维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2008)06-0691-03

低强度超声对大鼠在体子宫平滑肌收缩的影响

兰瑞红[1],孙江川[2],常淑芳[2],王智彪[1],杜永洪[1],张 瑛[3]

(1. 重庆医科大学医学超声工程研究所,重庆 400016;2. 重庆医科大学附属第二医院妇产科,重庆 400010;
3. 绵阳市人民医院妇产科,四川 621000)

【摘 要】目的:研究低强度超声对大鼠在体子宫平滑肌收缩的影响。方法:利用频率为 0.8MHz,声强为 2W/cm² 的低强度超声辐照大鼠在体子宫 10min。采用 BL-410 生物机能实验系统记录子宫平滑肌的收缩情况。结果:低强度超声辐照下大鼠子宫收缩频率、幅度、张力及子宫活动力均明显高于辐照前($P<0.05$)。结论:低强度超声可以诱导大鼠在体子宫平滑肌收缩。

【关键词】低强度超声;子宫收缩;大鼠
【中国图书分类法分类号】R454.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-10-15

The effect of low intensity ultrasound on the contraction of uterine smooth muscle in rats in vivo

LAN Rui-hong, et al

(*Department of Biomedical Engineering, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the influence of low intensity ultrasound on the contraction of uterine smooth muscle in rats in vivo. *Methods*: The uteri in rats in vivo were irradiated by low intensity ultrasound (0.8MHz, 2W/cm²) for 10 min. The contraction frequency and amplitude were recorded with BL-410 biological experimental system. *Results*: It could be seen that the contraction frequency、amplitude、tension and contraction activity were significantly increased during ultrasonic irradiation ($P<0.05$). *Conclusion*: Low intensity ultrasound can induce uterine smooth muscle contraction in rats in vivo.

【Key words】 Low intensity ultrasound; Uterine contraction; Rats

70%~80%的产后出血是由产后子宫收缩乏力所引起的[1],对子宫收缩乏力性出血的处理,加强宫缩是最迅速有效的止血方法。超声可以诱导离体大鼠子宫平滑肌收缩[2],但超声对在体子宫收缩的影响国内目前尚无文献报道。故本实验以大鼠在体子宫为研究对象,探讨超声辐照对子宫收缩的影响,为低强度超声预防和治疗产后出血提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品 苯甲酸雌二醇 2mg/ml 每支,上海通用药业股份有限公司。生产批号:040307。

1.1.2 溶液 改良后的乐氏液(g/L)NaCl 9.0, KCl 0.42, $CaCl_2$ 0.06, $MgCl_2$ 5mg/L, $NaHCO_3$ 0.2, Glucose 1.0。

1.1.3 动物 雌性 Wistar 大鼠 20 只,体重(200±50)g,清洁级。由重庆大坪三院动物实验中心提供。合格证号:SCXK(渝)20020002。

1.1.4 仪器 BL-410 生物机能实验系统(成都泰盟电子有限公司);1.0g 的肌肉机能换能器(JI100 型,高碑店新航机电设备有限公司);超声治疗仪(由重庆海扶技术有限公司 HIFU 研制)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及动物模型制作 取健康未孕 Wistar 大鼠 20 只,随机分成 2 组:对照组和超声组。于实验前 3d 按 0.2mg/100g 体重皮下注射苯甲酸雌二醇 3 次,人工地促使动物处在动情前期或动情期,以提高子宫的敏感性。

1.2.2 实验步骤 实验时,按文献方法[3]将大鼠腹腔注射戊巴比妥钠 40mg/kg 麻醉,仰位固定,备皮在腹部切 3cm 切口,打开腹腔,找出一侧子宫角,分离周围组织,用乐氏液冲洗干净,在其中点用连有棉线的蛙心夹轻轻夹住,棉线穿过特制塑料筒与张力换能器相连,子宫负荷 1.0g。然后将近阴道端和近卵巢端分别缝合在塑料筒底部两端的支点上,然后将腹

作者介绍:兰瑞红(1978-),女,硕士,研究方向:围产医学。
通讯作者:孙江川,女,教授,E-mail:1sjc@163.com。
基金项目:重庆市卫生局科研项目 062048。

维普资讯 http://www.cqvip.com

部皮肤围绕玻璃筒底部四周固定，筒内加入乐氏液(34 ± 0.5)℃，筒下端紧贴腹壁，避免乐氏液渗漏。

1.2.3 实验记录 打开 BL-410 生物机能实验系统调零、定标。在一通道的输入接口上安装张力换能器，"输入信号"为"一通道，张力"。增益调节 G=50，时间常数 T=DC，滤波调节 F=30Hz，扫描速度 S=16.00s/div。子宫舒缩稳定后，记录 10min 正常活动曲线作为对照，超声组采用频率为 0.8MHz，声强为 2W/cm² 的低强度超声辐照大鼠在体子宫10min，对照组给与 10min 假照，观察子宫收缩频率、幅度、张力及活动力(频率×幅度)。

1.2.4 实验取材 超声组与对照组子宫平滑肌组织放入 10%甲醛固定，石蜡包埋，HE 染色，进行组织病理学观察。电镜标本取新鲜组织修剪成 1mm × 1mm × 1mm 大小，先后经 2.5%戊二醛锇酸固定、脱水，环氧树脂包埋，超薄切片，铀 / 铅染色，行透射电镜观察超微结构。

1.2.5 统计学分析 数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示，辐照前后比较采用配对 t 检验，对照组与超声组比较采用两独立样本比较的 t 检验或 t' 检验。

2 结 果

2.1 辐照前后的比较

对照组辐照前后子宫收缩频率、幅度、张力及活动力均无明显变化，差异无统计学意义($P>0.05$)(见表 1、图 1)。超声组辐照后子宫收缩频率、幅度、张力及活动力均明显高于辐照前，差异有统计学意义($P<0.05$)(见表 1，图 2)。超声辐照后温度从 34℃ 升高为 37℃，温度变化值为 3℃。

2.2 对照组与超声组辐照后的比较

超声组辐照后子宫收缩频率、幅度、张力及活动力均高于与对照组假照后子宫收缩的各项指标，差异有统计学意义($P<0.05$)(见表 1，图 1、2)。

2.3 光镜下观察结果

超声组子宫平滑肌细胞纵横交错排列，外层呈环形，内层呈网状，肌层中含有血管；平滑肌细胞核完整，清晰可见，未见核固缩、核碎裂和核溶解等坏死表现，胞浆均匀，和对照组比较无明显差别(见图 3、4)。

2.4 透射电镜下观察结果

超声组细胞核呈椭圆形，细胞核完整，染色质集中分布于细胞核中央，核膜无断裂，胞浆无肿胀；肌丝致密，未见溶解；与对照组无明显差别(见图 5、6)。

3 讨 论

超声波是近年高速发展起来的一项新技术，它是一种机械波，具有良好的组织穿透性、定位性和能量沉积性，能将能量透过表层组织，聚焦于特定深度的靶区组织，产生生物学效应，使组织细胞发生改变。与高强度超声相比，低强度脉冲超声(Low intensity pulsed ultrasound，LIPUS)是频率和剂量较低的一种超声波，能克服一般超声波使组织致热的副作用。目前主要应用于骨与软组织创伤的愈合[4]。1978 年，Ter Harr[5]首次发现超声(3MHz，2W/cm²)可引起妊娠小鼠子宫收缩，并可使子宫的自发性收缩频率和幅度增加。2004 年 Nizard[6]采用高强度聚焦超声(High intensity focused ultrasound，HIFU)辐照产后母羊子宫动脉，可使靶区血管管径变窄，从而

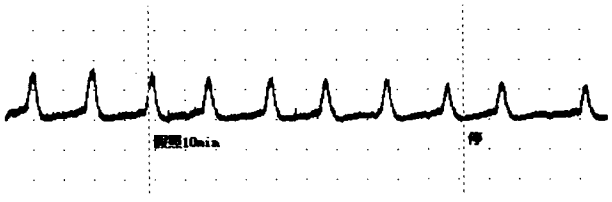


图 1 对照组大鼠子宫收缩的曲线图

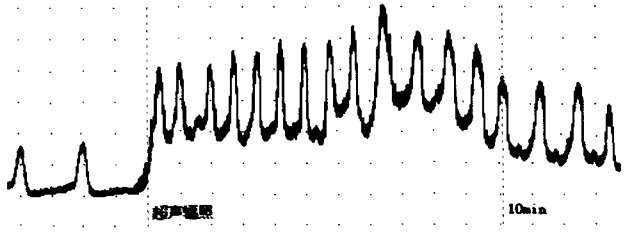


图 2 超声组大鼠子宫收缩的曲线图

表 1 低强度超声辐照对大鼠在体子宫平滑肌收缩的影响

组别	频率(次/10min)		幅度(g)		张力(g)		活动力(g·次/10min)	
	辐照前	辐照后	辐照前	辐照后	辐照前	辐照后	辐照前	辐照后
对照组	8.30 ± 1.78	8.70 ± 2.21	1.70 ± 0.43	1.73 ± 0.41	1.16 ± 0.44	1.18 ± 0.42	14.23 ± 4.63	15.19 ± 5.93
超声组	8.75 ± 1.65	14.85 ± 1.93[ab]	1.79 ± 0.45	10.50 ± 2.59[ab]	1.37 ± 0.58	8.22 ± 2.43[ab]	16.00 ± 6.21	158.19 ± 51.59[ab]

[a]：$P<0.05$ 辐照前与辐照后比较；[b]：$P<0.05$ 两组比较

维普资讯 http://www.cqvip.com

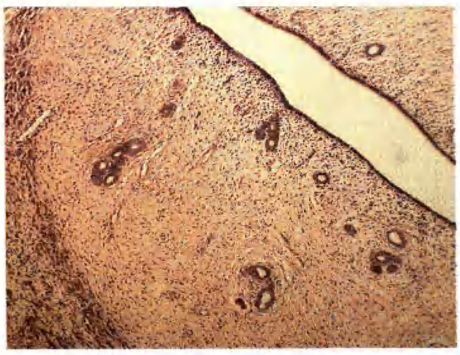


图 3 对照组光镜下形态变化(HE×100)



图 4 超声组光镜下形态变化(HE×100)

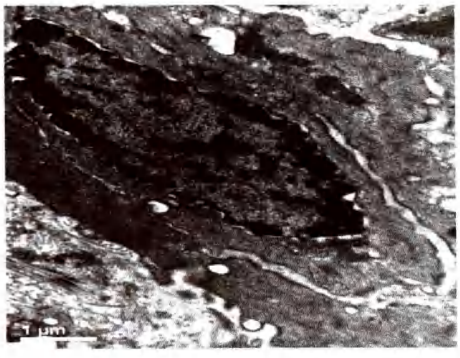


图 5 对照组电镜下形态变化(TEM×15 000)

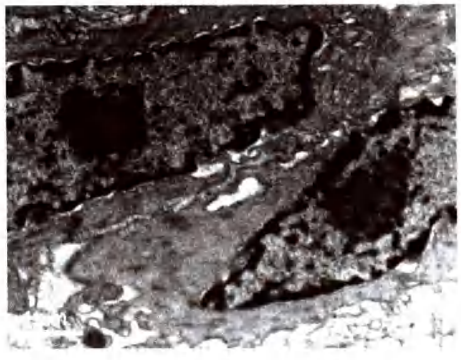


图 6 超声组电镜下形态变化(TEM×15 000)

使靶区下游血流速度减慢,提示 HIFU 可引起血管平滑肌收缩,有可能用于产后出血的治疗。常淑芳等[7]研究发现频率 0.8MHz,声强 3W/cm² 的超声辐射可诱导大鼠离体子宫平滑肌收缩,其生物学效应与辐射时间有关。张瑛等[2]报道频率为 0.8MHz,声强为 1、2 和 3W/cm² 的超声辐照均可使大鼠离体子宫平滑肌的收缩增加;并且提示在频率不变的情况下,声强 2W/cm² 的超声辐照 10min 是适宜的辐照参数。在体子宫由于受血流的影响,超声对在体子宫的生物学效应可能与离体子宫不同,故本实验采用上述辐照参数对在体子宫进行了研究,结果显示,使用频率 0.8MHz,声强 2W/cm² 的超声辐照 10min 后子宫平滑肌收缩的频率、幅度、张力及活动力均有所增加,差异有统计学意义($P<0.05$),这提示超声波诱导子宫平滑肌收缩不受组织血供的影响;并且光镜、电镜下观察没有特殊的形态改变(图 3~6),说明超声辐照不仅可以加强子宫收缩,而且对组织无明显损伤。

目前公认的超声治疗作用有 3 种效应:机械效应、热效应和空化效应。本研究发现超声辐照可使子宫平滑肌的收缩频率、幅度、张力和活动力均明显增加。产生这种实验结果的机制还不清楚,推测其可能发挥作用的途径有 3 种。(1)机械作用:LIPUS 作为超声波,也属于压力波的一种,具有机械刺激效应,而子宫平滑肌组织对一定频率的机械刺激非常敏感。(2)热效应:本实验结果显示,0.8MHz,2W/cm² 的超声辐照后温度从 34℃升高为 37℃,温度变化值为 3℃。这一温度变化尽管很小,没有引起组织细胞在形态上的改变,但是有些酶对温度变化非常敏感。因此,超声还可能通过增加酶活性来影响细胞的代谢活动[8]。(3)其它生物学效应:超声波在介质内传导时,可使细胞间相互摩擦,细胞产生容积和运动的变化,引起较强的细胞浆运动和膜电位的改变,可使细胞外 Ca^{2+} 浓度增高;引起细胞对 K^+ 通透性的改变;刺激细胞环氧合酶-2mRNA 的转录,促使前列腺素 E_2 的合成增加[9]从而引起细胞功能的改变,而产生一系列生物学反应,引起子宫平滑肌收缩。本文研究结果显示,低强度超声辐照能促进子宫平滑肌收缩,为治疗产后出血提供了一种的非侵袭性手段。

尽管低强度脉冲超声作用机理的研究已逐步深入到分子生物学水,但超声治疗产后出血还属于新的治疗领域,其生物学原理、治疗参数和临床应

(下转第 699 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

膜片钳记录技术是近来神经电生理研究的重要平台,广泛用于神经生理学研究中。细胞制备是膜片钳电生理研究的重要一环,其中细胞形态及功能活性是影响封接的十分重要因素,因此,制备表面光滑、轮廓清楚、活性好的神经细胞是膜片钳记录的前提。本方法体外培养海马神经元具备适用膜片钳研究的前提条件。

近年来,大多有关癫痫的研究采用病理标本和动物模型[6],但是,神经系统结构复杂,在体研究时,存在诸多因素制约,且像膜片钳等电生理检测手段不易实施。Mg^{2+} 在维持中枢神经系统正常电活动时起着重要作用[7]。有研究表明,无镁诱发的神经元反复自发的动作电位与癫痫发作时电生理活动类似,并且,抗癫痫药物可以阻滞这类动作电位[8-10]。Khalilov 在其研究中[11]说明,阻断海马间的联系时,对侧海马不能形成"镜像癫痫灶",说明"癫痫波"在神经元之间的传递是"癫痫微环境"的重要组成部分。在此基础上,本研究利用无镁细胞外液模拟"癫痫微环境",诱导海马神经元癫痫样放电的可能性与有效性。结果表明,经无镁细胞外液作用 3h 后,100%的神经元进行 5 ~ 17Hz 频率放电。恢复正常维持液培养后 24h 后,90%以上的神经元依然存在自发癫痫样放电,从而证实我们建立的癫痫神经元模型稳定。

虽然神经元经无镁细胞外液处理后有一定程度的兴奋性毒性损害,但仍然可以被膜片钳记录电活动,说明处理后的神经元无明显凋亡迹象,由此可见,本方法体外培养的海马神经元癫痫样放电模型可用于细胞水平上研究癫痫发生发展的病理机制。

参 考 文 献

[1] Heinemann U. Basic mechanisms of partial epilepsies[J]. Curr Opin Neurol,2004;17(2):155-159.

[2] Bernard C,Anderson A,Becker A,et al. Acquired dendritic channelopathy in temporal lobe epilepsy[J]. Science,2004;305(5683):532-535.

[3] Dudek FE,Rogawski MA. The epileptic neuron redux[J]. Epilepsy Curr,2002;2(5):151-152.

[4] 王 英,车 宇,苗建亭,等.新生大鼠海马神经元原代培养方法的研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2003;19(2):197-199.

[5] 曾可斌,胡长林,陈阳美. 大鼠海马神经元培养与鉴定[J]. 基础医学与临床,2004;24(5):575-577.

[6] 夏 杰,陈阳美.MAPKERK1/2 信号转导途径在实验性癫痫大鼠海马结构的激活[J]. 重庆医科大学学报,2005;30(3):363-365.

[7] Solger J,Heinemann U,Behr J. Electrical and chemical long-term depression do not attenuate low-Mg^{2+}-induced epileptiform activity in the entorhinal cortex[J]. Epilepsia,2005;46(4):509-516.

[8] Sombati S,DeLorenzo RJ. Recurrent spontaneous seizure activity in hippocampal neuronal networks in culture[J]. J Neurophysiol,1995;73(4):1706-1711.

[9] DeLorenzo RJ,Sombati S,Coulter DA. Effects of topiramate on sustained repetitive firing and spontaneous recurrent seizure discharges in cultured hippocampal neurons[J]. Epilepsia,2000;41(s1):S40-44.

[10] 马玉新,阴金波,范晓堂,等.红藻氨酸快速点燃大鼠癫痫模型的建立及其海马神经发生[J]. 第三军医大学学报,2007;29(10):872-875.

[11] Khalilov I,Holmes GL,Ben-Ari Y. In vitro formation of a secondary epileptogenic mirror focus by interhippocampal propagation of seizures[J]. Nat Neurosci,2003;6(10):1079-1085.

(责任编辑:关蕴良)

(上接第 693 页)

用尚待进一步深入研究。

参 考 文 献

[1] White OD,Jeffrey RP,Michale T,et al. Pelvic embolization for intractable postpartum hemorrhage:long-term follow-up and implications for Fertility[J]. Obstet Gynecol,2003;102(5):904-910.

[2] 张 瑛,孙江川,常淑芳,等.低强度超声引发大鼠子宫平滑肌收缩的量效关系研究[J].第三军医大学学报,2007;29(16):1566-1568.

[3] 李仪奎.中药药理实验方法学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1991.420.

[4] 杨 颖. 低强度脉冲超声波治疗骨关节肌肉损伤研究进展[J]. 中国运动医学杂志,2007;7(26):507-510.

[5] Ter HG,Dyson M,Talbert D.Ultrasonically induced contractions in mouse uterine smooth muscle in vivo[J]. Ultrasonics,1978;16(6):275-276.

[6] Nizard J,Pessel M,De Keersmaecker B,et al. high-intensity focused ultrasound in the treatment of postpartum hemorrhage: an animal model[J]. Ultrasound Obstet Gynecol,2004;23(3):262-266.

[7] 常淑芳,朱深银,王智彪,等.超声体外诱导大鼠子宫平滑肌收缩的实验研究[J]. 中化物理学与康复杂志,2006;28(7):450-452.

[8] Parvizi J,Parpura V,Greenleaf JF,et al. Calcium signaling is required for ultrasound stimulated aggrecan synthesis by rat chondrocytes[J]. Orthop Res,2002;20(1):51-57.

[9] Kokubu T,Matsui N,Fujioka H,et al. Low intensity pulsed ultrasound exposure increases prostaglandin E_2 production via the induction of cyclooxygenase-2 mRNA in mouse osteoblasts[J]. Biophys Res Commun,1999;256(2):284-287.

(责任编辑:谭乐勤)