

超声波声孔效应中气泡动力学的研究^{*}

陈 谦 邹欣晔 程建春[†]

(南京大学声学研究所, 南京 210093)

(2006 年 3 月 6 日收到, 2006 年 8 月 9 日收到修改稿)

在超声快速制取组织细胞病理切片的过程中, 发现激励信号对切片制取效果有明显的影响. 为了掌握超声激励信号对组织细胞的影响规律, 达到快速制取病理切片的最佳状态, 从气泡空化模型入手, 通过改变激励信号频率、声压、气泡初始半径和液体黏滞系数等参量, 研究了声孔效应中气泡动力学激励机制. 数值计算表明: 空化泡振动随激励声压增强而升高, 随液体黏滞系数增强而减弱; 一定频率范围内空化泡振动能保持在膨胀、收缩和振荡的稳定空化状态, 存在空化泡稳态振动的最佳激励频率; 一定初始半径能保证空化泡产生稳定的振动, 存在空化泡稳态振动幅度最大的初始半径. 实际操作中, 在频率、声压、初始半径和黏滞系数综合作用的若干空化阈内, 声孔效应使超声快速法制取细胞组织切片获得最佳效果.

关键词: 声孔效应, 超声空化, 气泡振动, 稳态空化域

PACC: 4325, 4335, 4360

1. 引 言

生物组织和组织液中包含许多微小气泡^[1], 微泡被超声波作用时能产生膨胀、收缩、振荡、崩溃等空化过程^[2,3], 导致细胞膜表面产生孔状结构, 停止超声波作用后细胞膜的结构又恢复常态, 孔状结构消失, 称此现象为声孔效应^[4].

Miller^[5]在 20 世纪 80 年代证明, 红细胞悬浮液在引入气泡的情况下, 超声的作用会使细胞膜通透性发生变化. 1997 年, Bao 等^[6]发现含微泡的中华田鼠卵巢细胞悬浮液在超声辐射过程中, 细胞膜可以对大分子开放, 随后闭合. 文献 [7,8] 指出, 淋巴细胞悬浮液中加入低浓度超声造影剂后观察到可修复的声孔效应, 提高造影剂中微气泡浓度还观察到致死性的声孔效应.

我们利用声孔效应在不破坏细胞形状结构的前提下, 成功地提高了细胞膜的通透性, 快速制取了细胞组织病理切片^[9]. 为了澄清实验结果, 我们初步研究了声孔效应作用于细胞组织的动力学机制, 从细胞组织内外微气泡的空化入手, 建立了微气泡的振动模型, 详细分析了超声频率、声压、微泡初始半径和黏滞系数等空化动力参量对微气泡振动的影响.

传统细胞组织病理切片的制取中, 脱水、透明、浸蜡等步骤需要经过长达 30 h 才能完成. 如果刻意加快脱水、透明、浸蜡等步骤的速度, 会导致细胞收缩变形, 影响细胞结构的原始形态, 或者会导致组织块进蜡不完全, 切片变脆易碎. 所以, 常规石蜡切片法给临床外检快速病理诊断带来很大的困难. 我们在研究中利用超声作用于细胞组织, 通过提高细胞膜通透性, 在不破坏细胞原形状结构的前提下, 在较短时间内制取出高质量的病理切片, 实现临床外检快速病理诊断, 具有很高的应用价值.

2. 实 验

实验过程中超声激励信号的声功率控制在 10 W/cm^2 以下, 选用 200, 400, 600, 800 和 1000 kHz 5 个工作频率对同块肝组织的取样标本分别进行超声作用制取切片. 5 个实验频率经过反复成功制取切片后, 各步骤所需的平均最少时间的差异如表 1 所列. 比较表内数据发现: 超声工作频率不同导致病理切片制取的时间不同, 说明声孔效应的效果不同, 作用于组织块的超声频率并非越高越好, 随实验中所选频率的降低, 作用效果有时加强, 有时减弱, 总体呈现出一些加快病理切片制取速度的频率带, 最佳为

^{*} 国家杰出青年科学基金(批准号: 10125417)资助的课题.

[†] 通讯联系人. E-mail: jcheng@nju.edu.cn

200, 800 kHz 左右的频带。

表 1 不同超声频率下制取切片各步骤的最少使用时间

频率/kHz	固定/min	脱水/min	透明/min	浸蜡/min	总时间/min
1000	8	20	11	10	49
800	6	16	11	10	43
600	7	18	10	10	45
400	7	17	10	10	44
200	7	16	10	10	43

3. 微气泡空化模型

外加超声激励信号 $P_a \sin \omega_a t$ 耦合至组织细胞, 细胞膜内外的细胞液中存在微气泡, 它们受到激励声波的拉伸和压缩作用产生振动. 设细胞液是理想的、不可压缩的连续介质, 黏滞系数为常数, 并设激励声场频率和强度恒定, 声波波长远大于空化微气泡半径, 气泡在超声波激励下仅做球对称的径向运动, 运动中内部蒸汽压保持常数, 与周围液体无热量交换, 我们可以导出理想气泡振动的非线性常微分方程(即 RPNNP 方程)

$$\rho R \ddot{R} + \rho \frac{3}{2} \dot{R}^2 = \left(\frac{2\sigma}{R_0} + P_0 - P_v \right) \left(\frac{R_0}{R} \right)^{3\Gamma} + P_v - P_0 - \frac{2\sigma}{R} - 4\eta \frac{\dot{R}}{R} - P_a \sin \omega_a t, \quad (1)$$

式中, R_0 为气泡初始半径, R 为气泡运动半径, ρ 为气泡外液体的密度(常温下 $\rho = 1 \times 10^3 \text{ kg/m}^3$), σ 为气泡外液体的表面张力(常温下 $\sigma = 7.2 \times 10^{-2} \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$), P_0 为气泡外大气压(常温下 $P_0 = 1.01 \times 10^5 \text{ Pa}$), P_v 为水蒸气压(常温下 $P_v = 2.33 \times 10^3 \text{ Pa}$), P_a 为超声激励声压, $f_a = \omega_a/2\pi$ 为超声频率(声压和频率均可改变), η 为液体的黏滞系数(常温下 $\eta = 1 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$), $\Gamma = \gamma/A$ (在本模型中 $R_0 < 100 \mu\text{m}$ 的前提下, $A = 1$), γ 为等压比热容与等容比热容的比值(在本模型中 $R_0 < 100 \mu\text{m}$ 的前提下, $\gamma = 1.0$). 采用 Runge-Kutta 法数值求解此 RPNNP 方程, 得到气泡半径随时间 t 的变化关系, 同时求解气泡壁瞬时运动速度 V .

4. 结果及分析

4.1. 空化气泡的运动过程特征

4.1.1. 气泡稳态运动

选择 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$ 的气泡, 用参数为 $f_a = 200 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$ 的超声激励信号作用, 由图 1(a) 可见此气泡在一个周期内的运动呈现膨胀、收缩和振荡三个阶段. 整个过程从声场的负压相开始, 膨胀过程约占整个周期的 53%, 而收缩过程非常迅速, 占整个周期的 12%, 其余部分为振荡过程. 保持超声激励参数不变, 延长激励时间就能使空化气泡继续进入下一个周期的运动, 产生连续膨胀、收缩和振荡的稳态空化过程, 如图 1(b) 所示.

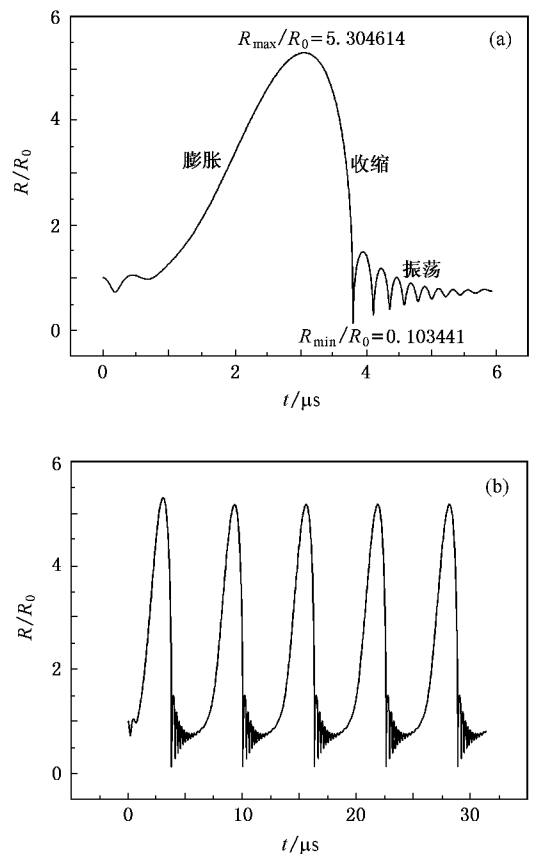


图 1 气泡运动变化过程 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$, $f_a = 200 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$. (a) 一个周期内膨胀、收缩和振荡过程 (b) 长时间稳态空化波形

4.1.2. 气泡非稳态运动

调整超声激励信号的频率、声压或选择不同初始半径的气泡, 空化泡可以产生瞬态空化过程. 如图

图 2(a) 所示, $R_0 = 9.5 \mu\text{m}$ 的气泡加 $f_a = 1000 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$ 的激励信号作用, 气泡产生很短暂的膨胀、收缩、微振荡过程, 到最终无法承受外界负压时出现崩溃. 有些气泡在加激励后表现出瞬时压缩、振荡和小于初始半径的稳定径向脉动, 例如 $R_0 = 0.5 \mu\text{m}$ 的气泡外加 $f_a = 1000 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$ 的激励信号, 表现的运动过程如图 2(b) 所示, 此运动既不属于稳态空化也不属于瞬态空化.

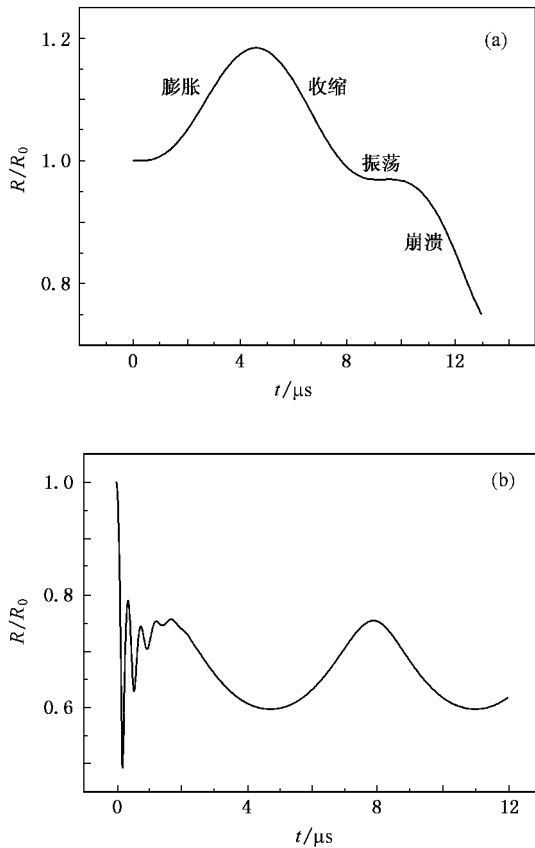


图 2 不同初始半径空化泡可以产生非稳态空化过程 $f_a = 1000 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$. (a) 气泡瞬态空化波形, $R_0 = 9.5 \mu\text{m}$; (b) 气泡振动既非稳态空化也非瞬态空化, $R_0 = 0.5 \mu\text{m}$

4.1.3. 气泡振荡产生冲击效应

图 3 显示了 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$ 的气泡, 在 $f_a = 200 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$ 的超声激励信号作用时气泡壁运动速度 V 的变化情况. 气泡收缩阶段随着振荡半径的减小, 泡壁的运动速度增大, 当气泡振荡半径趋向于零时, 泡壁运动速度极大, 气泡内的能量被压缩到一个极小的空间体积内, 气泡外围的压强快速增加形成高压区. 当气泡从最小半径处反弹时, 外围的高压区减弱, 同时压强逐渐向周围的液体中传播, 形成对外的冲击波^[10]. 冲击效应提高了声孔效应中细胞膜

内外物质通过细胞膜表面孔状结构的速度. 因此, 实验通过提高组织脱水速度达到快速制取切片的目的. 这也说明了气泡振荡的剧烈程度与声孔效应的效果相关.

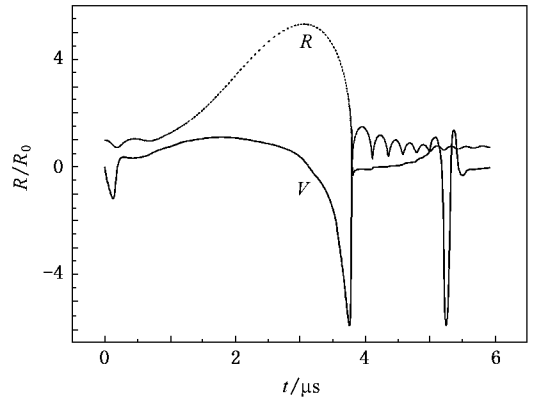


图 3 气泡半径与泡壁运动速度的变化情况 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$, $f_a = 200 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$

4.2. 参数对空化泡运动的影响

4.2.1. 频率的影响

选择 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$ 的气泡, 在 $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$, $\eta = 1 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 时仅改变激励信号的频率 f_a , 研究其变化对空化泡运动的影响. 随激励频率的增加, 气泡的最大振动半径减小. 激励频率较低时, 空化泡收缩有力, 产生较高频率的振荡, 但振荡过程衰减得很快. 激励频率较高时, 空化泡收缩力度较小, 产生的振荡也较缓慢, 但振荡持续的过程较长, 衰减很慢.

激励频率很低时, 空化泡振荡过程消失, 空化泡不再产生径向振动, 如图 4(a) 所示. 随着激励频率进一步提高, 空化泡膨胀、收缩和振荡的周期性变化逐渐消退, 振荡趋向无规律, 如图 4(b) 所示. 这说明使空化泡产生径向振荡运动的激励频率是一个工作频带, 最佳激励频率应该处在这个工作频带中的某些部分, 如 100—1000 kHz 频率带内, 计算得到 200 和 800 kHz 两个最佳的激励频率. 在激励信号工作频带内, 空化泡振动过程中泡壁会产生较高的运动速度. 在这个工作频带内偏离最佳激励频率后, 泡壁的最大运动速度下降, 气泡振荡剧烈程度降低.

4.2.2. 声压的影响

选择 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$ 的气泡, 在 $f_a = 200 \text{ kHz}$, $\eta = 1 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 时仅改变激励信号的声压 P_a , 研究激励信号压强的变化对空化泡运动的影响, 结果如图 5 所示. 由图 5 可见, 随着激励声压由 $1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$ 提

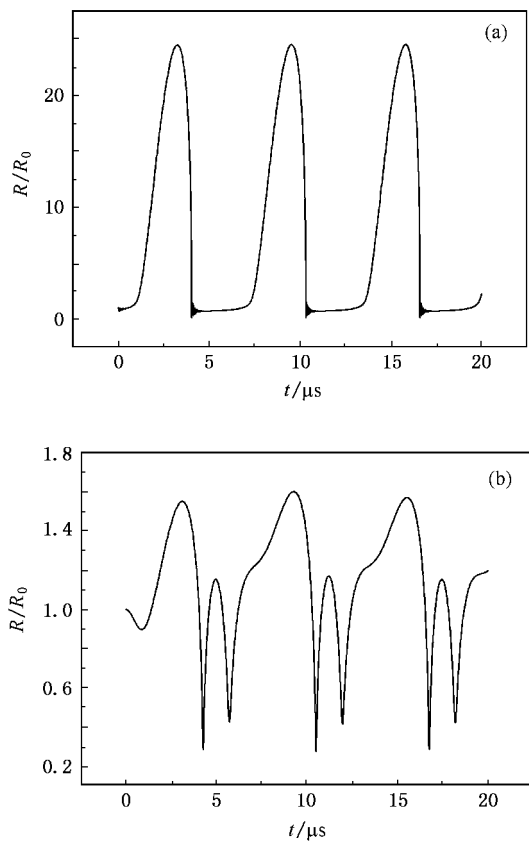


图 4 不同频率激励的气泡运动波形 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$. (a) $f_a = 50 \text{ kHz}$ (b) $f_a = 1200 \text{ kHz}$

高到 $2.0 \times 10^5 \text{ Pa}$, 气泡振荡程度加剧, 泡壁瞬时运动速度 V 提高很多, 冲击效应表现得非常明显. 随着激励声压由 $1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$ 降低到 $1.8 \times 10^5 \text{ Pa}$, 气泡振荡程度减弱, 冲击现象也明显减弱. 这些都表明每个空化泡运动过程中均存在一个相应的驱动声压.

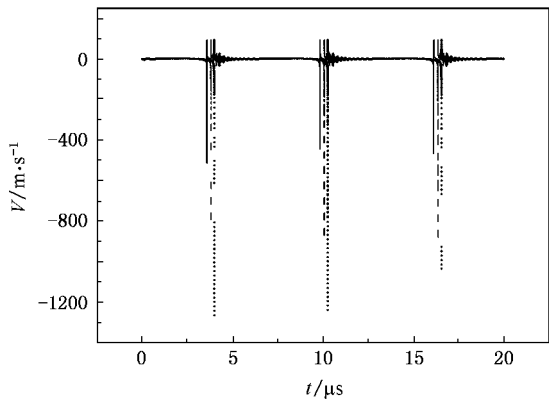


图 5 不同激励压强导致泡壁运动速度变化 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$, $f_a = 200 \text{ kHz}$. 实线为 $P_a = 1.8 \times 10^5 \text{ Pa}$, 短划线为 $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$, 点线为 $P_a = 2.0 \times 10^5 \text{ Pa}$

4.2.3. 气泡初始半径的影响

选择不同 R_0 的空化泡, 以 $f_a = 200 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$, $\eta = 1 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 为条件, 研究空化气泡运动的变化情况, 结果如图 6 所示. 图 6 清楚地表明, 半径过小的气泡虽有周期性变化但无法振荡, 半径过大的气泡振荡会衰减得很快, 不同初始半径的气泡在相同外界条件作用时表现出不同的运动效果.

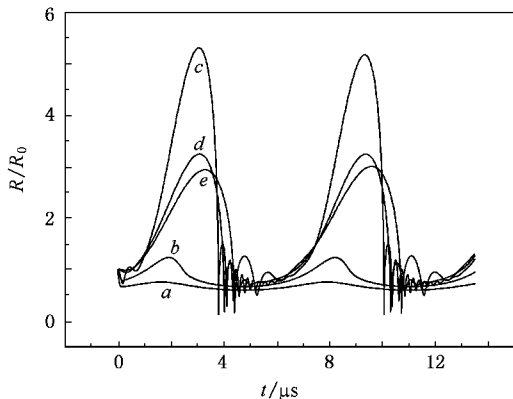


图 6 不同初始半径的气泡运动比较 $f_a = 200 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$. 曲线 a 为 $R_0 = 0.5 \mu\text{m}$, 曲线 b 为 $R_0 = 1 \mu\text{m}$, 曲线 c 为 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$, 曲线 d 为 $R_0 = 3 \mu\text{m}$, 曲线 e 为 $R_0 = 4.5 \mu\text{m}$

4.2.4. 黏滞系数的影响

固定 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$, $f_a = 200 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$ 条件不变, 选择不同黏滞系数 η . 生物组织内部细胞液的黏滞性比普通液体的黏滞性要高一些, 所以必须考虑 η 的影响. 当 η 值较小时, 空化泡的振荡过程比较充分, 随着 η 值的增加, 振荡过程被衰减, 同时气泡的振动半径也随之减小. 图 7 (a), (b) 显示了 $\eta = 1.1 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 和 $\eta = 9.0 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 两种黏滞系数对应气泡壁速度变化的情况. 由图 7 可以看出: η 值较小时, 气泡壁运动的速度很快, 冲击效应很强; η 值增加后, 随着气泡运动半径的减小, 泡壁的最高速度也减小了许多, 由泡壁产生的冲击效应也随之减小.

4.2.5. 稳态空化阈

从以上所述可见, 激励频率、声压、黏滞系数和气泡初始半径 4 个参数对气泡振动有很大影响, 存在气泡形成稳定空化的区域, 如图 8 所示. 在稳定空化区域中还存在着最佳稳态区域, 在这个区域中气泡不但能产生稳态的振动形式, 而且振动产生的泡壁收缩速度和冲击效应都极大. 由图 8 可见, 频率在 200 和 800 kHz 附近出现了最佳稳态区域, 这与我们的实验结果相符.

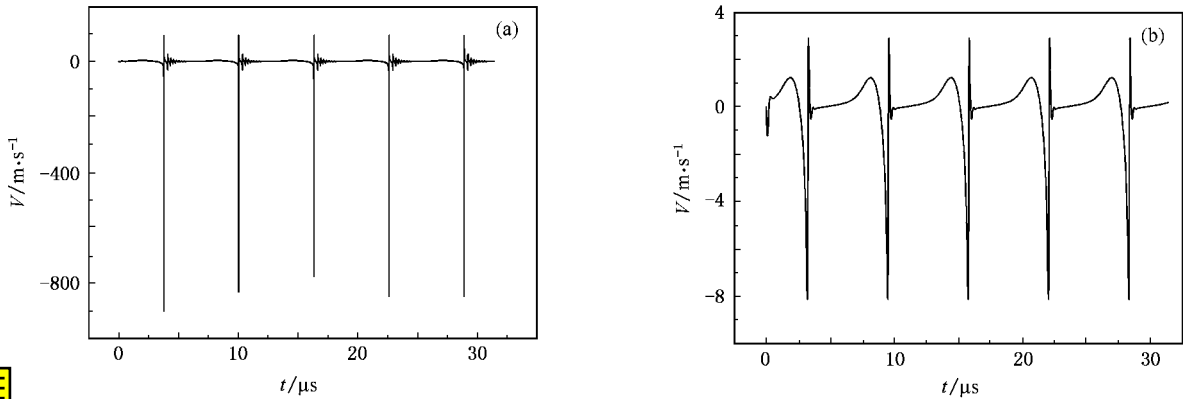


图 7 不同黏滞系数下的泡壁运动速度 $R_0 = 1.5 \mu\text{m}$, $f_a = 200 \text{ kHz}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$. (a) $\eta = 1.1 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ (b) $\eta = 9.0 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$

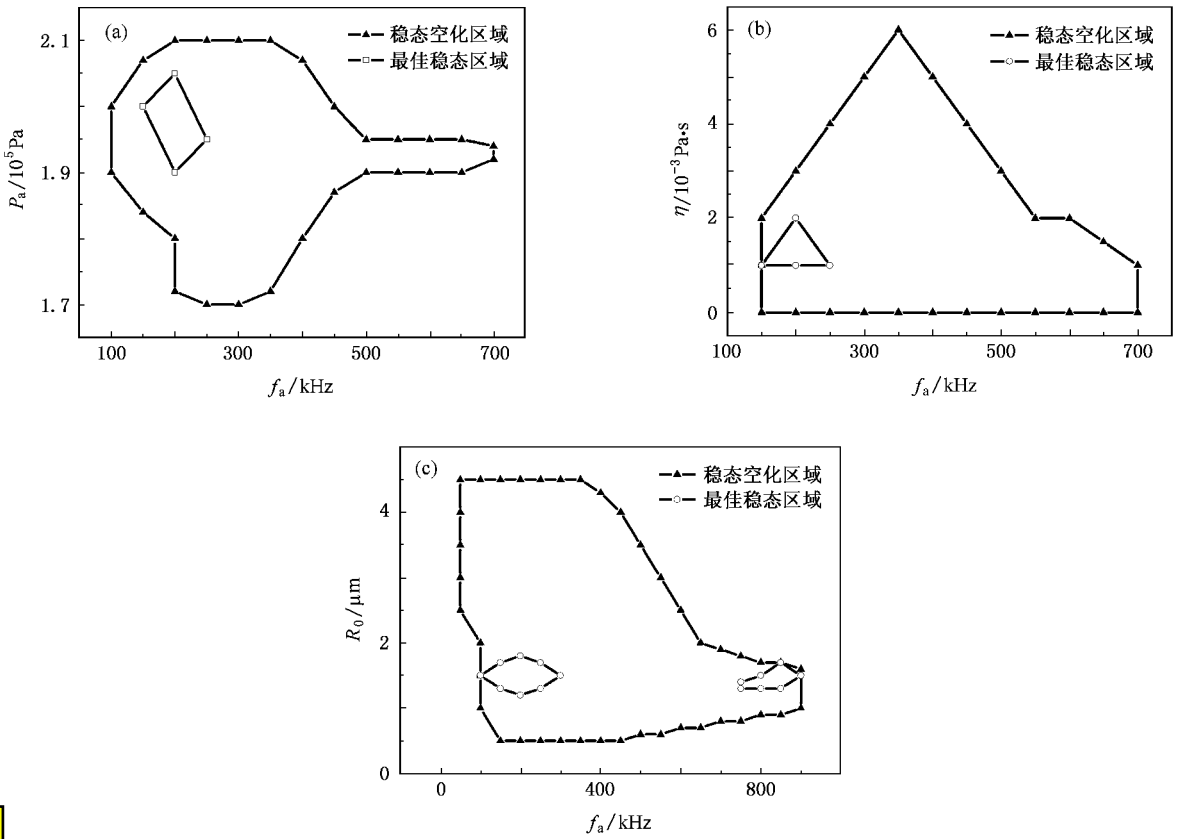


图 8 稳态空化区域和最佳稳态区域 (a) 频率和激励声压决定的稳态空化区域 ($R_0 = 1.5 \mu\text{m}$, $\eta = 1.0 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$) (b) 频率和黏滞系数决定的稳态空化区域 ($R_0 = 1.5 \mu\text{m}$, $P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$) (c) 频率和气泡初始半径决定的稳态空化区域 ($P_a = 1.9 \times 10^5 \text{ Pa}$, $\eta = 1.0 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$)

5. 结 论

通过计算,我们发现激励信号频率、声压、空化气泡的初始半径、组织液黏滞系数等外部条件都影响气泡的空化运动过程,形成空化域.在这四个因素的综合作用下,空化域不是唯一的,它可在若干个连续或间隔的区间内出现最佳空化带,产生稳定的声

孔效应作用.理论计算表明,在 200 和 800 kHz 附近频率信号存在最佳稳态区域,这与我们的实验结果是一致的.说明声孔效应的产生和作用与空化泡的动力学参数之间确实存在关系.

超声波声孔效应作用于生物细胞组织快速制取细胞组织病理切片方法,在临床快速病理诊断中有很好的前景,目前我们正从设计超声声场分布的角度着手解决快速处理的问题.

- [1] Bolsover S R , Shephard E A , White H A *et al* 2004 *Cell Biology* (Hoboken , New Jersey : John Wiley & Sons Inc. Publication) p1
- [2] Qian M L , Cheng Q , Ge C Y 2002 *Chin. J. Acoust.* **21** 296
- [3] Qian Z W , Xiao L , Guo L H 2004 *Chin. Phys.* **13** 1059
- [4] Miller D L , Bao S , Morris J E 1999 *Ultrasound Med. Biol.* **25** 143
- [5] Miller D L 1987 *Ultrasound Med. Biol.* **13** 443
- [6] Bao S , Trall B D , Miller D L *et al* 1997 *Ultrasound Med. Biol.* **23** 953
- [7] Ward M , Wu J , Chiu J 1999 *Acoust. Soc. Am.* **105** 2951
- [8] Wu J 2002 *Ultrasound Med. Biol.* **28** 125
- [9] Chen Q , Zou X Y , Cheng J C *et al* 2005 *Techn. Acoust.* **24** 497 (in Chinese) [陈 谦、邹欣晔、程建春等 2005 声学技术 **24** 497]
- [10] Liu H J , An Y 2004 *Acta Phys. Sin.* **53** 1406 (in Chinese) [刘海军、安 宇 2004 物理学报 **53** 1406]

Investigation of bubble dynamics in ultrasonic sonoporation *

Chen Qian Zou Xin-Ye Cheng Jian-Chun[†]

(*Laboratory of Modern Acoustics , Nanjing University , Nanjing 210093 , China*)

(Received 6 March 2006 ; revised manuscript received 9 August 2006)

Abstract

During the process of quickly producing pathologic sections of the living tissues with ultrasonic sonoporation , it has been found that the exciting ultrasonic signal has an evident effect on the pathologic section. For the sake of understanding the effect and obtaining the best state of quickly producing pathologic section , the bubble dynamics in ultrasonic sonoporation is investigated by constructing a model of cavitated bubbles and altering the parameters , such as the ultrasonic signal frequency , acoustic pressure , bubbles ' original radius and viscosity of the fluid. Numerical simulations indicate that radial vibration of cavitating bubble can keep on a steady process of expanding , shrinking , and vibrating in a given rang of frequencies , and one can find out the best original radius for obtaining the maximal cavitation. There exist a best cavitation regions which are determined by the parameters , i. e. , the ultrasonic signal frequency , acoustic pressure , bubbles ' original radius and viscosity of body fluid.

Keywords : sonoporation , ultrasonic cavitate , bubble vibration , stable cavitation area

PACC : 4325 , 4335 , 4360

* Project supported by the National Natural Science Foundation for Distinguished Young Scholars of China (Grant No. 10125417).

[†] Corresponding author. E-mail : jcheng@nju.edu.cn