

• 实验研究 Experimental research •

自主研发电化学治疗同轴电极与传统针式电极电解效应的对比研究

张琳, 黄学全, 王健, 刘凤秀, 胡春芳

【摘要】 目的 用自主研发同轴电极和直针式电极电解含百里香酚蓝琼脂-NaCl 胶体系统模拟组织毁损, 观察两者的电解效应, 探讨自主研发同轴电极的应用价值。方法 采用百里香酚蓝琼脂-NaCl 胶体系统模拟组织。在实验中保持同轴电极和针式电极的接触面积、间距一致。随着阴极周围 OH⁻ 的聚集, pH 升高, 阴极周围胶体会变为鲜艳的蓝色。将电流分为 1.6、5.0、10.0 和 20 mA 4 组进行实验, 当电量累积到 1、2、4、6、8 库仑时测量阴极变色范围。结果 在恒定直流电作用下, 各电流组同轴电极和针式电极的阴极周围的蓝色量均随电量增加而增加, 各组内同轴电极和针式电极间的作用差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。在给予相同电量时, 对各电流组阴极周围的变色体积进行组间比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 即电流越小作用时间越长, 变色范围越大。结论 自制同轴电极与直针式电极具有相近的电解效果, 可以替代直针式电极在电化学治疗中的应用。

【关键词】 电化学治疗; 同轴电极; 电解; 琼脂

中图分类号: R545 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2012)-02-0148-05

The electrolytic effect in electrochemotherapy: a comparative study between self-prepared coaxial electrode and conventional needle electrode ZHANG Lin, HUANG Xue-quan, WANG Jian, LIU Feng-xiu, HU Chun-fang. Department of Interventional Radiology, Southwest Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China

Corresponding author: HUANG Xue-quan, E-mail: hxq217@mail.tmmu.com.cn

【Abstract】 Objective To evaluate the electrolytic effect of a self-prepared coaxial electrode and the conventional needle electrode, and to discuss the clinical application of the self-prepared coaxial electrode. **Methods** The agar-NaCl colloid system, which was used as an analogue of organic tissue, was prepared for the experiment. The colloid was destructed by electrolysis by using a self-prepared coaxial electrode or a conventional needle electrode separately. The electrolytic effect of the two different electrodes was determined, and the results were compared. The anode was at the center, while the cathodes were located at the surrounding area. In the experiment, the bare surface area and the distance between the electrodes used in the experiment were the same. With the accumulation of OH⁻ around the cathode, the pH profile rose, and meanwhile the agar-NaCl colloid around the cathodes became bright blue in color. Based on the electric current used in the study, the experiments were divided into four groups: 1.6 mA group, 5.0 mA group, 10.0mA group and 20mA group. The color-changed size around the cathode was measured when the accumulative quantity of electric charge reached 1, 2, 4, 6 and 8 coulombs. The results were analyzed. The application of self-prepared coaxial electrode was discussed. **Results** (1) When the current was constant, the size of bright blue agar showed a parallel relationship with the delivered coulomb in all groups. The difference between the self-prepared coaxial electrode and the conventional needle electrode in each group was not significant ($P > 0.05$). (2) Meanwhile, when the delivered dose was constant, the lower the current was and the longer the time was, the larger the volume of blue agar would be. The difference was statistically significant among the four groups ($P < 0.05$). **Conclusion** When the current and delivered coulomb are constant, the electrolytic effect of the self-prepared coaxial electrode is quite the same as that of the conventional needle electrode. Therefore, the self-prepared coaxial electrode can replace the conventional needle electrode in

作者单位: 400038 重庆 第三军医大学西南医院放射介入科

通信作者: 黄学全 E-mail: hxq217@mail.tmmu.com.cn

electrochemotherapy. (J Intervent Radiol, 2012, 21: 148-152)

【Key words】 electrochemotherapy; coaxial electrode; electrolysis; agar

电化学治疗(electrochemotherapy, EChT)的杀伤机制主要在于电化学反应产生的 OH^- 和 H^+ ^[1-2], 虽然同时阳极也产生数量可观的 Cl_2 及衍生的次氯酸, 而 Cl_2 和次氯酸是很强的氧化剂, 但在毁损机制中的作用有限。因此, 本研究着重观察电极处 OH^- 和 H^+ 的弥散情况。研究 EChT 的杀伤机制和发展剂量计划系统时, 主要采用含碳酸氢盐缓冲系统的 NaCl 水溶液作模型, 以 NaCl 溶液模拟组织, 进行理论计算, 但直观模拟并不准确, 因为在电极区气体的释放会导致溶液的强烈搅动从而增强电解质对流。Avramov 等^[3]认为琼脂胶体是较好的电化学治疗模型。我们在 Avramov 等的模型基础上略作改进, 在琼脂中同时加入双向显色剂——百里香酚蓝, 可直观地观察阳极/阴极电化学反应造成的 pH 变化情况。在琼脂胶体中, 阳极区由于 H^+ 积聚, pH 减低, 电极周围呈红色, 阴极区随着 OH^- 浓度增高, 使电极周围胶体呈蓝色, 测量、计算变色的凝胶体积, 可量化 EChT 引起的酸碱变化。本文旨在观察电化学反应过程中, 电极区琼脂凝胶 pH 值的变化规律, 增进对肿瘤电化学杀伤机制的理解, 并评价自主研发 EChT 同轴电极的价值。

1 材料与方法

1.1 主要实验器材

自主研发同轴伞状电极, 以铂铱合金电极、绝缘导管及绝缘涂料, 展开半径为 2.0 cm 和 3.5 cm。针式铂铱电极购于北京中国原子能科学研究院。ZAY-6B 型电化学治疗仪购于北京航空航天大学测控研究所。琼脂糖粉购于美国 Sigma 公司, 百里香酚蓝购于上海试剂三厂。

1.2 实验方法

1.2.1 琼脂糖凝胶制备 5 g 琼脂糖粉加入 495 ml 0.01 mol/L PBS 溶液中, 煮沸至溶液澄清后, 加入百里香酚蓝显色剂 5 ml, 混匀, 转移到电化学检测容器中。

1.2.2 针式电极与同轴电极电解效应的观察方法

①中央插入针式电极 1 只, 与阳极相连, 在半径为 1.75 cm 周围等距离插入电极 5 只与阴极相连。中央电极裸露 5 mm, 插入深度 12 mm。周围电极尖端裸露 2 mm, 插入 11 mm。②将同轴电极插入中央, 中央为裸露 0.5 cm 的铂电极, 周边为电极裸露 2 mm,

中央为阳极, 周围为 5 只阴极。通以恒流直流电, 采用不同的电流强度、电量和作用时间观察。

1.2.3 变色范围的计算 将每个电极周围的变色区看作椭球形, 从正面测相互垂直的两个径为 a、b, 侧面高径为 c, 则变色区体积 $V = \pi abc/6$ 。为了计算准确, 侧面观察变色球体上下位于胶体中央, 球形变色部分无相互融合。在不同电流强度、电量的作用下比较针式电极与同轴电极致琼脂胶体电化学反应情况。每个剂量组均作 2 次实验, 取平均值。

1.2.4 pH 值梯度测定 为了测量方便, 用 2 只裸露 2 cm 的铂针式电极插入盛有琼脂胶体的培养皿中, 电极间距 7 cm。以 5 库仑(C)组为代表。测量变色边缘至外 10 mm 区域的 pH 值, 每隔 2 mm 作为 1 个测量位点。用 12 号注射针抽取琼脂胶体用精密试纸测量并记录。

1.3 统计学分析

计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 计数资料以百分数表示, 所有数据资料应用 SPSS12.0 统计软件统计分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

通电后, 可见阴极周围立即出现鲜艳的蓝色, 呈圆形, 边缘清晰锐利, 随着电荷的聚集, 逐渐增大。阳极区呈浅淡的红色, 边缘模糊, 在红色中心近电极处形成无色区, 边界清晰锐利, 其直径小于红色直径的 1/2, 为 Cl_2 的漂白作用所致(图 1)。由于阳极红色边缘不清晰, 本实验仅测量阴极变色范围。

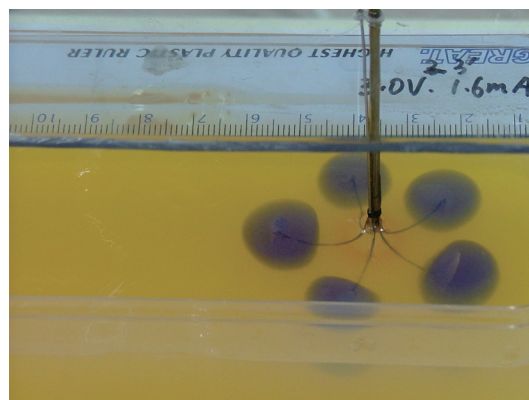


图 1 阴极周围变蓝, 阳极周围变红, 阳极区中央被 Cl_2 漂白

2.1 电量与阴极周围颜色变化胶体体积关系

在 1.6、5.0、10.0 和 20 mA 的恒定直流电作用下, 各组阴极周围的蓝色体积变化见图 2、3。在各电

流组,两种电极阴极周围的蓝色量随电量增加而增加($P < 0.01$),但各组内两种电极作用结果差异无统计学意义($P > 0.05$)。

在给予相同的电量时,比较各电流组间阴极周围的变色体积差异有统计学意义($P < 0.05$),即电流越小,作用时间越长,变色范围越大(图 2、3)。

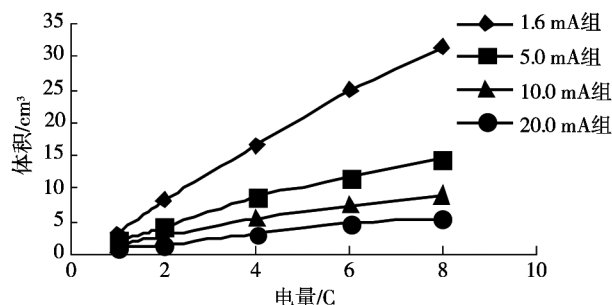


图 2 不同电流组电量和同轴电极阴极周围琼脂胶体变蓝体积的关系

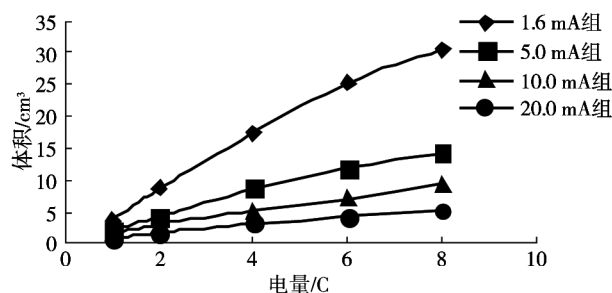


图 3 不同电流组电量和针式电极阴极周围琼脂胶体变蓝体积的关系

在 5 mA 组,比较了单对电极与同轴电极的阴极(多个阴极)周围琼脂胶体变色效应,同轴电极大于针式电极($P < 0.05$),图 4 表明多电极具有更高的毁损效率。

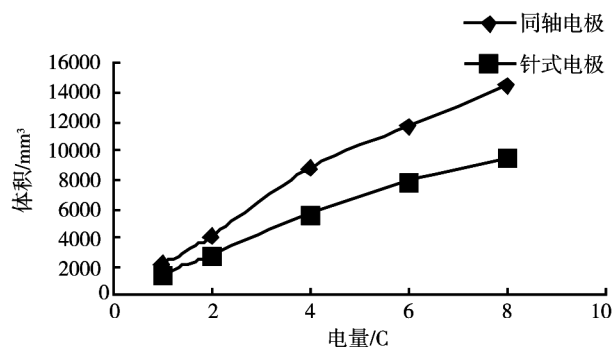


图 4 5 mA 组同轴电极和单对电极不同电量与阴极周围琼脂胶体变色体积的关系

2.2 pH 值的变化

在邻近阳极和阴极边缘显示特征性的 pH。在阳极边缘数毫米范围迅速过渡到中性 pH(图 5)。相对应在阴极边缘 pH 过渡到中性较阳极为平缓(图

6)。随着电流增大,pH 过渡越陡($P < 0.05$)。

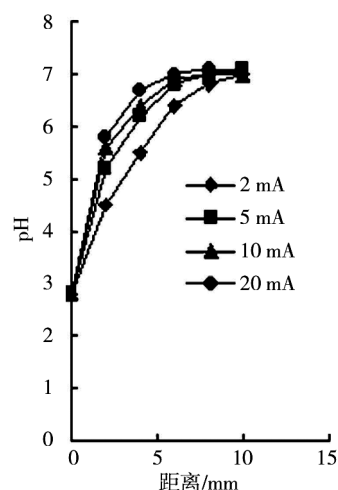


图 5 阳极变色区 pH 值变化梯度

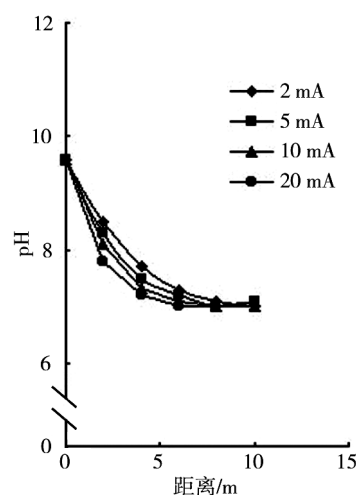


图 6 阴极变色区 pH 值变化梯度

3 讨论

为了提高电化学治疗的效率,将电极末端做成不同的形状,如螺旋形、平板形。根据使用部位的特殊性,做成特殊电极,如用于前列腺增生、食管癌治疗的导管电极。然而在肝脏、肺等内脏器官仍然广泛采用直针式电极^[2,5-6],目前的方法存在以下问题:①一次治疗需要进行多次插入电极,操作上费时费力,患者出现并发症的概率增大。②电极之间的间距难以控制,从而影响电极之间的电流分配,影响治疗效果。③受长时间治疗和呼吸运动的影响,必将对电极的固定带来困难,电极有可能滑出靶点,影响疗效和增加并发症。我们设计的 EChT 同轴伞状电极,可显著减少插入次数,确保电极分布均衡,插入组织锚定良好不易滑脱,可望解决上述不便。

3.1 琼脂胶体的特性

在 EChT 的研究中,Nilsson 等^[1]用 NaCl 溶液模

拟组织,而 Avramov 等^[3]在数学模型中用琼脂胶体模拟组织。我们的预实验显示,EChT 时在阴极产生 H_2 和阳极产生的 Cl_2 和 O_2 形成较多微泡,气泡的上升导致液体对流运动,使电极周围变色难以固定,不能进行有效的直观测量。而在琼脂胶体,则不形成对流运动,只能靠渗透缓慢地扩展,可以在阴阳极周围形成稳定的变色范围,便于直观观察。此外,琼脂与人体结缔组织基质类似,琼脂胶体能够成功地模拟人体结缔组织的基质(作为一种非常近似的物质)。在阴阳电极产生的 H^+ 、 OH^- 通过琼脂弥散和释放 H_2 、 O_2 和 Cl_2 , 相对于碳酸氢钠溶液电解而言,更接近发生于人体肿瘤组织内的电解过程。

百里香酚蓝是一种酸碱双向显色剂,在酸性(pH 1.2 ~ 2.8)条件下显示红色,在碱性(pH > 9.6)条件下呈鲜艳的蓝色。加入百里香酚蓝的琼脂-生理盐水系统在电解时,阴阳极区酸碱度的变化可通过颜色变化直观地反映出来,颜色变化的范围反映 H^+ 和 OH^- 弥散的情况,并可以测量计算。

3.2 EChT 同轴电极的体外评价

Nilsson 等^[7]在生理化学仿真模型上进行了剂量学的研究,该模型研究表明 pH 变化和组织损害范围有非常显著的相关性,因此认为阴极周围氢氧根(OH^-)弥散的范围决定阴极周围组织毁损的多少,该模型可以预测 EChT 对组织毁损的范围。肿瘤对 EChT 的反应,局部控制率、生存率和坏死百分数,随着剂量增加而增加^[8-9]。

我们的结果与文献一致。在 1.6、5.0、10.0 和 20 mA 的恒定直流电作用下,两种电极阴极周围变蓝色的量随电量增加而增加,各电流组内两种电极作用结果相差不显著。在给予相同的电量时,比较 1.6、5.0、10.0 和 20 mA 电流组阴极周围的变色体积差异有统计学意义,即电流越小,作用时间越长,变色范围越大(图 2、3)。表明同轴电极与传统针式电极具有相当的电解效率。

在 5 mA 组,比较了单对针式电极与同轴电极的阴极(多个阴极)周围琼脂胶体变色效应,同轴电极大于针式电极($P < 0.05$),同时表明多电极具有更高的消融效率。

3.3 pH 值变化

在邻近阳极和阴极,变色区边缘显示特征性的 pH 变化,pH 变化作为一种电化学治疗的示踪指标已有文献报道^[10]。我们发现在阳极边缘数毫米范围迅速过渡到中性 pH(图 5)。对应地,在阴极边缘 pH 过渡到中性较阳极为平缓(图 6)。随着电流增大,

pH 过渡越陡($P < 0.05$)。这可能是阴、阳极毁损区与邻近“正常”边界清晰锐利的原因。

我们的研究表明,含百里香酚蓝酸碱显色剂的琼脂-NaCl 胶体系统能模拟组织进行电化学处理,是一种较好的体外模型;EChT 同轴电极的重复性好,在相同电流、电量和作用时间下,同轴电极与传统针式电极间的电解作用差异无统计学意义。

有关电化学治疗实体恶性肿瘤的临床及基础研究,国内外已有较多相关的报道^[11-13]。研究表明,肿瘤细胞周围微环境中 pH 值的变化、离子浓度的改变,均可抑制肿瘤的生长,促进肿瘤细胞的凋亡,从而达到控制肿瘤细胞生长的目的。另外,与其他介入治疗手段(如射频)比较及电化学治疗后肿瘤影像学改变,也有相关文献报道^[14-15]。然而电化学治疗实体肿瘤,对肿瘤细胞本身电荷的影响及对细胞内外离子分布的改变的研究仍较少^[16-18]。需要广泛而深入探讨,对于完善电化学治疗实体肿瘤理论,具有重要意义。

[参考文献]

- [1] Nilsson E, von Euler H, Berendson J, et al. Electrochemical treatment of tumours[J]. Bioelectrochemistry, 2000, 51: 1 - 11.
- [2] Mir LM. Bases and rationale of the electrochemotherapy[J]. EJC, 2006(supplements 4): 38 - 44.
- [3] Avramov IL, Petrovic SD, Zivkovic PM, et al. An electrochemical illustration of the mathematical modelling of Chlorine impact and acidification in electrochemical tumour treatment and its application on an agar-agar gel system[J]. J Electroanal Chem, 2003, 549: 129 - 135.
- [4] Reberšek M, Čorović S, Serša G, et al. Electrode commutation sequence for honeycomb arrangement of electrodes in electrochemotherapy and corresponding electric field distribution. Bioelectrochemistry, 2008, 74: 25 - 31.
- [5] Soden DM, Larkin JO, Collins CG, et al. Successful application of targeted electrochemotherapy using novel flexible electrodes and low dose bleomycin to solid tumours [J]. Cancer Letters, 2006, 232: 300 - 310.
- [6] Sersa G, Miklavcic D, Cemazar M, et al. Electrochemotherapy in treatment of tumours[J]. Eur J Surg Oncol, 2008, 34: 232 - 240.
- [7] Nilsson E, Eduardo F. Mathematical modelling of physicochemical reactions and transport processes occurring around a Platinum cathode during the electrochemical treatment of tumours [J]. Bioelectrochemistry, 2001, 53: 213 - 224.
- [8] von Euler H, Nilsson E, Olsson JM, et al. Electrochemical treatment (EChT) effects in rat mammary and liver tissue. In vivo optimizing of a dose planning model of EChT of tumors [J]. Bioelectrochemistry, 2001, 54: 117 - 124.

- [9] Ren RL, Vora N, Yang F, et al. Variations of dose and electrode spacing for rat breast Cancer electrochemical treatment [J]. Bioelectromagnetics, 2001, 22: 205 - 211.
- [10] Turjanski P, Olaiz N, Abou-Adal P, et al. pH front tracking in the electrochemical treatment(EChT)of tumors: experiments and simulations[J]. Electrochimica Acta, 2009, 54: 6199 - 6206.
- [11] 张 玮, 蒋志峰, 黎丹戎, 等. 电化学治疗后培养液 pH 的改变对宫颈癌细胞生长抑制的实验研究 [J]. 广西医科大学学报, 2009, 26: 905 - 908.
- [12] 张 玮, 蒋志峰, 黎丹戎, 等. 电化学治疗导致宫颈癌细胞系离子浓度改变及其对生长抑制作用的体外实验[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2010, 17: 1332 - 1336.
- [13] 邵成伟, 王培军, 田建明, 等. 电化学治疗诱发大鼠种植型肝癌细胞凋亡的实验研究[J]. 介入放射学杂志, 2003, 12: 129 - 131.
- [14] 邵成伟, 王培军, 田建明, 等. 大鼠种植型肝癌电化学治疗与射频治疗的疗效比较[J]. 介入放射学杂志, 2003, 12: 126 - 128.
- [15] 邵成伟, 王培军, 田建明, 等. 大鼠种植型肝癌电化学治疗后影像学特征的改变[J]. 介入放射学杂志, 2003, 12: 132 - 134.
- [16] Goldenberg NM, Steinberg BE. Surface charge: a key determinant of protein localization and function[J]. Cancer Res, 2010, 70: 1277 - 1280.
- [17] Kotnik T, Pucihar G, Miklavcic D. Induced transmembrane voltage and its correlation with electroporation-mediated molecular transport[J]. J Membr Biol, 2010, 236: 3 - 13.
- [18] 王 生, 陆 茵, 钱文慧, 等. 细胞电荷: 抗肿瘤研究潜在的重要靶标[J]. 中国药理学通报, 2010, 12: 1541 - 1544.

(收稿日期:2011-09-15)

(本文编辑:侯虹鲁)

•病例报告 Case report•

左冠状动脉窦瘤一例

杨金炜, 李冠海, 张明德

【关键词】 冠状动脉窦瘤;介入治疗;病例报告

中图分类号:R541.4 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2012)-02-0152-02

Aneurysm of the left coronary sinus: report of one case YANG Jin-wei, LI Guan-hai, ZHANG Ming-de. Interventional Center, No.105 Hospital of People's Liberation Army, Luoyang, Henan Province 471031, China (J Intervent Radiol, 2012, 21: 152-153)

Corresponding author: YANG Jin-wei, E-mail: yjw_726@163.com

【Key words】 aneurysm of coronary sinus; interventional therapg; case report

患者女,49岁,已婚。因“反复发作活动后心前区不适、眼部烧灼感4个月,再发3d”为主诉入院。缘于4个月前多于活动后出现心前区不适,伴咽部烧灼、紧缩感,有时伴有左上臂酸胀、困痛,无心慌、胸闷、气短等症状,休息数分钟可自行缓解,每月发作1~2次,就诊于县医院,诊断为“心肌缺血”,按“冠心病”予以对症治疗症状稍改善,出院后继续服药治疗,症状仍反复,每天发病至数十次,体力活动明显受限。3d前上述症状再次发作,性质、部位基本同前,但持续时间明显延长,休息数分钟后改善不明显,为进一步诊治来我院,门诊以“冠心病、不稳定型心绞痛”收住我科。否认有高血压、糖尿病及传染病史。体格检查:体温36.5℃,

脉搏56次/min,呼吸20次/min,血压120/70 mmHg。发育正常,营养良好,神志清楚。专科检查心前区无隆起,未触及震颤及心包摩擦感。心界无明显扩大,心律规整,心音低钝,各瓣膜听诊区未闻及病理性杂音。心电图提示窦性心动过缓、ST段显著压低、T波倒置;心脏彩超提示左房扩大,左室舒张、收缩功能正常(射血分数56%),左房室瓣、右房室瓣返流。根据以上情况,患者“冠心病、不稳定型心绞痛”基本明确,冠脉造影显示左冠状动脉主干中段弥漫性线样狭窄约90%,管壁光滑,前降支血流明显减慢,回旋支显影良好。右冠状动脉主干及左室后支显示良好,后降支远段通过毛细血管逆向使前降支中远段显影。同时可见左侧冠状窦旁见类圆形对比剂充盈影像,随心脏搏动运动,分析后考虑左主干狭窄为外压所致,结合影像不排除:①主动脉动脉瘤;②动脉夹层瘤。64排CT造影冠状动脉重建,结果提示左侧

作者单位:471031 河南洛阳解放军第150中心医院介入中心(杨金炜、李冠海),心血管内科(张明德)

通信作者:杨金炜 邮编:471031 Email:yjw_726@163.com