文章编号:1000-5404(2012)16-1621-05

论著

磁共振引导高强度聚焦超声消融犬肾上腺的可行性研究

唐 颖[1],朱 虑[1],刘映江[2],周莹莹[2],邓昌明[1],刘地川[1],江永红[1],黄 晶[1] (400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院心血管内科[1];401121 重庆,超声医疗国家工程研究中心[2])

[**摘要**] **目的** 探讨磁共振(magnetic resonance imaging,MRI)引导高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound,HIFU)体外消融肾上腺的可行性。**方法** 16只体质量9~13 kg的健康杂种犬,随机分为对照组(n=4)、相对低能量HIFU消融组(声功率200 W组,n=6)、相对高能量HIFU消融组(声功率400 W组,n=6),在MRI引导下消融左侧肾上腺。术后利用MRI增强造影,观察肾上腺消融情况以及周围脏器损伤情况。术后每天动态监测各组血液中皮质醇、醛固酮激素的含量。5 d后处死实验犬,对左侧肾上腺进行大体及病理学观察,评估200、400 W声功率下肾上腺消融面积以及消融比的差异。**结果** HIFU消融术后犬生命体征平稳,MRI增强造影可见消融区域肾上腺信号明显减低,周围脏器组织未见明显信号异常。大体观察可见左侧肾上腺头部和尾部出血、肿胀及部分液化,消融区域皮肤及肾上腺周围脏器均未见明显损伤。病理检查可见消融区域肾上腺出现凝固性坏死灶,与周围组织分界清楚。400 W组消融灶数量要明显多于200 W组的消融灶。200 W组消融灶面积为(1.8±0.3)cm^2,消融比率为(40.3±18.1)%;400 W组消融灶面积为(2.7±0.6)cm^2,消融比率为(60.3±23.3)%,2组间消融面积和消融比率差异有统计学意义(P<0.05)。术后第1天与对照组相比,血液中皮质醇及醛固酮出现一过性升高,第2天开始出现下降趋势,第4~5天趋于稳定。2声功率组激素含量从第3天开始均与对照组存在统计学差异(P<0.05)。**结论** MRI引导HIFU技术可以实现活体动物肾上腺消融,消融范围可控,在肾上腺疾病外科无创治疗方面可能有应用前景。

[**关键词**] 磁共振成像;高强度聚焦超声;肾上腺;消融
[**中图法分类号**] R445.2;R454.3;R586.05 [**文献标志码**] A

Experimental study on MRI-guided high-intensity focused ultrasound ablation of adrenal glands in dogs

Tang Ying[1], Zhu Que[1], Liu Yingjiang[2], Zhou Yingying[2], Deng Changming[1], Liu Dichuan[1], Jiang Yonghong[1], Huang Jing[1] ([1]Department of Cardiology, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010; [2]National Engineering Research Center of Ultrasound Medicine, Chongqing, 401121, China)

[**Abstract**] **Objective** To evaluate the feasibility of extracorporeal ablation of adrenal glands by magnetic resonance imaging (MRI)-guided high-intensity focused ultrasound (HIFU). **Methods** Sixteen healthy mongrel dogs weighing 9 – 13 kg were randomly divided into a control group, a low-dose HIFU ablation group (acoustic power 200 W) and a high-dose HIFU ablation group (acoustic power 400 W), respectively. All the dogs underwent MRI-guided extracorporeal HIFU ablation of their left adrenal glands. After the ablation, enhanced MRI was used to evaluate the damage to the adrenal glands and adjacent organs and tissues. The levels of aldosterone and cortisol were monitored every day. All the dogs were sacrificed after 5 d, and the destruction of the left adrenal glands and adjacent organs and tissues were observed. The ablation of the adrenal glands was assessed by hematoxylin and eosin (HE) staining. The difference of the ablation ratio between the low-dose HIFU ablation group and the high-dose HIFU ablation group was evaluated. **Results** After ablation, the vital signs of all the dogs were stable. Enhanced MRI showed a significant signal decrease in the ablation regions of the adrenal glands and no obvious abnormal signal in adjacent organs and tissues. The ablation lesions in the head and tail of the left adrenal glands could be seen clearly. HE staining showed the ablation lesions of adrenal

[**通信作者**] 黄 晶,电话:(023)63693083,E-mail: huangjing-9901@yahoo.com.cn

glands had pathological necrosis and a clear demarcation to the surrounding tissues. The number of the ablation lesions of the high-dose HIFU ablation group was significantly greater than that of the low-dose HIFU ablation group. The average ablation area of the low-dose HIFU ablation group was 1.8 ± 0.3 cm^2 with an average ablation ratio of $(40.3 \pm 18.1)\%$. The average ablation area of the high-dose HIFU ablation group was 2.7 ± 0.6 cm^2 with an average ablation ratio of $(60.3 \pm 23.3)\%$. The ablation area and ablation ratio of the high-dose HIFU ablation group were significantly higher than those of the low-dose HIFU ablation group ($P<0.05$). Compared with the control group, the levels of aldosterone and cortisol of the low-dose HIFU ablation group and the high-dose HIFU ablation group both showed transient increases at the first day, and then a decrease trend from the second day. From the third day, they both tended to be stable but were still lower than those of the control group ($P<0.05$). **Conclusion** MRI-guided HIFU is a safe and effective method to achieve controllable ablation of adrenal glands, and HIFU may have potential application in minimally invasive treatment of adrenal diseases.

[**Key words**] MRI; high intensity focused ultrasound; adrenal gland; ablation

Corresponding author: Huang Jing, Tel: 86-23-63693083, E-mail: huangjing-9901@yahoo.com.cn

高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound,HIFU)是一种利用生物组织的声吸收特性,将超声束聚焦于靶组织内部引起热消融的治疗技术[1]。目前HIFU在肿瘤治疗领域发挥着重要作用,已被广泛运用于前列腺癌、子宫肌瘤、肝癌等疾病的治疗[2-4]。肾上腺疾病如肾上腺增生及肿瘤,在临床中比较常见,但由于创伤和手术禁忌症等限制,部分患者无法得到及时有效的手术治疗。HIFU技术因其靶器官定位准确,治疗效果明确,为临床肾上腺疾病的无创治疗带来了新希望。然而由于肾上腺体积较小,毗邻关系复杂,目前尚少见HIFU用于治疗肾上腺疾病的相关报道。在HIFU消融过程中,影像学监控引导是一个重要环节。磁共振(magnetic resonance imaging,MRI)因其具有软组织分辨率高,能及时评价治疗效果,无电磁辐射等优点,已受到越来越多的重视。本研究运用联合MRI和HIFU(MRIgHIFU)的新型治疗系统消融犬左侧肾上腺,探讨HIFU技术消融肾上腺的可行性,为肾上腺功能亢进、肾上腺腺瘤、肾上腺癌等疾病的无创治疗探索新方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 健康1岁杂种犬16只(重庆医科大学实验动物中心提供),雌雄不拘,体质量9~13 kg。随机分为:对照组(未消融,$n=4$),相对低能量HIFU消融组(声功率200 W消融,200 W组,$n=6$)、相对高能量HIFU消融组(声功率400 W消融,400 W组,$n=6$)。

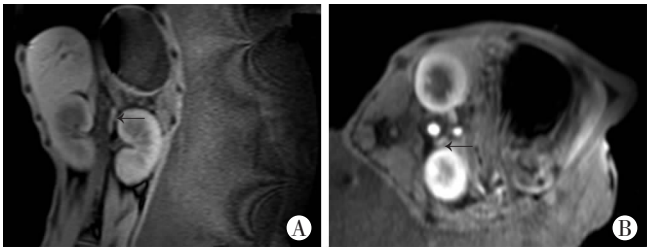
1.1.2 仪器 本实验采用的MRIgHIFU系统为JM型高强度聚焦超声系统(由重庆海扶技术有限公司研制),该系统整合了SIEMENS 1.5-T Symphony A Tim System型磁共振扫描仪。整个治疗平台主要由超声治疗探头(频率1.0 MHz,焦距180 mm,直径180 mm)、治疗探头运动装置(调整焦域在靶组织中的位置,控制治疗头的运动速度)及介质水处理系统(水囊内装有循环脱气水,含氧量小于4 μl/L)构成,同时配备有专门的线圈。焦域为椭球形(长轴8 mm,短轴3 mm)。

1.1.3 实验药品 芬太尼、维库溴铵、钆特酸葡胺注射液、地西泮、戊巴比妥钠、硫化钠,均由重庆医科大学医学超声工程研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 实验前动物准备 犬严格禁食24 h后予以3%的戊巴比妥钠(30 mg/kg)腹腔麻醉,气管插管。以10%硫化钠脱去消融区域毛发,并以75%酒精于治疗靶区脱脂和负压吸引器(0.01 kPa)脱气,保持良好的声窗有利于声束到达治疗靶点。

1.2.2 MRI成像 犬左侧卧位于JM型高强度聚焦超声系统的治疗床上,调整犬体位使其左侧肾区与超声束耦合良好,线圈置于右侧腹部肾上腺所在位置。静脉推注芬太尼2 ml、维库溴铵(40 μg/kg),成像过程中暂停人工通气。然后将治疗床送入磁共振系统内,先扫描1组TSE序列T1矢状位序列图像,从中找出肾上腺位置(图1A)。根据矢状位图像确定肾上腺范围再扫描1组TSE序列T1横断位图像,层厚3 mm,从中找出肾上腺所在的各个层面。静脉推注造影剂后行肾上腺横断位增强扫描,观察肾上腺的形态和位置(图1B)。



A:矢状位扫描图像;B:横断位扫描图像;↑:肾上腺

图1 犬肾上腺MRI扫描图像

1.2.3 HIFU 消融　根据肾上腺横断位的 MRI 图像,将 HIFU治疗焦点移至肾上腺所在位置行点消融。每消融 1 个靶层面均需再次成像后行下 1 个层面的消融,从而确保消融靶点的准确性。200 W 组声功率设为 200 W,400 W 组声功率设为 400 W,两组其余辐照参数设置相同:辐照时间 2 s,定点辐照,每个点连续辐照 2 次,间隔时间 2 s,点与点的间距为 1 mm。待各层面消融完后,静脉注射造影剂再次成像,对比消融前后肾上腺及其周围脏器组织信号强度。治疗期间密切观察犬的生命体征及是否有体位移动,犬恢复自主呼吸后继续喂养 5 d 至观察终点。

1.2.4 观察项目　观察 HIFU 消融后实验犬的饮水、进食和活动等一般情况。抽血检验各组犬消融前以及消融后 1 ~ 5 d 的血液皮质醇、醛固酮激素含量。于术后 5 d(观察终点)以 3% 戊巴比妥钠腹腔麻醉实验犬,经静脉推注 10% 的 KCl 处死。观察肾上腺及其周围脏器(脾脏、肾脏上极、肠管以及消融区域皮肤)的损伤情况。测量肾上腺消融损伤区的最大剖面长径和宽径。采用椭圆形面积公式:$S = 1/4\pi ab$(a:长径,b:宽径),计算最大损伤面积,进而计算消融区域面积占肾上腺的表面积百分比,即为消融比率。最后将消融肾上腺以 4% 的多聚甲醛固定,石蜡包埋行 HE 染色,在光学显微镜下观察组织的毁损情况。

1.3 统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 18.0 统计软件,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析。

2 结果

2.1 动物一般情况

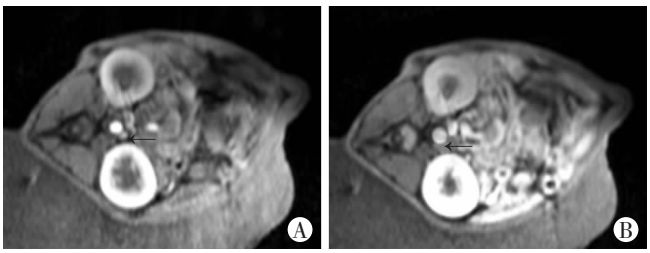
HIFU 消融术中各组犬生命体征平稳,未见明显不良反应。术后 1 ~ 5 d 通过饲养观察发现各组犬饮食、大小便未见明显异常,生命体征平稳。术后 5 d 取材,各组肾上腺邻近脏器如肾脏、脾脏及肠管未见损伤。

2.2 MRI 影像特征及 HIFU 消融后的变化

静脉注射造影剂成像,对照组在 T1 加权像上为信号均匀增高的正常肾上腺增强造影表现,信号强度类似肾脏皮质或是肝脏的信号强度,边界清楚(图 2A)。消融后静脉注射造影剂成像,可见 200 W、400 W 2 组犬肾上腺信号强度较对照组明显减弱,且肾上腺边界模糊呈絮状改变(图 2B)。对比观察消融前后左侧肾上腺周围脏器损伤情况,200 W、400 W 2 组犬在 T1 增强加权像上均未出现异常信号改变。

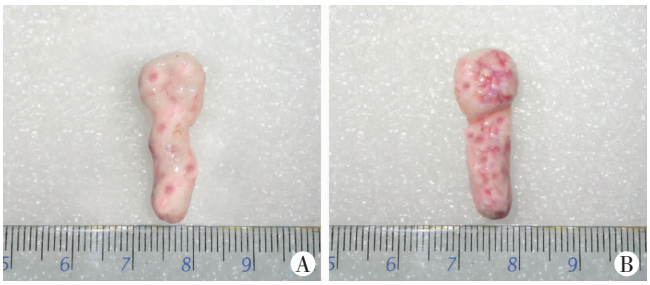
2.3 肾上腺消融情况

200 W、400 W 2 组犬均成功实现了肾上腺的消融,头部和尾部可见明显消融灶。其中 400 W 组的消融灶数量要明显多于 200 W 组的消融灶(图 3)。200 W 组消融灶面积为(1.8 ± 0.3) cm^2,消融比率为(40.3 ± 18.1)%;400 W 组消融灶面积为(2.7 ± 0.6) cm^2,消融比率为(60.3 ± 23.3)%,2 组间消融面积和消融比率有统计学差异($P < 0.05$)。



A:对照组;B:400 W 消融组;↑:肾上腺

图 2　消融前后犬肾上腺 MRI 增强造影表现



A:200 W 组;B:400 W 组

图 3　2 组犬消融后沿肾上腺大体标本

2.4 消融后组织病理学变化

HE 染色见消融灶与正常组织分界清楚,消融灶为嗜红染区,周围有炎症细胞浸润,其内可见红细胞。红染区内细胞质均质红染,部分呈空泡样变性,核固缩,部分可见核碎裂、溶解(图 4)。

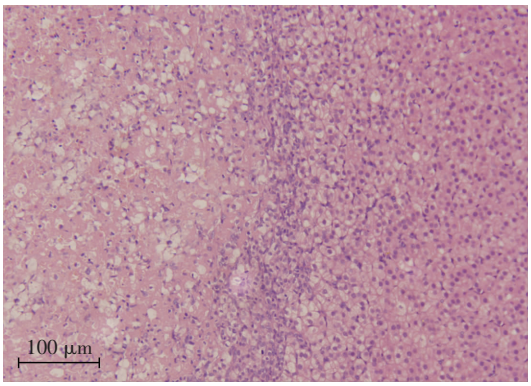
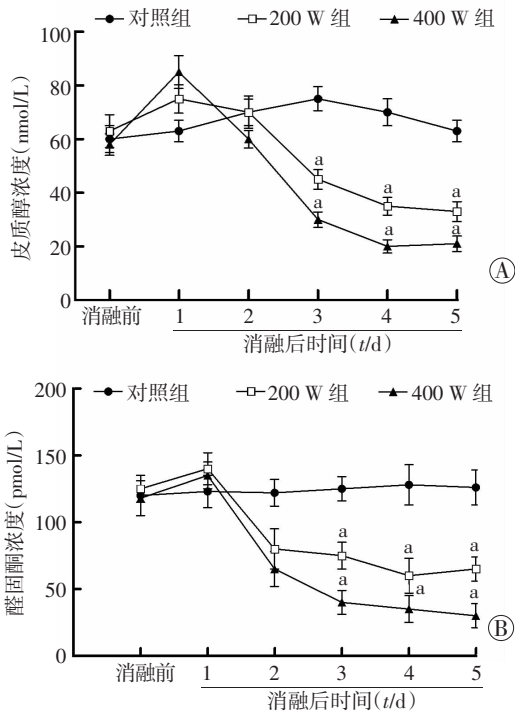


图 4　HE 染色观察 400 W 组犬肾上腺消融后组织病理学变化

2.5 3 组犬皮质醇、醛固酮消融前后变化情况

和对照组相比,200 W 组和 400 W 组犬在 HIFU 消融术后第 1 天皮质醇以及醛固酮激素含量轻微增高,但差异不显著($P > 0.05$)。第 2 天开始出现下降趋势,第 4 ~ 5 天趋于稳定。200 W、400 W 2 组激素含量从第 3 天开始显著低于对照组($P < 0.05$)。见图 5。



a: $P<0.05$,与对照组比较

A:血液皮质醇浓度变化;B:血液醛固酮浓度变化

图5 3组犬 HIFU 消融肾上腺前后皮质醇及醛固酮血液浓度变化

3 讨论

随着无创、微创治疗模式在临床治疗中越来越受重视,肾上腺疾病外科治疗除肾上腺切除以及部分肾上腺栓塞术等治疗方法外,临床医师还进行了一些新的治疗尝试,例如化学物质消融肾上腺(经皮肾上腺内注射醋酸、乙醇等)和物理高温消融肾上腺(射频、微波等)等方法[5-7]。HIFU 治疗技术是利用超声波良好的组织穿透性、可聚焦性和方向性等物理特征,利用影像学方法实时定位和监控,将超声波聚焦在体内靶组织,通过瞬间热效应以及空化效应等,使靶区组织发生凝固性坏死而发挥治疗作用[8]。相对于上面提到的微创治疗技术,MRI 引导 HIFU 消融具有以下优点:首先 HIFU 是一种无放射性损伤的消融技术,MRI 能提供优于其他影像技术的软组织对比成像,且术后可通过 MRI 组织血流灌注程度评估治疗效果[9];其次,消融过程中采用相同的参数行点消融,故消融能量分布均匀;再者,该技术不受靶器官体积及形状的限制,均能实现完全性消融[10]。目前 HIFU 已经在肿瘤治疗领域发挥重要作用[11]。由于肾上腺体积较小,解剖毗邻关系复杂,且目前与 HIFU 兼容的超声探头分辨率较低,对正常肾上腺组织显示不够清楚,从而导致靶器官定位不是太准确。MRI 具有良好的组织分辨率,靶器官定位准确,因而通过 MRI 引导 HIFU 对肾上腺进行无创高温消融,有选择性的毁损部分肾上腺组织,从而达到治疗肾上腺功能亢进、肾上腺腺瘤等肾上腺疾病在理论上有一定的可行性。

本研究结果显示,在 MRI 引导下,HIFU 能够实现犬肾上腺消融。本实验中 200 W、400 W 2 组动物在 HIFU 治疗过程中生命体征均平稳,均能耐受 HIFU 治疗。2 组动物 HIFU 治疗后均恢复良好,辐照后第 2 ~ 5 天精神、食欲良好,进食正常,无死亡。同时从 MRI 增强扫描和犬处死后脏器肉眼观察的结果上看,我们均未见肾上腺周围组织(脾脏、肾脏、肠管)出现异常损伤情况,说明在 MRI 引导下,HIFU 能够准确消融左侧肾上腺组织,同时又未造成周围脏器和组织的损伤。以上结果在一定程度上说明了 MRIgHIFU 消融肾上腺是一种相对精确,操作简便的新治疗方法。

在本实验中,对比消融前后 MRI 增强造影发现,消融后肾上腺的信号强度较消融前明显减弱,边界模糊呈絮状改变,与周围组织分界不清,提示肾上腺血流灌注较消融前减弱。以上结果与 Frich 等[12]通过射频消融肾上腺后的 MRI 表现一致。结合以往文献报道,我们认为消融后肾上腺增强造影信号减低可以作为肾上腺消融成功的一个影像学表现。在以后的临床应用过程中,我们可以将 MRI 增强检查作为一项评判 HIFU 消融临床治疗效果的技术指标。此外,病理学 HE 染色发现,200 W 和 400 W 组犬均可见消融灶与正常肾上腺组织分界清楚,消融灶内可见细胞质均质红染,部分呈空泡样变性,细胞核出现核固缩、核碎裂、溶解改变。结合肉眼大体标本所见均说明了消融灶内细胞变性、坏死,结构及功能被毁坏,提示 MRIgHIFU 可以使消融靶区肾上腺皮髓质细胞达到完全凝固性坏死,这与大多数 HIFU 消融其他组织的研究结果是一致的[13]。

在本实验设定的 2 种声能量条件下,2 组间消融面积和消融比率有统计学差异($P<0.05$),提示在消融时间一致的情况下,消融功率越高,消融面积和消融比率也相对越高,说明 HIFU 消融肾上腺可使靶区肾上腺发生面积可控的损伤。在未来以病人为中心的临床治疗方案中,利用 HIFU“点-线-面-体”的辐照方式,可以对肾上腺形成一定体积的连续损伤,我们可以根据病人的个体特征设定不同的 HIFU 治疗功率或消融

时间,使病人得到个体化治疗。当然,本研究作为一项探索性研究,真正过渡到临床应用尚需进行更多的动物实验对适宜的治疗参数及治疗方式进行更系统的筛选。随着目前 HIFU 治疗设备的不断改进,以及增效剂[14]在消融过程中的使用, HIFU 可以在较低的辐照强度下即能发挥较强的肾上腺消融效应,这也将大大提高 HIFU 治疗的安全性和有效性。

对于消融后的肾上腺激素分泌变化情况,本研究重点检测了肾上腺皮质醇和醛固酮这2种激素。发现消融前200 W 和400 W 组的皮质醇以及醛固酮含量与对照组相比,没有统计学差异。在消融第 1 天,200 W 组和400 W 组犬皮质醇以及醛固酮激素含量较治疗前轻微增高,可能是由于肾上腺皮质细胞受到 HIFU 消融,细胞膜受损,肾上腺内残存的少量皮质激素释放入血所导致。但是方差分析发现3组间这2种激素含量并没有统计学差异($P>0.05$),说明 HIFU 成功消融肾上腺后,并不会导致过量的皮质醇和醛固酮释放入血。这可能与 HIFU 的主要作用机制有关,HIFU 主要是利用瞬间高温效应,造成肾上腺组织细胞的快速凝固性坏死,其内存留的激素由于高温影响而大部分失活,同时肾上腺细胞溶解延迟和变缓,从而不致引起肾上腺激素的过量释放,这在一定程度上说明了 HIFU 消融的相对安全性。2组动物消融术后第2天皮质醇和醛固酮含量均开始出现下降趋势,在第4~5天趋于稳定,但低于正常水平(消融前)。2组间激素含量从第3天开始均与对照组之间存在统计学差异($P<0.05$)。我们的实验结果说明,在正常动物模型上,HIFU 消融肾上腺在第3天开始可以使肾上腺分泌激素含量明显低于正常水平。这对于治疗肾上腺皮质功能亢进导致的 cushing 综合征以及醛固酮增多症具有一定临床意义。在未来对这些疾病的治疗中,理论上我们可以使用不同功率的 HIFU 选择性地消融部分肾上腺,使分泌增高的皮质醇和醛固酮激素分泌恢复到正常水平,从而达到无创治疗的目的。

总之,本研究结果表明,MRI 引导 HIFU 能准确地定位肾上腺组织,并可使靶区肾上腺出现不可逆的凝固性坏死。同时,消融范围可以根据不同功率来实现可控,消融后肾上腺皮质醇和醛固酮激素在5 d 后均稳定地低于正常水平。本研究证实了 HIFU 消融肾上腺理论上的可行性,为临床肾上腺疾病的消融治疗提供了动物实验基础。相信随着 HIFU 治疗设备的不断完善以及动物实验的深入, HIFU 消融肾上腺有望成为临床无创治疗肾上腺疾病的新方法。

参考文献:

[1] ter-Haar G R. High intensity focused ultrasound for the treatment of tumors [J]. Echocardiography, 2001, 18(4): 317-322.

[2] Da-Rosa M R, Trachtenberg J, Chopra R, *et al*. Early experience in MRI-guided therapies of prostate cancer: HIFU, laser and photodynamic treatment [J]. Cancer Imaging, 2011, 11(A): S3-S8.

[3] 朱丽, 陈文直, 陈锦云, 等. 子宫肌瘤超声消融与 MRI 信号特征关系的研究[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(14): 1370-1373.

[4] 邹海蓉, 邹建中, 欧霞, 等. 首次低剂量超声辐照对 HIFU 消融兔肝 VX2 瘤的影响[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(2): 116-118.

[5] Mendiratta-Lala M, Brennan D D, Brook O R, *et al*. Efficacy of radiofrequency ablation in the treatment of small functional adrenal neoplasms[J]. Radiology, 2011, 258(1): 308-316.

[6] Li X, Fan W, Zhang L, *et al*. CT-guided percutaneous microwave ablation of adrenal malignant carcinoma: Preliminary results[J]. Cancer, 2011, 117(22): 5182-5188.

[7] Xiao Y Y, Tian J L, Li J K, *et al*. CT-guided percutaneous chemical ablation of adrenal neoplasms[J]. AJR Am J Roentgenol, 2008, 190(1): 105-110.

[8] Shehata I A. Treatment with high intensity focused ultrasound: secrets revealed[J]. Eur J Radiol, 2012, 81(3): 534-541.

[9] Rouviere O, Girouin N, Glas L, *et al*. Prostate cancer transrectal HIFU ablation: detection of local recurrences using T2-weighted and dynamic contrast-enhanced MRI[J]. Eur Radiol, 2010, 20(1): 48-55.

[10] 任玉香, 吴凤英, 陈维, 等. 聚焦超声治疗宫颈病变3090例效果观察[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(14): 1408-1409.

[11] Ward J F. High-intensity focused ultrasound for therapeutic tissue ablation in surgical oncology[J]. Surg Oncol Clin N Am, 2011, 20(2): 389-407, ix.

[12] Frich L, Hol P K, Roy S, *et al*. Experimental hepatic radiofrequency ablation using wet electrodes: electrode-to-vessel distance is a significant predictor for delayed portal vein thrombosis[J]. Eur Radiol, 2006, 16(9): 1990-1999.

[13] Wu F, Chen W Z, Bai J, *et al*. Tumor vessel destruction resulting from high-intensity focused ultrasound in patients with solid malignancies[J]. Ultrasound Med Biol, 2002, 28(4): 535-542.

[14] Yu T, Wang G, Hu K, *et al*. A microbubble agent improves the therapeutic efficiency of high intensity focused ultrasound: a rabbit kidney study[J]. Urol Res, 2004, 32(1): 14-19.

(**收稿**:2012-02-06;**修回**:2012-04-24)

(编辑 栾 嘉)