

Петрищев Н.Н.<sup>1</sup>, Цибин А.Ю.<sup>1</sup>, Семенов Д.Ю.<sup>1</sup>, Беркович А.Е.<sup>2</sup>,  
Юкина Г.Ю.<sup>1</sup>, Блюм Н.М.<sup>1</sup>, Ефимов А.Н.<sup>1</sup>, Бурсиан А.А.<sup>2</sup>, Сенчик К.Ю.<sup>2</sup>

## Применение фокусированного ультразвука высокой интенсивности для облитерации вен в эксперименте

<sup>1</sup> — ГБОУ высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный университет им. И.П. Павлова» Минздрава России, 197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6-8

<sup>2</sup> — Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», 195251, Санкт-Петербург, Политехническая ул., д. 29

**Цель исследования** — изучение влияния фокусированного ультразвука высокой интенсивности (ФУВИ) на структурные компоненты стенки вен.

**Методика.** Для генерации ультразвука и прицельного воздействия на сосуды был использован специальный стенд, включающий фокусирующий сферический силовой излучатель; напряжение питания генератора силового излучателя 25 В, частота силового излучения 1,9 МГц, интенсивность ультразвука в фокальном пятне составляла приблизительно 8,7 кВт/см<sup>2</sup>.

**Результаты.** После однократного воздействия ФУВИ (15 с) на бедренную вену отмечена частичная десквамация эндотелия, вакуолизация цитоплазмы миоцитов, дезорганизация и коагуляция коллагеновых волокон. При импульсном воздействии ФУВИ (5 импульсов по 5 с) на заднюю полую вену наблюдались коагуляционные изменения во всех отделах стенки вены, участки фибриноидного некроза, выраженная десквамация эндотелия, зоны отторжения интимы. Изменения коллагена в средней оболочке и адвентиции вен свидетельствует о том, что примененная технология воздействия ФУВИ на вены обеспечивает повышение температуры в зоне облучения около 60°C. В мышцах, прилежащих к вене и попавших в зону воздействия ФУВИ определяется отек стромы и мышечных волокон, фрагментации и коагуляции в части волокон, изменение хромогенности, нейтрофильная инфильтрация. Эти изменения можно оценить как проявление острого повреждения (острый фасциит). В прилегающих к сосудам жировой клетчатке также имеет место отек и липолиз, диapedезные кровоизлияния, лейкоцитарная инфильтрация. Структурные изменения в стенке вен после воздействия ФУВИ рассматриваются как основа последующей облитерации.

**Заключение.** Воздействие фокусированного ультразвука высокой интенсивности на вены вызывает структурные изменения в их стенке, которые можно рассматривать как основу последующей облитерации.

**Ключевые слова:** фокусированный ультразвук высокой интенсивности; ФУВИ-технологии; облитерация вен; ультразвуковая термическая абляция

**Для цитирования:** Петрищев Н.Н., Цибин А.Ю., Семенов Д.Ю., Беркович А.Е., Юкина Г.Ю., Блюм Н.М., Ефимов А.Н., Бурсиан А.А., Сенчик К.Ю. Применение фокусированного ультразвука высокой интенсивности для облитерации вен в эксперименте. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016; 60(1): 89–93.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (соглашение о предоставлении субсидии № 14.578.21.0081 от 28.11.2014 г.).

Petrishchev N.N.<sup>1</sup>, Tsibin A.U.<sup>1</sup>, Semenov D.U.<sup>1</sup>, Berkovich A.E.<sup>2</sup>,  
Yukina G.U.<sup>1</sup>, Blum N.M.<sup>1</sup>, Efimov A.N.<sup>1</sup>, Bursian A.A.<sup>2</sup>, Senchik K.U.<sup>2</sup>

## Applying HIFU for the obliteration of the veins in the experiment

<sup>1</sup> — State Educational Institution of Higher Professional Education «Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University» Russian Ministry of Health, Tolstoy Str. 6-8, St. Petersburg, 197022, Russia

<sup>2</sup> — Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education «Peter the Great Saint-Petersburg Polytechnic University», Polytechnical St., 29, St. Petersburg, 195251, Russia

The effect of high-intensity focused ultrasound (HIFU) on venous wall structure was studied in the rabbit model. Special setup was developed for ultrasound generation and vessel targeting.

**Methods.** The essential part of the setup is spherical focusing power irradiator with following characteristics: power

**Для корреспонденции:** Петрищев Николай Николаевич, доктор мед. наук, проф., руководитель Центра лазерной медицины ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, e-mail: lasmed@yandex.ru

supply voltage of 25 V, frequency of 1.9 MHz, ultrasound intensity in the focal spot  $\sim 8.7 \text{ kW/cm}^2$ .

**Results.** Single 15-s exposure of the femoral vein to HIFU resulted in partial desquamation of the endothelium, vacuolization of myocyte cytoplasm, misarrangement and coagulation of collagen fibers. Pulsed HIFU (5 pulses for 5 s each) caused protein coagulation in all layers of venous wall (v. cava posterior) as well as the appearance of the areas of fibrinoid necrosis, severe endothelial desquamation, and intimal detachment. HIFU-induced collagen structural changes in media and adventitia of the vein suggest that HIFU exposure resulted in local temperature increase up to  $\sim 60^\circ\text{C}$ . In some experiments, adjacent to the vein muscles were also exposed to HIFU. In this case, edema of the interstitium and muscle fibers was registered, as well as fragmentation and coagulation of some fibers, altered staining patterns and neutrophil infiltration. These changes could be attributed to the development of acute muscle injury (acute fasciitis). Perivascular adipose tissue also demonstrated edema and lipolysis, red blood cell diapedesis, and leukocyte infiltration.

**Conclusion.** The observations on structural changes in the venous wall after HIFU exposure could lay the ground for future experiments on HIFU — mediated obliteration.

**Keywords:** high intensity focused ultrasound; HIFU-technology; obliteration veins; ultrasonic thermal ablation

**For citation.** Petrishchev N.N., Tsibin A.U., Semenov D.U., Berkovich A.E., Yukina G.U., Blum N.M., Efimov A.N., Bursian A.A., Senchik K.U. Applying HIFU for the obliteration of the veins in the experiment. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2016; 60(1): 89—93. (in Russian)

**For correspondence:** Petrishchev N.N., e-mail: lasmed@yandex.ru

**Funding.** The work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (grant agreement № 14.578.21.0081 from 11.28.2014).

Принципиально новым подходом к лечению ряда болезней можно рассматривать использование неинвазивного воздействия фокусированного ультразвука высокой интенсивности (ФУВИ), в основе действия которого лежит формирование очага коагуляционного некроза в заданной точке без повреждения прилежащих здоровых тканей и структур, располагающихся по ходу ультразвуковой волны [1,2].

Впервые феномен ультразвуковой термической абляции в качестве метода лечения был описан в 1942 г. [3]. Однако до середины XX века серьезным препятствием для развития данного метода являлось отсутствие надежных средств визуализации наведения. С момента появления первых промышленных установок лишенных вышеназванных недостатков, во многих странах ФУВИ — технология широко применяется, главным образом в онкологии. Ряд исследователей рассматривает ультразвуковую абляцию как перспективный метод лечения варикозной болезни нижних конечностей. Это предположение основано на результатах немногочисленных экспериментальных исследований по применению ФУВИ для индукции тепловой коагуляции стенки сосудов [4—6], однако остаются невыясненными оптимальные режимы воздействия ФУВИ на вены, обеспечивающие их облитерацию.

**Цель исследования** — изучение влияния фокусированного ультразвука высокой интенсивности (ФУВИ) на структурные компоненты стенки вен.

### Методика

Эксперименты выполнены на кроликах породы Шиншилла (масса тела 2,5—3,0 кг). Животные содержались в стандартных условиях вивария. Иссле-

дования проводились в соответствии с правилами лабораторной практики (приказ №267 МЗ РФ от 19.06.2003 г.) и одобрена локальным Этическим комитетом. Для наркоза использовали уретан (Sigma-Aldrich, США), — 2,0 мл/кг 40% раствора уретана внутривенно.

Доступом на бедре выделяли бедренную вену, после средне-срединной лапаротомии — заднюю полую вену. Для визуализации кровотока и ФУВИ воздействия использовали лабораторный стенд, состоящий из ультразвукового блока (УБ), блока управления, устройства позиционирования. УБ включает ультразвуковой диагностический линейный датчик и фокусирующий сферический силовой излучатель. Диагностический датчик, подключенный к ультразвуковому диагностическому аппарату ЭТКС-ДМ-04, обеспечивает наведение фокуса силового излучения на сосуд. Фокусирующий излучатель подключен к выходу высокочастотного генератора, управляемого отдельным программным модулем УЗ аппарата. Устройство позиционирования, снабженное винтовыми подачами и шкалами, обеспечивает контролируемое механическое перемещение по 3 координатам. Акустический контакт между УБ и объектом исследования обеспечивался за счет слоя эхогеля. Органы управления стенда позволяют варьировать длительность и интенсивность силового воздействия. Во всех опытах использовалось напряжение питания генератора силового излучателя 25 В, частота силового излучения 1,9 мГц, интенсивность ультразвука в фокальном пятне составляла приблизительно  $8,7 \text{ кВт/см}^2$ .

Подвергнутые воздействию ФУВИ участки сосудов с окружающими тканями иссекали для гистологического исследования. Материал обрабатывался по

общепринятым в гистологической практике методикам. Микроскопический анализ проводили на световом микроскопе Leica DM750 (Германия) при увеличении  $\times 400$ . Фотосъёмку гистологических объектов выполняли, используя цифровую микрофотокамеру ICC50 (Leica, Германия).

### Результаты и обсуждение

В 1-й группе опытов (3 кролика) воздействие ФУВИ на бедренные вены производилось однократно в течение 15 с. После этого сосуды выделяли, производили их осмотр и забор материала для гистологического исследования. Кровоток в венах по данным УЗИ после воздействия ФУВИ сохранялся.

Макроскопически облученные участки сосуда выглядели бледными, видимых поверхностных дефектов, перфораций и кровотечений не наблюдалось. При гистологическом исследовании установлены структурные изменения во всех слоях стенки вен.

В интима выявлялись признаки очаговой десквамации эндотелия и участки с сохранённым эндотелием. Субэндотелий отечен, отмечается гомогенизация и уплотнение коллагена, местами его коагуляция. Интима инфильтрирована лейкоцитами. В средней оболочке гладкие миоциты набухшие, наблюдается вакуолизация их цитоплазмы, а также гомогенизация и коагуляция коллагена; в некоторых препаратах — диапедезные кровоизлияния. В адвентиции определяется отечность, разволокнение коллагена, диапедезные кровоизлияния.

В просвете вен, подвергшихся воздействию ФУВИ видны эритроциты, десквамированный эндотелий, в отдельных случаях нити фибрина. Проницаемость вен сохранена, окклюзии не наблюдалось.

В мышцах, прилежащих к вене и попавших в зону воздействия ФУВИ определяется отек стромы и мышечных волокон, признаки фрагментации и коагуляции в части волокон, изменение хромогенности, нейтрофильная инфильтрация стромы. Эти изменения можно оценить как проявление острого повреждения (острый фасциит). В прилегающей к сосудам жировой клетчатке также имеет место отек, липолиз, диапедезные кровоизлияния, лейкоцитарная инфильтрация.

Во 2-й группе (4 кролика) производилось УЗ-воздействие на заднюю полую вену. В одном из экспериментов вена облучалась в течение 25 с при выключенном кровотоке. При гистологическом исследовании установлено, что в вене, эндотелий сосуда полностью десквамирован, субэндотелиальный слой отсутствует. В просвете сосуда видны разрушенные эритроциты, эндотелиоциты и незначительное количество лейкоцитов. Гладкие миоциты средней оболочки непосредственно контактируют с кровью, цито-

плазма гомогенизирована, границ клеток не выявляется. Коллагеновые волокна с признаками коагуляционного некроза. В адвентиции отёк и фрагментация коллагеновых структур.

В следующем эксперименте воздействие ФУВИ на заднюю полую вену (при сохранённом кровотоке) производилось 5 раз по 5 с; в зоне облучения произошел разрыв вены, в месте повреждения морфологический анализ выявил коагуляционные изменения во всех отделах стенки сосуда. Эндотелий и субэндотелиальный слой отсутствуют на всём протяжении. В просвете сосуда наблюдается эффект «запекания» крови. Гладкие миоциты средней оболочки граничат непосредственно с кровью, их цитоплазма гомогенизирована, границ клеток не выявляется. Коллагеновые волокна дезорганизованы, набухшие, местами фрагментированы и слипшиеся. Коллагеновые волокна в адвентициальной оболочке также частично фрагментированы. В структурах стенки вены мозаично выявляются участки фибриноидного некроза.

На расстоянии 1 см от места разрыва стенки вследствие ультразвукового воздействия эндотелий местами отслаивается, клетки отслоившегося пласта сохранены, однако, отмечается вакуолизация цитоплазмы. В субэндотелиальном слое признаки отёка отсутствуют. В просвете сосуда обнаруживаются скудные эритроцитарные массы. В средней оболочке участки повреждения располагаются мозаично, коллагеновые волокна утолщенные, с признаками фибриноидного набухания, гладкие миоциты без изменений. В адвентиции выявляется расширение ваза-вазorum, в зонах повреждения коллагеновые волокна деструктурированы.

В следующих 2 экспериментах воздействие ФУВИ на заднюю полую вену производили через слой жира толщиной около 1 см. Участки вены облучали 5 раз по 5 с. В одной из вен эндотелий большей частью отторгнут, местами эндотелиоциты были набухшими и вакуолизированными. В субэндотелиальном слое отёк не выявлялся. В средней оболочке вены гладкие миоциты также были вакуолизированы, их цитоплазма отёчна, местами границы между клетками отсутствовали. Выявляются набухшие коллагеновые волокна, местами слипшиеся. В адвентиции очагово выявляется деструкция и дезорганизация коллагеновых волокон, видны участки кровоизлияний.

В другом эксперименте морфологический анализ выявил в задней полой вене разрыв стенки с кровоизлиянием в окружающие ткани. В зоне поражения эндотелий отслоен (70% сечения), местами отмечается его вакуолизация. Отёка в субэндотелиальном слое не выявляется. В просвете сосуда видна неизменная кровь, в зоне отторжения интимы отмечается краевое стояние лейкоцитов. В средней оболочке сосуда гладкие миоциты в основном не изменены. Коллагеновые

волокна дезорганизованы, разволокнены, пропитаны кровью. Адвентиция в местах кровоизлияния разрушена, коллагеновые волокна в ней фрагментированы и разволокнены. В окружающей жировой ткани наблюдаются явления дезорганизации и коагуляции соединительнотканых структур.

Таким образом, в наших экспериментах воздействия ФУВИ на вены во всех случаях приводило к десквамации эндотелия и деструктуризации коллагена. Степень выраженности этих изменений зависела от режима облучения.

Коллаген, как известно, является важнейшим компонентом стенки вен, особенно средней оболочки и адвентиции. Структурные изменения коллагена возникают при нагревании его выше 54°C. Нагрев коллагена до 60—69°C приводит к денатурации и деструктуризации (разволокненность, разрывы волокон, «спайка» волокон и т.д.) [5,9]. При нагреве выше 69°C коллаген подвергается сжатию вплоть до 60% от первоначальной длины. При этом стенка вены становится менее эластичной, жесткой, хрупкой и склонной к разрывам. Максимальное сжатие коллагена происходит в первые секунды нагрева [7, 10].

Полученные нами данные указывают на то, что примененная технология воздействия ФУВИ обеспечивает повышение температуры в зоне облучения около 60°C, что достаточно для денатурации коллагена. В некоторых опытах ФУВИ вызвало, по видимому, еще большее повышение температуры, что приводило к коагуляции структурных компонентов сосудистой стенки и ее разрыву.

В механизме окклюзии и облитерации вен большое значение имеет активация системы гемостаза в ответ на повреждение эндотелия. Во всех экспериментах после воздействия ФУВИ мы наблюдали те или иные изменения эндотелиоцитов: вакуолизация цитоплазмы, набухание, десквамация. В некоторых случаях структурные изменения были столь значительны, что средняя оболочка вен контактировала непосредственно с кровью. Вместе с тем, случаев пристеночного или обтурирующего тромбоза вен мы не выявили. Возможно, это объясняется тем, что исследование вен производилось в ближайшее время после воздействия ФУВИ (тромбы могли образоваться позже), а также тем, что тепловое воздействие снижает агрегационную и адгезивную активность тромбоцитов [8]. Можно предположить, что повреждение эндотелия под воздействием ФУВИ приведет к более быстрой инициации тромбоза вен в том случае, когда денатурация коллагена и жесткость сосудистой стенки будет менее выражена и, следовательно, менее ограничены возможности вазопазма, способствующего тромбозу.

Дальнейшее совершенствование технологии воздействия ФУВИ на вены должно быть направлено на

то, чтобы минимизировать повреждение коллагена и добиться того, чтобы эпицентром действия ФУВИ был эндотелий. Достичь этой цели можно за счет совершенствования процесса фокусирования.

## Заключение

Воздействие фокусированного ультразвука высокой интенсивности на вены вызывает структурные изменения в их стенке, которые можно рассматривать как основу последующей облитерации. Использование ФУВИ-технологии при венозной недостаточности нижних конечностей человека особенно актуально при несостоятельности коммуникантных вен (горизонтальный рефлюкс). Особенностью ФУВИ-технологии является неинвазивность и минимальное повреждение тканей окружающих сосуды.

## References

1. Clarke R.L., ter Haar G.R. Temperature rise recorded during lesion formation by high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* 1997; 23: 299-306.
2. Cline H.E., Schenck J.F., Hynynen K. et al. MR-guided focused ultrasound surgery. *J. Comput. Assist. Tomogr.* 1992; 16: 956-65.
3. Lynn J.G., Zwemer R.L., Chick A.J., Miller A.E. A new method for the generation and use of focused ultrasound in experimental biology. *J. Gen. Physiol.* 1942; 26: 179-93.
4. Delon-Martin C., Vogt C., Chignier E., Guers C., Chapelon J.Y., Cathignol D. Venous thrombosis generation by means of high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* 1995; 21: 113-9.
5. Henderson P.W., Lewis G.K., Shaikh N. et al. A portable high-intensity focused ultrasound device for noninvasive venous ablation. *J. Vasc. Surg.* 2010; 51: 707-11.
6. Hwang J. H., Zhou Y., Warren C. et al. Targeted Venous Occlusion Using Pulsed High-Intensity Focused Ultrasound. *IEEE transactions on biomedical engineering.* 2010; 57: 1653-8.
7. Martin R.W., Vaezy S., Kaczkowski P. et al. Hemostasis of punctured vessels using Doppler-guided high-intensity ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* 1999; 25: 985-90.
8. Rao G.H., Smith 2nd C.M., Escobar G., White J.G. Influence of heat on platelet biochemistry, structure, and function. *J. Lab. Clin. Med.* 1993; 122: 455-64.
9. Tokarczyk A., Rivens I., van Bavel E. et al. An experimental system for the study of ultrasound exposure of isolated blood. *Phys. Med. Biol.* 2013; 58: 2281-304.
10. Shaw C.J., ter Haar G.R., Rivens I.H., Giussani D.A., Lees C.C. Pathophysiological mechanisms of high-intensity focused ultrasound-mediated vascular occlusion and relevance to non-invasive fetal surgery. *Journal of The Royal Society Interface.* 2014; 26, 11 (95):20140029.doi:10/1098.rsif.2014/0029

Поступила 20.11.15

**Сведения об авторах:**

*Цибин Андрей Юрьевич*, канд. мед. наук, доцент каф. общей хирургии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, e-mail: [autsibin@yandex.ru](mailto:autsibin@yandex.ru)

*Семенов Дмитрий Юрьевич*, доктор мед. наук, проф., зав. каф. общей хирургии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, e-mail: [Semenov\\_du@mail.ru](mailto:Semenov_du@mail.ru)

*Беркович Александр Ефимович*, зав. лаб. «Медицинская ультразвуковая аппаратура» ФГАОУ ВО «СПбПУ», e-mail: [aerberkovich@yandex.ru](mailto:aerberkovich@yandex.ru)

*Юкина Галина Юрьевна*, канд. мед. наук, зав. лабораторией патоморфологии НИЦ ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, e-mail: [ripson@inbox.ru](mailto:ripson@inbox.ru)

*Блюм Наталья Михайловна*, науч. сотр. лаб. патоморфологии НИЦ ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, e-mail: [blumn@mail.ru](mailto:blumn@mail.ru)

*Ефимов Андрей Николаевич*, канд. мед. наук, доцент каф. клинической анатомии и оперативной хирургии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, e-mail: [efiand@yandex.ru](mailto:efiand@yandex.ru)

*Бурсиан Андрей Арнольдович*, гл. конструктор лаб. «Медицинская ультразвуковая аппаратура» ФГАОУ ВО «СПбПУ», e-mail: [bursian@mail.ru](mailto:bursian@mail.ru)

*Сенчик Константин Юрьевич*, доктор мед. наук, проф., консультант лаб. «Медицинская ультразвуковая аппаратура» ФГАОУ ВО «СПбПУ»