技术方法 文章编号:0253-3626(2009)04-0439-03

HIFU 联合 SonoVue 损伤含较大血管肝组织的实验研究

秦 艳,李全义,王 琦,龚晓波,李发琪,白 晋

(重庆医科大学生物医学工程系 重庆市生物医学工程学重点实验室 重庆市超声医学工程重点实验室—省部共建国家重点实验室培育基地,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨 HIFU 联合 SonoVue 辐照含有较大血管的靶组织时形成损伤的情况。方法:采用 JC 型聚焦超声肿瘤治疗系统,对 10 只南江黄羊正常肝脏进行直线扫描,选择含有 3 mm 血管肝脏组织作为靶区,试验组 HIFU 辐照前静脉注射 SonoVue,对照组不注射 SonoVue。于治疗 24 h 后过量麻药处死动物,测量肝脏损伤长、宽以及厚,比较有 SonoVue 组和无 SonoVue 组凝固性坏死出现率以及凝固性坏死体积有无差异。结果:损伤深度为 30 mm,靶组织内含有 3 mm 血管时,HIFU 联合 SonoVue 能够有效的形成损伤,有 SonoVue 组和无 SonoVue 组凝固性坏死出现率以及凝固性坏死体积存在差异,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论:当靶组织内含有较大血管时,SonoVue 能够提高 HIFU 治疗效率,有效的形成损伤。

【关键词】高强度聚焦超声;增效;SonoVue;血管;肝脏

【中国图书分类法分类号】R454.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-10-16

The experimental study of HIFU with SonoVue damaging the liver tissues containing large blood vessels

QIN Yan, et al

(*Institute of Ultrasound Engineering in Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the formation of lesions, caused byHIFU with SonoVue, in liver tissues containing blood vessels with the diameter of about 3mm. *Methods*: The livers of ten goats were insonicated linearly by Model—JC focused ultrasound tumour therapeutic system. The target regions contained blood vessels with the diameter of about 3mm, with or without SonoVue. 24 hours after the insonication, the goats were executed with overdosage anesthetics. The length, width and thickness of the lesions were measured, then the necrosies volumes with and without SonoVue were compared. *Results*: When the depth was 30mm, and the target regions caotained large blood vessels, HIFU with SonoVue could form lesions effectively. There was difference of necrosis volumes between lesions with and without SonoVue, and the difference was significant($P<0.05$). *Conclusions*: When the target tissues contain large vessels, SonoVue can increase the efficacy of HIFU, and form lesions effectively.

【Key words】High intensity focused ultrasound; Increase efficacy; SonoVue; Blood vessels; Liver

高强度聚焦超声(High intensity focused ultrasound, HIFU)是一种无创体外治疗技术。近年来 HIFU 技术得到了较大发展,已广泛用于多种疾病的治疗[1]。但是 HIFU 技术的发展也存在着许多问题,有待于进一步研究。如,声波在组织中传播时能量的衰减以及血流灌注对热量的损耗等使得深部较大肿瘤以及血供丰富肿瘤的治疗时间过长,治疗效率偏低。为提高治疗效率,有研究者研发新的换能器,提高换能器的性能[2,3];也有研究者通过改变组织声环境,来增加能量在靶区的沉积[4]。

超声造影剂是内含气体的微泡,作为血管对比剂来增强超声诊断能力[5]。研究者发现将超声造影剂引入 HIFU 治疗靶区,能够增加靶区的空化核,使得空化易于发生,增加超声能量在靶区的沉积,提高 HIFU 治疗效率[6]。

在 HIFU 治疗过程中发现,当靶区存在较大血管时,损伤不易形成,血流将靶区超声波能量迅速带

作者介绍:秦 艳(1982-),女,硕士,研究方向:超声治疗肿瘤的基础研究。

通讯作者:李发琪,男,教授,E-mail:lifaqi70@163.com。

基金项目:国家自然科学基金重点项目(30830040);重庆市科委自然科学基金重点项目(CSTC2006BA5020);重庆市科委攻关项目(渝科发计字[2007]11 号 CSTC2007AA5020)资助。

走，因而难以形成组织凝固性坏死。

本研究选择山羊肝脏组织含有 3 mm 血管的区域作为靶区，来探讨超声造影剂 SonoVue 能否提高 HIFU 损伤形成的效率。

1 材料与方法

1.1 材料

南疆黄羊 10 只（由重庆医科大学实验动物中心提供），雌雄不限，体重 18～28 kg。

SonoVue（由意大利 Bracco 公司生产）去除包装小瓶的塑料保护盖，注入 5 ml 灭菌生理盐水，用力振荡小瓶约 20s，配制好乳白色混悬液体备用。

1.2 方法

将实验动物（南疆黄羊）分为实验组（HIFU+ SonoVue）和对照组（单纯 HIFU 辐照），实验前 12 h 禁食禁饮。实验前采用脱毛剂（8%Na_2S）脱毛，酒精脱脂，负压吸引脱气。猪麻药麻醉后右侧卧位固定于 HIFU 治疗台上。B 超定位，确定治疗层面，选取 3mm 的血管作为目标，于血管处行 HIFU 直线扫描（如图 1 所示），线长 10 mm，深度 30 mm，扫描速度 3 mm/s，重复辐照 9 遍，辐照声功率为 250 W。于 HIFU 辐照前用 MYLab70 超声诊断仪采集治疗层面多普勒彩色血流图以及血管的频谱图，确定血管的类型。血管频谱图显示，所选血管为门静脉（图 2）。

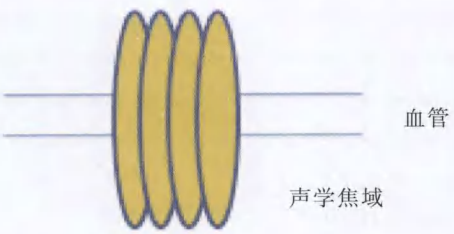


图 1 实验组与对照组中 HIFU 辐照区域与血管的位置关系

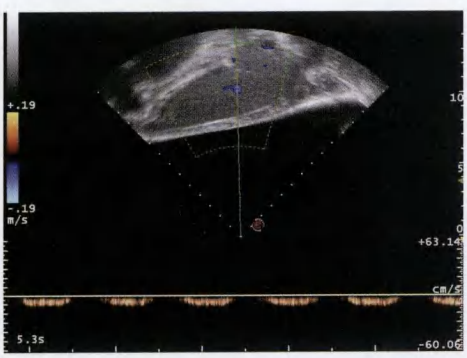


图 2 多普勒频谱图提示所选血管为门静脉

实验组：经耳缘静脉快速推注 SonoVue，使用剂量为 0.03 ml/kg，注药后连接静脉输液通道生理盐水冲洗管道，15 s 后行 HIFU 辐照；对照组：HIFU 辐照前仅给予生理盐水。于 HIFU 治疗 24 h 后处死动物取材，观察损伤形成情况，测量凝固性坏死块的长 L、宽 W 以及厚度 D，并计算凝固性坏死体积：V=L*W*D*π/6。

1.3 统计分析

正态分布数据以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，非正态分布数据用中位数表示。计量资料用 t 检验、非参数检验；计数资料用 χ^2 检验。采用 SAS 统计软件包进行统计分析，以 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

1.4 实验系统

JC 型聚焦超声肿瘤治疗系统（由重庆海扶技术有限公司自行研制生产），该系统为超声实时监控。MYLab70 超声诊断仪购自意大利百胜医疗。

2 结 果

2.1 凝固性坏死出现率

HIFU+SonoVue 组 12 处全部出现灰白色凝固性坏死，单纯 HIFU 组辐照 12 处，有 8 处形成凝固性坏死（见表 1）。实验组和对照组凝固性坏死出现率分别为 100%和 66.7%，差异有统计学意义（P=0.026 4）。

表 1 山羊肝脏凝固性坏死出现率

分组	辐照部位	损伤出现率
实验组	12	100%（12/12）
对照组	12	66.7%（8/12）

2.2 凝固性坏死体积

图 3 所示为山羊肝脏损伤形成情况，统计分析表明，实验组（中位数 67）与对照组（中位数 581）凝固性坏死体积差异有统计学意义（P=0.027 9），实验组凝固性坏死体积大于对照组，即靶区存在 3 mm血管时，SonoVue 仍然能够增强 HIFU 损伤形成的效率。图 4 示山羊肝脏组织凝固性坏死大体标本。

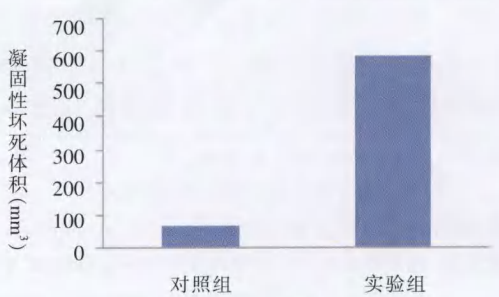


图 3 山羊肝脏损伤形成情况



箭头所指为所选血管，血管位于靶区内，A 为 HIFU 联合 SonoVue 辐照形成的损伤，B 为单纯 HIFU 辐照形成的损伤

图 4　山羊肝脏凝固性坏死大体标本

3　讨　论

HIFU 是将体外低声强的超声波通过某种聚焦手段聚焦于体内病灶区域，利用超声波的机械效应、热效应和空化效应等使组织在瞬间（0.5~2 s）发生凝固性坏死，达到灭活肿瘤组织的目的，而不损伤正常组织的一种新方法。

过去人们认为在 HIFU 治疗中应尽可能的避免空化的发生，因为空化可能造成焦斑边界的不确定[7]。但在第二届国际超声治疗会议后，基于中国在 HIFU 临床的大量研究成果，学术界转而认为有空化参与的 HIFU 治疗是更加有效的和可取的治疗方案。相关的生物组织检测已经证明，HIFU 作用于肿瘤组织的生物效应是热效应和空化效应共同作用的结果。

考虑到空化效应能够显著增加超声能量在靶区的沉积，因而，在治疗区引入空化核就成为了改变组织声环境研究的重要内容。多种超声造影剂被用于增强 HIFU 治疗效率的研究中。于廷和等[8]将自制的氟碳乳剂经耳缘静脉注入试验兔，对照组注入生理盐水，然后给予 HIFU 辐照，发现注入氟碳乳剂组凝固性坏死率以及凝固性坏死体积明显高于对照组，且实验组与对照组的病理检查结果没有明显差异，引入氟碳乳剂并没有影响 HIFU 治疗的精确度。罗文等[9]将造影剂 SonoVue 用于增强 HIFU 辐照兔肝组织效率，结果表明，引入超声造影剂增加了 HIFU 治疗靶区的空化核，使空化效应容易发生，提高了 HIFU 治疗效率，电镜检查发现，引入 SonoVue 靶区超微结构的破坏更加严重。本所前期工作也发现，超声造影剂 SonoVue 能够增强 HIFU 治疗效率。因而，这种改变组织声环境的方法是可行的，在 HIFU 治疗中有着非常好的前景。

HIFU 治疗靶区组织声学特性一个重要的因素是靶区的血供情况。血管影响 HIFU 损伤形成与血管直径和血流速度密切相关。当靶区存在较大血管时，血液流动很快将靶区能量带走，使得 HIFU 损伤不易形成。Yang R 等[10]对在体兔腹主动脉和下腔静脉进行 HIFU 试验，结果发现未造成大血管损伤（频率 4 MHz，声强 1 500 W/cm^2，时间 5 s）；兔肝动物模型发现，直径小于 0.2 mm 肝脏血管立即被破坏（频率 4 MHz，声强 550 W/cm^2，时间 5 s）。伍峰等[11]对 164 例恶性实体肿瘤患者进行 HIFU 治疗，发现 HIFU 治疗后癌灶内滋养血管和毛细血管网大量破坏，肿瘤组织出现缺血性坏死，而靶区内较大血管无损伤或栓塞。

Hwang JH[12]将微泡造影剂引入活体兔血管内，然后给予 0 MPa、1.0 MPa、3.35 MPa、6.5 MPa 以及 9.0 MPa 5 种不同声压 HIFU 辐照管径为 1 mm 的血管。结果发现，血管中含有微泡造影剂，声压为 6.5 MPa 时，染料灌注显示血管通透增加，扫描电镜检查发现血管内皮细胞损伤，而循环中没有造影剂的情况下，试验用各种声压均未见血管通透性改变以及内皮损伤。这说明微泡造影剂存在于血管中使得损伤更加容易形成。因而我们考虑将微泡造影剂引入体内，来观察含有较大血管靶区组织损伤形成情况。

本试验选取含有直径为 3 mm 血管的肝脏组织作为靶区，实验组在 HIFU 辐照前经静脉通道注射超声造影剂 SonoVue，对照组不给予 SonoVue，其余处理两组均同。比较两组凝固性坏死出现率以及凝固性坏死体积，结果发现，试验组 HIFU 辐照后均出现凝固性坏死，而对照组凝固性坏死率为 66.7%，实验组凝固性坏死体积高于对照组。表明引入微泡造影剂后，即使靶区存在较大血管，也能够有效的形成凝固性坏死，达到治疗的目的。

靶区组织含有较大血管时，HIFU 在靶区的能量很快通过血流扩散开，靶区能量沉积不足以有效的引起凝固性坏死。引入微泡后，血管中富含空化核，空化效应更易发生，靶区能量沉积增加，因而能够有效的形成凝固性坏死。

试验中还发现，尽管 HIFU 治疗参数一致，实验组与对照组组间各辐照点凝固性坏死体积存在较大差异，这可能与山羊个体差异有关，不同山羊皮肤厚度以及肝脏组织的血流速度有差异。总的来

技术方法 文章编号:0253-3626(2009)04-0442-05

双向电泳分析精索静脉曲张不育患者精浆蛋白质的表达差异

李 杰,唐 伟,唐亚雄
(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科,重庆 400016)

【摘 要】目的:初步观察精索静脉曲张不育患者与正常成人精浆中蛋白质的差异表达,为进一步探讨精索静脉曲张导致不育的分子机制奠定基础。方法:应用蛋白质组学的双向电泳技术,对精索静脉曲张患者与正常成人精浆蛋白质表达进行比较,观察其差异点。结果:得到分辨率和重复性均好的精索静脉曲张患者与正常成人精浆蛋白的双向凝胶电泳图谱,发现二者之间在表达上有明显差异,差异表达蛋白质点数共 38 个。结论:精索静脉曲张患者导致不育可能与精浆中某些蛋白质的表达和修饰改变有关,对这些差异蛋白质点的进一步分析有助于揭示精索静脉曲张导致男性不育的分子机制。

【关键词】精索静脉曲张;蛋白质组;双向凝胶电泳
【中国图书分类法分类号】R697.24 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-10-10

Differential analysis on two-dimensional electrophresis pattern of seminal plasma protein of varicocele patients

LI Jie, et al
(*Departmeny of Urology, the First Affliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To identify differential proteins expression of seminal plasma of varicocele patients and normal person, providing evidence for further exploring the molecular mechanism of infertility caused by varicocele. *Methods*: The differential proteins expression of seminal plasma of varicocele patients and normal

作者介绍:李 杰(1982-),男,硕士
研究方向:男性不育。
通讯作者:唐 伟,男,教授,E-mail:tangwei2060@yahoo.com.cn。
基金项目:重庆市卫生局项目(渝卫科教[2007]1 号文 07-1-020)。

看,引入微泡造影剂提高了 HIFU 损伤山羊肝脏含有较大血管靶区的效率。

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] Ringgaard E, Wolny W W, Bove T.Designing advanced piezoelectric ceramics for novel ultrasonic applications[J]. J Acoust Soc Am, 2008, 123(5): 3782.

[3] Fillinger L, Sutin A, Sarvazyan A. Time Reversal Acoustic focusing with random reverberator[J]. J Acoust Soc Am, 2008, 123(5): 33-38

[4] Wu F, Wang Z B, Chen W Z, et al. Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high-intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization[J]. Radiology, 2005, 235(2): 659-667.

[5] Ko E Y, Lee S H, Kim H H, et al. Evaluation of Tumor Angiogenesis with a Second-Generation US Contrast Medium in a Rat Breast Tumor Model[J]. Korean J Radiol, 2008, 9(3): 243-249.

[6] Kaneko Y, Maruyama T, Takegami K, et al. Use of a microbubble agent to increase the effects of high intensity focused ultrasound on liver tissue[J]. Eur Radiol, 2005, 15(7): 1415-1420.

[7] Malcolm A L, ter Haar G R. Ablation of tissue volumes using high intensity focused ultrasound[J]. Ultrasound Med Biol, 1996, 22(5): 659-669.

[8] Yu T, Fan X, Xiong S, et al. Microbubbles assist goat liver ablation by high intensity focused ultrasound[J]. Eur Radiol, 2006, 16(7): 1557-1563.

[9] Luo W, Zhou X, Ren X, et al. Enhancing effects of SonoVue, a microbubble sonographic contrast agent, on high-intensity focused ultrasound ablation in rabbit livers in vivo[J]. J Ultrasound Med, 2007, 26(4): 469-476.

[10] Yang R, Sanghvi N T, Rescorla F J, et al. Liver cancer ablation with extracorporeal high-intensity focused ultrasound[J]. Eur Urol, 1993, 23(1): 17-22.

[11] 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.

[12] 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.

(责任编辑:冉明会)