

低强度超声辐照对兔左室心肌收缩力影响的实验研究

刘学兵 吕霖漪 李赵欢 舒庆兰 邓 燕 尹立雪

摘要 目的 应用低强度超声辐照兔左室心肌,探讨其对兔心肌收缩力的影响。方法 选取8只新西兰白兔,设置超声辐照输出功率0.75 W,最大声强 0.8 W/cm^2 ,从心尖区向左室长轴方向辐照25 min,间隔1周后再辐照50 min,应用M型超声于左室中间段短轴切面获取辐照前、辐照25 min和辐照50 min兔左室射血分数(LVEF),Qlab图像分析软件获取左室基底段、中间段、心尖段和整体心肌内层圆周应变,计算其绝对值,比较辐照前后上述参数的差异;计算并比较辐照前与辐照50 min各节段心肌内层圆周应变绝对值差值,比较辐照前后上述参数的差异。实验结束后处死2只兔,观察其心尖部心肌及微血管病理变化。**结果** 与辐照前比较,辐照25 min及50 min兔LVEF均增大,且辐照50 min时LVEF大于辐照25 min,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。辐照前、辐照25 min及50 min兔左室整体心肌内层圆周应变绝对值依次增大,差异有统计学意义($P<0.05$);辐照50 min兔左室基底段心肌内层圆周应变绝对值大于辐照前,辐照25 min和50 min兔左室中间段及心尖段心肌内层圆周应变绝对值均大于辐照前,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。辐照前与辐照50 min兔左室基底段、中间段、心尖段心肌内层圆周应变绝对值差值比较差异有统计学意义($F=7.95, P<0.001$),心尖段心肌内层圆周应变绝对值差值与基底段、中间段比较差异均有统计学意义($t=5.62, 3.23, P=0.002, 0.03$)。病理检测结果显示,辐照50 min后兔心肌细胞未见明显肿胀、变性及坏死,心肌微血管未见出血及破裂。**结论** 低强度超声辐照兔左室心肌可产生明显的正性肌力作用,随着辐照时间的增加心肌收缩功能可得到改善,且靠近超声发射区的左室心尖段改善更为显著。

关键词 超声心动描记术;超声辐照;应变,心肌收缩力;兔

[中图分类号]R540.45

[文献标识码]A

Experimental study on the effect of left ventricular myocardial contractility in rabbits by low intensity ultrasound irradiation

LIU Xuebing, LV Linyi, LI Zhaohuan, SHU Qinglan, DENG Yan, YIN Lixue

Ultrasound in Cardiac Electrophysiology and Biomechanics Key Laboratory of Sichuan Province, Sichuan Provincial People's Hospital, Affiliated Hospital of University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610094, China

ABSTRACT Objective To irradiate left ventricular myocardium in rabbits by low intensity ultrasound, and to explore the effect of the myocardial contractility. **Methods** Eight New Zealand white rabbits were irradiated from the apex of the heart towards the left ventricular major axis for 25 min and 50 min after 1 week by low intensity ultrasound, respectively, and the output power was 0.75 W, the maximum sound intensity was 0.8 W/cm^2 . The left ventricular ejection fraction (LVEF) was obtained by M-mode ultrasound at the short axis section of the middle segment of the left ventricle before irradiation and 25 min, 50 min after irradiation. The circumferential strain at the basal segment, the middle segment and apex segment of the left ventricle, and the global myocardium inner layer were obtained by Qlab analysis software, the absolute value were calculated, the absolute differences of the circumferential strain in the myocardium inner layer of the corresponding segment before irradiation and 50 min after irradiation were calculated and compared. 2 rabbits were killed after experiment, the pathological changes of apical myocardium and microvessels were observed. **Results** LVEF of 25 min and 50 min after irradiation were higher than that before irradiation, and LVEF of 50 min after irradiation was higher than that of 25 min after irradiation, the differences were statistically significant (all $P<0.05$). The absolute value of left ventricular global circumferential strain before irradiation, 25 min and 50 min after irradiation were increased successively, and the difference was statistically significant (all $P<0.05$). The absolute value of circumferential strain in the myocardium inner layer of the left ventricular basal segment in 50 min after irradiation was higher

基金项目:国家自然科学基金项目(81671852);四川省科技厅项目(2019YFS0436, 2022NSFSC0662)

作者单位:610094 成都市,电子科技大学附属医院 四川省人民医院超声心脏电生理学与生物力学四川省重点实验室

通讯作者:尹立雪, Email: yinlixue@yahoo.com

than that before irradiation, the absolute values of the circumferential strain of myocardium inner layer of left ventricular middle and apex in 25 min after and 50 min after irradiation were higher than those before irradiation, the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). There was statistical significance in the absolute difference of circumferential strain of myocardium inner layer of left ventricular basal segment, middle segment and apex segment before irradiation and 50 min after irradiation ($F = 7.95$, $P < 0.001$). There were statistically significant differences in the absolute difference of circumferential strain of inner myocardium between the apical segment, the basal segment and the middle myocardium ($t = 5.62, 3.23, P = 0.002, 0.03$). The pathological results showed that 50 min after irradiation, there was no obvious swelling, degeneration or necrosis of the rabbit myocardial cells, and there was no bleeding or rupture of the myocardial microvessels. **Conclusion** Low intensity ultrasound irradiation of left ventricular myocardium of rabbits can produce obvious positive inotropic effect, the increase of irradiation time can improve myocardial systolic function, and the improvement of left ventricular apical segment near the ultrasonic emission area is more significant.

KEY WORDS Echocardiography; Ultrasound irradiation; Strain, myocardial contractility; Rabbit

随着人口老龄化加剧,心力衰竭患者逐年增加。目前的药物治疗(如地高辛、米力农等)及非药物治疗(如心脏再同步化治疗、人工心脏辅助装置等)方法均存在一定副作用^[1]。研究^[2]显示超声辐照产生的机械刺激、热效应及生物效应均可诱导心肌细胞膜通透性、钙离子浓度发生改变,且血流量的增加可促进心肌细胞正性肌力作用的产生。超声辐照在冠心病及心力衰竭患者中的应用已取得了一定进展,既往研究^[3-4]显示低强度超声辐照可提高冠心病患者左室射血分数(LVEF),且对组织血管无明显副作用。为推动超声辐照在心脏疾病领域中的应用,其辐照最佳时间、部位及安全性等问题均需进一步研究,而辐照部位的选择需了解超声辐照产生正性肌力的分布特点。研究^[5]显示二维斑点追踪分层应变技术能够量化评价左室不同室壁、不同节段和不同层次心肌收缩功能。基于此,本实验应用低强度超声辐照兔左室心肌,旨在探讨其对心肌收缩功能的影响及其分布特点。

材料与方 法

一、实验动物及分组

选取 8 只新西兰白兔(四川省达硕动物研究所提供),3~4 月龄,雌雄不限,体质量 2.0~2.8 kg,平均(2.33±0.31)kg。本实验经我院伦理委员会批准[伦理(研)2019 年第 165 号]。

二、实验仪器与方法

1. 仪器:使用 Philips EPIQ CVx 彩色多普勒超声诊断仪, S9-2 心脏探头,频率 7 MHz; 配备 Qlab 图像分析软件。超声治疗仪使用 DM-300E(深圳德迈科技有限公司)。

2. 常规超声心动图及心肌应变检测:将实验兔固定于操作台上,剪去兔胸前绒毛,取左侧卧位,于臀部肌肉注射地西洋(国药集团容生制药有限公司, 5~10 mg/kg)及速眠新(吉林省华牧动物保健品有限公司, 0.2 mg/kg)镇静,同步连接心电图,调节仪器参数使

超声图像显示最佳,增益约 60%,深度 5 cm,机械指数 0.5。使用常规超声心动图于胸骨旁左室长轴切面测量兔左房前后径, M 型超声于左室中间段短轴切面测量 LVEF,组织多普勒于四腔心侧壁测量舒张早期运动峰值(e),观察辐照后是否出现心律失常及心包积液。待心电图稳定后记录心率,留存大动脉短轴切面左室基底段、中间段及心尖段 4 个连续心动周期的动态图像,应用 Qlab 图像分析软件自动获取左室各节段及整体心肌内层圆周应变,本研究取绝对值进行分析。

3. 超声辐照治疗:所有兔均行超声辐照治疗,设置输出功率 0.75 W,最大声强 0.8 W/cm²,有效声强 0.1 W/cm²,发射频率 1.0 MHz,超声治疗探头有效辐射面积 7.5 cm²,脉冲重复频率 62.5 Hz,脉冲持续时间 1 ms,脉冲重复周期 16 ms。于常规超声心动图引导下选择观察心尖四腔心切面的最佳体表部位,将治疗超声探头置于心尖区辐照 25 min,即刻留存大动脉短轴切面左室基底段、中间段及心尖段动态图像,分别获取兔左房前后径、LVEF、e、心率、左室各节段及整体心肌内层圆周应变,其中圆周应变取绝对值进行分析。间隔 1 周后采用同样方法辐照 50 min,获取上述参数,计算并比较辐照前与辐照 50 min 左室各节段心肌内层圆周应变绝对值差值。

4. 病理检测:实验结束后随机处死 2 只兔,于其左室心尖段心肌行 HE 染色,观察心肌细胞是否存在变性、肿胀及坏死,微血管是否有出血、破裂等病理变化。

三、统计学处理

应用 SPSS 17.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用方差分析,两组比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、超声辐照前后常规超声心动图检测结果比较与辐照前比较,辐照 25 min 和 50 min 兔 LVEF 均增

大,且辐照50 min时LVEF大于辐照25 min,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$);辐照前后左房前后径、e及心率比较差异均无统计学意义。见表1。辐照后所有兔均未出现明显的心律失常及心包积液。

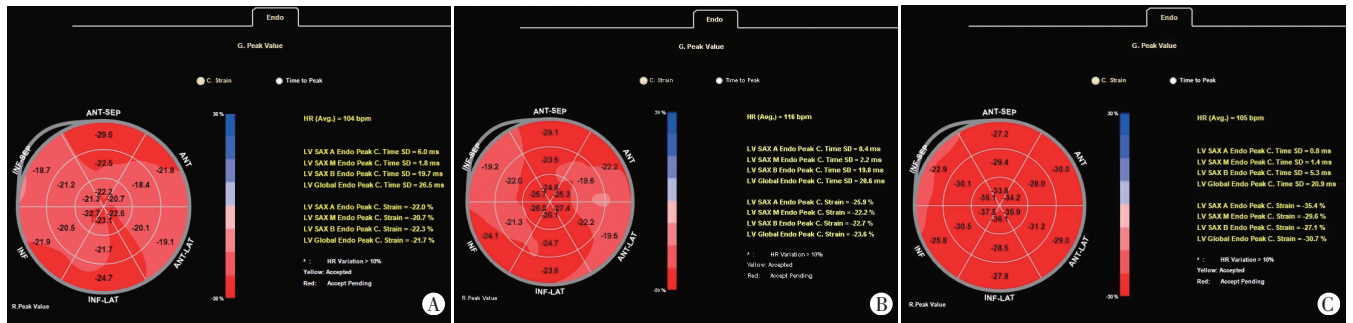
表1 超声辐照前后常规超声心动图检测结果比较

时间	LVEF(%)	e(cm)	左房前后径(cm)	心率(次/min)
辐照前	67.88±3.36	0.11±0.02	0.80±0.02	117.50±31.98
辐照25 min	71.88±2.42*	0.11±0.02	0.81±0.05	118.63±26.97
辐照50 min	77.38±2.13*#	0.11±0.01	0.80±0.02	120.50±30.40
F值	25.21	0.41	0.34	0.02
P值	<0.001	0.67	0.72	0.98

与辐照前比较,* $P<0.05$;与辐照25 min比较,# $P<0.05$;LVEF:左室射血分数;e:舒张早期运动峰值

二、超声辐照前后左室各节段及整体心肌内层圆周应变绝对值比较

辐照前、辐照后25 min和50 min兔左室整体心肌



A: 辐照前心尖段、中间段、基底段及整体心肌内层圆周应变绝对值分别为22.0%、20.7%、22.3%、21.7%; B: 辐照25 min心尖段、中间段、基底段及整体心肌内层圆周应变绝对值分别为25.9%、22.2%、22.7%、23.6%; C: 辐照50 min心尖段、中间段、基底段及整体心肌内层圆周应变绝对值分别为35.4%、29.6%、27.1%、30.7%

图1 同一实验兔辐照前后左室各节段及整体心肌内层圆周应变牛眼图

三、超声辐照前与辐照50 min左室各节段心肌内层圆周应变绝对值差值比较

辐照前与辐照50 min左室基底段、中间段及心尖段心肌内层圆周应变绝对值差值分别为(2.96±1.64)%、(4.98±2.92)%、(7.69±2.40)%,差异有统计学意义($F=7.95, P<0.001$);辐照前与辐照50 min心尖段心肌内层圆周应变绝对值差值与基底段、中间段比较差异均有统计学意义($t=5.62, 3.23, P=0.002, 0.03$),辐照前与辐照50 min基底段心肌内层圆周应变绝对值差值与中间段比较差异无统计学意义($t=2.39, P=0.11$)。

四、病理检测结果

组织病理观察示辐照50 min后兔心肌细胞未见明显肿胀、变性及坏死,心肌微血管未见出血及破裂。见图2。

讨论

既往认为超声辐照用于心脏治疗属于禁忌范围,原因为最佳治疗有效声强与产生负性肌力及心律失

内层圆周应变绝对值依次增大,差异有统计学意义($P<0.05$);辐照50 min兔左室基底段心肌内层圆周应变绝对值大于辐照前,辐照25 min和50 min兔左室中间段及心尖段心肌内层圆周应变绝对值均大于辐照前,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。辐照后各节段及整体心肌内层圆周应变绝对值比较差异均无统计学意义。见表2和图1。

表2 超声辐照前后左室各节段及整体心肌内层圆周应变绝对值比较($\bar{x}\pm s$) %

时间	基底段	中间段	心尖段	整体
辐照前	20.56±2.68	20.19±2.42	20.51±2.12	20.40±1.40
辐照25 min	21.24±1.94	23.38±2.10*	27.16±3.28*	23.93±1.96*
辐照50 min	23.53±2.02*	25.16±2.81*	29.60±3.02*	26.16±2.14*#
F值	3.86	8.39	21.77	19.54
P值	0.04	<0.001	<0.001	<0.001

与辐照前比较,* $P<0.05$;与辐照25 min比较,# $P<0.05$

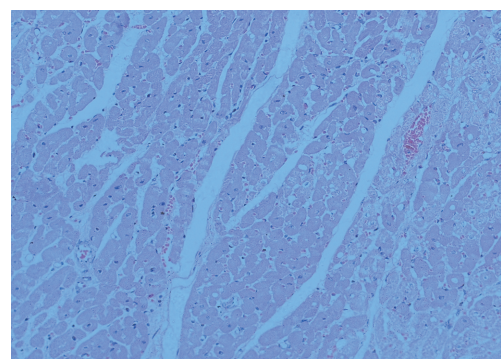


图2 病理图示辐照50 min后兔心肌细胞未见明显变性、肿胀及坏死,心肌微血管未见出血及破裂(HE染色,×400)

常的有效声强相近。但研究^[6-7]显示超声辐照在难治性心绞痛、心肌纤维化及心力衰竭等多种心脏疾病的治疗方面显示出了独特优势。为进一步明确超声精准辐照心脏病变部位及其效果,本实验探讨了低强度超声辐照对兔心肌收缩功能的影响及其分布特点。

本实验常规超声心动图检测结果显示,辐照前兔LVEF与辐照25 min比较差异有统计学意义($P<0.05$),

而左室基底段心肌内层圆周应变绝对值比较差异无统计学意义,超声辐照后 LVEF 的增大主要由左室心尖段及中间段心肌应变绝对值增加导致^[8]。陈自勉等^[5]研究显示心肌应变可定量评估冠心病导致的不同部位心力衰竭患者心功能,因此其也能定量评估超声辐照产生的正性肌力部位。超声辐照导致心肌收缩力增加的机制目前尚未明确,可能与空化效应及热效应使心肌细胞膜的通透性增加和钙离子浓度变化有关,从而诱导心肌细胞的除极、增加微血管血流量及促进心肌细胞代谢,以此增强心肌收缩力。此外,超声辐照还具有血管生成、炎症反应调节、改善心肌纤维化等多种生化作用^[9-10],因此其不仅具有治疗心力衰竭的潜力,还可用于冠心病的治疗,改善心肌微循环,缓解心绞痛、心慌及胸闷等症状,且无明显毒副作用^[11]。通常心肌正性肌力持续时间约 40~60 min,因此本实验选择超声辐照 50 min 作为辐照时间的参考。本研究结果显示,当超声辐照时间增加至 50 min 时,左室各节段心肌内层圆周应变绝对值与辐照 25 min 比较差异虽均无统计学意义,但左室各节段心肌收缩功能及整体心肌内层圆周应变绝对值均较辐照前增加(均 $P < 0.05$),表明随着辐照时间的增加,心肌收缩功能可得到改善。

研究^[12]显示,检测左室各节段心肌内层圆周应变和纵向应变均较径向应变的可行性及重复性更好,故本实验选择通过检测心肌内层圆周向应变以反映各节段心肌收缩力的变化,结果显示整个辐照过程中,左室心尖段心肌内层圆周应变绝对值差值最大,可能与随着超声波传播距离的增加其能量逐渐减弱,机械效应、生物效应及热效应均随着传播距离的增加而减弱有关^[13],超声辐照早期能量主要集中在左室心尖段及中间段,其心肌内层圆周应变明显增加,超声辐照后期左室基底段超声能量逐渐增加使心肌内层圆周应变增加,从而使整体应变增加。本实验也显示辐照前与辐照 50 min 左室心尖段心肌内层圆周应变绝对值差值最大,表明左室心尖段产生的正性肌力最大。

既往研究^[14]显示当有效声强为 $0.20\sim 0.25\text{ W/cm}^2$ 时,超声辐照可引起心肌损伤、负性肌力及心律失常等不良反应;有效声强为 0.15 W/cm^2 时,左室收缩功能增强最明显。由于引起不良反应的有效声强与明显增强心肌收缩力的声强相近,本实验于常规超声心动图引导下采用有效声强为 0.1 W/cm^2 的超声波从体表心尖区辐照左室心肌 50 min,辐照过程中均未见心律失常、心肌组织细胞病理结构的变化,表明在低有效声强范围内,即使增加辐照时间其生物效应也很难引起心肌细胞的损伤,在有效避免心肌副作用的同时又可产生明显的心肌正性肌力作用。因此,有效声强

为 0.1 W/cm^2 的超声辐照可作为今后临床应用的参考数值。

综上所述,低强度超声辐照免左室心肌可产生明显的正性肌力作用,随着辐照时间的增加心肌收缩功能可得到改善,且靠近超声发射区的左室心尖段改善更为显著。但本实验样本量较小,未采用心力衰竭动物模型进行超声辐照,需今后进一步深入研究。

参考文献

- [1] Presti CR, Crenshaw NA. Overview of ventricular assist devices and the total artificial heart [J]. *Dimens Crit Care Nurs*, 2021, 40(1): 3-13.
- [2] 尹立雪. 心力衰竭物理治疗的新路径——超声波辐照诱导正性肌力的基础和临床研究[J]. *西部医学*, 2018, 30(4): 469-473.
- [3] Qiu Q, Chen S, Qiu Y, et al. Cardiac shock wave therapy in coronary artery disease: a systematic review and Meta-analysis [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9(6): 932193.
- [4] Liu B, Zhang Y, Jia N, et al. Study of the safety of extracorporeal cardiac shock wave therapy: observation of the ultrastructures in myocardial cells by transmission electron microscopy [J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2018, 23(1): 79-88.
- [5] 陈自勉, 刘磊, 邵军, 等. 二维斑点追踪分层应变技术评价高胆红素血症新生儿早期左心室收缩功能改变的临床价值[J]. *医学影像学杂志*, 2023, 33(6): 961-965.
- [6] Li H, Liu ML. Cardiac shock wave therapy: an alternative non-invasive therapy for refractory angina [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(16): 5402-5410.
- [7] Wang L, Tian X, Cao Y, et al. Cardiac shock wave therapy improves ventricular function by relieving fibrosis through PI3K/Akt signaling pathway: evidence from a rat model of post-infarction heart failure [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8(6): 693875.
- [8] 郑丽娜, 罗辉, 唐奇, 等. 超声心动图在冠心病心力衰竭心肌应变中的评估价值研究[J]. *长春中医药大学学报*, 2022, 38(6): 674-677.
- [9] Monma Y, Shindo T, Eguchi K, et al. Low-intensity pulsed ultrasound ameliorates cardiac diastolic dysfunction in mice: a possible novel therapy for heart failure with preserved left ventricular ejection fraction [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(5): 1325-1338.
- [10] Cuomo A, Pirozzi F, Tocchetti CG. Low-intensity pulsed ultrasound (LIPUS) in heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF): lupus in fabula? [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(5): 1238-1240.
- [11] Charles EJ, Tian Y, Zhang A, et al. Pulsed ultrasound attenuates the hyperglycemic exacerbation of myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2021, 161(4): 297-306.
- [12] Adachi H, Asanuma T, Masuda K, et al. Deterioration of longitudinal, circumferential, and radial myocardial strains during acute coronary flow reduction: which direction of strain should be analyzed for early detection? [J]. *Int J Cardiovasc Imaging*, 2020, 36(9): 1725-1735.
- [13] Maruvada S, Liu Y, Sonesson EJ, et al. A closer look at ultrasonic attenuation and heating in a tissue-mimicking material [J]. *Phys Med Biol*, 2018, 63(24): 245008.
- [14] Petrishchev NN, Vlasov TD, Galagudza MM, et al. Effect of low-frequency low-intensity ultrasound on contractile function of isolated heart [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2002, 133(4): 327-329.

(收稿日期: 2023-05-22)