技术方法

文章编号:1000-5404(2007)19-1916-02

电脉冲在活体兔肝组织中的电场分布研究

凌晓娟[1],熊正爱[1],李成祥[2],姚陈果[2],孙才新[2] ([1]重庆医科大学第二附属医院妇产科,重庆 400010;[2]重庆大学高电压与电工新技术教育部重点实验室,重庆 400044)

提 要:目的 观察电脉冲在活体兔肝组织中的电场分布形态,分析其电场分布的均匀性。**方法** 不同脉冲剂量作用活体兔肝组织后,采用TTC和HE染色法观察脉冲处理后,兔肝形态学和病理学组织改变。**结果** 脉冲作用活体兔肝组织后,引起凝固性坏死,其坏死轮廓与电场分布仿真图基本吻合。**结论** 电场在活体组织中的分布与12针电极电场分布仿真图基本吻合;12针状电极阵列的有效布置方式电场分布比较均匀。

电脉冲疗法是近年发展起来治疗恶性肿瘤的新技术。在治疗过程中,必须知道脉冲电场在生物组织中的电场分布,以使其尽量覆盖肿瘤组织而减少对周围正常组织产生的电击穿作用。我们采用电场仿真和动物实验相结合的方法,用不同剂量的脉冲电场分别处理正常兔肝组织,采用TTC染色和病理切片分析观察电场杀伤覆盖范围,并同理论仿真模型相互验证,多次反复实验,求出脉冲电场在正常兔肝组织的分布,建立组织中脉冲电场分布的数学物理模型,从而避免治疗的盲目性,并分析其电场分布的均匀性,为其应用于临床治疗提供重要的参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

纯种新西兰大白兔20只,雌雄不拘,购于重庆医科大学实验动物中心,平均3.5月龄,体质量(2.05±0.25) kg。

1.2 实验仪器

能量可控陡脉冲治疗样机:由重庆大学电压与电工新技术教育部重点实验室自行设计与研制。脉冲参数为:电压峰值可达1 000 V,脉宽微秒至毫秒,频率0~100 Hz,可以组合不同的脉冲参数(频率、脉宽、场强)的电脉冲。电极针直径为1.0 mm,共12针,电极阵列的布置方式为两排针平行排列,两排针之间距离为7.5 mm,每排由6针组成,针间距为2.5 mm,其中一排针连接阳极,另一排针连接阴极。

1.3 实验方法

静脉麻醉成功后,在剑突下逐层开腹,暴露肝脏;每只兔子分别在中叶和左叶选取3个组织较厚处,并使两叶肝在无张力下展平,插入电极,电极插入深度为1 cm,施加不同脉冲剂量。本次实验选取脉冲剂量为:固定脉宽10 μs、频率20 Hz和脉冲作用时间10 min,改变电压,最小电压峰值50 V,每次电压峰值依次递增50 V,最大电压峰值达1 000 V。每一脉冲剂量重复3次。脉冲处理结束后,逐层关腹。

1.4 实验取材

72 h后取出脉冲作用的兔肝组织[1],围绕两排电极处取肝标本,将取出的肝组织放入1%的TTC溶液中,在37 ℃温育10~15 min,用PBS液洗去多余的染液,描绘不着色区形态;然后将取出的肝组织放入10%甲醛固定,石蜡包埋,距进针处肝表面3 mm平行横切面处作5 μm厚切片,HE染色后,观察组织的坏死情况并描绘坏死轮廓。

1.5 三维电场仿真图

12针电极电场仿真图电场强度分布显示:对于同一电压,产生的电场强度最大值出现在电极附近,电极包围范围内其余部分电场强度相对较小,但比较均匀。对于不同电压,电极附近电场强度随着电压的增加而增加。12针电场仿真图形态显示:整个电场分布呈长方形。

2 结果

2.1 实验操作过程中的现象

脉冲作用过程中阳极针附近的肝脏组织变苍白,阴极针附近的肝脏组织变褐色且有淡红色泡沫样液体自电极处溢出;脉冲作用约5 min后,两排电极包围的整个肝组织有苍白缺血现象,形态比较规则。

2.2 TTC染色结果

TTC溶液染色后结果显示:电压50~350 V时,脉冲作用后阴阳极无着色;当电压为400~750 V时,脉冲作用后阴阳极附近出现无着色区,该区呈现为以电极为中心的圆形或椭圆形形态;当电压为800~1 000 V时,整个电极包围范围形成均匀的无着色区,且该区形态与长方形相似。无着色区面积总体表现为随着电压的增加而增加。

2.3 光镜观察

结果证实了TTC染色无着色区为凝固性坏死,着色区为正常组织。且坏死区的肝组织结构不清,几乎所有的肝细胞都已坏死崩解及消失,坏死灶及其周围可见有炎细胞浸润。

2.4 坏死区轮廓分布与三维电场仿真图的关系

实验描绘坏死大致轮廓显示(图1):电压在400~750 V时,坏死区分布在电极附近,且坏死面积随着电压的增加而增

基金项目:国家自然科学基金(50407007)
Supported by the National Natural Science Foundation of China(50407007)
作者简介:凌晓娟(1976-),女,陕西省临潼县人,硕士,医师,主要从事肿瘤治疗方面的研究。电话:13212352335
通讯作者:熊正爱,电话:(023)63693497
收稿日期:2006-09-11;修回日期:2006-11-10

加；当电压在 800 V 以上时，坏死区分布整个电极包围范围内，且其轮廓分布与电场分布仿真图（图 2）基本吻合。

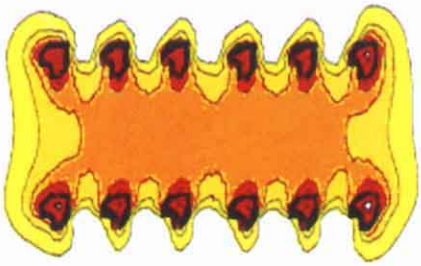


图 1　坏死轮廓图

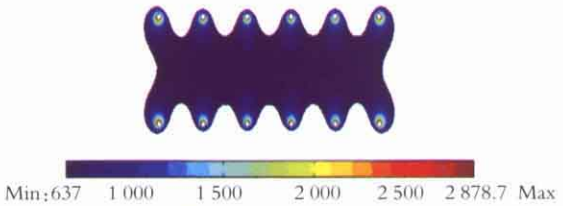


图 2　电场分布仿真图

3　讨论

电脉冲疗法是通过外加电场，诱导细胞跨膜电压增加，引起细胞发生可逆性或不可逆性电穿孔的物理过程。我们在有关电脉冲疗法的前期实验中已证实单一电脉冲对培养细胞、离体及在体肿瘤有确切杀伤作用，并初步探讨了电脉冲的治疗机制[2,3]。

实验结果显示，脉冲作用约 5 min 后，电极包围的整个肝组织有苍白缺血现象，阴极附近的肝脏组织变褐色且有淡红色泡沫样液体自电极处溢出。可能原因为血管受到外在的电脉冲刺激后，引起血管平滑肌细胞的收缩，导致脉管缩小，血运减少；血管内皮细胞受损，管腔内血栓形成，小动脉持续性收缩甚至闭塞；阴极区肝组织发生间质水肿反应，大量液体集聚。此实验现象与 Sersa 等[4] 的实验结果类似。

12 针电场分布仿真图显示：对于同一电压，产生的电场强度最大值出现在电极附近，电极包围范围内其余部分场强相对较小，但比较均匀。实验结果表明：脉冲作用后肝组织坏死面积随着电压的增加而增加，描绘其坏死轮廓与 12 针电场仿真图基本吻合。电压达到 800 V时，电极包围范围内的肝组织均匀坏死。说明当电压增加到 800 V 时，电极包围范围内的电场场强均达到了不可逆性电击穿阈值。故可以推测 12 针状电极阵列的有效布置方式，其电场尽可能为均匀分布。

上述诸多证据表明：电场在活体组织中的分布与 12 针电极电场分布仿真图基本吻合；12 针状电极阵列的有效布置方式使电场分布比较均匀。我们在实验中将组织中的电场分布和理论电场分布仿真图相互结合，相互校验，以求控制实际使用时的电场杀伤范围，可以根据肿瘤的大小形态来选择针状电极阵列的有效布置方式，为其应用于临床治疗提供参考。

关键词：电脉冲；不可逆性电击穿；电场分布仿真图

中图法分类号：R454.1　　**文献标识码**：B

参考文献：

[1] Miklavcic D, Semrov D, Mekid H, *et al*. A validated model of *in vivo* electric field distribution in tissues for electrochemotherapy and for DNA electrotransfer for gene therapy[J]. Biochim Biophys Acta, 2000, 1523 (1): 73 - 83.

[2] 孙才新，姚陈果，熊　兰，等. 陡脉冲电场对恶性肿瘤细胞杀伤效应的研究[J]. 生物物理学报，2002，18(4)：474 - 477.

[3] 熊　兰，孙才新，李大强，等. 能量可控陡脉冲杀伤肿瘤的离体试验研究[J]. 生物医学工程学杂志，2002，19(3)：440 - 443.

[4] Sersa G, Krzic M, Sentjurc M, *et al*. Reduced blood flow and oxygenation in SA-1 tumours after electrochemotherapy with cisplatin[J]. Br J Cancer, 2002, 87(9): 1047 - 1054.

（编辑　陈聪连）

欢迎订阅 2008 年《护理学报》

《护理学报》是南方医科大学（原第一军医大学）主办的护理专业核心期刊，是我国唯一的护理学报。月刊，大 16 开，96 页，每月 20 日出版，国内外公开发行。本刊办刊特色鲜明，标准化、规范化程度高；文章选题新颖，内容实用性、科学性、学术导向性强。本刊为中国科技论文统计源期刊（中国科技核心期刊）、《CAJ-CD 规范》执行优秀期刊、全军优秀医学期刊。本刊“以质量求生存，以服务铸品牌”的经营理念已赢得广大护理界朋友的赞誉和喜爱。本刊栏目：专家论坛、论著、综述、研究生园地、专科护士园地、循证护理、调查研究、护理教育、临床护理、护理管理、国外护理研究、药械护理、心理卫生、社区护理、健康教育、护理创新、中医护理、学术争鸣、经验荟萃等。

本刊于 2007 年正式开通了《护理学报》网站（http://www.hlxb.com.cn），功能日趋完善，使用更加方便，拥有网上投稿、审稿进度查询、过刊全文检索、本刊最新信息发布等强大功能，在形式、功能上与《护理学报》印刷本互补、互助，是本刊读、作者的亲密伙伴。订阅本刊并参加学习者可获 I 类继续教育学分。欢迎订阅，欢迎垂询。本刊定价：7 元/本，84 元/年（已含邮资）。订购：全国各地邮局，或随时汇款至编辑部邮购。CN 44 - 1631/R，ISSN 1008 - 9969，邮发代号：46 - 200

地址：广州市广州大道北 1838 号 护理学报编辑部　　邮编：510515

电话：(020)61641193；(020)87280550（传真）　　E-mail：nflhlxb@fimmu.com