基础研究 文章编号：0253-3626（2011）04-0394-04

聚焦超声辐照方式对离体牛肝损伤的影响

缪继东[1]，伍 烽[2]，王济明[3]

（1. 四川省自贡市第四人民医院肿瘤科，自贡 643000；2. 重庆医科大学生物医学工程系、医学超声工程研究所，重庆 400016；3. 重庆医科大学附属第一医院肝胆外科，重庆 400016）

【摘 要】目的：比较高强度聚焦超声（High intensity focused ultrasound，HIFU）双向、单向两种辐照模式损伤离体肝脏的情况。方法：使用聚焦超声设备（超声换能器频率为 1.6 MHz，声功率为 300 W，声强为 12 000 W/cm²）对厚度 8 cm 和 10 cm 离体牛肝进行连续辐照。双向辐照模式采用 2 个聚焦超声换能器固定于钳状手柄上，2 个换能器呈对向排列；单向辐照模式采用单一聚焦超声换能器，相对侧安装一金属反射板。在超声频率测量靶区牛肝凝固性坏死的形状和特征，记录辐照后靶区温度变化。结果：在双向辐照模式下，HIFU 能造成整个牛肝的贯通性凝固性坏死，凝固性形状类似长方体，凝固性坏死体积大于单向模式；双向辐照模式辐照后靶区牛肝温度高于单向辐照模式。结论：HIFU 双向辐照模式能造成预定靶区牛肝的贯通性凝固性坏死，效果优于单向辐照模式。

【关键词】高强度聚焦超声；肝切除；出血

【中国图书分类法分类号】R735.7 【文献标志码】A 【收稿日期】2010-12-30

Effect of focused ultrasound exposure patterns on bovine liver damages *in vitro*

MIAO Ji-dong, et al

(*Department of Oncology, the Fourth People's Hospital of Zigong in Sichuan Province*)

【Abstract】*Objective*: To compare the destructive characteristics of the bovine liver in vitro by double or single high intensity focused ultrasound exposure patterns. *Methods*: Two HIFU instruments (frequency of 1.6 MHz, acoustic power of 300 W, in situ intensity of 12 000 W/cm²) were used to ablate in vitro bovine liver ranging from 8 cm and 10 cm. In double exposure mode, two focused ultrasound transducers were fixed on the handle; the directions of focused ultrasound beams were opposite. In the single exposure mode, one focused ultrasound transducer was fixed on one handle, and a metal reflector was fixed on the other handle. The characteristics of coagulation necrosis and temperature change in treated bovine liver were observed. *Results*: In the double exposure mode, HIFU instrument induced complete coagulation necrosis of predetermined bovine liver targets, and the coagulation necrosis shape was similar to circular cylinder. However, under the same exposure energy and exposure time, the target area coagulation necrosis volume and the temperature were higher than those in the single side exposure mode. *Conclusion*: Working in double side exposure mode, HIFU can induce complete coagulation necrosis of predetermined bovine liver targets, and the effect surpasses the single side exposure mode.

【Key words】high intensity focused ultrasound; hepatectomy; bleeding

高强度聚焦超声（High intensity focused ultrasound，HIFU）是一种无创性、非侵入性治疗治疗实体肿瘤的新技术，它利用超声波的方向性、组织可穿透性，将超声波聚焦在特定靶区内，通过产生的高温效应、空化效应使组织发生凝固性坏死[1]。近年来，在临床上成功用于肝脏、肾脏、胰腺、前列腺、子宫等部位肿瘤的治疗[1-3]。目前 HIFU 使用的治疗方式多为使用单一换能器在体外远距离进行辐照，本课题使用 1 种全新设计的 HIFU 手术钳对离体肝脏进行辐照。旨在研究两个换能器从相对两侧辐照与单一换能器单向辐照两种不同模式损伤肝脏组织的变化，以及肝脏所形成凝固性坏死的特征和规律，为今后使用这一技术进行辅助肝切除术的动物及临床研究提供依据。

作者介绍：缪继东（1976-），男，主治医师，硕士，研究方向：肿瘤的综合治疗。

通信作者：伍 烽，男，教授，Email：mfengwu@yahoo.com。

基金项目：国家教育部创新团队发展计划资助项目（编号：教科函[2005]33 号）。

1 材料方法

1.1 实验材料

取离体健康新鲜牛肝脏，除去粗大的血管等结缔组织，

切割成大小为厚度 8、10 cm，长度和宽度为 6 cm 实验尺寸，浸泡于 0.9%生理盐水中脱气 25 min，复温至 20℃备用。

1.2 实验设备

H2004 型 HIFU 手术钳由重庆医科大学超声研究所研制，该系统包括聚焦超声换能器、水囊、循环水处理系统以及超声功率源组成。手术钳设计有 2 种类型：H2004-1 型由正对排列，能产生两束方向相对应的聚焦超声波的 2 个超声换能器组成；H2004-2 型采用单片聚焦超声换能器设计，相对一侧使用金属反射板对超声波进行反射。聚焦超声波工作频率为 1.6 MHz；焦距为 60 mm，实验采用 300 W 固定声功率，焦点处平均声强为 12 000 W/cm²（由重庆医科大学超声研究所测定）。测温设备：铜－康铜热电偶热敏探针（直径 0.6 mm，重庆医科大学超声研究所研制），温度测量仪（余姚市长江温度仪表厂）。

1.3 实验方法

室温 20℃将切割好的脱气牛肝固定，使用聚焦超声手术钳钳夹牛肝，实验分为双向辐照组和单向辐照组。双向辐照组使用 H2004-1 型聚焦超声手术钳辐照牛肝，单向辐照组使用 H2004-2 型聚焦超声手术钳辐照牛肝（辐照方式见图 1、2）。2 组均对 8 cm 厚牛肝进行 180、240、300、360 s 辐照，10 cm 厚牛肝进行 240、300、360、420 s 辐照。辐照后用测温针插入靶区，记录辐照后靶区组织温度；辐照后沿辐照的方向，取辐照的中轴切开肝块，探查每块牛肝靶区受损情况，记录凝固坏死的性状及体积（$V=\pi/6\times$ 长 $\times$ 宽 $\times$ 高）。

1.4 统计分析

统计学变量均以均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。使用 SPSS 17.0 软件统计分析，2 组间比较用 t 检验。$\alpha=0.05$，$P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 牛肝凝固性坏死形状和体积的变化

在相同的功率和辐照时间下，单向和双向辐照模式产生的凝固性坏死形状不同。单向辐照造成的凝固性坏死类似圆锥体，但未形成整个牛肝的贯通性损伤；双向辐照形成的凝固性坏死类似长方体，贯通整个牛肝组织（见图 3）。

2 种辐照方式对牛肝凝固性坏死体积的影响见表1和表2。

8 cm 厚牛肝组 2 种模式分别辐照 180 s 和 240 s，均未引起牛肝组织凝固性坏死；但 300 s 和 360 s 辐照，2 种辐照方式均可致牛肝凝固性坏死，双向辐照所造成的凝固性坏死体积明显大于单向辐照组，2 组比较差异有统计学意义（$P<0.05$）。

10 cm 厚牛肝组的结果与 8 cm 厚牛肝组比较类似。240 s 和 300 s 辐照，2 种辐照方式均未造成牛肝组织凝固性坏死；分别辐照 360 s 和 400 s 后，单双向辐照均可致牛肝出现凝固性坏死，但双向辐照所造成的凝固性坏死体积明显大于单向辐照组，2 组比较有统计学差异（$P<0.05$）。

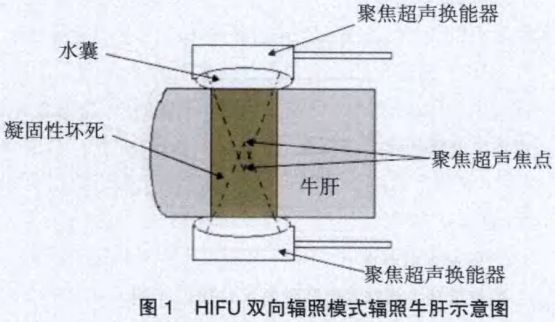


图 1 HIFU 双向辐照模式辐照牛肝示意图

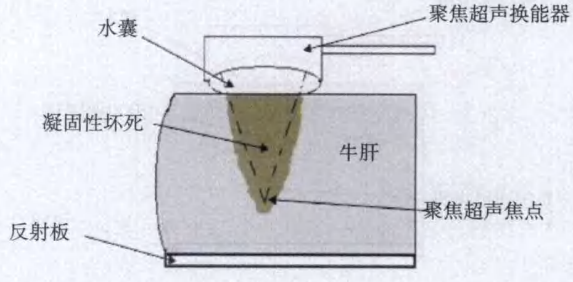
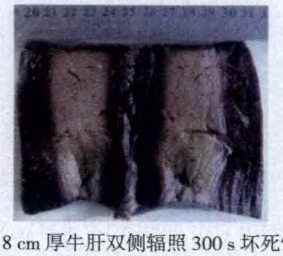


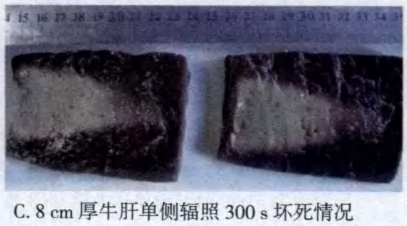
图 2 HIFU 单向辐照模式辐照牛肝示意图



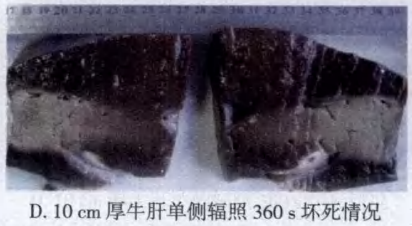
A. 8 cm 厚牛肝双侧辐照 300 s 坏死情况



B. 10 cm 厚牛肝双侧辐照 360 s 坏死情况



C. 8 cm 厚牛肝单侧辐照 300 s 坏死情况



D. 10 cm 厚牛肝单侧辐照 360 s 坏死情况

图 3 牛肝单、双侧辐照凝固性坏死的形状和体积变化

表 1　8 cm 厚牛肝 2 种不同辐照方式辐照后靶区坏死体积的变化

辐照时间（s）	例数	坏死体积（cm^3）	
		单向辐照组	双向辐照组
180	20	未形成凝固性坏死	未形成凝固性坏死
240	20	未形成凝固性坏死	未形成凝固性坏死
300	20	15.2 ± 1.4*	19.6 ± 3.8
360	20	23.6 ± 4.6*	26.9 ± 4.2

注：*P<0.05 与双向辐照组相比较

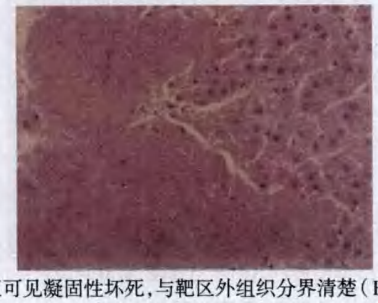
表 2　10 cm 厚牛肝 2 种不同辐照方式辐照后靶区坏死体积的变化

辐照时间（s）	例数	坏死体积（cm^3）	
		单向辐照组	双向辐照组
240	20	未形成凝固性坏死	未形成凝固性坏死
300	20	未形成凝固性坏死	未形成凝固性坏死
360	20	19.1 ± 4.8*	30.1 ± 4.8
420	20	22.6 ± 3.2*	32.9 ± 5.6

注：*P<0.05 与双向辐照组相比较

2.2　靶区组织病理学改变

2 组牛肝靶区均可见凝固性坏死。光镜下见坏死区域外肝组织的细胞形态规则，坏死区域组织表现为凝固性坏死，肝板和肝细胞索结构破坏，细胞轮廓消失，细胞浆均质淡染，无细胞器结构，细胞核碎裂溶解（见图 4）。



靶区可见凝固性坏死，与靶区外组织分界清楚（HE × 400）

图 4　牛肝辐照后 HE 染色

2.3　靶区组织温度的变化

在同样的功率和辐照时间下，不同辐照模式产生的靶区温度有明显的差异。8 cm 厚牛肝组单、双向辐照 180 s 时的靶区温度分别为（38.2 ± 2.9）℃和（45.4 ± 2.9）℃，240 s 辐照分别为（51.9 ± 3.6）℃和（56.6 ± 3.5）℃，靶区温度均在 60℃下，没有达到产生组织凝固性坏死的温度；而 300 s 和 360 s 辐照时，靶区温度均上升至 60℃以上（见表 3），但双向辐照模式所达到的温度明显高于单向辐照模式组，2 组比较有统计学差异（P<0.05）。

10 cm 厚牛肝组的结果与 8 cm 厚牛肝组比较接近。单向辐照 240 s 和 300 s 时的靶区温度分别为（38.2 ± 2.9）℃和（51.9 ± 3.6）℃，双向辐照 240 s 和 300 s 时的靶区温度分别为（42.5 ± 3.2）℃和（56.6 ± 3.5）℃，4 组靶区温度均在 60℃下，故均未引起肝组织出现凝固性坏死；但 360 s 和 420 s 辐照时，靶区温度都在 60℃以上（见表 4），达到了产生凝固性坏死的临界温度；2 组辐照模式比较，双向辐照时的靶区温度明显高于单向辐照，差异有统计学意义（P<0.05）。

表 3　8 cm 厚牛肝 2 种不同辐照方式辐照后靶区温度的变化

辐照时间（s）	例数	靶区温度（℃）	
		单向辐照组	双向辐照组
180	20	38.2 ± 2.9	42.5 ± 3.2
240	20	51.9 ± 3.6	56.6 ± 3.5
300	20	63.6 ± 3.2*	68.5 ± 5.3
360	20	67.4 ± 5.6*	75.3 ± 4.4

注：*P<0.05 与双向辐照组相比较

表 4　10 cm 厚牛肝 2 种不同辐照方式辐照后靶区温度的变化

辐照时间（s）	例数	靶区温度（℃）	
		单向辐照组	双向辐照组
240	20	47.2 ± 3.2	45.4 ± 2.9
300	20	53.4 ± 2.8	52.3 ± 3.6
360	20	62.2 ± 4.2*	65.5 ± 4.5
420	20	68.5 ± 5.6*	73.3 ± 5.7

注：*P<0.05 与双向辐照组相比较

3　讨　论

肝切除术是治疗原发性肝癌的首选治疗方式[4]。由于肝脏组织脆弱、血供丰富和血管分布，肝切除术总是伴随着大量的出血。目前，肝血流阻断、超声刀、水刀、氩气刀、射频等方法已应用于肝切除术，以减少中出血[4-8]。但这些方法都存在不足之处，如肝血流阻断法会造成肝脏缺血-再灌注损伤；超声刀、水刀对肝硬化组织效果不佳；射频针存在损伤大血管、胆管的危险；氩气刀有空气栓塞的危险等。

本课题设想应用一种全新设计的聚焦手术钳控制肝切除术中的出血，达到少出血，或者无出血完成肝脏手术的目的。HIFU 通过聚焦装置把低强度的超声波汇聚于体内靶区，通过焦点区高能量超声波导致靶区肿瘤组织凝固性坏死，而对靶区周围的正常组织不损伤或损伤较少[1,2,9]。目前使用的 HIFU 辐照方式均为体外换能器远距离对靶组织进行单向辐照，尚未见 HIFU 双向辐照方式的报道。

本实验首次采用 HIFU 双向辐照方式直接对接近人体肝右叶厚度牛肝组织进行辐照，比较了单、双向 2 种不同辐照模式对牛肝组织凝固性坏死的影响。结果显示 2 种辐照模式均能造成组织凝固性坏死，但引起的温度变化和造成凝固性坏死的形状和体积两者完全不同。双向辐照所致的坏死形状类似长方形，能形成整个牛肝的贯通性坏死，单向辐照呈圆锥形，坏死组织不能贯通整个牛肝组织。与单向辐照模式比较，双向辐照造成的靶区温度升高和坏死体积均更接近临床实际应用。如用双向辐照模式对肝脏进行预先辐照，在肝切除面上更易形成线条形状的凝固性坏死，沿线性的坏死区手术切除肝脏，从而达到无血肝脏手术的目的。

2种辐照模式在相同频率、功率和辐照时间下造成这一差异的原因目前尚不十分清楚。我们推测单向辐照模式，超声波从一侧发射，产生坏死的部位从焦点出开始，随着辐照时间的延长，已形成凝固性坏死组织妨碍声波向前穿透，能量在焦点后方沉积，形成类似圆锥型的坏死形状。双向辐照模式由于两侧声波相对发射，由于同频率声波的干涉和衍射

作用，更利于超声能量的累积，坏死部位从中间向前后两侧扩散，最终达到整个牛肝的贯通性损伤。同时，双向辐照靶区肝组织沉积的超声波能量多，易出现靶区温度升高和组织的凝固性坏死。

本实验的初步结果表明，双向辐照优于单向辐照模式，双向辐照能造成整个牛肝贯通性凝固性坏死。该结果为全新设计的聚焦超声手术钳提供了理论基础，展示了双向 HIFU 辐照辅助肝切除术的潜在临床应用前景，并为今后进一步研制用于动物活体的聚焦超声手术钳提供依据重要的实验室数据。

参 考 文 献

[1] Dogra V S, Zhang M, Bhatt S. High-intensity focused ultrasound (HIFU) therapy applications[J]. Ultrasound Clinics, 2009, 4(3): 307-321.

[2] Orsi F, Zhang L, Arnone P, et al. High-intensity focused ultrasound ablation: effective and safe therapy for solid tumors in difficult locations[J]. Am J Roentgenol, 2010, 195(3): 245-252.

[3] Zhao Z, Wu F. Minimally-invasive thermal ablation of early-stage breast cancer: a systemic review [J]. Eur J Surg Oncol, 2010, 36(12): 1149-1155.

[4] Gurusamy K S, Gonzalez H D, Davidson B R. Current protective strategies in liver surgery[J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(48): 6098-6103.

[5] Descottes B, Lachachi F, Durand-Foptanier S, et al. Right hepatectomies without vascular clamping: report of 87 cases[J]. J Hepatobiliary Pancreat Surg, 2003, 10(1): 90-94.

[6] Penchev R D, Kjossev K T, Losanoff J E. Application of a new water jet apparatus in open hepatobiliary surgery[J]. Int Surg, 1997, 82(2): 182-186.

[7] Mueller G R, Wolf R F, Hansen P D, et al. Hemostasis after liver resection improves after single application of albumin and argon beam coagulation[J]. J Gastrointest Surg, 2010, 14(11): 1764-1769.

[8] Navarra G, Lorenzini C, Curro G, et al. Early results after radiofrequency-assisted liver resection[J]. Tumori, 2004, 90(1): 32-35.

[9] Kennedy J E. High-intensity focused ultrasound in the treatment of solid tumours[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(4): 321-327.

（责任编辑：关蕴良）

读者·作者·编者

志 谢

庚寅岁末，喜获新闻出版总署批准，《医学教育探索》于 2011 年 1 月正式成为中华医学会系列杂志之一，并更名为《中华医学教育探索杂志》（CN 11-6021/R）。

2002 年创刊以来，《医学教育探索》一直关注医学模式转变、卫生体制改革以及医学教育国际化、本土化的发展趋势。连续多年被重庆市新闻出版局评为一级期刊。2008 年《医学教育探索》被中国科技论文统计源（中国科技核心期刊）收录，2010 年被波兰哥白尼索引（IC）、西太平洋地区医学索引（WPRIM）、美国《乌利希期刊指南》（UPD）等多种国际重要数据库收录。

《中华医学教育探索杂志》创刊号于 2011 年 1 月正式出版，卷期延续，常设栏目包括：教育前沿、比较教育、教学改革、临床教学、精品课程建设、现代教育技术、国外医学教育、研究生教育、医学英语、医事法学、医学与社会、专科医师培训、临床决策论坛、调查研究等。

值此创刊之际，对广大读者和作者对我刊的关心与支持致以诚挚的谢意，并热烈欢迎广大医学教育工作者赐稿、订阅。

通信地址：重庆市渝中区医学院路 1 号重庆医科大学 385 信箱

中华医学教育探索杂志编辑部，邮编：400016

电　话：023-68485014　　传真：023-68485013

Email: zhyxjyts@126.com

http://zhyxjyts.cqmu.edu.cn

本刊编辑部