维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2005)04－0544－04

碘油乳剂联合高强度聚焦超声损伤正常兔肝脏组织的实验研究

肖雁冰,肖子文,刘丽萍,王智彪,李发琪,白 晋

(重庆医科大学生物医学工程系,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨 HL－2 联合 HIFU 损伤正常兔肝组织的效果及靶区灰阶表现特点。方法:实验组输入 HL－2 后 1h 以一定参数行肝组织 HIFU 损伤,记录 B 超灰度变化值及治疗时间;对照以 saline 代替 HL－2,余步骤同实验组。实验后 24h 解剖,测量凝固性坏死组织大小、计算 EEF 并行组织病理检查。结果:两组靶区灰阶表现形式相似;损伤组织大体观及病理检查两组均为典型的凝固性坏死,实验组 EEF 明显小于对照组($P<0.001$)。结论:HL－2 联合 HIFU 能导致靶区组织发生凝固性坏死,并有增强正常兔肝脏组织 HIFU 能量沉积的作用,在 HL－2 存在的情况下,灰阶超声对靶区凝固性坏死组织的实时监控作用有待进一步研究。

【关键词】高强度聚焦超声;碘油乳剂;能效因子;灰度

【中国图书分类法分类号】R730.41 【文献标识码】A 【收稿日期】2004－09－07

Ablation of normal rabbit liver tissue by combination of iodized oil emulsion and high intensity focused ultrasound: An experimental study in vivo

XIAO Yanbing, et al

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

【Abstract】*Objective*: To explore the effects of ablation of normal rabbit liver tissue by combination of high intensity focused ultrasound(HIFU) and iodized oil emulsion(HIFU liposome 2, HL－2) and the grey scale changes in target region. *Methods*: Rabbit liver was ablated with HIFU under certain parameters one hour after HL－2 was injected intravenously in the experimental group. The grey scale in target region and the exposure time were recorded. All processes in control group were the same as those in the experimental group only HL－2 was replaced by saline. *Results*: The changes of grey scale in the target region were similar in two groups. Typical coagulation necrosis happened both in two groups under gross and histological examination. The energy efficiency factor (EEF) in the experimental group was less than that in the control group($P<0.001$). *Conclusion*: The combination of HL－2 and HIFU can cause coagulation necrosis in the target tissue of rabbit liver, and HL－2 have the function of enhancing HIFU energy deposition in the target tissue of rabbit liver. Whether the grey scale of ultrasound can be used for monitoring the necrotic tissue when HL－2 existed should be further explored.

【Key words】High intensity focused ultrasound(HIFU); High intensity focused ultrasound liposome 2(HL－2); Energy efficiency factor(EEF); Grey scale

乳化碘油作为一种造影增强剂已被用于肝脏增强显影的动物和人体实验[1,2],并取得了较好的造影效果,但将乳化碘油用于增强高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)损伤肝脏组织效果的研究国内外均未见报道,本文拟利用肝脏对脂质成份的天然靶向和富集作用,用自制乳化碘油(high intensity focused ultrasound liposome 2, HL－2)经静脉注入,观察其有否增强 HIFU 能量沉积的作用,现报道下如。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 药物及试剂 1)碘油乳剂(high intensity focused ultrasound liposome 2, HL－2),为一种自制乳化碘油,系将碘油、蛋黄卵磷脂、甘油、表面活性剂及三蒸水按一定比例混合、经超声(400W×2min)振荡后 100℃流动蒸汽 30min 消毒制

作者介绍:肖雁冰(1967－),男,副主任医师,主要研究方向:HIFU 肿瘤治疗。

基金项目:国家杰出青年基金(No. 30325027)及重庆医科大学优秀博士论基金资助项目。

维普资讯 http://www.cqvip.com

成,外观呈乳白色,pH8.0,粒径小于5μm,含碘量为0.16g/kg;2)速眠新(846合剂)Ⅱ注射液,3)苏醒灵(特制苏醒灵3号)(两药由长春军需大学兽医研究所试制),4)生理盐水(saline)。

1.1.2 实验动物 新西兰大白兔25只(重庆医科大学动物实验中心提供),雌雄不限,月龄3个月左右,随机分成实验组(HL-2组)和对照组[生理盐水(saline)组],实验组兔20只,对照组5只,两组兔体重分别为2.04±0.18 kg和2.08±0.13 kg($P>0.05$)。

1.1.3 实验设备 JC型HIFU肿瘤治疗系统,由重庆海扶(Haifu)技术有限公司生产,该系统主要由可调功率发生器、B超监控系统、治疗头、机械运动控制系统、治疗床和声耦合装置等五部分组成。该系统治疗头的直径为150mm,焦距135mm,工作频率0.8MHz,平均声强为5500W/cm^2。总声功率的检测采用辐射压力法。循环脱气水标准:含气量≤3ppm。

1.2 实验方法

肌肉注射速眠新0.02ml/kg麻醉大白兔(实验中间隙静脉给予少量速眠新以防兔苏醒或移动),将其固定于HIFU治疗床上(图1);在HIFU随机带B超监控下移动治疗头预扫描兔肝脏,根据肝脏大小,选择足够间隔(≥1cm)及辐照深度(2.0cm,皮肤至焦点的距离)的层面2~4个。选定好层面后,沿兔耳缘静脉输入HL-2(2.5ml/kg),1h后[1,2]按上述参数逐个层面行定点兔肝脏HIFU损伤实验,记录靶区灰度值、治疗时间。对照组以saline代替HL-2,余步骤同实验组,实验毕肌注舒醒灵0.02ml/kg。

1.3 结果判断

实验后24h解剖实验兔,测量兔肝脏凝固性坏死区的径线(长、宽、厚),以公式:V[3] = 4/3π×1/2长×1/2宽×1/2厚,计算损伤组织的体积;EEF[4] = P×t/V(J/mm3)计算能效因子(energy efficiency factor,EEF),(P为输出功率,t为治疗时间,V为损伤组织的体积)。

1.4 病理检查

取部分损伤与正常肝脏交界处组织,用10%福尔马林液固定、HE染色、光镜检查。

1.5 数据分析

计量资料用$\bar{x}\pm s$表示,独立样本t检验;计数资料用χ^2检验,采用SPSS 10.0 for windows统计软件包,$P<0.05$为统计有意义。

2 结 果

2.1 B超灰度变化

HL-2组20只兔肝共计辐照48个点,saline组5只兔肝共计辐照15个点,靶区B超灰度均出现增强、不变、减弱三种灰度变化形式(表1)。

表1 HL-2和saline两组灰度(grey)比较

Group	ablated dot	Grey					
		positive		negative		unchanged	
		n(%)	value	n(%)	value	n(%)	value
HL-2	48	14(29.17)	40.79±35.14	24(50.00)	-9.38±5.52	10(20.83)	0
Saline	15	4(26.67)	27.25±35.78	5(33.33)	-7.20±2.39	6(40.00)	0
P		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	

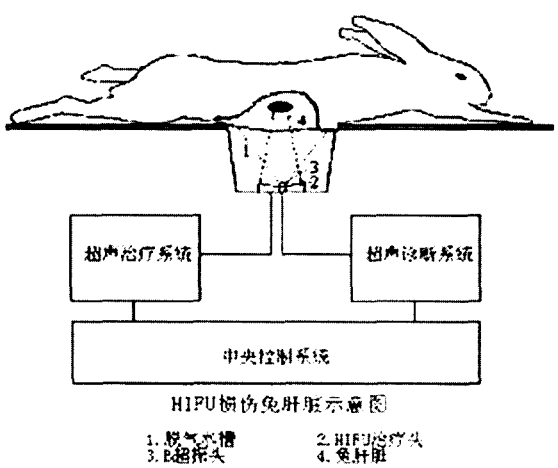


图1 HIFU治疗床及实验兔示意图

2.2 HIFU损伤结果

实验后24h解剖测量两组兔肝组织凝固性坏径线,根据公式计算出损伤体积及相应的EEF,结果见表2。肝脏大体观和组织病理学检查均证实,两组靶区组织均发生了典型的凝固性坏死,表现为:凝固性坏死组织呈白色,与周围正常组织分界清楚,肝细胞胞浆变红,核固缩、碎裂、溶解或消失,肝板和肝细胞索结构破坏,与正常肝组织之间有一充血带,带内见大量炎细胞浸润(图2,图3)。

表2 HL-2组和saline组EEF比较

Group	ablated dot	EEF($\bar{x}\pm s$)(J/mm^3)
HL-2	48	7.16±1.38
Saline	15	31.05±2.68
P		<0.001

维普资讯 http://www.cqvip.com



图 2 HL-2 联合 HIFU 损伤兔肝组织外观。(箭头所示为凝固性坏死区)

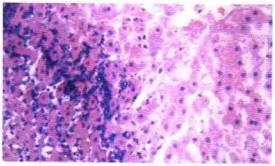


图 3 HL-2 联合 HIFU 损伤兔肝组织病理(HE×400)

3 讨 论

实验结果显示,靶区 B 超灰度在两组均出现了增强、减弱、不变三种形式,且两组之间灰度变化的出现率和变化值均无显著性差异(表 1),这一方面说明 HL-2 可能并不增加靶区组织灰度增强变化的出现率,另一方面也说明在 HIFU 损伤肝脏组织时,灰阶图像表现的复杂性。实验中发现,无论是实验组还是对照组,在同一只兔的不同损伤点可出现不同的灰度表现形式,这与一些作者得出的离体肝脏 HIFU 辐照后回声增强的单一表现的研究结果不相一致[5]。由于本研究所有损伤点均找到了明确的凝固性坏死灶,但灰度增强变化的出现率在实验组和对照组仅为 29.17% 和 26.67%($P<0.05$),我们分析,这是由于体外与体内实验以及组织声学特性的复杂性导致了这种差异。有研究显示[6-8],体内实验时,肝脏靶区可以出现灰度不增强乃至灰度下降的声像学变化,这些不同声像学表现的原因在于组织声学特性的复杂性,组织声学特性包括声速、特性阻抗、衰减系数、背向散射系数乃至非线性参数,且组织一般不是均匀各向同性体,灰阶图像是这些特性与扫描仪器特性和耦合因素的综合表现,因此,灰阶不一定能完全确定焦斑处温度和热变性程度,即不能完全反应组织坏死的情况。因此,我们认为,在 HL-2 存在的活体肝脏组织的 HIFU 损伤过程中,灰阶超声靶区灰度的增强改变并非唯一的声像学表现形式,其可以表现为回声增强、不变、减弱等三种形式,与离体肝脏单一回声增强的声像学表现有一定的差别。

EEF 表示损伤单位体积组织所需的能量大小[4],EEF 越小,表示 HIFU 损伤组织的能量沉积效率越高,其可以理解为损伤一定体积的组织需要较小的 HIFU 能量或以一定的 HIFU 能量可以导致较大体积的组织损伤。实验结果显,saline 组 EEF 为 31.05 ±2.68(J/mm^3),HL-2 组 EEF 为 7.16 ± 1.38(J/mm^3),缩小约 4.3 倍($P<0.001$),说明 HL-2 有增强正常兔肝脏组织 HIFU 能量沉积的作用。

HL-2 增强肝脏 HIFU 能量沉积的原因一方面可能是由于 HL-2 是脂质膜包物质,具有脂质体的一般特性,即表现出对肝脏的天然靶向性和富集作用,使 HL-2 能在肝脏大量聚集[9];另一方面,其内包裹的碘油是一种高声阻抗物质,这些在肝脏内大量聚集的碘油与肝组织相比具有相当大的声阻抗,声阻抗是一个非常重要的声学物理参数,由于超声波在两种不同媒质的界面上会发生反射和透射,而其反射和透射波的能量分配决定于两种媒质的声阻抗,因此,生物组织的声阻抗越不匹配,两者间越易激发高温[10],这种情况在骨骼与软组织的界面之间表现得尤为明显,由于存在这种不同界面所形成的巨大声阻抗差异,使得 HL-2 在肝组织能激发 HIFU 靶区高温,即有增加靶区组织吸声和加速声能量的沉积的作用[11]。

HL-2 联合 HIFU 所导致的组织坏死与 saline 联合 HIFU 是一致的,均表现为典型的凝固性坏死,大体观表现为损伤区域呈白色,与周围正常组织分界清楚,在损伤组织与正常组织之间可见一充血带;病理观察发现,肝细胞胞浆变红,核固缩、碎裂、溶解或消失,肝板和肝细胞索结构破坏,与正常肝组织之间有一充血带,带内见大量炎性细胞浸润,这说明 HL-2 联合 HIFU 导致肝脏组织损伤是有效的。

HL-2 为一种脂质膜包碘油形成的纳米级乳化碘油,其粒径远小于肺毛细血管床平均直径(平均 6μm),故可安全通过肺循环,研究表明[1,2,9],不同成份和工艺的乳化碘油经静脉注入后,30 ~ 60min 即在肝脏达到高峰,可提高肝 CT 增强值 50 ~

维普资讯 http://www.cqvip.com

250HU,造影持续时间达 2.5～12h,24h 恢复正常,因此,尽管 HL-2 联合 HIFU 损伤肝组织存在灰阶超声实时监控的困难,但乳化碘油的共同特点使其在肝脏肿瘤的 HIFU 治疗上存在潜在的巨大价值,本研究结果只证明了乳化碘油联合 HIFU 损伤正常兔肝脏组织的有效性和增效性,有关其在治疗超声(HIFU)领域的安全性、可控性和实时监控的方法以及对肿瘤的治疗效果、尚值得进一步研究。

参 考 文 献

[1] Ward BA, Miller DL, Frank JA, et al. Prospective evaluation of hepatic imaging studies in the detection of colorectal metastases: correlation with surgical findings[J]. Surgery, 1989; 105(2Pt 1): 180-187.

[2] Stude RA, Hedlund LW, Johnson GA, et al. Contrast enhancement of the liver. Evaluation by automated contiguous pixel search[J]. Invest-Radiol, 1987; 22(2): 132-136.

[3] G ter Haar, I Rivens, L Chen, et al. High intensity focused ultrasound for the treatment of rat tumors[J]. Phys Med. Biol, 1991; 36: 1495-1501.

[4] 刘宝琴,熊树华,王智彪,等. 体外不同频率高强度聚焦超声的生物学焦域[J]. 中国超声医学杂志, 2002; 6: 417-420.

[5] Sibille A, Prat F, Chapelon JY, et al. Characterization of extracorporeal ablation of normal and tumor-bearing liver tissue by high intensity focused ultrasound[J]. Ultrasound Med Biol, 1993; 19(9): 803-813.

[6] 邹建中. HIFU 高强度聚焦超声治疗肿瘤的超声定位、实时监控及疗效评价[J]. 临床超声医学杂志, 2001; 3(增刊), 23-29.

[7] Yang R, Sanghvi NT, Rescorla FJ, et al. Extracorporeal Liver Ablation Using Sonography-Guided High-Intensity Focused Ultrasound[J]. Invest Radiol, 1992; 27(10): 796-803.

[8] Shu Qun Cheng, XD Zhou, Zhao You Tang, et al. High-intensity focused ultrasound in the treatment of experimental liver tumour[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 1997; 219-223.

[9] 许乙凯,乔东访,刘杏元,等. 乳化碘油作为静脉注射肝脾特异性造影剂的实验研究[J]. 中国医学计算机成像杂志, 1999; 2(5): 135-137.

[10] 王鸿儒,主编. 医用物理学概论[M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1993; 146.

[11] Cheng SQ, Zhou XD, Tang ZY, et al. Iodized oil enhances the thermal effect of high intensity focused ultrasound on ablating experimental liver cancer[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 1997; 123: 639-644.

(上接第 508 页)

(现作者在江西医学院第一附属医院骨科工作)

参 考 文 献

[1] Drescher W, Furst M, Hahne HJ, et al. Survival analysis of hips treated with flexion osteotomy for femoral head necrosis [J]. J-Bone-Joint-Surg-Br, 2003; 85(7): 969-974.

[2] Stulberg BN. Osteonecrosis: what to do, what to do[J]! J-Arthroplasty. 2003; 18(3 Suppl 1): 74-79.

[3] 杨志明,李彦林,解慧琪,等. 生物衍生骨支架材料的组织相容性研究[J]. 中华整形外科杂志, 2002; 18(1): 6-8.

[4] 蒋电明,安 洪,吴祖尧. 异体脱蛋白骨关节移植的初步实验与临床应用[J]. 伤残医学杂志, 1998; 6(1): 5-8.

[5] Street J, Bao M, de Guzman L, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002; 99(15): 9656-9661.

[6] 孟纯阳,安 洪,蒋电明,等. 带蒂骨膜包裹脱蛋白骨、血管内皮细胞生长因子复合体修复关节端缺损的实验研究[J]. 中华创伤杂志, 2003; 19(7): 413-415.

[7] Zelzer E, Mamluk R, Ferrara N, et al. VEGFA is necessary for chondrocyte survival during bone development[J]. Development, 2004; 131(9): 2161-2171.

[8] Symes JF. Gene therapy for ischemic heart disease: therapeutic potential[J]. Am J Cardiovasc Drugs, 2001; 1(3): 159-166.

[9] Tsurumi Y, Kearney M, Chen D, et al. Treatment of acute limb ischemia by intramuscular injection of vascular endothelial growth factor gene[J]. Circulation, 1997; 96(9S): II-382-388.

[10] Yang C, Yang S, Du J, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair of avascular necrosis of the femoral head of rabbit[J]. Chin Med J(Engl), 2003; 116(10): 1544-1548.