

人组织液医学超声空化阈值的研究^{*}

朱 霆 (第四军医大学西京医院超声科 西安·710032)

马玉英 尚志远 张若昕 (陕西师范大学声学所 西安·710062)

本文用荧光法检测医用理疗级连续波超声作用于人组织液(血清、血浆)发生空化产生的自由基, 超声阈值强度 I_{SATA} (空间平均时间平均声强) 分别为 $0.75 \text{ W/cm}^2 \sim 0.85 \text{ W/cm}^2$ 和 0.7 W/cm^2 。本研究证明荧光法是检测医学超声空化的有效方法, 并提供离体人组织液超声空化安全阈值的研究结果, 同时发现人血清、人血浆空化的程度及空化与声强相关关系不同。

Cavitation threshold in human blood serum and plasma induced by medical ultrasound

ZHU Ting (Department of Ultrasound Diagnosis,
Xijing Hospital, The 4th Military Medical University, Xian 710032)

MA Yuying SANG Zhiyuan ZHANG Ruoxin
(Applied Acoustic Institute, Shanxi Teachers University, Xian · 710062)

A new technique named chemical fluorescent spectrometer(CFS) was applied to determine the free radicals induced by cavitation of medical thermotherapy ultrasound. Free radicals were detected in ionated human blood serum and plasma (exposed time 5 min., nominal working frequency 856 kHz, spatial-average time-average intensity I_{sa}), the cavitation threshold intensity in exposed human tissue liquids was measured to be $0.75 \sim 0.85 \text{ W/cm}^2$ for blood serum, and 0.7 W/cm^2 for blood plasma. Our work proved CFS was an useful, reliable, accurate and sensitive method to detect microcavitation induced by medical ultrasound. The cavitation threshold intensity of human blood serum and plasma was important for safety researching. In the meantime, exposed upon the same intensity of ultrasound, cavitation in serum and plasma was different, i. e., the cavitation degree related with intensity in serum was not the same as in plasma.

1 前 言

随着超声仪器在医学领域应用的发展, 可能存在的潜在危害也随之扩大。目前医学超声安全性的问题, 已受到高度重视, 国际上建议在不影响图像质量的情况下, 尽量选用低发射功率的超声, 将超声对敏感器官的检查(如脑、胚胎、卵巢等)列为非常规手段^[1, 2], 我国正在着手建立超声安全使用规范, 制定超声安全剂量标准, 以保障国人身体素质, 保

证超声医学的顺利发展和推广普及。

医学超声产生危害的关键在于非热非机械效应—空化效应, 其产物自由基是细胞致畸的重要因素之一^[3~6]。有文献报道^[4]空化能产生独特的产物 $\cdot\text{OH}$ (羟自由基)和 $\cdot\text{H}$ (氢自由基)。因此, 确定空化是否发生, 发生的条件及其产物, 是制定超声使用安全规范和安全标准的可靠依据。本文尝试用一种新的方法—荧光法进行空化检测, 对人血清和人血浆空化自由基的阈值进行了研究。这在国内外尚属首次。

* 收稿日期: 95-7-25

2. 原理、方法和材料

检测空化的方法很多^[5-7]，如噪音法、发光法、空化腐蚀和电压非线性法，声致化合物的分解(如超声引起碘化合物碘的释放，CCl₄中标识碳的析出，酶活性物质中ATP的释放)，但在医学超声条件下，超声作用剂量小，空化微弱，上述方法不适用，须选用更灵敏更精密的方法。有文献报道^[8]用荧光法检测自由基，浓度可低到ppb级，这是利用自由基与无荧光的物质(又称捕获剂，如对苯二甲酸)反应，生成物具有较强的荧光性，测定反应前后的荧光强度，可以间接推知自由基·OH的量。选用的对苯二甲酸是羟自由基特异性捕获剂^[5]，当超声作用所产生的自由基与之结合，其羟基结合物具有很强的荧光强度。本文将含有对苯二甲酸的人血清，血浆样品在不同声强的连续波超声作用，然后将作用组和对照组进行荧光检测，确定超声是否引发了空化自由基，空化的阈值及程度。

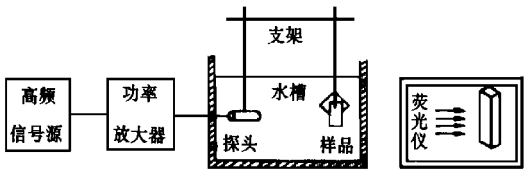


图1 工作原理图

图1为工作原理框图，高频信号源产生856kHz的正弦信号，经功率放大激励 $\phi 4\text{mm}$ 的压电晶片，晶片基振频率为856kHz。血清、血浆均取自正常健康供血者，用PH=7.4的磷酸缓冲液稀释20倍(其中捕获剂浓度为5mmol)。样品用聚乙烯薄膜试管盛放，置于28.5℃除气蒸馏水中，水槽内壁及样品夹具均包裹吸声材料以保证行波场。为使样品在声场中受到的辐射均匀，样品以30转/min的速度沿纵轴旋转，样品与探头位于同一声轴线上距离为10cm(超声探头近场距离为2.7cm)，超声辐照15min后立即

用RF-540荧光仪测定荧光变化情况，超声辐射声强为时间平均空间平均声强 I_{sata} 。

3. 测量结果

声强为0.15~1.5W/cm²变化间隔为0.1W/cm²的超声作用于样品，测得荧光相对强度变化如图2、图3。

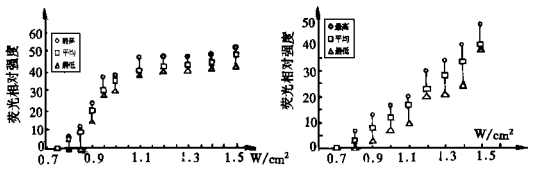


图2 血清荧光变化情况 图3 血浆荧光变化情况

其中最高为同一辐射及样品条件下多组样品中测得的最大值，平均为多组样品多次测量结果的平均值，最低为多组测量得到的最低值。由图2发现，超声空化有一阈值，发生在 $I_{sata}=0.75\sim0.85\text{W/cm}^2$ ，当声强小于0.75W/cm²，通过反复测试，均未发现荧光强度发生变化，而在0.75~0.85W/cm²时，样品荧光强度发生变化。当超声声强逐渐增大至1.1W/cm²时，荧光相对强度变化范围大且与声强变化呈线性相关，超声强度再继续增大时荧光强度变化趋势则变缓。

由图3可见超声空化阈值为0.7W/cm²，而且在所能提供的声强范围里，荧光的变化与声强大小呈很好的线性关系。

用对苯二甲酸的羟基结合物进行荧光测试，对照超声辐射之后荧光变化，得出在声强为1.1W/cm²时血清样品，为1.4W/cm²时血浆样品的空化自由基浓度为 10^{-7}mol 。

4. 讨论

当媒质粘度系数足够低(2.3倍于水，如血浆)，超声频率足够低(2MHz以下)，有合适空化核存在，在合适超声作用下会引发空化效应，空化时会有机械的、热的、光的和化学的变化，虽然只集中在空化核周围，但这些高度集中的能量梯度会裂解水分子形成自由

基^[9]。用荧光法检测超声引发空化产生的自由基,方法新颖并提供声致危害的直接证据。本文用荧光法检测到CW(连续波)超声作用下人血清、血浆空化自由基的存在,空化阈值强度 I_{sata} 分别为 $0.75 \sim 0.85\text{W}/\text{cm}^2$ 和 $0.7\text{W}/\text{cm}^2$,在空化与声强成线性响应的最大区间里,空化自由基的浓度为 10^{-7}mol 。

对照两种样品超声作用后荧光变化曲线,发现其空化阈值相近,血清的空化在 $1.1\text{W}/\text{cm}^2$ 以下与超声强度呈线性相关,空化程度比血浆的强(荧光相对强度变化大),在 $1.1\text{W}/\text{cm}^2$ 以上空化程度变弱,但仍比血浆的强。血浆样品在 $0.7 \sim 1.5\text{W}/\text{cm}^2$ 这样大范围强度作用下,空化程度与声强成线性相关。以上共性与差异可能源于血清与血浆成份的异同。血清与血浆的成份基本相同,只是血清缺少纤维蛋白和损失部分凝血因子^[10],因此它们有合适的空化核,在合适的超声条件下引发了空化,其空化阈值相近。但血浆的粘度主要由血浆中的蛋白质浓度决定,其中纤维蛋白原的影响最为重要,无纤维蛋白的血清粘度较血浆低,其空化的程度就比血浆强,样品中的空化数目一定,在超声剂量达到一定程度后引发的空化趋于饱和,血清较血浆粘度低,因而空化强,在 $1.1\text{W}/\text{cm}^2$ 以上声强作用下有达到饱和的趋势,而血浆未发生空化反应的空化核仍很多,因此在超声剂量达到 $1.5\text{W}/\text{cm}^2$ 以内空化反应仍呈线性。

目前尚未见国内外有关人血样品的空化阈值研究报导,仅有 Edmonds^[11]在 $I_{sata} = 1.3\text{W}/\text{cm}^2$ 的连续波作用下,用电子自旋共振技术(ESR)观测到人血浆和人全血有自由基的报道,以及 Crum^[3]用发光法检测 1MHz CW 作用下猪血浆的空化,阈值为 $0.5 \sim 1.0\text{W}/\text{cm}^2$ 。本文进一步验证了 Edmonds 的结论,并提供了荧光法测定空化自由基阈值。

5. 结 论

(1) 荧光法检测声空化的手段是可行的;

- (2) 人血清稀释液存在空化阈值, 阈值 I_{sata} 为 $0.75\text{W}/\text{cm}^2 \sim 0.85\text{W}/\text{cm}^2$
- (3) 人血浆稀释液空化阈值为 $I_{sata} = 0.7\text{W}/\text{cm}^2$
- (4) 由于粘度的差异,血清、血浆的空化程度与超声剂量的相关关系不尽相同。
- (5) 辐射声强 I_{sata} 分别为 $1.1\text{W}/\text{cm}^2$ 的血清样品, $1.4\text{W}/\text{cm}^2$ 的血浆样品中空化自由基的浓度为 10mol 。

参 考 文 献

1. Stewart et al. 李化茂译,关于超声生物效应和超声辐照强度的文献数据汇编,国外医学生物医学工程分册 1987; 10(6): 350
2. Carstensen, E. L. Acoustic cavitation and safety on diagnostic ultrasound. Ultrasound in Med. & Biol. 1987; 13(10): 597
3. Crum, L. A. 史美克译,声空化和医学超声. 国外医学生物医学工程分册, 1988; 11(4): 265
4. Carmichael, A. J. Free radical production in aqueous solutions exposed by simulated ultrasonic diagnostic conditions. IEEE-UFFC, 1986; 33(2): 148
5. Makino, K. et al. Formation of $\cdot\text{OH}$ and $\cdot\text{H}$ in aqueous solutions by ultrasound using chemical equipment. Radiat. Res. 1983; 96: 416
6. Weissler, A. Formation of hydrogen peroxide by ultrasound waves: free radicals. J. A. C. S., 1959; 81: 1077
7. 冯若. 生物医学超声论文选集. 南京大学出版社, 1987
8. 鲁纯素等. 用荧光法测羟自由基的方法研究. 北京医科大学学报, 1988; 20(3): 183
9. Flynn, H. G. Cavitation Dynamics, Part 1: J. A. S. A., 1975; 57(6): 1379, Part 2: 1976; 58(6): 1975
10. 周衍椒等. 《生理学》. 北京: 人民卫生出版社, 1983
11. Edmonds, E. D. et al., Evidence for free radical production by ultrasonic cavitation in biological medium. Ultrasound in Med. & Biol., 1983; 9(6): 653