维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2001)04－0413－03

能量可控陡脉冲对离体肿瘤组织杀伤作用的观察

李大强[1],熊　兰[2],胡丽娜[1],刘维超[1],淦洪波[1],廖瑞金[2],孙才新[2]

(1.重庆医科大学第二临床学院妇产科　重庆　400010;2.重庆大学电气工程学院　重庆　400044)

【摘　要】目的:证实能量可控陡脉冲对离体肿瘤组的杀伤作用。方法:利用能量可控陡脉冲对临床上确诊的手术离体新鲜肿瘤组织作肿瘤杀伤的对比观察。结果:显示为肿瘤组织体积缩小,组织学证实肿瘤细胞凝固性或液化性坏死,细胞结构模糊不清,核固缩、核碎裂、核溶解,肿瘤血管变性坏死。结论:能量可控陡脉冲具有确切的杀灭肿瘤细胞作用。

【关键词】能量可控陡脉冲;抗肿瘤

【中国图书分类法分类号】R73.3　　【文献标识码】A　　【收稿日期】2000－12－25

Observation of injuring effect of energy controllable steep pulses on tumor tissues cut from the hosts' body

LI Da－qiang, et al

(Department of Obstetrics and Gynecology, Second College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University)

【Abstract】 ***Objective***: To demonstrate injuring effect of energy controllable steep pulses on tumor tissues. ***Methods***: Energy controllable steep pulses were used to observe the injuring effect on tumor tissues clearly diagnosed and cut from patients' bodies by operation. ***Results***: The volumes of the treated tumors shrank and histological assay showed coagulative or colliquative necrosis of tumor cells. Cellular structure was obscured. There was pyknosis, karyorrhexis and karyolysis. Blood vessels of tumors showed degeneration and necrosis. ***Conclusion***: Energy controllable steep pulses have injuring effect on tumor cells.

【Key words】 Energy controllable steep pulses; Antitumor

恶性肿瘤已成为威胁人类健康的主要疾患。传统的治疗方法对恶性肿瘤的疗效仍不够理想,近 20 年来电化学治疗(Electrochemotherapy, ECT)等新技术相继得到发展。Nordenstrom[1]提出生物闭合电路(BCEC)和血管－间质闭合电路(VICC)系统理论首创直流电化学疗法,具有简便易行、安全可靠、创伤性小及并发症少等优点,但不能彻底杀死治疗灶周围的癌细胞及改变细胞癌转移的范围。Mir 等[2]等应用电穿孔(Electroporation)技术与化疗药物相结合提高化疗药物渗入癌细胞的数量,疗效更高,但仍属化学疗法,有毒副作用。真正单用脉冲电场治疗恶性肿瘤的研究尚未进入临床实验阶段。本文为能量可控陡脉冲(Energy controllable steep pulses)对离体肿瘤组织杀伤效应的观察,初探能量可控陡脉冲治疗肿瘤的可能性及有效性。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　能量可控陡脉冲治疗样机　与重庆大学电气工程学院联合研制生产,能输出电压可调(0kv～2kv),脉冲前沿可调(ns～us 级),脉宽可调(us～ms 级),周期可调(ms～s 级)的脉冲信号,电极针用足铂金制成,直径 0.69mm,长度为 5～10cm。

1.1.2　数值化测温仪,pH 试纸。

1.1.3　临床资料　20 例恶性肿瘤(卵巢癌 5 例,乳癌 5 例,胃癌 5 例,直肠癌 2 例,横结肠癌 2 例,膀胱癌 1 例)及 5 例良性肿瘤(子宫肌瘤)均来自本院手术离体后的新鲜组织,术前经活检或术中冰冻病理确诊。男 5 人,女 20 人,年龄 34－

作者介绍:李大强(1974－　),男,四川宣汉人,博士研究生,主要研究方向:肿瘤的综合治疗

基金资助:国家自然科学基金资助(50077027)

维普资讯 http://www.cqvip.com

76 岁,平均年龄 59 岁,按国际抗癌协会 TNM 分期:良性 5 例,恶性肿瘤:Ⅰ期(7 例),Ⅱ期(7 例),Ⅲ期(5 例),Ⅳ期(1 例)。

1.2 方法

肿瘤组织离体后,立即取未坏死的肿瘤组织 1cm×1cm×1cm~3cm×4cm×5cm 于治疗台上,通过电极针引入脉冲信号,根据肿瘤大小以针距 1cm 或 2cm 布针,阳极插入肿瘤组织中心,阴极插入肿瘤组织边缘,使陡脉冲作用范围覆盖整个瘤体。对不同的肿瘤组织施加不同的治疗参数:电压 200V~800V,陡度 1us~10us,脉宽 0.33ms~6.1ms,频率为 3Hz~100Hz,处理时间 5min~30min。阴极区及阳极区分别以 pH 试纸测定酸碱度的变化,用数值化测温仪的探针插入治疗区以测定温度的变化。处理后以针为中心以 0.25cm 的距离连续取材,取未作用区域的肿瘤组织为对照。10% 甲醛固定,石蜡包埋,HE 染色,进行组织学观察。

2 结 果

2.1 肉眼观察 对照组(恶性肿瘤)瘤体质硬,灰红色鱼肉状。治疗组:陡脉冲处理 5 min 后电极周围有排液排气现象,以后逐渐增多,瘤体逐渐缩小变软,阳极区表面干涸,皱缩。以阳极针为圆心,凝固性坏死区扩大,并与周围组织界清。阴极区表面液体多,表面微饱满,液化性坏死区逐扩大,界清,阴阳极坏死区直径为 0.25cm~2.5cm。



图 1 HE×40

图 1:乳癌对照组:见癌细胞生长活跃,细胞密集,界清,核大染色深,核异型性明显,见核分裂像。

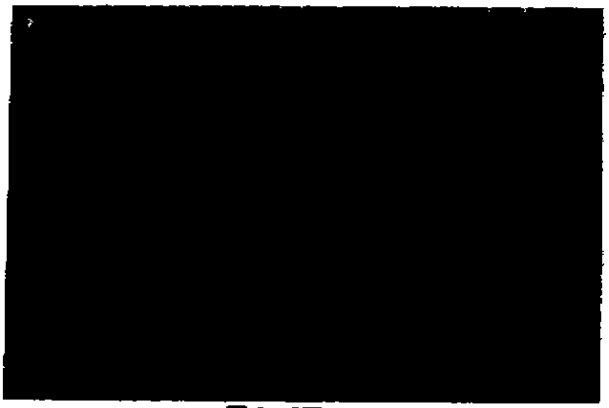


图 2 HE×40

图 2:乳癌实验组:核固缩、核破裂、核溶解,细胞结构不清,细胞融合。



图 3 HE×20

图 3 膀胱移行细胞癌实验组:见肿瘤血管变性坏死,癌细胞呈凝固性坏死及部分残留癌细胞。



图 4 HE×4

图 4 胃粘液腺癌对照组:见癌巢。



图 5 HE×40

图 5:胃粘液腺癌实验组:见核固缩,核碎裂、核溶解、细胞结构不清,细胞融合。

2.2 pH 及温度的变化 pH 试纸测试发现阳极区 pH 值为 1~2,阴极区 pH 值为 12~14,经数显测温仪测温后发现治疗后温度有一定增加,且治疗的时间越长,温度升高越多,最高温度为 57℃,并且发现阳极针附近温度高于阴极针附近。

2.3 组织学观察 对照组:恶性肿瘤细胞生长活

维普资讯 http://www.cqvip.com

跃,细胞密集,间质少,癌细胞界清,核大染色深,核质比(N/P)增大,核异型性明显及核分裂像多。实验组:癌细胞边界不清,胞质融合,核固缩、核碎裂、核溶解,肿瘤血管变性坏死,血栓形成,在一些切片中发现残留癌细胞现象。



图 6 HE×40

图 6:胃粘液腺癌实验组:见腺管的轮廓存在,但核固缩、核碎裂、核溶解现象非常明显。

3 讨 论

电化学治疗肿瘤技术自 Nordenstrom[1]开创以来受到国内外学者的广泛关注。本实验装置产生的能量可控陡脉冲信号作用于离体肿瘤组织,发现对不同组织学来源及病理类型的肿瘤均具有确切的杀灭肿瘤细胞作用。杀伤肿瘤细胞的机制可能如下:(1)肿瘤生存环境的变化:肿瘤组织比正常组织对环境的改变更为敏感,这是放疗、化疗及电化学治疗肿瘤的理论基础。我们在实验中发现能量可控陡脉冲作用下,肿瘤细胞及周围组织的 pH 值发生明显改变,阳极区为强酸性(pH 为 1～2),阴极区为强碱性(pH 为 12～14),至致使肿瘤细胞的生存环境发生剧变,DNA、酶、蛋白质构象发生变化,功能丧失,最终导致肿瘤细胞死亡[3];(2)血管效应:Ramirez 等[4]及 Cemazar 等[5]在各自的实验模型中发现脉冲作用区域有暂时的血流低灌注现象,血管内皮细胞改变,管腔内血栓形成。发现陡脉冲作用于离体肿瘤组织后,肿瘤血管变性坏死及血栓形成,影响肿瘤的血供,导致细胞死亡;(3)本实验证实温度变化不明显,可能热效应在陡脉冲杀伤肿瘤细胞过程中不起主要作用,证明它与肿瘤热疗不同。阳极区温度高于阴极区,与阴极区液化性坏死而阳极区凝固性坏死有关;(4)同时试验证明,脉冲作用时间短,针距宽,或电压低作用的肿瘤组织有残存癌细胞现象,说明疗效与治疗参数有关。总之,陡脉冲对离体肿瘤组织具有确切的杀伤作用,值得进一步研究探索其杀伤机制,为进一步的临床应用打下基础。

参 考 文 献

[1] Nordenstrom BEW. Biologically closed electric Circuit [M]. Uppsala: Sweden Nordic Medical publication, 1983; 269－274.

[2] Mir LM, Orlowski S, Belehradek J, et al. Electrochemotherapy potentiation of antitumor effect of bleomycin by local electric pulses[J]. Eur J Cancer, 1991; 27(1): 68－72.

[3] 辛育龄,徐帮宁. 癌症的电化学治疗[M]. 北京:人民卫生出版社, 1995; 2－7.

[4] Ramirez LH, Orlowski S, Bindoula G, et al. Electrochemotherapy on liver tumors in rabbits[J]. Br J Cancer, 1998; 77(12): 2104－2111.

[5] Cemazar M, Miklavcv D, Scancar J, et al. Increased platinum accumulation in SA－1 tumor cells after in vivo electrochemotherapy with cisplatin[J]. Br J Cancer, 1999; 79(9/10): 1386－1391.

(上接第 409 页)理想地到达心脏各个部位而失去良好心肌保护的先心病患儿,IPC 则更有可能成为一种补充或替代选择。同时由于本实验的心肌保护效果是在心麻痹液参与下获得的,这将有利于 IPC 和传统心肌保护措施的结合。

参 考 文 献

[1] Zhubin, Minsu, Longcun, et al. Single ischemic preconditioning in immature rabbit hearts[C]. Fifth China International Congress on TCVS(ABSTRACT). 2000; 306.

[2] Awad WI, Shattock MJ, Chambers DJ. Ischemic preconditioning in immature myocardium[J]. Circulation, 1998; 98: 206－213.

[3] Baker JE, Holman P, Gross GJ. Preconditioning in immature rabbit hearts: role of K_{ATP} channels[J]. Circulation, 1999; 99: 1249－1254.

[4] 潘楚雄,张炳熙,赵 延,等. 缺血预处理对心肌不同缺血方式下保护作用的实验研究[C]. 2000 年中华麻醉学术年会论文摘要汇编. 2000; 9; 52－53.

[5] 龙 村. 体外循环研究与实践[M]. 第 1 版. 北京:北京医科大学出版社, 2000; 178－182.