

❖ 实验研究

Ablation canine renal sympathetic nerve with high intensity focused ultrasound

CHEN Shu-bei, GAO Da-zhong*, RONG Shun-kang, HUANG Jing, QIAN Jun, YIN Fu-yu
(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the changes of canine renal sympathetic nerve after HIFU ablation with different sound power. **Methods** Twelve healthy hybridization canines were randomly divided into 4 groups according to sound power: 150 W group, 200 W group, 250 W group and control group (each $n=3$). The target area for ablation was bilateral renal artery, which underwent continuous linear scanning. The line length was 10 mm, scanning the midpoint and renal artery overlap with speed of 6 mm/s, and ablation was repeated 2 times. Six days later, all dogs were sacrificed, the ablated renal artery and surrounding tissues were harvested for HE staining and immunohistochemical examination, and the changes of renal sympathetic nerve and renal artery were observed. **Results** After different sound power HIFU ablation, renal sympathetic nerve showed varying degrees of injury in each ablation group, but renal artery vascular structure were still integrity, without obvious anomaly compared with control group. **Conclusion** HIFU is a safe and effective ablation method of canine renal sympathetic nerve. Higher sound power brought more obvious renal sympathetic nerve damage.

[Key words] High-intensity focused ultrasound ablation; Animal experimentation; Renal sympathetic nerve

高强度聚焦超声体外消融犬肾交感神经

陈姝蓓, 高大中*, 容顺康, 黄晶, 钱俊, 尹富禹
(重庆医科大学附属第二医院心血管内科, 重庆 400010)

[摘要] **目的** 观察不同声功率的 HIFU 体外消融犬肾交感神经的损伤情况。 **方法** 将 12 只健康杂交犬随机平均分为 4 组, 分别为消融声功率 150 W 组、200 W 组、250 W 组及对照组, 以两侧肾动脉为治疗靶区进行连续直线扫描, 线长 10 mm, 扫描线的中点与肾动脉重叠, 扫描速度 6 mm/s, 重复消融 2 次。6 天后将实验犬处死, 对消融后的肾动脉及周围组织进行 HE 染色及免疫组化染色, 观察肾交感神经及肾动脉的变化。 **结果** 经不同声功率 HIFU 消融后, 各消融组神经均出现不同程度损伤, 而肾动脉血管结构完整, 与对照组相比无差异。 **结论** HIFU 能安全且有效地消融犬肾交感神经; 声功率越高, 肾交感神经损伤越明显。

[关键词] 高强度聚焦超声消融术; 动物实验; 肾交感神经

[中图分类号] R445.1; R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2013)06-0867-04

高血压是心血管病中最常见的疾病之一。近年来, 研究^[1]发现交感神经系统在原发性高血压的发生、

发展中具有决定作用。HIFU 是局部治疗肿瘤的新手段, 是一种非侵入性手术路径、无创或微创技术, 并已广泛应用于临床治疗。本研究观察不同声功率的 HIFU 体外消融犬肾交感神经的损伤情况。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要仪器

1.1.1 实验动物 健康杂种家犬 12 只(由重庆医科大学动物中心提供), 体质量 15~20 kg, 雌雄不拘。

[基金项目] 国家自然科学基金科学仪器基础专项(30527001)。

[作者简介] 陈姝蓓(1986—), 女, 重庆人, 在读硕士, 医师。研究方向: 高血压的治疗。E-mail: wincywin0122@yahoo.com.cn

[通讯作者] 高大中, 重庆医科大学附属第二医院心血管内科, 400010。E-mail: lovemount@126.com

[收稿日期] 2013-01-06 **[修回日期]** 2013-03-31

实验前禁饲 12 h, 禁饮 6 h。以 3% 戊巴比妥钠 (30 mg/kg 体质量) 麻醉, 腹部 8.8% 硫化钠溶液脱毛, 75% 乙醇脱脂, 负压吸引脱气。

1.1.2 实验设备 JC-200 型聚焦超声肿瘤治疗系统 (重庆海扶技术有限公司), 由治疗系统、超声影像系统、水处理系统、运动系统、操作系统和功率源等组成。治疗参数: 治疗头频率 0.98 MHz, 直径 220 mm, 焦距 140 mm。治疗头可在 x、y、z 3 个方向随意运动。

1.2 方法 将麻醉后的犬侧卧保定于装满脱气水的治疗台, 腹部浸于脱气水中。在彩色多普勒超声引导下找出肾动脉长轴的最佳消融层面 (图 1), 分别取每侧肾动脉近段、中段和肾门段进行消融, 双侧消融声功率保持一致。采用连续直线扫描, 线长 10 mm, 扫描线中点与肾动脉重叠, 扫描速度 6 mm/s, 重复消融 2 次, 分为 150 W 组、200 W 组和 250 W 组, 每组 3 只实验犬。将对照组 (n=3) 犬置于治疗台上, 不予任何消融处理。

1.3 组织学观察 消融后 6 天处死动物, 取出肾动脉及周围组织, 以 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h, 常规石蜡包埋, 5 μm 切片, 行 HE 和免疫组化 (SABC 法) 染色, 并以普通光学显微镜观察消融后其组织病理学改变。免疫组化染色一抗为鼠抗犬多克隆钙黏蛋白抗体 (Abcam 公司), 二抗为生物素化兔抗鼠 IgG (北京中衫金桥公司), DAB 显色, 苏木精复染。普通光学显微镜观察, 检测肾动脉内皮细胞钙黏蛋白 (E-Cadherin) 的表达。

2 结果

12 只犬在消融过程中及之后 6 天内均健康存活。消融过程中可见多普勒血流信号减弱, 约 10 s 后恢复

正常。消融结束时, 所有动物肾动脉血流信号正常。

2.1 大体形态观察 250 W 组中, 肉眼观可见肾动脉外所包绕的脂肪组织消融灶呈淡红色 (图 2), 而靶区以外邻近组织如肠、脾、肝及肾上腺未见出血、溃疡等损伤。150 W 组及 200 W 组均未见明显异常。

2.2 组织学观察 肾血管: 低倍镜下可见左、右侧肾血管均结构完整、内膜细胞连续无脱落、血管平滑肌细胞排列整齐, 无炎性细胞浸润, 无明显增生及狭窄; 高倍镜下可见平滑肌细胞胞浆呈红色、胞核蓝色, 细胞大、小形态正常 (图 3), 与对照组相比未见明显差异。

肾交感神经: 150 W 组中, 神经纤维部分水肿, 嗜酸性细胞深染, 仅少量神经纤维空泡样改变; 200 W 组损伤较 150 W 组明显加重, 胞浆偏蓝、水肿, 呈黏液样变, 约 50% 神经纤维出现空泡样改变; 250 W 组神经纤维多出现空泡样变, 施万细胞核出现深染、固缩、碎裂等改变 (图 4)。对照组神经纤维施万细胞核呈椭圆形、淡染, 排列整齐, 无空泡 (图 4D)。

2.3 免疫组化染色 肾动脉内皮细胞可见钙黏蛋白表达, 呈棕褐色, 连续、无脱落 (图 5), 提示消融靶区域内的肾动脉内膜保持完整。

3 讨论

高血压疾病的治疗形势十分严峻, 目前我国成人高血压患者约有 2 亿, 其中约 20%~30% 为顽固性高血压^[2]。难治性高血压通常血压较高、病程偏长、心脑血管疾病并发症多, 且严重并发症如脑卒中、心力衰竭、心肌梗死、终末期肾病等的发生率明显升高。交感神经的过度激活是原发性高血压发生发展中的重要机制, 可使肾素-血管紧张素系统和醛固酮系统激活、肾脏及全身各组织去甲肾上腺素释放增多, 引起肾脏水

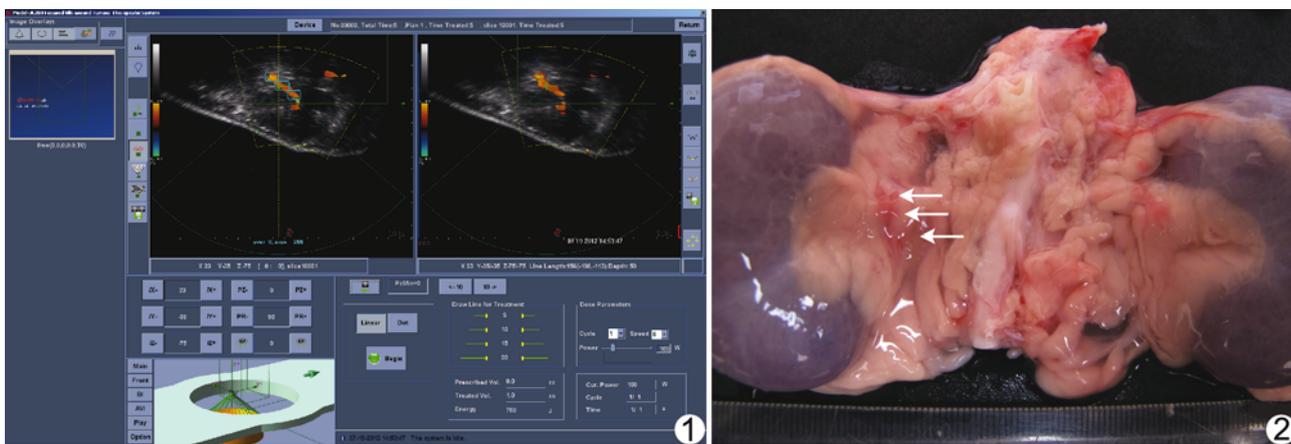


图 1 肾动脉彩色多普勒图像 HIFU 焦点分别于犬肾动脉近、中、远段实施消融 (左图蓝色方框所示); 右图为犬肾动脉长轴彩色多普勒血流图 图 2 消融后犬肾脏组织大体标本 肾动脉外包绕的脂肪组织出现淡红色的消融灶, 形状呈长条形, 与 HIFU 焦点行走一致 (箭)

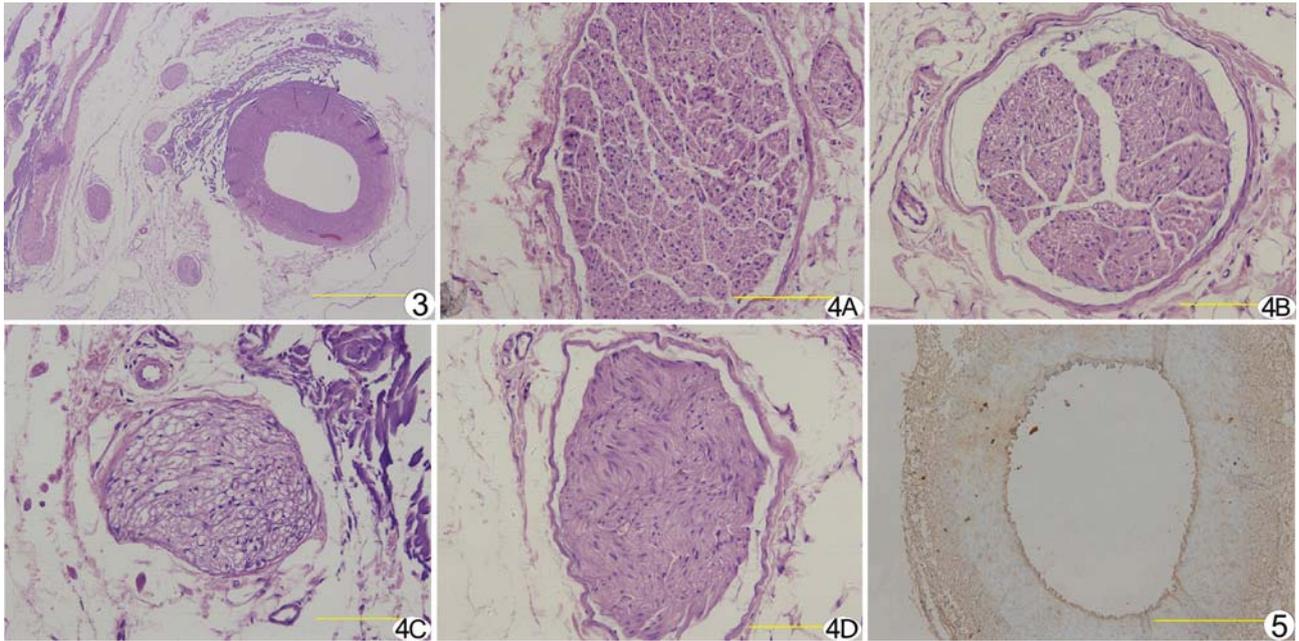


图 3 声功率 250 W 组 损伤的犬交感神经纤维散在分布于肾动脉周围,肾动脉形态基本正常,血管壁无明显增生及狭窄,无炎性细胞浸润,血管内膜完整无脱落(HE, $\times 40$) 图 4 犬肾交感神经光学显微镜观察(HE, $\times 400$) A. 150 W 组神经纤维细胞部分水肿,仅少量神经纤维空泡样改变; B. 200 W 组损伤较 150 W 组明显加重,胞浆偏蓝、水肿,呈黏液样变,约 50% 神经纤维出现空泡样改变; C. 250 W 组神经纤维多出现空泡样变,施万细胞核出现深染、固缩、碎裂等改变; D. 对照组神经纤维施万细胞核呈椭圆形、淡染,排列整齐,形态正常

图 5 犬肾动脉免疫组化染色 肾动脉形态基本正常,血管内膜完整,全层可见钙黏蛋白表达,呈棕褐色改变(SABC, $\times 200$)

纳滞留增多,最终导致血压升高。研究^[3-4]发现交感神经的过度激活也与糖尿病、心律失常、呼吸暂停综合征等多种疾病有密切关系。但是,传统治疗高血压药物联合治疗顽固性高血压病的效果却十分有限^[5]。研究^[6-8]发现采用肾交感去神经化可取得安全持续降压的显著疗效。一项临床研究^[7]选取 45 例顽固性高血压患者,以肾交感神经作为去交感化的靶点,在 X 线定位下通过股动脉路径将导管分别推送至双侧肾动脉近段、中段和肾门段进行射频消融,治疗顽固性高血压成功,疗效良好。

HIFU 利用高强度超声体外聚焦于体内,通过超声的机械效应、热效应、空化效应等,使靶点处的温度瞬间达到 65~100℃,致蛋白质变性及组织细胞发生凝固性坏死^[8-9]。HIFU 技术具有非侵入性手术路径、无接触性的靶区消融等优势,而靶区以外的周围组织无损伤。目前 HIFU 技术已经广泛应用于恶性肿瘤、泌尿系统及良恶性妇科疾病的治疗^[10-12]。

近年来 HIFU 已用于损毁外周神经,通过抑制神经传导功能来治疗痉挛和疼痛。研究^[10]表明,不同组织对超声敏感性不同。血管对超声能量具有较好的耐受性,而神经组织则对超声非常敏感。因此本实验利用 HIFU 消融犬肾动脉周围的肾交感神经。

本实验采用彩色多普勒定位消融区域,肾动脉血流清晰,定位准确。在消融过程中出现多普勒血流信号减弱,可能是由于肾动脉受到刺激引起的一过性痉挛,但 10 s 内即能自行恢复。本实验使用超声消融肾交感神经,也避免了 X 线辐射对患者和术者带来的不良反应。本实验分别选择 150、200、250 W 三组声功率,焦点为直线扫描,直接横跨肾动脉壁;病理及免疫组化结果均提示肾血管结构完整光滑,血管平滑肌细胞排列整齐,无炎性细胞浸润,无明显增生及狭窄,但肾交感神经出现不同程度损伤,并且高强度聚焦超声声功率越高,肾交感神经损伤越明显。但本实验尚未能找到最合适的消融剂量范围,也未建立高血压犬模型,有待进一步研究。

综上所述,HIFU 能安全、有效地消融犬肾交感神经,而且声功率越高,肾交感神经损伤越明显。

[参考文献]

- [1] Dibona GF. The sympathetic nervous system and hypertension: Recent developments. *Hypertension*, 2004, 43(2):147-150.
- [2] Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Heart disease and stroke statistics—2010 update: A report from the American Heart Association. *Circulation*, 2010, 121(7):e46-e215.

[3] Brandt MC, Mahfoud F, Reda S, et al. Renal sympathetic denervation reduces left ventricular hypertrophy and improves cardiac function in patients with resistant hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 59(10):901-909.

[4] Mahfoud F, Schlaich M, Kindermann I, et al. Effect of renal sympathetic denervation on glucose metabolism in patients with resistant hypertension: A pilot study. *Circulation*, 2011, 123(18):1940-1946.

[5] Law MR, Morris JK, Wald NJ. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: Meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. *BMJ*, 2009, 338:b1665.

[6] Symplicity HTN-1 Investigators. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: Durability of blood pressure reduction out to 24 months. *Hypertension*, 2011, 57(5): 911-917.

[7] Symplicity HTN-2 Investigators, Esler MD, Krum H, et al. Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): A randomised controlled trial. *Lancet*, 2010, 376(9756):1903-1909.

[8] Warshaw AL, Fernández-del Castillo C. Pancreatic carcinoma. *N Engl J Med*, 1992, 326(7):455-465.

[9] 陈杰, 易华容, 王彬, 等. 高强度聚焦超声治疗中的空化及其与回声、热效应之间的关系. *中国医学影像技术*, 2009, 25(10):1896-1898.

[10] Zhang L, Chen WZ, Liu YJ, et al. Feasibility of magnetic resonance imaging-guided high intensity focused ultrasound therapy for ablating uterine fibroids in patients with bowel lies anterior to uterus. *Eur J Radiol*, 2010, 73(2):396-403.

[11] Illing RO, Kennedy JE, Wu F, et al. The safety and feasibility of extracorporeal high-intensity focused ultrasound (HIFU) for the treatment of liver and kidney tumours in a Western population. *Br J Cancer*, 2005, 93(8):890-895.

[12] 邓凤莲, 邹建中, 李锐, 等. 高强度聚焦超声治疗子宫肌瘤对骶骨影响因素探讨. *中国介入影像与治疗学*, 2009, 6(5):457-460.

《能谱 CT 临床应用图谱》已出版

由大连医科大学附属第一医院刘爱连教授主编的《能谱 CT 临床应用图谱》于 2012 年 8 月由人民军医出版社正式出版发行。本书是由大连医科大学附属第一医院牵头, 东京女子医科大学与 GE CT 研究中心共同参与编撰完成, 是业界第一本详细介绍能谱 CT 基本原理及临床应用的图谱。

全书由 9 章 40 节 201 个病例组成, 全面介绍了能谱分析工具的原理及其在头颈、呼吸、循环、骨骼、消化及泌尿系统的临床应用。全书注重与常规 CT 的影像进行对比, 突出能谱 CT 的优势; 针对不同病例, 优化出最佳、最具特异性的能谱工具, 进行定性、定量分析, 便于读者对能谱综合分析平台临床应用的理。为推广能谱临床化做好铺垫。本图谱约 64 万字, 定价 198 元, 全国各新华书店和当地医学书店有售, 也可网上购买。

出版社联系人: 王兰(010-51927252)。

