

碳酸氢铵溶液增效高强度聚焦超声消融新鲜离体牛肝的实验研究

冯 罡 夏纪筑 许春燕 王志刚

摘要 目的 研究碳酸氢铵溶液增效高强度聚焦超声(HIFU)消融离体牛肝的作用。方法 以不同功率(120 W、150 W、180 W、210 W)HIFU 消融离体牛肝,比较注射碳酸氢铵溶液的实验组与注射 PBS 溶液的对照组的凝固性坏死体积、灰度差及灰度区域面积。结果 HIFU 消融功率为 120 W 时,实验组出现凝固性坏死,体积约(11.53±4.93)mm³,而对照组无明显凝固性坏死;功率为 150 W 时,实验组凝固性坏死体积为(50.41±33.7)mm³,显著大于对照组[(8.60±4.14)mm³],差异有统计学意义($P < 0.05$);消融功率为 180 W 时,实验组凝固性坏死体积与对照组比较差异无统计学意义;消融功率为 210 W 时,实验组凝固性坏死体积为(39.84±13.62)mm³,显著小于对照组[(62.79±11.32)mm³],差异有统计学意义($P < 0.05$)。当 HIFU 消融功率为 120 W、150 W 时,实验组灰度差和灰度区域面积均显著高于对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 在功率 120 W、150 W 时,碳酸氢铵溶液具备增效 HIFU 消融离体牛肝的作用。

关键词 高强度聚焦超声;碳酸氢铵溶液;消融;牛肝,离体
[中图分类号] R332;R445.1 [文献标识码] A

Study on ammonium bicarbonate improving high intensity focused ultrasound efficiency for ablating bovine liver in vitro

FENG Gang, XIA Jizhu, XU Chunyan, WANG Zhigang

Institute of Ultrasound Imaging, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

ABSTRACT Objective To study the effect of ammonium bicarbonate solution on improving high intensity focused ultrasound(HIFU) efficiency to ablate bovine liver in vitro. **Methods** After ablating bovine liver in vitro with HIFU under different power levels(120 W, 150 W, 180 W, 210 W), the volumes of coagulative necrosis, gray scale difference and gray area of the experimental group with ammonium bicarbonate solution injection and the PBS-injected control group were measured. **Results** When HIFU ablation power was 120 W, the volumes of coagulation necrosis was (11.53±4.93)mm³ in experimental group, while no coagulation necrosis in control group. When power was 150 W, the volumes of coagulation necrosis was (50.41±33.7)mm³ in experimental group, which was larger than that in control group[(8.60±4.14)mm³], there was significant difference($P < 0.05$). When power was 180 W, there was no significant difference between the experimental group[(22.70±12.15)mm³] and the control group[(15.47±6.48)mm³]. However, the volumes of the coagulation necrosis in experimental group[(39.84±13.62)mm³] was obviously smaller than that in control group[(62.79±11.32)mm³] when power was 210 W, there was significant difference ($P < 0.05$). When HIFU ablation power were 120 W and 150 W, the gray scale difference and gray area in experimental group were obviously higher than those in control group, there were significant difference(all $P < 0.05$). **Conclusion** With appropriate power(120 W, 150 W), ammonium bicarbonate solution is able to assist HIFU in ablating bovine liver in vitro.

KEY WORDS High intensity focused ultrasound; Ammonium bicarbonate; Ablation; Bovine liver, in vitro

高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)作为一种治疗肿瘤的方法,以其微无创的优点广泛应用于临床。但在某些情况下仍然存在治疗时间较长及治疗功率较高等缺点,易引起一系列非靶区损

伤。研究^[1]指出超声造影剂微泡可显著提高 HIFU 治疗肿瘤的效率,然而微泡不能通过肿瘤血管内皮间隙到达血管外肿瘤组织,容易引起治疗靶区移位或焦点前损伤等。有学者^[2]制备了包裹液态全氟己烷的纳米

基金项目:国家自然科学基金重大项目(81227801);国家自然科学基金青年项目(81501481)

作者单位:400010 重庆市,重庆医科大学超声影像学研究所

通信作者:王志刚,Email:wzg62942443@163.com

微球来增加 HIFU 的治疗效果, 这种微球稳定性好, 可长时间循环聚集于肿瘤组织(即 EPR 效应), 避免了上述缺点。但其相变后体积会显著增大, 可能引起血管栓塞, 存在一定的风险^[3]。近期有学者^[4]制备了包裹碳酸氢铵溶液的脂质体来促进阿霉素释放, 研究表明脂质体内的碳酸氢铵溶液在受热后可不断分解产生 CO₂, 且过程中脂质体粒径无明显改变。如将其应用于增效 HIFU 治疗肿瘤, 则有可能避免上述风险。为了解其有无增效 HIFU 作用, 本实验拟先通过消融新鲜离体牛肝实验初步了解其核心的碳酸氢铵溶液有无增效 HIFU 作用, 为下一步研究包裹碳酸氢铵溶液脂质体增效 HIFU 作用打下基础。

材料与方法

一、实验试剂、材料及仪器

分析纯级碳酸氢铵(成都市科龙化工试剂厂), 自制 PBS 溶液, 自制 0.2 g/ml 碳酸氢铵溶液; 新鲜离体牛肝; JC 型聚焦超声肿瘤治疗系统(重庆海扶技术有限公司)。

二、离体牛肝标本分组

选取同一新鲜牛肝切成 15 cm×10 cm 大小数块, 随机分为注射碳酸氢铵溶液的实验组和注射 PBS 溶液的对照组。

三、HIFU 辐照离体牛肝标本

将牛肝平放于底部有透声薄膜的塑料容器内且其底部浸入脱气水中。沿 HIFU 治疗头 X 轴方向取 3~5 个层面, 每个层面沿治疗头 Y 轴方向选取 3~4 个点作为 HIFU 消融点位置, 每个点间隔 ≥ 1 cm 且尽量避开血管或胆管等管道结构。注射器吸取 100 μl 碳酸氢铵溶液(对照组为 PBS 溶液), 垂直刺入牛肝并注射。注射完后迅速拔出针头并进行点辐照消融, 功率按照 60 W+30 W×n(n 为整数)依次递增, 辐照时间设定为 5 s。每种功率重复 10 个消融点。实验中记录灰度差和灰度区域面积。

四、大体解剖和凝固性坏死体积测量及实验数据的选取

HIFU 消融完毕后, 对离体牛肝进行逐层切片, 寻找消融后凝固性坏死组织并测量坏死部位的长、宽, 计算凝固性坏死体积(公式为 $V = \pi/6 \times \text{长} \times \text{宽} \times \text{宽}$, 单位为 mm³)。从任意一组解剖后出现肉眼可见的凝固性坏死开始, 至两组无明显差异或实验组小于对照组结束。选取这一实验阶段的灰度差、灰度区域面积及凝固性坏死体积进行比较。

五、统计学处理

应用 SPSS 21.0 统计软件, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组比较行独立样本 *t* 检验或秩和检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

当消融功率为 60 W、90 W 时, 两组离体牛肝均未见明显凝固性坏死组织。从 120 W 时, 实验组开始出现凝固性坏死。见图 1。因此, 本研究选取 HIFU 功率为 120 W、150 W、180 W 及 210 W 时两组的灰度差、灰度区域面积及凝固性坏死体积等数据进行统计学分析。

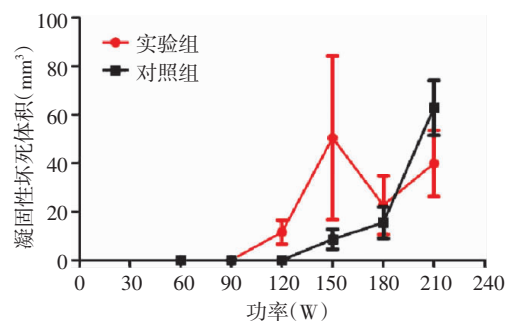


图 1 两组离体牛肝在 HIFU 各功率消融后的凝固性坏死体积变化曲线图

一、两组离体牛肝凝固性坏死体积比较

当 HIFU 消融功率为 120 W 时, 实验组可见凝固性坏死, 而对照组未出现凝固性坏死; 当功率为 150 W 时, 实验组凝固性坏死体积显著大于对照组, 差异有统计学意义(*P* < 0.05); 当功率为 180 W 时, 实验组与对照组比较差异无统计学意义; 而当功率为 210 W 时, 实验组凝固性坏死体积显著小于对照组, 差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 1 和图 2~5。

表 1 两组离体牛肝在不同功率 HIFU 辐照后凝固性坏死体积比较($\bar{x} \pm s$) mm³

组别	120 W	150 W	180 W	210 W
实验组(10)	11.53±4.93	50.41±33.7 [*]	22.70±12.15	39.84±13.62 [*]
对照组(10)	0	8.60±4.14	15.47±6.48	62.79±11.32

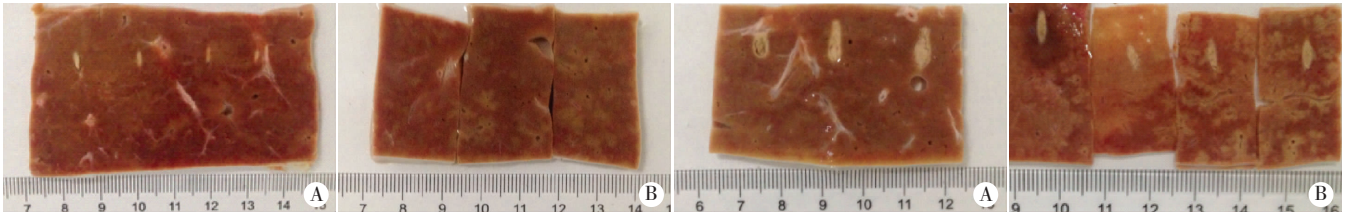
与对照组比较, **P* < 0.05。

二、两组离体牛肝灰度差比较

当 HIFU 消融功率为 120 W、150 W 及 180 W 时, 实验组灰度差均显著高于对照组, 差异均有统计学意义(均 *P* < 0.05); 功率为 210 W 时, 两组比较差异无统计学意义。见表 2 和图 6~13。

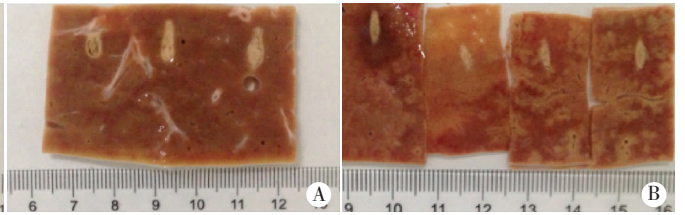
三、两组离体牛肝灰度区域面积比较

当 HIFU 消融功率为 120 W 及 150 W 时, 实验组灰度区域面积均显著高于对照组, 差异有统计学意义(*P* < 0.05); 功率为 180 W 及 210 W 时, 两组比较差



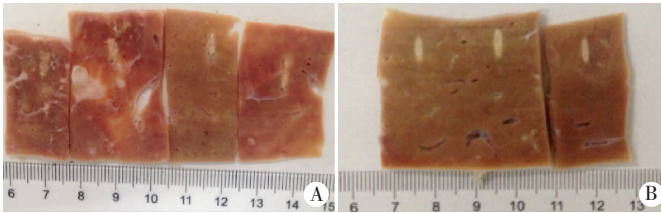
A: 实验组; B: 对照组。

图2 两组 HIFU 120 W 消融后病理对比图



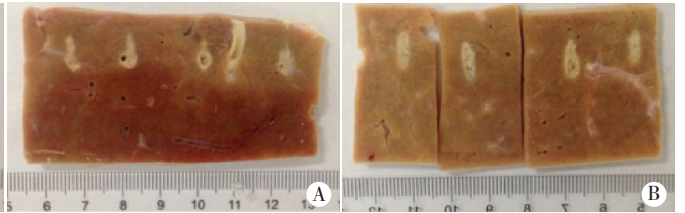
A: 实验组; B: 对照组。

图3 两组 HIFU 150 W 消融后病理对比图



A: 实验组; B: 对照组。

图4 两组 HIFU 180 W 消融后病理对比图



A: 实验组; B: 对照组。

图5 两组 HIFU 210 W 消融后病理对比图

异无统计学意义。见表3和图6~13。

表2 两组离体牛肝在不同功率 HIFU 辐照后灰度差比较($\bar{x}\pm s$)

组别	120 W	150 W	180 W	210 W
实验组(10)	57.20±13.10*	67.50±24.00*	52.00±14.63*	77.90±14.21
对照组(10)	4.80±4.89	25.50±10.94	28.40±13.39	64.50±14.30

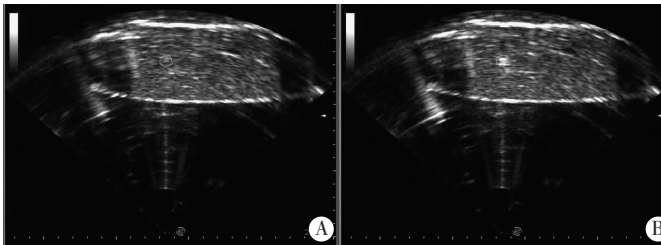
与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

表3 两组离体牛肝在不同功率 HIFU 辐照后

灰度区域面积比较($\bar{x}\pm s$) mm^2

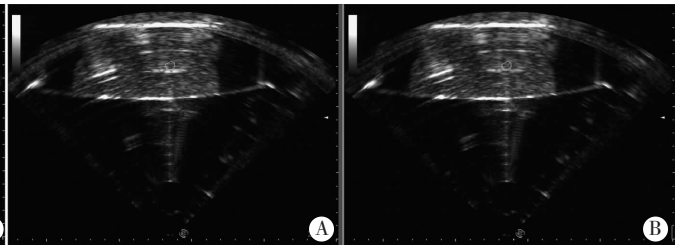
组别	120 W	150 W	180 W	210 W
实验组(10)	66.50±12.60*	60.10±7.99*	52.80±7.83	54.30±10.22
对照组(10)	45.90±10.10	45.10±7.46	51.20±7.36	64.60±16.47

与对照组比较, * $P < 0.05$ 。



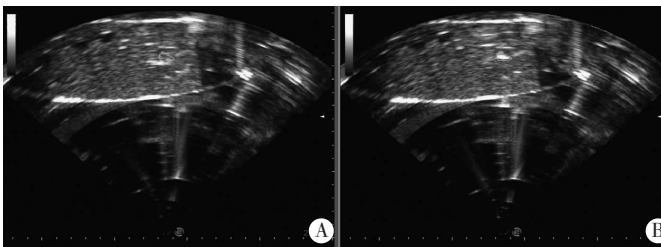
A: 消融前; B: 消融后。

图6 实验组 HIFU120 W 消融前后对比声像图



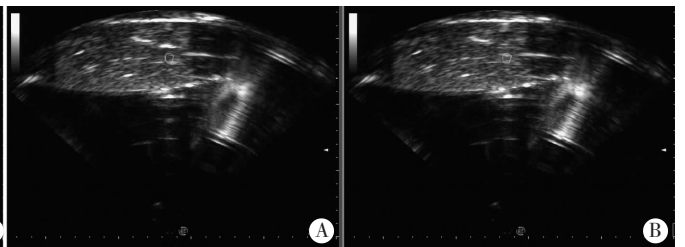
A: 消融前; B: 消融后。

图7 对照组 HIFU120 W 消融前后对比声像图



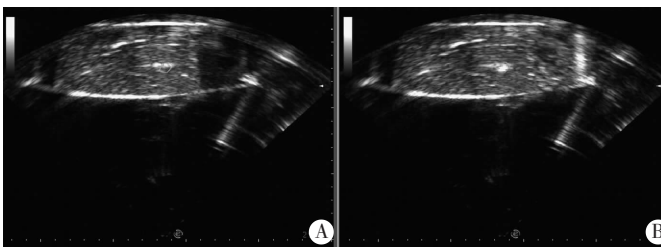
A: 消融前; B: 消融后。

图8 实验组 HIFU150 W 消融前后对比声像图



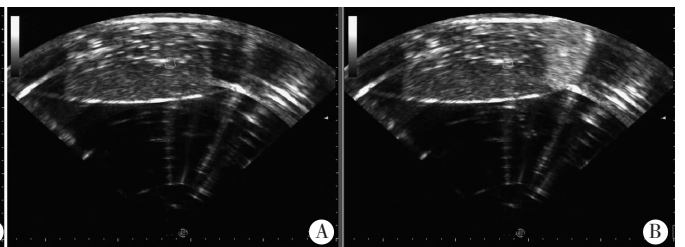
A: 消融前; B: 消融后。

图9 对照组 HIFU150 W 消融前后对比声像图



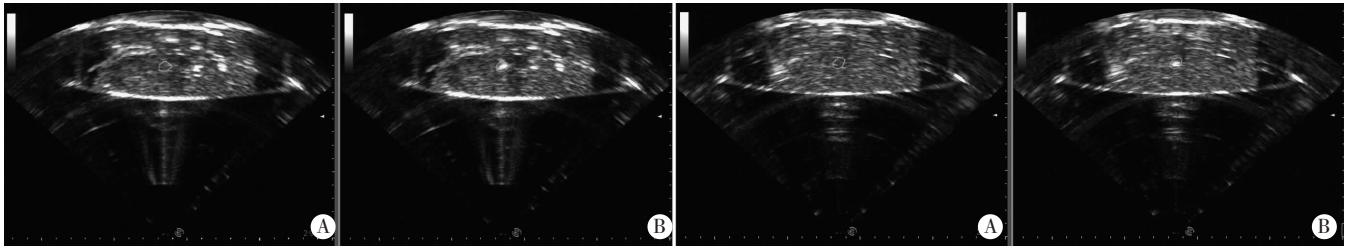
A: 消融前; B: 消融后。

图10 实验组 HIFU180 W 消融前后对比声像图



A: 消融前; B: 消融后。

图11 对照组 HIFU180 W 消融前后对比声像图



A: 消融前; B: 消融后。

图 12 实验组 HIFU210 W 消融前后对比声像图

A: 消融前; B: 消融后。

图 13 对照组 HIFU210 W 消融前后对比声像图

讨 论

目前 HIFU 消融治疗肿瘤已经广泛应用于临床,特别是组织或器官的实体肿瘤如乳腺癌、肝癌及胰腺癌等。与传统的治疗方法如手术和放化疗比较, HIFU 具有对人体损伤小、副作用小的优点。然而临床 HIFU 治疗过程中有时会遇到肿瘤位置较深或骨骼阻挡等情况使得 HIFU 治疗效率下降, 治疗功率增大及治疗时间延长, 使得声通道内非靶区正常组织的损伤概率大大增加。针对这些问题, 相继出现了许多 HIFU 增效剂如碘化油、吡啶及超声造影剂等用以提高 HIFU 治疗的效率, 其中被证实比较有效的是通过超声造影剂微泡来增加 HIFU 的治疗效果, 其原理可能与微泡的存在增加了 HIFU 的空化效应, 以及促进 HIFU 能量沉积有关^[5]。然而微泡粒径较大且体内稳定性较差, 难以通过长时间循环来聚集于血管外肿瘤组织, 可能会出现靶区移位或焦点前损伤。有学者^[2]制备了包裹液态氟碳的全氟已烷微球, 其稳定性好且粒径较小可以聚集于肿瘤组织, 克服了微泡的上述缺陷, 用于增效 HIFU 时也取得了良好的效果。但这种微球经过液气相变后体积大大增加, 有可能会引起某些小血管的栓塞, 因此存在一定的风险。

碳酸氢铵溶液在加热条件下可以分解产生 CO_2 , 研究^[4]表明包裹碳酸氢铵溶液的脂质体在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 时比较稳定, 分解很慢; 在 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 以上时, 则快速分解产生大量 CO_2 。且在分解过程中脂质体粒径未发生明显变化, 其原因可能与 CO_2 较易弥散有关。这种脂质体稳定性比较好, 可在体内循环 4 h 后通过 EPR 效应聚集于肿瘤组织。而 HIFU 能使焦点处局部组织迅速升温至 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 以上, 且超声波还具有很强的机械振动效应, 更不利于 CO_2 的溶解。因此理论上 HIFU 可轻易触发包裹碳酸氢铵溶液的脂质体产生 CO_2 。反过来, CO_2 气泡作为空化核又可能增强 HIFU 的空化效应, 促进超声波能量的沉积, 从而增强 HIFU 治疗效果, 缩短 HIFU 治疗时间, 以及减少 HIFU 治疗过程中正常组织的损伤。为应确定这种脂质体的 HIFU 增效作用, 本实验首先应确定其核心的碳酸氢铵溶液是否具备增效 HIFU 的作用。

本实验中设计了注射碳酸氢铵溶液的实验组和注射 PBS 溶液的对照组, 比较两组在各种不同功率 HIFU 消融后的灰度差、灰度区域面积及凝固性坏死体积。虽然 HIFU 消融过程中超声监控的灰度差及灰度区域面积在一定程度上可以反映 HIFU 消融的效果, 但 HIFU 的消融效果最终还是取决于凝固性坏死体积大小。本研究从 HIFU 功率 60 W 开始消融, 逐渐增大 HIFU 功率(每次增加 30 W), 消融后切开牛肝寻找凝固性坏死组织。研究发现, 当功率为 60 W 、 90 W 时, 两组牛肝切开均未见明显凝固性坏死组织, 直至功率为 120 W 时, 实验组开始出现了凝固性坏死但对照组仍无未出现, 至功率为 210 W 时, 实验组凝固性坏死体积已经明显小于对照组。因此本实验选取了功率为 120 W 、 150 W 、 180 W 及 210 W 时两组的灰度差、灰度区域面积及凝固性坏死体积等数据进行统计学分析, 以期发现碳酸氢铵溶液影响 HIFU 消融离体牛肝的规律。本实验结果表明, 当 HIFU 消融功率为 120 W 、 150 W 及 180 W 时, 实验组灰度差均显著高于对照组。而对于灰度区域面积来说, 功率为 120 W 和 150 W 时, 实验组显著大于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而功率为 180 W 及 210 W 时, 两组灰度区域面积无显著差异。对于凝固性坏死体积来说, 功率为 120 W 时, 对照组未见明显坏死(对应的灰度差改变仅为 4.80 ± 4.89), 而实验组出现了坏死; 当功率为 150 W 时, 两组均出现凝固性坏死, 且实验组凝固性坏死体积显著大于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。当功率为 180 W 时, 两组凝固性坏死体积无明显差异; 而功率为 210 W 时, 实验组凝固性坏死体积反而显著小于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

从上述结果发现, 两组灰度差及灰度区域面积与凝固性坏死体积的变化并不完全一致。如功率为 180 W 时, 实验组灰度差显著高于对照组, 但两组灰度区域面积和凝固性坏死体积比较却无明显差异; 当功率为 210 W 时, 两组灰度差值和灰度区域面积比较无明显差异, 但实验组凝固性坏死体积却明显小于对照组。仅在消融功率为 120 W 、 150 W 时, 两组灰度差、灰度区

域面积及凝固性坏死体积比较,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),说明在此情况下,碳酸氢铵溶液具有增效 HIFU 消融离体牛肝的作用。

从两组数据的比较中,本实验可以总结出一些规律,当 HIFU 消融功率较低时(90 W 及以下),碳酸氢铵溶液无增效 HIFU 的作用。原因可能是当功率较低时,即使 HIFU 可以促使碳酸氢铵溶液分解产生 CO_2 气体,加强 HIFU 的空化效应及促进 HIFU 能量沉积,然而由于能量较低,依然不足以使组织发生凝固性坏死。当 HIFU 消融功率较高时(180 W、210 W),碳酸氢铵溶液也无明显增效效果甚至可能妨碍 HIFU 的作用。原因可能是当功率较高时,HIFU 本身的能量足以使组织发生凝固性坏死,无需气体增效,甚至可能因气体的存在妨碍 HIFU 的治疗。仅当功率合适时(120 W、150 W),碳酸氢铵才能起到增效 HIFU 的作用。原因可能是合适的 HIFU 功率可促使碳酸氢铵溶液产气,进而促进 HIFU 能量的沉积和增强 HIFU 的空化效应,因此增加了 HIFU 消融治疗的效果。

综上所述,当消融功率为 120 W、150 W 时,碳酸氢铵溶液均具有良好的增效作用,为下一步包裹碳酸氢铵溶液脂质体增效 HIFU 实验打下了基础。

参考文献

- [1] Stride EP, Coussios CC. Cavitation and contrast: the use of bubbles in ultrasound imaging and therapy[J]. Proc Inst Mech Eng H, 2010, 224(2): 171-191.
- [2] Zhou Y, Wang Z, Chen Y, et al. Microbubbles from gas-generating perfluorohexane nanoemulsions for targeted temperature-sensitive ultrasonography and synergistic HIFU ablation of tumors[J]. Adv Mater, 2013, 25(30):4123-4130.
- [3] 周洋,王志刚. 液态氟碳相变的研究进展[J]. 临床超声医学杂志, 2012, 14(6):402-405.
- [4] Chen KJ, Chaung EY, Wey SP, et al. Hyperthermia-mediated local drug delivery by a bubble-generating liposomal system for tumor-specific chemotherapy [J]. ACS Nano, 2014, 8(5):5105-5115.
- [5] Luo W, Zhou X, Tian X, et al. Enhancement of ultrasound contrast agent in high-intensity focused ultrasound ablation[J]. Adv Ther, 2006, 23(6):861-868.

(修回日期:2016-03-11)

· 病例报道 ·

Ultrasonic diagnosis of duodenal diverticulum beside the gallbladder: a case report 超声诊断胆囊旁十二指肠憩室 1 例

高楠 白媛媛 牟培源

[中图分类号] R445.1

[文献标识码] B

患者女,39岁,无不适症状。半年前于我院超声检查仅于肝左叶矢状部旁探及一囊肿。半个月前外院复查另于胆囊旁探及一大小约 1.5 cm×1.4 cm 肝囊肿,现于我院再次复查,超声显示:肝左叶矢状部旁可探及一囊肿,另于十二指肠与胰头之间可探及一大小约 1.6 cm×1.5 cm 无回声区,边界尚清(图 1);CDFI 于其内及周边未探及明确血流信号。多切面扫查见其与胆囊、胰腺及十二指肠关系较密切。脂餐试验(+),无回声区大小未改变,排除胆囊憩室,超声诊断:十二指肠憩室可能,不排除胰头区占位。当日 CT(吞钡)检查诊断:胆囊窝区高密度结节(图 2),考虑良性病变,同时排除胰腺占位。行上消化道钡餐检查证实为十二指肠憩室。

讨论:无症状十二指肠憩室易漏诊,在肠内容物进入憩室又不易排出而引发潴留时,可导致各种并发症。十二指肠憩室分为先天性憩室、原发性憩室及继发性憩室,先天性憩室壁的结构与正常肠壁完全相同,继发性十二指肠憩室多因十二指肠溃疡瘢痕收缩或慢性胆囊炎粘连牵拉所致。本例患者十二指肠憩室

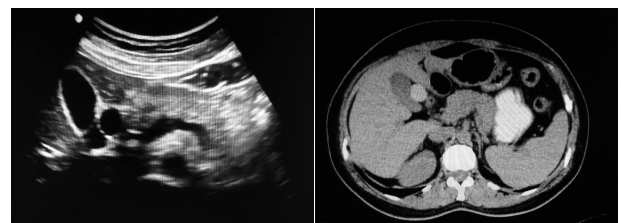


图 1 声像图示胆囊旁近胰腺处 图 2 CT 示胆囊窝区高密度结节探及无回声区

位于胆囊旁较少见,并且其壁肌层组织较薄或缺乏,易误诊为肝囊肿、胆囊憩室或胰腺占位,需经胃镜或钡餐确诊。胃镜虽为诊断该病金标准,但患者有一定痛苦,依从性低;上消化道钡餐痛苦小,但有辐射。超声检查方便、易行,可重复性高,对疑似十二指肠憩室患者需重复检查、病情监测,可为临床提供诊断信息,有助于患者及时治疗。

(修回日期:2016-05-15)