文章编号:1000-5404(2009)23-2327-03

论著

超声空化致犬前列腺损伤的形态学观察

李 婕,刘 政,张 婵,方针强,赵 洋,周仁杰,叶 钢 (第三军医大学新桥医院超声科,重庆 400037)

摘 要:目的 探讨微泡激励的超声空化效应对正常犬前列腺组织的损伤作用。**方法** 15只健康成年雄性犬随机分为超声微泡组、单纯超声组和微泡假照组。在开腹情况下,联合经静脉推注微泡0.1 ml/kg和脉冲式超声辐照前列腺10 min,治疗后获取前列腺组织,进行大体、光镜和电镜检查。**结果** 超声微泡组,光镜见前列腺细胞间隙可见显著的微血管破裂、大量出血和血肿形成;电镜可见细胞器肿胀,桥粒等细胞连接断裂,红细胞露出。**结论** 超声激励的微泡空化效应对犬前列腺有明显的机械损伤作用。

关键词: 前列腺;微泡;超声空化
中图法分类号: R329.24; R454.3; R697.3 **文献标识码:** A

Impact of ultrasound-induced microbubble cavitation on prostate injury in dogs

LI Jie, LIU Zheng, ZHANG Chan, FANG Zhen-qiang, ZHAO Yang, ZHOU Ren-jie, YE Gang (Department of Ultrasonography, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To explore the damage of ultrasound (US)-induced microbubble (MB) cavitation on the prostate in dogs. **Methods** A total of 15 dogs were randomly divided into 3 groups, US + MB group, simple US group and MB group. After abdominal opening to expose the prostates, the dogs of US + MB group received an intravenous injection of self-made MB 0.1 ml/kg and a pulsed focused ultrasound radiation for 10 min at the same time. The animals of simple US group were given normal saline injection and the radiation, while those of the MB group were injected with MB at the same dose but no ultrasound radiation. The prostates was removed immediately after radiation for gloss observation, light and electron microscopy. **Results** Microvessle rupture, hemorrhage and hematoma in the prostate were found in the US + MB group. And swollen organelles, broken intercellular bridge and infiltrated erythrocyte were observed too. **Conclusion** Ultrasound-induced MB cavitation causes obvious mechanical damage in the prostate tissue of dogs.

Key words: prostate; microbubble; ultrasound cavitation

微创物理治疗是近年来治疗前列腺增生症(benign prostate hyperplasia, BPH)的主要发展方向,目前临床应用和研究较多的有经尿道前列腺电切和各种热消融。然而,各种经尿道前列腺微创治疗均不可避免地破坏尿道前列腺部,具有一定创伤性,并存在诸如坏死组织阻塞尿道发生急性尿潴留、出血、尿失禁、感染等并发症[1-3]。因此,探索一种新的有效又非创伤性的BPH治疗方法十分必要。超声空化效应是热效应之外超声另一主要的生物学效应[4],主要表现为冲击波、微射流等机械性损伤效应,可以造成细胞膜通透性增高(声孔效应),严重时发生微血管破裂出血、瘀斑形成等[5-6]。本研究建立在课题组超声空化研究基础上[6],希望通过用超声激励的微泡空化效应,机械性损伤犬前列腺组织,探讨空化效应损伤前列腺组织的病理机制,从而进一步理解空化造成的损伤作用。为超声空化非创伤性治疗前列腺增生进行基础性研究。

基金项目: 国家自然科学基金(30972828);重庆市科技攻关项目(CSTC2008AC0002)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30972828) and the Tackling Program of Sci & Tech Research of Chongqing (CSTC 2008AC0002)

作者简介: 李 婕,女,山东省东营市人,满族,硕士研究生,医师,主要从事微泡激励超声空化对前列腺的损伤方面的研究。E-mail: wkseek@sohu.com
通信作者: 刘 政,E-mail: liuzhengs@hotmail.com

收稿日期: 2009-10-22;**修回日期:** 2009-10-31

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 健康雄性犬15只,犬龄3年以上,体质量15 kg左右(新桥医院实验动物中心提供)。随机分为单纯超声组(3只)、微泡假照组(3只)、超声微泡组(9只)。

1.1.2 超声治疗仪 自行研制,脉冲式聚焦能量发射,治疗

头频率 1.2 MHz,峰值负压为 4.6 MPa,发射占空比为 0.37%,平均声强 0.66 W/cm^2。

1.1.3 脂氟显脂质微泡 实验室自行研制,外观为乳白色凝乳状微泡悬浮液,核心气体为全氟丙烷,微泡浓度约为 7 × 10^9/ml,98% 粒径小于 8 μm,平均粒径 2 μm;3% 戊巴比妥钠:国药集团化学试剂有限公司

1.2 实验方法

1.2.1 超声空化治疗过程 用 3% 戊巴比妥钠腹腔注射将狗麻醉,剂量 1 ml/kg,建立静脉通道,下腹部剖腹探查,充分暴露前列腺;静脉缓慢推注 MB(约 6 min),剂量 0.1 ml/kg,同时脉冲式聚焦超声直接照射前列腺 10 min。治疗结束后手术获取前列腺。

1.2.2 病理学检查 对前列腺大体标本进行连续大体切片,厚度 4 mm,肉眼描述外观和剖面。获取的犬前列腺组织,在福尔马林液固定 24 h 后,进行常规病理切片,HE 染色,光镜下观察组织病理学改变。各组实验所取前列腺组织修切成大小约 1 mm^3 的小块,标本在 2.5% 戊二醛溶液中固定后,以 1% 四氧化锇后固定,制成超薄切片,用透射电镜观察前列腺组织中微血管壁的超微结构改变。

2 结果

2.1 大体观察

15 只实验犬全部完成实验过程,在实验中未发生死亡。大体可见单纯超声组、微泡假照组前列腺表面及肌层均色泽正常,未见明显的血肿形成,单纯超声组有 1 例可见表面及肌层散在出血点;超声微泡组可见辐照区前列腺表面及肌层内出现大片斑片状或条索状黑色出血血肿带(图 1A)。

2.2 光镜检查

单纯超声和微泡假照两对照组可见前列腺腺上皮呈假复层,部分呈乳头状,细胞排列紧密,细胞核位于基底部。腺腔内见少量淀粉样小体,间质及结缔组织内未见明显红细胞漏出。超声微泡组可见部分腺体扩张,腺体上皮细胞排列紊乱,细胞间结构松散,腺腔内淀粉样小体增加,间质及结缔组织内有充满视野的大量红细胞漏出,血管壁破裂,血肿形成(图 1B)。

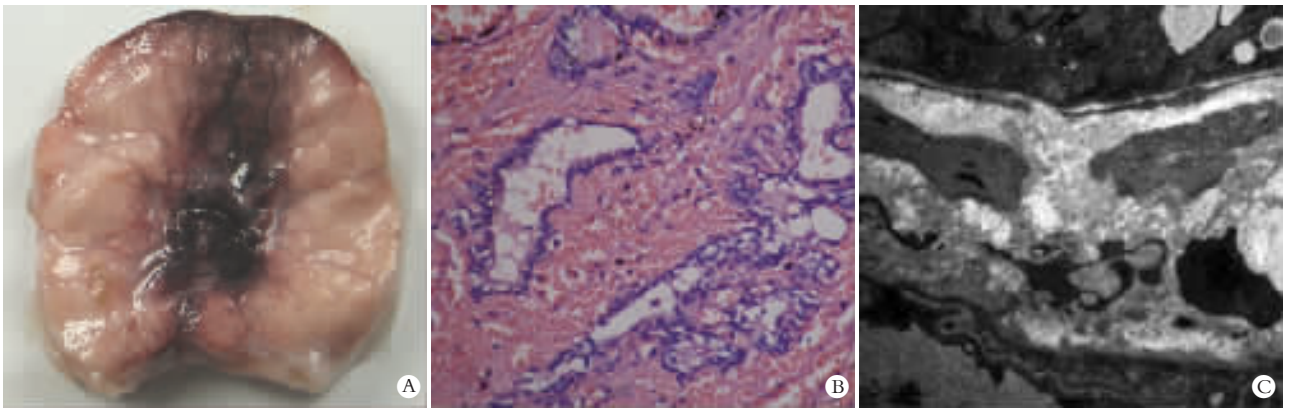
2.3 电镜检查

单纯微泡组及微泡假照组的前列腺组织在透射电镜下可观察到微血管内皮细胞排列整齐,线粒体肿胀、皱折减少提示腺体细胞功能较为活跃,腺体细胞间的连接紧密,紧密连接形态正常。超声微泡组则见大量的腺体细胞崩解、腺腔塌陷,内皮细胞数目增多、线粒体肿胀、桥粒等细胞连接断裂(图 1C)可见红细胞漏出,结缔组织内可见大量红细胞。

3 讨论

BPH 是老年男性的常见病、多发病,50 岁时男性发病率超过 50%,80 岁时可达到 90%。BPH 所引起的排尿困难严重影响了患者的生活质量,最终导致膀胱及肾功能的损害。目前临床应用和研究较多的有经尿道前列腺电切和各种热消融,不仅具有一定创伤性,而且易发生急性尿潴留、出血、尿失禁、感染等并发症[1-3]。因此,探索新的非创伤性的治疗方法非常必要。

超声空化效应(cavitation)是指液体中微气泡在超声作用下产生震荡、膨胀、收缩以及内爆等一系列动力学过程,伴随瞬态高温、高压、冲击波、放电和微射流等多种能量释放行为,是热效应之外另一超声主要的物理效应。超声空化发生在组织声学界面时,伴随的微射流、冲击波等物理机械效应可以导致组织界面损伤,细胞膜通透性增高(声孔效应),严重时发生细胞膜破裂、细胞溶解、核碎裂等[4]。如果空化呈脉冲式而非连续式发生,则热效应微小,可以忽略。使用经静脉注射超声造影剂微泡,微泡可作为诱导空化发生的空化核,使组织空化损伤主要发生在血管壁,故该方法是一种新型的经血管腔的物理消融方法。使用微泡激励的聚焦超声空化损伤前列腺组织内的血管或消融组织可能是一种新的、潜在的前列腺增生治疗方法。既往美国 Hwang 等[7],在联合经静脉注射微泡情况下,用峰值负压 6.5 MPa 脉冲式聚焦超声空化严重损伤兔耳缘静脉。本课题组李秋颖等[6,8]采用脉冲式聚焦超声激发微泡空化,成功导致了兔肠系膜微血管壁机械性破



A:实验犬前列腺大体组织;B:光镜检查结果(HE × 100);C:细胞病理超微结构(EM × 6200)

图 1 犬前列腺超声空化消融后病理检查结果

裂,内皮脱落和血栓血肿形成,实现了超声空化对单个微血管的栓塞阻断。

前列腺增生整体血管较丰富,尤其是增生显著的内腺组织血流丰富,为超声空化治疗提供了有利条件,因为超声空化从根本上分析,是一种组织微血管的物理破坏消融方法。本实验中,前列腺空化治疗产生的重要生物学效应是组织机械性损伤。首先,在大体上可以观察到犬前列腺超声照射靶区局部严重的空化损伤,主要表现为出血和血肿,呈不规则黑色片状分布,通过超声聚焦方式可以实现控制损伤范围呈点状、或者片状。

大体观察的出血情况在光镜检查中得到证实,超声微泡组治疗后前列腺微血管壁破裂出血,管腔内血栓形成,组织间隙大量红细胞漏出形成血肿,并可见组织呈灶性坏死,而尿道切面形态和上皮却基本保持正常形态,无物理形态改变。单纯超声组、微泡假照组则无明显异常。电镜观察到超声微泡组则见大量的腺体细胞崩解、腺腔塌陷,内皮细胞数目增多、线粒体肿胀、桥粒等细胞连接断裂,可见红细胞漏出,结缔组织内可见大量红细胞。

基于此,我们认为,这是因为超声空化对前列腺微小血管壁的损伤作用主要是一种机械性损伤,与超声空化的机械效应一致,也与本课题组在肠系膜空化损伤实验中的结果一致。由于前列腺微血管损伤后导致出血、血肿和血栓形成,可能进一步可能造成前列腺组织缺血坏死、腺体萎缩,从而达到治疗前列腺增生的目的。

参考文献:

[1] Yu X, Elliott S P, Wilt T J, *et al*. Practice patterns in benign prostatic hyperplasia surgical therapy: the dramatic increase in minimally invasive technologies[J]. J Urol, 2008, 180(1): 241 - 245.

[2] 俞　斌, 王　忠. 良性前列腺增生微创治疗进展[J]. 中华男科学杂志, 2007, 13(8): 739 - 743.

[3] d'Ancona F C. Nonablative minimally invasive thermal therapies in the treatment of symptomatic benign prostatic hyperplasia[J]. Curr Opin Urol, 2008, 18(1):21 - 27.

[4] 冯　若. 超声空化与超声医学[J]. 中华超声影像学杂志,2004,13(1):63 - 65.

[5] 刘德英, 刘　政, 李秋颖, 等. 超声造影显像模式对实验兔心肌血管通透性的影响[J]. 临床超声医学杂志, 2006, 8(10): 577 - 580.

[6] 李秋颖,刘　政,刘德英,等. 微泡联合纤维蛋白原诱导超声栓塞肠系膜微血管的实验研究[J]. 临床超声医学杂志,2006, 8(8): 449 - 451.

[7] Hwang J H, Brayman A A, Reidy M A, *et al*. Vascular effects induced by combined 1 - MHz ultrasound and microbubble contrast agent treatments *in vivo*[J]. Ultrasound Med Biol, 2005, 31(4): 553 - 564.

[8] 李秋颖,刘　政,李佩谅,等. 微泡介导下脉冲式聚焦超声空化导致血管损伤的实验研究[J]. 中国超声医学杂志,2008,24(4):297 - 299.

(编辑　邓强庭)

(上接 2326 页)

表 1　4 组患儿检出过敏原种类[例数(%)]

组别	n	未检出	1 种阳性	2 种阳性	3 种阳性	≥3 种阳性
间歇发作组	46	10(21.7)	21(45.7)	9(19.6)	6(13.0)	0
轻度组	68	9(13.2)	13(19.1)[a]	17(25.0)[a]	18(26.5)[a]	11(16.2)
中度组	19	2(10.5)	1(5.3)[ab]	3(15.8)[ab]	5(26.3)[ab]	8(42.1)
重度组	9	0	0	0	2(22.2)	7(77.8)
合计	142	21(14.8)	35(24.6)	29(20.4)	31(21.8)	26(18.3)

a: $P<0.01$,与间歇发作组比较;b: $P<0.05$,与轻度组比较

3　讨论

小儿支气管哮喘与慢性气道炎症以及过敏性素质密切相关。大多数哮喘属于过敏性哮喘,是由总 IgE 介导的Ⅰ型变态反应。小儿哮喘患者血清总 IgE 的检测可以作为观察哮喘的指标之一[2]。本组研究中,重度组血清总 IgE 水平明显高于中度组,中度组明显高于轻度组,轻度组明显高于间歇发作组,以上差异均有显著性。表明哮喘患儿的严重程度与血清总 IgE 水平呈正相关。故对哮喘患儿测定血清总 IgE 定量水平,有助于对病情严重程度的判定,从而对急性发作期临床治疗疗程、缓解期预防性用药疗程进行指导。

支气管哮喘患儿气道存在对各种触发因素的高反应性,而过敏原广泛存在于周围环境中,在哮喘的形成和发作中,过敏原具有关键的触发作用[3]。本组 142 例哮喘患儿中,过敏原特异性 IgE 检出率达 85.2%,提示大多数患儿具有特应性体质。2 种或 2 种以上过敏原特异性总 IgE 阳性者,占哮喘总数的 65.5%,与国内相关报道一致[4]。提示哮喘的发病乃多种过敏原混合所致。对一些病情迁延、控制不理想的病例,要考虑混合致敏的可能性。重度组中全部患儿均为 3 种(占 22.2%)及 3 种以上(占 77.8%)抗原显示特异性 IgE 阳性,高度提示对多种过敏原表现特异性 IgE 阳性者往往病情较重。对此类患儿,除了回避检测阳性的触发因素外,一旦临床出现哮喘症状,要积极抗过敏治疗,并适当延长疗程,防止复发。对部分病例考虑变应原特异性免疫治疗可能有助于改变其特应性疾病进程。

关键词: 哮喘;血清总 IgE;过敏源特异性 IgE

中图法分类号: R725.622.5　　**文献标识码**: B

参考文献:

[1] 向　丽,熊珍谊,任亦欣. 哮喘儿童血清变应原特异性 IgE 分布特征[J]. 首都医科大学学报, 2005, 26(5): 577 - 581.

[2] Lee J H, Haselkorn T, Chipps B E, *et al*. Gender differences in IgE - mediated allergic asthma in the epidemiology and natural history of asthma: Outcomes and Treatment Regimens (TENOR) study[J]. J Asthma, 2006, 43(3): 179 - 184.

[3] 李星军,杜爱萍,张　莉,等. IVT 检测哮喘儿童过敏原的调查分析[J]. 山西医药杂志, 2008, 37(5): 403 - 404.

[4] 王模奎,黄　英,刘恩梅,等. 重庆市 5 969 例儿童哮喘常见变应原皮试临床分析[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(6): 493,502.

(编辑　王小寒)