; 动物实验

中图分类号:R575 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2022)-01-0062-05

Thermal-control electrodes versus traditional electrodes for irreversible electroporation ablation of the mouse liver: a comparison study ZHANG Ke, WANG Jie, WEI Xuhui, LIU Zhongyi. Department of Interventional Radiology, Jiangsu Provincial People's Hospital, Nanjing, Jiangsu Province 210029, China

Corresponding author: WANG Jie, E-mail: wangjie1963nmu@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the similarities and dissimilarities between thermal-control electrodes and traditional electrodes in the irreversible electroporation (IRE) ablation of the mouse liver. **Methods** A total of 18 mice of American Institute of Cancer Research (ICR) were equally divided into study group ($n=9$, using thermal-control electrodes) and control group ($n=9$, using traditional electrodes). Under CT guidance, percutaneous liver puncture IRE was performed in all experimental mice, during which the same dose of the electric pulse was released. The electrode temperature, ablation rate, area of ablated cross-section, postoperative recovery, survival rate, effective rate and histopathological findings were compared between the two groups. **Results** Successful percutaneous liver puncture was accomplished in all mice of both groups. After receiving a treatment of 20 electric pulses with a voltage of 600 V, a field strength of 1 800 V/cm, a pulse width of 100 μ s, and a pulse frequency of one Hz, the mean time used for the ablation in the study group was (32.5 ± 3.5) seconds, which was longer than (20.0 ± 0) seconds in the control group ($P<0.05$); the electrode temperature in the study group rose (5.3 ± 0.8) $^{\circ}\text{C}$, which was remarkably lower than a rise of (18.6 ± 2.3) $^{\circ}\text{C}$ in the control group ($P<0.05$). Postoperative survival rate of experimental mice was 100% in both groups. The effective rate of ablation was 77.8%(7/9) in both groups ($P>0.05$). The effective ablated area in the study group was (15.2 ± 3.6) mm^2 , which was prominently smaller than (21.3 ± 5.2) mm^2 in the control group ($P<0.05$).

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2022.01.012

基金项目: 国家自然科学基金(31930020)

作者单位: 210029 南京 江苏省人民医院介入放射科(张 科、王 杰、魏旭辉);中国电子科技集团公司第 14 研究所(刘中一)

通信作者: 王 杰 E-mail: wangjie1963nmu@126.com

Typical post-IRE pathological manifestations in the effective ablated zone, such as cell apoptosis, cell-level transition at the border of ablated area, intact lumen structure, etc., could be observed. In the control group, de-staining phenomenon of H&E staining could be found, while uniform staining was seen in the study group.

Conclusion When reasonable ablation parameters are adopted, CT-guided percutaneous puncture IRE ablation of mouse liver is safe, mini-invasive and effective. When the same pulse dose was used, the ablation efficiency by using thermal-control electrodes is not as good as that by using traditional electrodes, but the thermal-control electrodes can effectively control the thermal effect during the ablation treatment process, which makes the ablation effect more uniform, thus, the true “non-thermal” ablation goal can be achieved. (J Intervent Radiol, 2022, 31: 62-66)

【Key words】 irreversible electroporation; ablation; thermal-control electrode; animal experiment

不可逆电穿孔(irreversible electroporation, IRE)消融, 主要依赖高强度脉冲电场瞬间释放的电能而非焦耳热, 相对于冷、热消融, 一直被称为非热消融或常温消融^[1-2]。近年研究表明 IRE 消融过程中, 亦伴随着一定的热效应, 温度变化主要取决于消融能量和组织散热之间的平衡^[3]。若 IRE 前规划和参数设置不当, 可能会对组织造成热损伤, 失去其消融特点和优势。为了避免 IRE 消融中的热效应, 国外学者提出热控电极和温度闭环反馈算法的概念, 并进行体外细胞学和离体组织学初步实验^[4-5]。本研究应用热控电极 CT 导引经皮肝穿刺对小鼠肝脏进行原位 IRE 消融实验, 并与传统电极消融进行比较, 分析其技术特点、安全性和有效性。

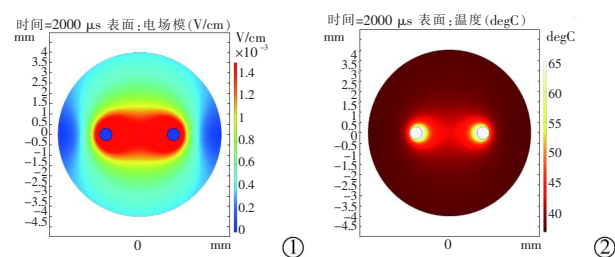
1 材料与方法

1.1 高压脉冲发生装置和热控电极构建

高压脉冲发生装置和热控电极, 由中国电子科技集团公司第 14 研究所、南京臻泰微波科技有限公司自主研究开发。高压脉冲发生装置可提供脉宽 300 ns~2 ms、输出电压 500 V~3 kV、电流最大 80 A、频率 0.1~10 Hz 的电脉冲。热控电极由两根 22 G 空芯不锈钢单极电极(暴露长度 5 mm)、特殊定制的绝缘型温度传感器、外部微控制器及温度闭环反馈算法构成。温度传感器探头同轴置于空芯电极头端内部并实时采集消融中的温度数据, 数据反馈给微控制器, 微控制器接受温度闭环算法指令, 循环比较消融中电极实时温度是否超出设定的温度阈值。本研究小鼠实验热控电极反馈温度设置为 42℃。当高于 42℃时, 微控制器控制高压脉冲发生装置停止释放电脉冲, 直至温度低于 42℃。传统电极为两根单极电极, 为了便于和热控电极的消融温度进行比较, 对传统电极也配置温度采集功能, 但没有配备温度控制功能。

1.2 计算机电场、温度场仿真

参考相关文献^[6-7], 利用 COMSOL Multiphysics 多物理场仿真软件进行 IRE 电场和温度场仿真, 粗略估计本实验所需要的电压和场强参数, 在以文献报道的生物组织平均电导率 0.4 S/m 条件下, 得出消融电压 600 V、电极间距 3.3 mm、场强 1 800 V/cm, 可获得较为安全的小鼠肝脏 IRE 有效电场覆盖范围(图 1①)。考虑到本实验小鼠肝脏的消融体积和范围较小、散热较慢, 为简化运算量, 将总时长设置为 2 ms (100 μs×20) 进行稳态分析, 模拟出脉宽 100 μs、脉冲个数 20 个条件下温度上升接近 15℃ (图 1②)。



①电场仿真; ②温度场仿真

图 1 小鼠肝脏 IRE 消融电场和温度场仿真

1.3 CT 导引下经皮肝穿刺小鼠肝脏 IRE 消融

本动物实验研究获南京医科大学实验动物福利伦理委员会审批(IACUC-2007039)。18 只 9~11 周龄美国癌症研究所(ICR)小鼠, 雌雄不限, 随机分为实验组和对照组, 每组 9 只。实验组采用热控电极进行电场消融, 对照组采用传统电极消融。消融前实验鼠禁食 4 h, 腹腔注射麻醉, 取仰卧位, 消毒电极和术区, 固定电极间距 3.3 mm; 沿剑突下向头侧穿刺肝中叶, 进针深度 1 cm, CT 扫描验证穿刺成功后将电极连接脉冲发生装置高压输出端, 按照仿真参数条件释放电压 600 V、脉宽 100 μs、频率 1 Hz 脉冲 20 个。计算机连接温度传感器和微控制器, 记录两组消融时间和消融过程中电极温度变化, 观察术中

小鼠对脉冲的反应,术后复苏、进食及体能恢复情况。

1.4 病理学评估

消融后 30 h 处死所有小鼠,取肝脏大体标本观察、取材、固定、最大消融切面切片、苏木精-伊红(HE)染色和脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)染色。采用 ImageScope 病理扫描平台进行病理切片扫描,由 2 名病理医师阅片及病理学评估。有效 IRE 消融标准:电极间肝细胞消融彻底无残余、细胞凋亡、消融边界呈细胞级过渡和消融区管腔结构保留完好。同时计算两组切片有效 IRE 消融面积。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,计量资料比较用 t 检验,率的比较用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 消融速率和消融温度比较

双通道示波器显示两组小鼠肝脏 IRE 消融过程中每次脉冲输出电压稳定,电流大小约 8 A(图 2①)。消融起始时,两组电极温度曲线呈阶梯状上升,温度随每个脉冲释放上升约 0.5°C 。实验组在第 9~12 个脉冲区间内触发温度闭环反馈程序,待温度降至设定温度阈值 42°C 以下时再次发放,使脉冲发放间隔延长,释放完 20 个脉冲后消融总时长 $(32.5 \pm 3.5) \text{ s}$,热控电极温度升高 $(5.3 \pm 0.8)^{\circ}\text{C}$;对照组接受 20 个脉冲后消融总时长 $(20.0 \pm 0) \text{ s}$,低于实验组($P < 0.05$),传统电极温度升高 $(18.6 \pm 4.3)^{\circ}\text{C}$,高于实验组($P < 0.05$)。以脉冲数目和所消耗时间对应关系的脉冲-时间曲线反映消融速率,两组消融速率见图 2②。两组电极温度随脉冲释放变化的脉冲-温度趋势见图 2③。

2.2 IRE 术中中和术后情况

两组经皮肝穿刺成功率均为 100%,未发生气

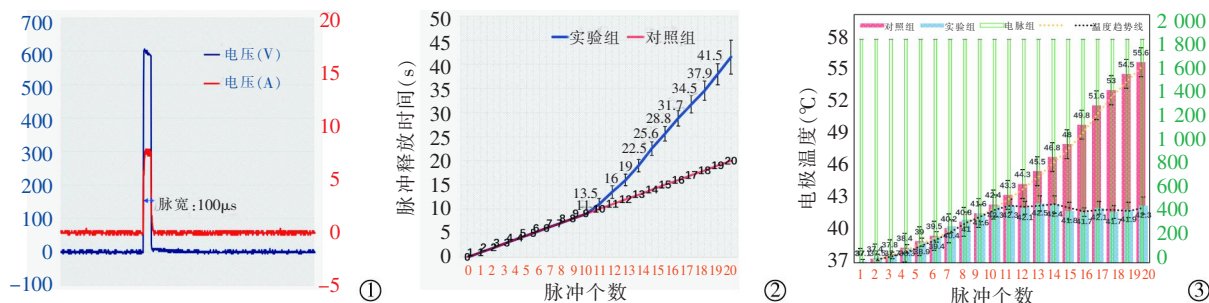
胸等穿刺并发症。脉冲释放时,所有小鼠出现与脉冲频率相伴的肌肉收缩。术后两组小鼠存活率均为 100%,恢复良好,能正常进食和活动。

2.3 病理学对比

实验组和对照组各有 2 只小鼠两电极间存在残余未完全消融的正常肝组织,视为无效消融;其余小鼠消融区肝组织 HE 和 TUNEL 染色均可见肝小叶结构消失、肝细胞凋亡、消融边界呈细胞级过渡、消融区管腔结构保留完好等典型 IRE 病理表现(图 3①②),提示消融有效;实验组有效消融面积 $(15.2 \pm 3.6) \text{ mm}^2$,小于对照组 $(21.3 \pm 5.2) \text{ mm}^2$ ($P < 0.05$)。有效 IRE 消融切片中,对照组消融电极周围存在不同程度细胞质脱染情况,电极周围区、消融中心区和消融边缘区染色不均一(图 3③);实验组消融中心区、边缘区和电极周围区 HE 染色均匀,同质性好(图 3④)。

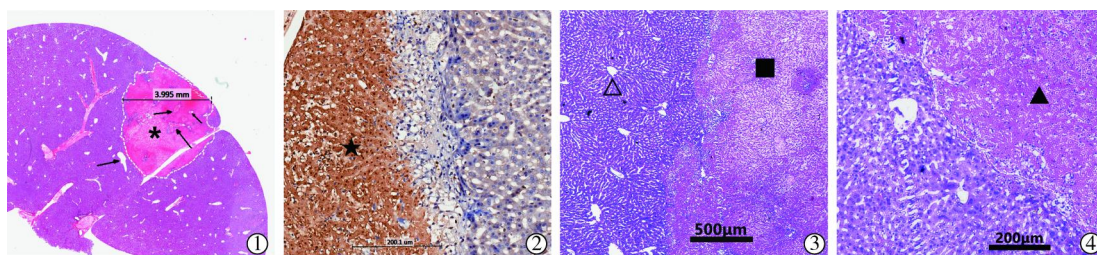
3 讨论

本实验采用热控电极和传统电极对小鼠肝脏进行 IRE 电场消融,并从消融温度、消融效率、消融特点、安全性和有效性等方面探讨两者区别。电极是产生 IRE 脉冲电流回路的终端,电极温度决定 IRE 消融最高温度。目前防止 IRE 热量产生的办法主要有采取电流限制和采用热控电极。本实验由于消融范围较小,电流较低,电流波动较小,不适宜采用电流限制方案。安吉戴尼克公司发明专利一种用于 IRE 的灌注热控电极,通过向电极内主动灌注冷却液方式降低电极温度,是一种主动式热控电极^[8]。它不会延长消融时间,但缺点是电极内径较大、工艺复杂、不适用于小病灶穿刺消融。本研究所用热控电极结构基于温度传感器和温度闭环反馈算法,优点是工艺简单、体积小、成本低廉和便于实现,可在传统电极基础上加装或定制,缺点是当达到设定温度反馈阈值,会增加脉冲间隔时间被动等待组织



①IRE 消融中脉冲电压电流波形;②IRE 消融速率的脉冲-时间曲线;③等电场强度下 IRE 消融的脉冲-温度曲线

图 2 IRE 消融速率和消融温度比较



①宏观扫描 HE 染色示 IRE 消融范围(*),消融边界清晰(---),消融区及周边血管结构(↑)保留完好;②TUNEL 染色示 IRE 消融区肝细胞凋亡(★);③对照组未消融区正常肝组织可见肝小叶结构(Δ),消融区 HE 染色 细胞质存在脱染现象(■);④实验组消融区 HE 染色均匀(▲),消融边界呈细胞级过渡(---)

图 3 IRE 消融小鼠肝组织病理学表现

降温。结合本研究结果,实验组脉冲数-时间曲线出现折点,提示热控电极触发温度反馈,脉冲延迟发放,消融时间高于对照组,这表明消融速率较传统电极低;对照组传统电极因缺少温度控制,脉冲-温度曲线显示温度随脉冲个数增加逐步上升,而热控电极均能正常触发温度反馈,将电极温度限制在温度阈值附近,消融后温度上升幅度显著低于对照组。

相比于小鼠肝癌皮下移植瘤模型^[9]和开腹模型^[10]IRE 实验,经皮肝穿刺原位 IRE 消融肝脏能够反映电脉冲对靶器官和邻近结构的 IRE 效应和对全身安全的影响,也可排除因造瘤异质性影响两组电极的可比性;影像导引可提高靶区穿刺成功率,使电场不会波及非目标区域^[11];同时得益于计算机仿真,能够对电压、电极间距和电场范围参数进行规划^[6],保证电场最低有效范围情况下把高压电势及其热量对小鼠的威胁降到最低。本实验结果显示,术后所有小鼠未出现穿刺相关并发症,术后小鼠体能恢复良好,无死亡;说明本方法安全、微创、简便,便于高通量研究。

IRE 消融不同于热消融引起的即刻性热凝固性坏死,主要引起细胞凋亡且具有滞后性,因此评估其病理学变化一般需要在脉冲电场施加后 24 h 左右或之后进行^[12]。本实验病理学结果发现,两组消融有效性差异无统计学意义,消融区均能观察到典型的 IRE 病理学变化,但实验组有效消融面积低于对照组。这个结果与 Fesmire 等^[5]报道的体外研究结果一致,说明高压脉冲电场产生过程中的热量介导了 IRE 的增强效应。Ruarus 等^[13]指出这种现象可能与温度上升引起的组织电导率上升有关。结合本实验结果,对照组电极温度最高接近 60℃,电极周围消融区均存在细胞质脱染现象,染色不如实验组均一。推测这种脱染现象是细胞穿孔后细胞内蛋白等物质失去了细胞膜的隔热作用,部分未及时散失的热量进入细胞内部,引起细胞内水分丢失和细胞质

变性皱缩、脆硬脱落的缘故。本研究中热控电极的消融效率(消融速率和消融范围)不及传统电极,正是因为对照组细胞受到电场能量和部分转化的焦耳热量的双重效应,两者具有协同效应,导致消融末期效率增加和热量骤增。然而热控电极能够限制电极最高温度,通过达到阈值后主动延长脉冲间隔避免消融中热量积累,虽然“牺牲”了消融效率,但也避免热量对穿孔后细胞内物质的损伤。今后在 IRE 新设备研究开发、测试阶段及进行 IRE 相关基础实验时,最好能使用热控电极对消融温度进行控制,以便排除热效应干扰,实现纯粹“非热”IRE,这样得出的相关研究数据才更可信。

本研究表明在同等脉冲剂量下,传统电极 IRE 在小鼠肝脏消融过程中比热控电极产生更多热量,热控电极消融效率虽不及传统电极,但能有效控制消融中的热效应,使消融更均一,实现真正意义上的非热消融。如何在多消融参数变量下动态控制 IRE 消融过程热量转化与组织散热间的平衡,使 IRE 消融效率最大化,还有待于更进一步研究。

[参考文献]

- [1] Rubinsky B, Onik G, Mikus P. Irreversible electroporation: a new ablation modality - clinical implications[J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2007, 6: 37-48.
- [2] Scheffer HJ, Nielsen K, de Jong MC, et al. Irreversible electroporation for nonthermal tumor ablation in the clinical setting: a systematic review of safety and efficacy[J]. *J Vasc Interv Radiol*, 2014, 25: 997-1011.
- [3] Sano MB, Fesmire CC, Petrella RA. Electro-thermal therapy algorithms and active internal electrode cooling reduce thermal injury in high frequency pulsed electric field cancer therapies[J]. *Ann Biomed Eng*, 2021, 49: 191-202.
- [4] O'Brien TJ, Bonakdar M, Bhonsle S, et al. Effects of internal electrode cooling on irreversible electroporation using a perfused organ model[J]. *Int J Hyperthermia*, 2018, 35: 44-55.

- [5] Fesmire CC, Petrella RA, Kaufman JD, et al. Irreversible electroporation is a thermally mediated ablation modality for pulses on the order of one microsecond[J]. Bioelectrochemistry, 2020, 135: 107544.
- [6] Agnass P, van Veldhuisen E, van Gemert MJC, et al. Mathematical modeling of the thermal effects of irreversible electroporation for in vitro, in vivo, and clinical use: a systematic review[J]. Int J Hyperthermia, 2020, 37: 486-505.
- [7] Merola G, Fusco R, Di Bernardo E, et al. Design and characterization of a minimally invasive bipolar electrode for electroporation[J]. Biology(Basel), 2020, 9: 303.
- [8] 安吉戴尼克公司. 使用热控电极进行不可逆电穿孔的系统和方法[P]. CN201680034089.0, 2018-05-11.
- [9] 侯思楠, 王卫东, 钟泽龙, 等. 不可逆电穿孔消融术联合 PD-1 抑制剂治疗小鼠肝癌效果初步研究[J]. 介入放射学杂志, 2019, 28: 454-458.
- [10] 塔来提·吐尔干, 张瑞青, 陈新华, 等. 纳秒脉冲消融肝癌对小鼠肝脏区域免疫细胞的影响[J]. 中华肝胆外科杂志, 2019, 25: 771-775.
- [11] Partridge BR, O'Brien TJ, Lorenzo MF, et al. High-frequency irreversible electroporation for treatment of primary liver cancer: a proof-of-principle study in canine hepatocellular carcinoma[J]. J Vasc Interv Radiol, 2020, 31: 482.e4-491.e4.
- [12] Vogel JA, van Veldhuisen E, Alles LK, et al. Time-dependent impact of irreversible electroporation on pathology and ablation size in the porcine liver: a 24-hour experimental study[J]. Technol Cancer Res Treat, 2019, 18: 1533033819876899.
- [13] Ruars AH, Vroomen LGPH, Puijk RS, et al. Conductivity rise during irreversible electroporation: true permeabilization or heat? [J]. Cardiovasc Intervent Radiol, 2018, 41: 1257-1266.

(收稿日期: 2021-03-19)

(本文编辑: 边 倩)

·病例报告 Case report·

儿童孤立性永存左上腔静脉合并完全性房室分离 1 例

罗 刚, 泮思林, 纪志娴, 葛 文, 王葵亮

【关键词】 永存左上腔静脉; 右上腔静脉缺如; 交界性心律; 房室分离; 儿童

中图分类号: R541 文献标志码: D 文章编号: 1008-794X(2022)-01-0066-03

Isolated persistent left superior vena associated with complete atrioventricular dissociation in children: report of one case LUO Gang, PAN Silin, JI Zhixian, GE Wen, WANG Kuilian. Heart Center, Women and Children's Hospital, Qingdao University, Qingdao, Shandong Province 266034, China

Corresponding author: PAN Silin, E-mail: silinpan@126.com (J Intervent Radiol, 2022, 31: 66-68)

【Key words】 persistent left superior vena cava; absent right superior vena cava; junctional rhythm; atrioventricular dissociation; child

永存左上腔静脉(persistent left superior vena cava, PLSVC)是由左前主干静脉退化失败所致, 是上腔静脉最常见的畸形, 也是最常见的先天性胸腔静脉异常, 总患病率为 0.35%~0.5%^[1-3]。PLSVC 伴右上腔静脉缺如(absent right superior vena cava, ARSVC) 是一种非常罕见的静脉畸形, 称为孤立性 PLSVC, 发生率为 0.09%~0.13%^[3]。本文报道 1 例罕见的儿童孤立性 PLSVC, 早期诊断为窄 QRS 波心动过速, 经心脏电

生理检查明确诊断为房室结功能异常, 完全性房室分离伴交界性自主节律、室性心动过速。

1 临床资料

患儿女, 2 岁 11 个月, 2018 年 9 月因“心跳增快”首次于青岛大学附属妇女儿童医院住院治疗。体格检查: 神志清, 面色欠红润, 呼吸急促, 双肺未闻及啰音, 肝脏右侧肋下 2 cm,

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2022.01.013

基金项目: 国家自然科学基金(81770316、81970249)、泰山学者工程资助项目(2018)

作者单位: 266034 山东 青岛大学附属妇女儿童医院心脏中心(罗 刚、泮思林、纪志娴、王葵亮)、影像科(葛 文)

通信作者: 泮思林 E-mail: silinpan@126.com