

· 实验研究 ·

低强度聚焦超声联合全氟戊烷相变纳米粒治疗冠状动脉血栓栓塞的体外溶栓效率及安全性研究

姜楠 谭团团 高顺记 周桢 周青 郭瑞强 胡波

摘要 目的 评价低强度聚焦超声(LIFU)联合全氟戊烷(DDFP)相变纳米粒靶向助溶人工血管内血栓的溶栓效率,探讨其治疗急性心肌梗死冠状动脉血栓栓塞的有效性及其生物安全性。方法 采用声振乳化法制备DDFP脂质相变纳米粒,检测其一般性能。取家兔颈总动脉血制备成统一规格约(0.2 ml)的条形血栓,分为3组:PBS对照组(A组)、声诺维微泡组(B组)和DDFP相变纳米粒组(C组)。将各组血栓条块置入体外溶栓模拟循环装置的人工血管中,同时联合LIFU靶向辐照,优化LIFU辐照参数(时间、功率、频率、占空比),分析LIFU和纳米粒的安全性,探索最佳溶栓条件。称量溶栓前后血栓质量评价溶栓效率,观察并比较血栓HE染色内部结构;评价不同浓度纳米粒和不同强度LIFU对人脐静脉血管内皮细胞(HUVECs)存活率的影响。结果 制备好的DDFP相变纳米粒粒径为 (542.6 ± 28.4) nm;纳米粒在液体相时结构稳定,大小均一,分散性好。当LIFU的参数调整为辐照强度6 W、辐照时间20 min时,DDFP相变纳米粒的相变转化率、溶栓效率及HUVECs的存活率均较高,达到最优化的相变效率和溶栓效果,同时保证了其生物安全性。溶栓后C组血栓HE染色显示红细胞及血小板数量显著减少,质地松软,结构疏松。结论 LIFU联合DDFP相变纳米粒可有效助溶人工血管内血栓,不仅高效且具有较好的生物安全性,有望为治疗急性心肌梗死提供一种新的方式。

关键词 超声辐照;微气泡;急性心肌梗死;血栓溶解疗法

[中图分类号] R-332; R445.1

[文献标识码] A

Thrombolytic efficiency and biosafety of low-intensity focused ultrasound combined with dodecafluoropentane phase-change nanoparticles in the treatment of coronary embolism: an in-vitro experimental study

JIANG Nan, TAN Tuantuan, GAO Shunji, ZHOU Zhen, ZHOU Qing, GUO Ruiqiang, HU Bo

Department of Ultrasound Imaging, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

ABSTRACT Objective To explore the efficiency of low-intensity focused ultrasound (LIFU) combined with dodecafluoropentane (DDFP) phase-change nanoparticles in the thrombolytic therapy, and to evaluate the effectiveness and the biological safety of the treatment in acute myocardial infarction (AMI). **Methods** The DDFP nanoparticles were prepared by acoustic emulsion method, and the characteristics of the nanoparticles were detected. 15 pieces of 0.2 ml thrombus prepared with carotid artery blood of the rabbits were divided into three groups: poly butylene succinate buffer (PBS) as blank control (group A), SonoVue microbubbles as group B and DDFP phase-change nanoparticles as group C. Thrombus in three groups were placed into an artificial blood vessel model in an extracorporeal thrombolysis simulator combined with LIFU irradiation. Different parameters (time, power, frequency, duty ratio) of LIFU were optimized regarding to the biosafety with LIFU and nanoparticles. The weights and pathological presentations of the thrombus were compared before and after thrombolysis. The influence of different concentrations of nanoparticles and different parameters of LIFU on the survival rates of human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) was evaluated. **Results** The average size of DDFP nanoparticles was (542.6 ± 28.4) nm. Fluorescence microscopy showed that the structure of nanoparticles was stable and uniformed in size. When the parameters of LIFU were

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81501495);湖北省卫生计生委联合基金面上项目(WJ2018H0078)

作者单位:430060 武汉市,武汉大学人民医院超声影像科(姜楠、谭团团、周青、郭瑞强、胡波),心血管外科(周桢);中国人民解放军中部战区总医院超声影像科(高顺记)

通讯作者:胡波, Email: krishu@whu.edu.cn

adjusted to 20 min in irradiation time and 6 W in power, the phase transformation rates, thrombolysis efficiency and the survival rates of HUVECs were higher than those of other conditions. HE-staining slides showed that the number of red blood cells and platelets were decreased significantly after thrombolysis in group C, also the texture and structure were softer and looser.

Conclusion LIFU combined with DDFP phase-change nanoparticles can effectively dissolve coronary thrombosis. This novel treatment is not only efficient, but also better for biosafety, which has the potential to provide a new treatment for AMI.

KEY WORDS Ultrasound irradiation; Microbubbles; Acute myocardial infarction; Thrombolytic therapy

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是冠状动脉粥样硬化性心脏病 (以下简称冠心病) 的急重症发病形式^[1]。AMI 发生时, 病变血管完全闭塞或严重阻塞, 导致冠状动脉微循环广泛性的微血栓形成, 由于冠状动脉微循环处于高凝状态, 致使心肌缺血及节段性室壁运动发生异常^[2-3]。目前临床上常采用急诊介入或药物溶栓的方法开通血管、恢复心肌血供, 然而对于梗阻后引起的冠状动脉微循环栓塞及灌注障碍, 上述治疗方法效果不佳。近年来国外相关前沿研究及本课题组的前期研究^[2-4]已证实, 应用超声微泡进行冠状动脉溶栓, 在保证 AMI 治疗时效性的同时提高了溶栓效果, 对于微循环栓塞及灌注障碍的治疗具有较大潜力。本实验应用低强度聚焦超声 (low intensity focused ultrasound, LIFU) 联合全氟戊烷 (dodecafluoropentane, DDFP) 相变纳米粒模拟冠状动脉溶栓, 通过不断优化 LIFU 辐照参数和 DDFP 相变纳米粒浓度, 分析其溶栓效率及生物安全性, 旨在探讨 LIFU 联合 DDFP 相变纳米粒对冠状动脉血栓栓塞的潜在治疗价值。

材料与方法

一、实验材料及仪器

1. 主要材料: DDFP (Elf Atochem 公司); 二棕榈酰磷脂酰甘油 (DPPG, 美国 Avanti 公司); 二棕榈酰磷脂酰胆碱 (DPPC, 美国 Avanti 公司); 二硬脂酰磷脂酰乙醇胺 (DSPE, 美国 Avanti 公司); 声诺维 (意大利 Bracco 公司); 甲醇、三氯甲烷 (重庆川东化工有限公司); PBS 缓冲液 (武汉博士德生物有限公司); 胆固醇 (美国 Sigma 公司); 人脐静脉血管内皮细胞 (HUVECs, 中国典型培养物保藏中心); RPMI 1640 培养液 (美国 Gibco 公司) 和 0.25% 胰酶 (美国 Scien Cell 公司) 等。

2. 仪器: BS60 37℃ 恒温水箱 (北京医疗设备厂); BT600-01 蠕动泵 (保定齐力恒流泵有限公司); RE-52A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); XL2020 超声破碎仪 (Heat System 公司); Malvern 激光测量仪 (Zetasizer 公司); FA2004A 电子天平 (上海精天电子仪器有限公司); CKX41 倒置荧光显微镜 (日本 Olympus

公司); LIFU 仪 (重庆医科大学超声影像学研究所); 百胜 MyLab 90 彩色多普勒超声诊断仪; 细胞培养箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Multiskan Ascent 紫外分光光度计 (美国 Thermo Scientific 公司)。

二、实验方法

1. DDFP 相变纳米粒的制备: ①将 DPPC、DSPE、DPPG、胆固醇按照 10:4:3:3 的质量比称量加入圆底烧瓶内配平; ②加入等量溶解液 (三氯甲烷: 甲醇 = 1:1) 使上述磷脂材料充分混合; ③将圆底烧瓶固定在旋转蒸发仪上, 调整水槽温度为 50℃, 打开循环液水龙头, 关闭考克阀隔绝空气, 调节调速旋钮, 转速 55 r/min, 保持匀速旋转, 减压蒸发 1.5 h, 去除有机溶剂形成磷脂脂膜; ④向成膜的圆底烧瓶中加入 3 ml 双蒸水, 置于恒温箱内缓慢振荡, 直至水化完全; ⑤使用双蒸水清洗超声波细胞破碎仪探头 1 min, 在全程冰浴条件下, 设置声振仪为脉冲模式, 功率 100 W, 时间 6 min (开: 5 s, 关: 5 s), 乳化过程中同时逐滴加入 DDFP (200 μl), 最后得到乳白色的 DDFP 相变纳米粒混悬液。将制备好的纳米粒混悬液在紫外光下辐照灭菌 20 min, 储存于 4℃ 冰箱备用。应用 Malvern 激光测量仪检测 DDFP 相变纳米粒大小, 显微镜观察微泡形态、分散程度, 以及不同温度、能量条件下的相变过程。

2. 声诺维微泡的制备: 向声诺维瓶中加入 5 ml 生理盐水并振荡 15 s 配制浓度为 11.8 mg/ml 微泡混悬液, 移至 15 ml EP 管中后加入一定量的生理盐水稀释成与纳米粒等浓度 (2.0 mg/ml) 的超声微泡混悬液。

3. 人工血管模拟血栓栓塞模型的建立: ①制备血栓: 本实验使用的血栓块来自于新西兰白兔的动脉血。兔体质量 2.0~3.5 kg/只, 由重庆医科大学实验动物中心饲养。经家兔耳中央动脉抽取动脉全血并加入 3 U/ml 凝血酶制成统一规格约 (0.2 ml) 条形血栓, 实验室常温环境放置 1 h 备用。②建立人工血管血栓栓塞模型: 首先将血栓条放入 5 mm 仿人工血管内, 模拟血管循环密闭管道系统精密微量蠕动泵, 在放置血栓的管道内铺垫吸声海绵以增加血栓块附着力, 再将 LIFU 仪探头固定于血栓放置位置上方约 2.5 cm 处, 保持探

头表面与血栓放置位置垂直,将实验装置置入37℃恒温水槽;通过导管泵入治疗混悬液,在蠕动泵作用下以10 ml/min的速度进入人工血管循环装置,建立体外溶栓治疗模型(图1)。

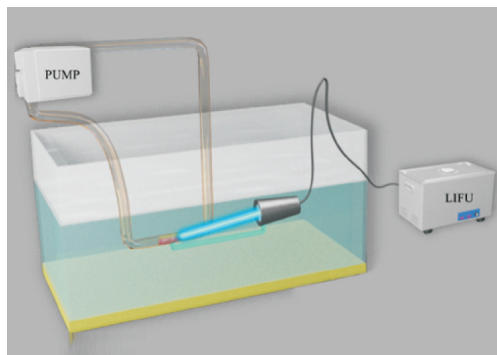


图1 恒温水浴箱、精密蠕动泵、LIFU仪等组成的体外溶栓实验模拟循环系统

4. 实验分组:本实验采用三组不同的混悬液联合LIFU进行体外人工血管溶栓治疗。A组,由PBS缓冲液作为空白对照;B组,声诺维微泡体外溶栓;C组,自制的DDFP相变纳米粒体外溶栓。

5. LIFU 辐照介导不同浓度DDFP相变纳米粒进行溶栓实验:使用LIFU仪对体外溶栓治疗模型进行超声辐照,调节辐照强度、辐照时间等各项超声参数进行溶栓。LIFU发射频率1.0 MHz,脉冲重复频率100 Hz,声强强度分别为1、2、4、6、8 W,辐照时间分别为5、10、20、30、45 min。以上每种辐照条件交叉应用,调整优化LIFU仪的各项参数。连接百胜MyLab 90彩色多普勒超声诊断仪,实时观察DDFP相变纳米粒混悬液在人工血管内的相变转化情况,并定性观察密闭管道内各组血栓的溶栓情况,判断人工血管是否再通;溶栓结束后,取出血栓块并切片进行HE染色,显微镜下观察血栓的疏松程度。在血栓置入人工血管前及溶栓实验完成后分别将血栓称重,比较每组血栓质量损失及损失率,计算溶栓率,公式为:溶栓率= $(W_0 - W_1) / W_0 \times 100\%$ (W_0 :溶栓前血栓块质量; W_1 :溶

栓后血栓块质量)。

三、DDFP相变纳米粒的生物安全性检测

1. 不同浓度DDFP相变纳米粒的细胞毒性检测:采用含1%双抗、10%胎牛血清的RPMI 1640培养液放置于37℃、5%CO₂培养箱中培养HUVECs。待细胞呈对数生长期时,加入1 ml 0.25%胰酶消化HUVECs 1 min后离心(1000 r/min)5 min,轻轻振荡均匀后以 3×10^3 /孔种于96孔板,孵育24 h;细胞贴壁后,吸取培养液,分别加入200 μ l浓度为200、400、600、800和1000 μ g/ml的DDFP相变纳米粒混悬液及PBS缓冲液作为空白对照;孵育24 h后,吸取上清液,PBS洗涤3次,加入含有10%的CCK-8的新鲜培养液200 μ l后孵育2 h。应用酶标仪测定450 nm处的紫外吸光度。

2. 不同LIFU辐照条件下DDFP相变纳米粒的细胞毒性检测:HUVECs细胞培养、处理方法同上。加入DDFP相变纳米粒混悬液之后,应用不同强度(1、2、4、6和8 W)的LIFU分别辐照5、10、20、30和45 min,占空比均为50%;孵育24 h后,吸取上清液,PBS洗涤3次,加入含有10%的CCK-8的新鲜培养液200 μ l后孵育2 h。应用酶标仪测定450 nm处的紫外吸光度。

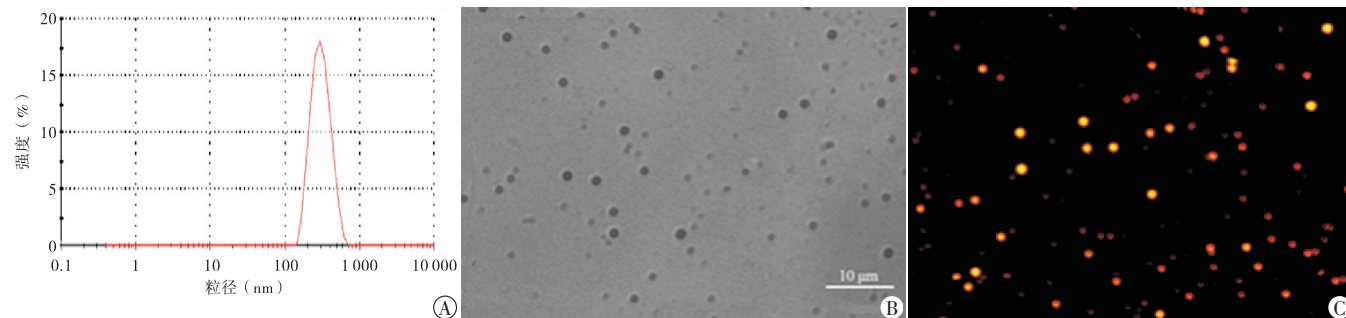
四、统计学处理

应用SPSS 22.0统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同浓度纳米粒及不同LIFU辐照条件间结果比较采用单因素方差分析和独立样本 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

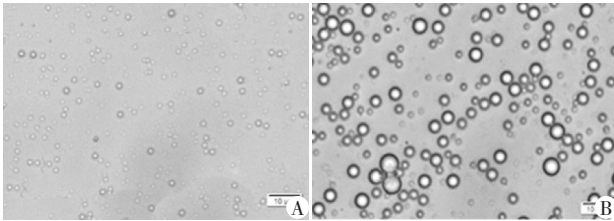
一、DDFP相变纳米粒的一般性能

激光粒径仪测得制备好的DDFP相变纳米粒粒径为 (542.6 ± 28.4) nm。纳米粒在液体相时结构稳定,大小均一,分散性好(图2)。在LIFU超声辐照下由小变大逐渐发生相变,形成 $>3 \mu$ m的微泡并最终发生瞬态空化破裂(图3)。



A: 纳米粒粒径为 (542.6 ± 28.4) nm; B、C: 镜下示纳米粒大小均一,分散性好,DiI染色后,荧光显微镜下示纳米粒发出红色荧光($\times 400$)

图2 DDFP相变纳米粒倒置荧光显微镜镜下图



A、B:分别为辐照0 min和辐照20 min纳米粒相变时显微镜下观,纳米粒逐渐发生相变,最终破裂

图3 LIFU辐照强度6 W时倒置荧光显微镜明场镜下图

二、不同LIFU辐照强度和不同浓度条件下DDFP相变纳米粒溶栓情况比较

1.LIFU辐照强度为1 W和2 W时,不同辐照时间对DDFP相变纳米粒不产生明显空化作用及溶栓效果;辐照强度为4 W、辐照时间为45 min时,纳米粒开始产生较明显的空化作用,但溶栓效果仍然偏低;辐照强度为6 W、8 W时,能够产生稳定的空化作用,其溶栓效果均明显升高,见表1。

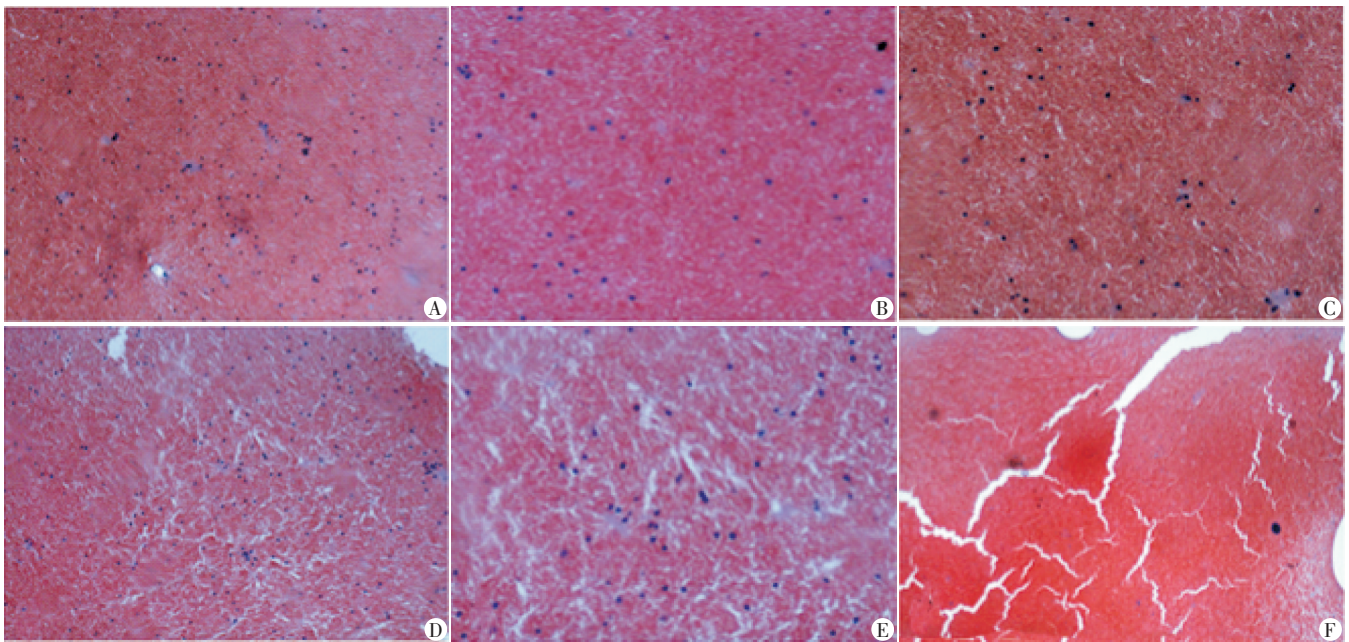
2.纳米粒浓度为400 $\mu\text{g/ml}$ 时,其溶栓效果较对照组及浓度200 $\mu\text{g/ml}$ 时更好。

3.溶栓前后血栓镜下观察结果显示,A组溶栓后血栓结构仍致密,血小板及红细胞紧密均无明显减少及断隙;B组溶栓后红细胞数目与A组相比偏少,血小板梁结构稳定,内可见少量裂隙,排列不规整;C组溶栓后红细胞及血小板梁数量显著减少,血小板梁呈间断性改变,质地松软,结构疏松,部分可出现较为宽大的裂隙(图4)。

表1 不同参数LIFU联合相变纳米粒溶栓结果($\bar{x} \pm s$) %

辐照参数	相变转化率	溶栓率	细胞存活率
1 W、5 min	4.0 $\pm$ 1.5 [#]	3.8 $\pm$ 1.2 [#]	91.4 $\pm$ 5.7
1 W、10 min	3.8 $\pm$ 1.8 [#]	4.4 $\pm$ 1.8 [#]	91.9 $\pm$ 3.4
1 W、20 min	6.5 $\pm$ 1.7 [#]	4.3 $\pm$ 1.5 [#]	91.3 $\pm$ 5.4
1 W、30 min	8.5 $\pm$ 2.4 [#]	5.1 $\pm$ 1.2 [#]	93.5 $\pm$ 3.9
1 W、45 min	14.6 $\pm$ 3.8 [#]	7.5 $\pm$ 1.8 [#]	92.0 $\pm$ 5.7
2 W、5 min	12.5 $\pm$ 2.7 [#]	7.6 $\pm$ 1.7 [#]	90.7 $\pm$ 4.8
2 W、10 min	18.3 $\pm$ 3.0 [#]	8.8 $\pm$ 0.9 [#]	91.7 $\pm$ 2.8
2 W、20 min	20.5 $\pm$ 2.6 [#]	8.7 $\pm$ 1.0 [#]	92.3 $\pm$ 4.8
2 W、30 min	27.2 $\pm$ 4.2 [#]	8.1 $\pm$ 1.6 [#]	93.2 $\pm$ 3.0
2 W、45 min	31.1 $\pm$ 2.5 [#]	8.9 $\pm$ 0.8 [#]	91.7 $\pm$ 5.5
4 W、5 min	20.6 $\pm$ 3.0 [#]	12.3 $\pm$ 1.3 [#]	90.5 $\pm$ 3.0
4 W、10 min	47.5 $\pm$ 5.1 [#]	12.5 $\pm$ 1.7 [#]	90.4 $\pm$ 4.6
4 W、20 min	60.6 $\pm$ 3.7 [*]	14.3 $\pm$ 1.4 [#]	93.6 $\pm$ 2.0
4 W、30 min	69.8 $\pm$ 4.4 [*]	15.8 $\pm$ 1.9 [#]	92.3 $\pm$ 3.2
4 W、45 min	74.5 $\pm$ 3.5	17.5 $\pm$ 1.5 [#]	91.7 $\pm$ 3.3
6 W、5 min	73.2 $\pm$ 2.5	21.4 $\pm$ 2.6 [*]	92.5 $\pm$ 5.3
6 W、10 min	61.8 $\pm$ 3.3	25.4 $\pm$ 1.6	89.2 $\pm$ 4.5
6 W、20 min	80.6 $\pm$ 5.6	36.4 $\pm$ 2.9	94.4 $\pm$ 2.7
6 W、30 min	82.5 $\pm$ 3.7	36.5 $\pm$ 2.3	82.9 $\pm$ 5.3
6 W、45 min	83.6 $\pm$ 3.2	39.0 $\pm$ 1.8	78.1 $\pm$ 4.6 [#]
8 W、5 min	76.2 $\pm$ 4.9	26.8 $\pm$ 2.2	84.2 $\pm$ 3.3
8 W、10 min	80.6 $\pm$ 2.0	28.7 $\pm$ 3.3	82.4 $\pm$ 2.8
8 W、20 min	82.7 $\pm$ 4.8	36.4 $\pm$ 3.6	79.2 $\pm$ 2.8 [#]
8 W、30 min	83.8 $\pm$ 3.5	39.6 $\pm$ 2.3	76.9 $\pm$ 4.0 [#]
8 W、45 min	85.7 $\pm$ 5.8	40.0 $\pm$ 2.9	74.5 $\pm$ 6.6 [#]

与6 W、20 min比较,[#] $P < 0.01$,^{*} $P < 0.05$



A、B、C:分别为A组、B组、C组溶栓前血栓组织;D:A组溶栓后血栓结构仍致密,血小板及红细胞紧密均无明显减少;E:B组溶栓后红细胞数目较A组偏少,血小板梁结构稳定,内可见少量裂隙;F:C组溶栓后红细胞及血小板梁数量显著减少,结构疏松

图4 三组治疗前后血栓HE染色切片正置显微镜下图(HE染色, $\times 200$)

三、不同浓度DDFP相变纳米粒的细胞毒性检测结果比较

浓度为200、400、600、800、1000 $\mu\text{g/ml}$ 的DDFP相变纳米粒条件下HUVECs细胞的存活率均 $>90\%$,差异均无统计学意义(图5)。依据HUVECs细胞存活率检测结果及LIFU超声辐照介导不同浓度条件的DDFP纳米粒溶栓效率检测结果,综合溶栓效率、细胞存活率及浓度相关可能发生的并发症,本实验选择浓度为400 $\mu\text{g/ml}$ 的DDFP纳米粒作为固定条件,进行LIFU辐照条件优化。

四、不同LIFU辐照条件下DDFP相变纳米粒的细胞毒性检测结果比较

当LIFU辐照强度为1 W、2 W和4 W时,辐照时间延长至45 min, HUVECs细胞存活率均 $>90\%$ 。LIFU辐照强度为6 W、辐照时间20 min时的细胞存活率为 $(94.4\pm 2.7)\%$,高于辐照强度6 W和辐照时间45 min、辐照强度8 W和辐照时间20 min、辐照强度8 W和辐照时间45 min的细胞存活率 $[(78.1\pm 4.6)\%、(79.2\pm 2.8)\%、(74.5\pm 6.6)\%]$,差异均有统计学意义(均 $P<0.01$),见

表1和图6。

综合考虑在不同LIFU辐照条件下通过不同辐照时长实验时DDFP相变纳米粒的相变效率、溶栓效率及细胞存活率等试验结果,对于LIFU联合DDFP相变纳米粒进行冠状动脉溶栓的参数设置最终优化设定为:辐照强度6 W,辐照时间20 min,可达到最优化的相变效率和冠状动脉溶栓效果,同时保证其生物安全性。

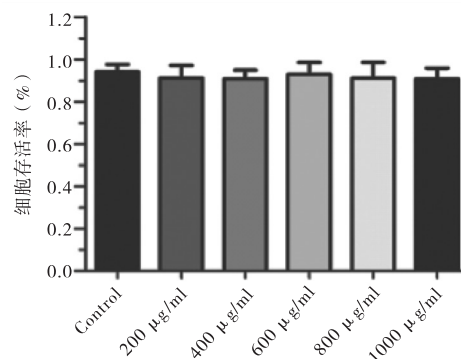


图5 不同浓度DDFP相变纳米粒的HUVECs细胞存活率柱状图

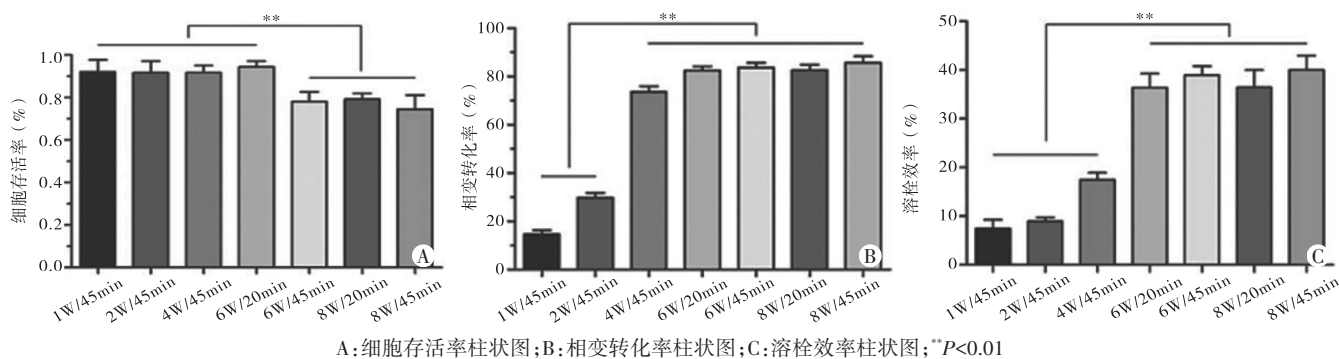


图6 不同LIFU辐照参数联合相变纳米粒溶栓治疗后比较

讨论

AMI发生后,有效治疗冠状动脉梗阻或严重狭窄导致的急性冠状动脉栓塞,快速有效清除冠状动脉内血栓一直是临床亟待解决的难题。研究^[5-6]表明,在急诊介入治疗的AMI患者中,仍有部分患者存在永久性的冠状动脉微循环栓塞。超声辐照联合微泡作为一种治疗冠状动脉血栓栓塞的新方法,具有较大的临床价值和应用潜力^[7-8]。前期研究^[4,9]证实,超声联合微泡治疗冠状动脉血栓栓塞的核心原理为在超声的靶向辐照作用下,纳米粒持续、稳定地空化使管腔内血栓疏松化、组织缝隙增加并最终碎裂溶解血栓、疏通血管,精准地解决由冠状动脉阻塞引起的心肌缺血缺氧的问题。本实验以超声联合微泡冠状动脉溶栓治疗为导向,创新性地设计了一种具有液-气相变功能的纳米粒,通过对LIFU辐照参数的优化,纳米粒在

人工血管血栓栓塞模型内逐渐相变为微气泡,以空化效应、热效应和机械效应的溶栓机制达到高效溶栓的作用。

本实验结果表明,DDFP相变纳米粒在LIFU辐照下能够发挥高效相变、持久空化的溶栓作用。通过比较不同辐照功率及不同浓度DDFP相变纳米粒的溶栓效率,结果发现浓度为400 $\mu\text{g/ml}$ 以上的DDFP相变纳米粒在6 W和8 W功率辐照下所产生的相变及溶栓效率均较高,提示纳米粒浓度及LIFU辐照功率对DDFP相变纳米粒产生稳定空化起到了关键作用。由于本实验结果显示浓度为400 $\mu\text{g/ml}$ 以上的DDFP相变纳米粒在不同辐照条件下的溶栓效率比较差异均无统计学意义,又考虑到DDFP纳米粒浓度过高可能导致冠状动脉微血管的二次栓塞和毒性损害,因此本实验最终采用浓度为400 $\mu\text{g/ml}$ 的DDFP相变纳米粒对血栓的溶栓效率及生物安全性进行LIFU辐照参数优化。LIFU具有良好的声学及聚焦特性,对DDFP纳米粒的

相变与空化起到了决定性作用。通过不断地优化和尝试,本实验结果发现,LIFU 辐照 DDFP 相变纳米粒的参数设置为功率 6 W,时间 20 min 时,既可保证微泡在人工血管内的相变效率及溶栓效率,又具有较好的生物安全性。因此,在优化参数设置后,LIFU 联合 DDFP 相变纳米粒这种兼顾溶栓效率与生物安全性的治疗方法的创新技术,对 AMI 冠状动脉急性血栓栓塞的治疗有较大的潜力,具有推进临床应用的可行性。

本实验尚有一定的局限,虽然在人工血管血栓栓塞模型及细胞实验中已证实 LIFU 联合 DDFP 相变纳米粒所达到的高效溶栓作用及良好的生物安全性,但仍需在动物实验中进一步综合评价。此外,DDFP 纳米粒以液体相在体内的传输效率、靶向相变及溶栓效率仍有待验证,这也是该方法在推进临床应用前的基础。

综上所述,本实验结果证实 LIFU 联合 DDFP 相变纳米粒的治疗方法有较好的溶栓能力及生物安全性,能够推进其临床应用为 AMI 冠状动脉急性血栓栓塞的创新性治疗方法,具有较大的潜力。

参考文献

- [1] Greig D, Corbalan R, Castro P, et al. Mortality of patients with ST-elevation acute myocardial infarction treated with primary angioplasty or thrombolysis[J]. Rev Med Chil, 2008, 136(9):1098.
- [2] Xie F, Tsutsui JM, Lof J, et al. Effectiveness of lipid microbubbles and ultrasound in de clotting thrombosis [J]. Ultrasound Med Biol, 2005, 31(7):979-985.
- [3] Palmer S, Layland J, Adams H, et al. Measurement of microvascular function in patients presenting with thrombolysis for ST elevation myocardial infarction, and PCI for non-ST elevation myocardial infarction[J]. Cardiovasc Revasc Med, 2018, 19(8):917-922.
- [4] 胡波,姜楠,曹省,等.超声辐照十二氟戊烷相变纳米微泡治疗冠状动脉微循环血栓栓塞的体外实验研究[J].中华超声影像学杂志, 2017, 26(9):808-812.
- [5] Niccoli G, Burzotta F, Galiuto L, et al. Myocardial no-reflow in humans[J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54(4):281-292.
- [6] Heusch G, Kleinbongard P, Bose D, et al. Coronary microembolization: from bedside to bench and back to bedside [J]. Circulation, 2009, 120(18):1822-1836.
- [7] Porter TR, Xie F, Lof J, et al. The Thrombolytic effect of diagnostic ultrasound-Induced microbubble cavitation in acute carotid thromboembolism[J]. Invest Radiol, 2017, 52(8):477-481.
- [8] Yang W, Zhou Y. Effect of pulse repetition frequency of high-intensity focused ultrasound on in vitro thrombolysis [J]. Ultrason Sonochem, 2017, 35(Pt A):152-160.
- [9] Xinping R, Yong W, Yi W, et al. Thrombolytic therapy with rt-PA and transcranial color Doppler ultrasound (TCCS) combined with microbubbles for embolic thrombus [J]. Thromb Res, 2015, 136(5):1027-1032.

(收稿日期:2019-01-16)

· 病例报道 ·

Echocardiographic diagnosis of congenital single aortic valve malformation: a case report

超声心动图诊断先天性主动脉瓣单瓣畸形 1 例

胡 萍 何亚峰 马小静

[中图法分类号]R445.1

[文献标识码]B

患儿男,4岁,发现心脏杂音4年余。体格检查:于胸骨左缘第2肋间可闻及2~6级收缩期杂音。超声心动图示:主动脉瓣稍厚、回声稍强,呈单瓣启闭活动,收缩期开放受限,开口径 0.6 cm(图 1A);CDFI 示主动脉瓣口射流加速(图 1B),连续性多普勒测得主动脉腔内射流速度增快,峰值血流速度 5.1 m/s,峰值压差 104 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa),平均速度 3.4 m/s,平均压差 58 mm Hg(图 1C)。主动脉冠状窦可分辨为 3 个窦,窦

部增宽,宽径约 3.1 cm。超声心动图提示:主动脉瓣单瓣畸形并重度狭窄,主动脉窦部增宽。增强 CT 见:主动脉瓣呈拱顶状凸向主动脉窦部,收缩期主动脉瓣呈“鱼口状”,瓣叶不对称(图 2)。增强 CT 诊断:主动脉瓣畸形,考虑单叶畸形,主动脉窦部增宽。

讨论:主动脉瓣单瓣畸形是一种罕见的先天性畸形,发病

(下转第 330 页)

基金项目:湖北省卫生厅科研基金项目(WH16E32)

作者单位:430022 武汉市,武汉亚洲心脏病医院超声科

通讯作者:马小静,Email:mxj312@foxmail.com