



<https://doi.org/10.34883/PI.2023.12.3.019>
УДК 616.13-004.6-089:615.837.6



Чур С.Н.¹✉, Адзерихо И.Э.², Владимирская Т.Э.², Фатеева О.А.¹

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Белорусская медицинская академия последипломного образования,
Минск, Беларусь

Влияние внутрисосудистого ультразвукового воздействия на морфологическую структуру пораженной атеросклерозом артериальной стенки

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Чур С.Н. – написание текста, концепция и дизайн исследования; Адзерихо И.Э. – редактирование текста; Владимирская Т.Э. – обработка данных гистологического исследования; Фатеева О.А. – написание текста, компьютерная обработка данных.

Этическое заявление. При выполнении работы в обязательном порядке выполнялись требования статьи 32 Закона Республики Беларусь от 18 июня 1993 г. «О здравоохранении» в редакции от 11 декабря 2020 г. № 94-З. Согласно указанной статье проведения заседания этической комиссии по данному вопросу не требовалось.

Финансирование. Данная экспериментальная работа проведена в рамках научно-исследовательской работы «Разработать и внедрить метод эндоваскулярной ультразвуковой абляции с использованием акустической системы в комплексном лечении пациентов с синдромом диабетической стопы» Государственной научно-технической программы «Новые методы оказания медицинской помощи» подпрограммы «Болезни системы кровообращения» (Республика Беларусь). Работа проводилась при финансировании из республиканского бюджета с привлечением внебюджетного финансирования государственного учреждения образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования».

Подана: 10.08.2023

Принята: 18.09.2023

Контакты: serchur@rambler.ru

Резюме

Введение. Основной причиной рестеноза после эндоваскулярных процедур является развитие интимальной гиперплазии, возникающей в ответ на асептическое воспаление вследствие травмы сосудистой стенки и/или имплантации инородного тела.

Цель. Изучить влияние внутрисосудистого ультразвука с различными мощностными характеристиками на оболочки сосудистой стенки магистрального артериального сосуда в зоне озвучивания. Определить наиболее эффективные и безопасные параметры внутрисосудистого ультразвукового воздействия на артериальную стенку.

Материалы и методы. Проведено исследование *in vitro*. Объектом исследования являлся аутопсийный материал бедренно-подколенных сегментов артерий с наличием субтотального хронического стеноза различной протяженности. Внутрисосудистое низкочастотное высокоинтенсивное ультразвуковое воздействие оказывалось устройством для акустоиндуцированного тромболизиса (производство Республики Беларусь). Для поиска оптимальных параметров ультразвукового воздействия на артериальную стенку были использованы возможности аппарата по расширению диапазона частоты воздействия, интенсивности и амплитуды поперечных колебаний. Ультразвуковое воздействие в зоне стенотического поражения артериального сегмента оказывалось посредством специально сконструированных волноводов различной длины. По окончании экспериментальной работы *in vitro* проводилось гистологическое и морфологическое исследование сосудистых образцов.

Результаты. Определены параметры эффективного и безопасного внутрисосудистого ультразвукового воздействия на артериальную стенку сегмента магистрального сосуда нижней конечности, пораженного атеросклеротическим процессом.

Заключение. Использование внутрисосудистого ультразвукового воздействия на пораженную атеросклерозом стенку сосуда позволит улучшить результаты проводимого в клинических условиях эндоваскулярного хирургического лечения путем изменения биомеханических свойств сосуда в зоне акустического воздействия.

Ключевые слова: атеросклероз, внутрисосудистое ультразвуковое воздействие, окклюзия и стеноз магистральных артерий, биомеханические свойства артерий

Sergey N. Chur¹✉, Ihor E. Adzeriho², Tatyana E. Vladimirskaia², Oksana A. Fateeva¹

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Belarus

Effect of Endovascular Ultrasonic Impact on the Morphological Structure of the Arterial Wall Affected by Atherosclerosis

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Sergey N. Chur – text writing, research concept and design; Ihor E. Adzeriho – text editing; Tatyana E. Vladimirskaia – processing of histological examination data; Oksana A. Fateeva – text writing, computer data processing.

Ethics statement. When performing work, the requirements of Article 32 of the Law of the Republic of Belarus dated June 18, 1993 "On Health Care" as amended on December 11, 2020 No. 94-3 were complied with without fail. According to the above article, a meeting of the ethical commission on this issue was not required.

Funding. This experimental work was carried out as part of the research work "Develop and implement a method of endovascular ultrasound ablation using an acoustic system in the complex treatment of patients with diabetic foot syndrome" of the State Scientific and Technical Program "New Methods of Providing Medical Care" of the subprogram "Diseases of the circulatory system" (Republic of Belarus). The work was carried out with funding from the Republican budget with the involvement of extrabudgetary funding from the State Educational Institution "Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education".

Submitted: 10.08.2023

Accepted: 18.09.2023

Contacts: serchur@rambler.ru

Abstract

Introduction. The main cause of restenosis after endovascular procedures is the development of intimal hyperplasia, which occurs in response to aseptic inflammation due to trauma to the vascular wall and/or implantation of a foreign body.

Purpose. To study the effect of intravascular ultrasonic with different power characteristics on the shells of the vascular wall of the main arterial vessel in the sonication zone. Determine the most effective and safe parameters of endovascular ultrasonic treatment of the arterial wall.

Materials and methods. An in vitro study was carried out. The object of the study was the autopsy material of the femoral-popliteal segments of the arteries, with the presence of subtotal chronic stenosis of various lengths. Intravascular low-frequency high-intensity ultrasonic treatment turned out to be a device for acoustically induced thrombolysis (Republic of Belarus). To search for the optimal parameters of ultrasonic impact on the arterial wall, we used the capabilities of the device to expand the range of exposure



frequency, intensity and amplitude of transverse vibrations. Ultrasonic impact in the area of interest was provided by specially designed waveguides of various lengths. At the end of the experimental work in vitro, a histological and morphological study of vascular samples was carried out.

Results. The parameters of effective and safe intravascular ultrasonic impact on the arterial wall of the segment of the main vessel of the lower limb affected by atherosclerotic process were determined.

Conclusion. The use of intravascular ultrasonic impact on the vessel wall affected by atherosclerosis will improve the results of endovascular surgical treatment performed in clinical conditions by changing the biomechanical properties of the vessel in the zone of acoustic impact.

Keywords: atherosclerosis, intravascular ultrasonic treatment, occlusion and stenosis of the main arteries, biomechanical properties of arteries

■ ВВЕДЕНИЕ

Основными методами реваскуляризации при хронической ишемии, угрожающей потерей конечности (ХИУПК), обусловленной окклюзионными поражениями или значимыми стенозами магистральных артерий, являются реконструктивно-восстановительные операции [3, 6]. ХИУПК представляет собой конечную стадию заболевания периферических артерий и получает все более широкое распространение среди пациентов во всем мире, увеличивая расходы здравоохранения на их лечение. Являясь коморбидным состоянием, она характеризуется достаточно высокой смертностью, высоким риском потери конечности, сопровождается хроническим болевым синдромом и снижением качества жизни [4]. Реваскуляризирующими методами являются открытые хирургические вмешательства наряду с рентгенэндоваскулярными. Однако в ряде случаев применение открытых ангиохирургических вмешательств имеет свои ограничения: сочетание окклюзий и стенозов на непротяженных сегментах пораженных атеросклеротическим процессом артерий, отсутствие аутовены, пригодной для реконструкции, на бедре или голени, тяжелое общее состояние и отказ пациентов от открытой операции, а также высокая травматичность самих оперативных вмешательств [1, 4]. Развитие современных технологий диагностики и лечения окклюзионно-стенотических поражений магистральных артерий у пациентов с атеросклерозом и ишемическими нарушениями при синдроме диабетической стопы [2, 5] обусловило поиск такого метода, который при минимальном операционном риске позволил бы осуществить реваскуляризацию конечности. Внутрисосудистому воздействию низкочастотного высокоинтенсивного ультразвука (УЗ) на артериальную стенку и посвящена данная работа.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить *in vitro* действие УЗ-ангиопластики на биомеханические свойства пораженной атеросклерозом стенки магистрального сосуда как на фоне, так и без сахарного диабета и определить оптимальные параметры акустической системы для применения в клинических условиях.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлся аутопсийный материал бедренно-подколенных сегментов артерий с наличием субтотального хронического стеноза различной протяженности, позволяющего провести в просвете сосуда волновод диаметром до 0,2 см. Для исследования использованы бедренно-подколенные сегменты артерий ($n=100$, длина 20–25 см), изъятые во время аутопсии в областном патолого-анатомическом бюро г. Минска у умерших в отделениях учреждения здравоохранения «Минская областная клиническая больница». Отбор материала проводили в случаях, когда после смерти пациента прошло не более 12 часов. Предварительный отбор сосудистых сегментов осуществляли по следующим критериям: 1) наличие стеноза, обусловленного кальцинированными либо некальцинированными атеросклеротическими бляшками; 2) возможность внутрисосудистого проведения волновода диаметром до 2 мм. В исследование включались сегменты артерий: а) с клинически подтвержденным атеросклерозом; б) с подтвержденными клинически атеросклерозом и сахарным диабетом. Контрольную группу составили непораженные сегменты артерий ($n=50$, длина 20–25 см), изъятые в отделении областной судмедэкспертизы у бывших пациентов без заболеваний в анамнезе, приводящих к атеросклерозу.

В ходе аутопсийного исследования у подходящей по анамнестическим данным категории умерших брали бедренно-подколенные сегменты артерий: по ходу бедренного канала лампасным разрезом рассекали кожу, подкожную клетчатку, поверхностную фасцию. Отпрепарировали ткани между четырехглавой мышцей бедра и большой приводящей мышцей, выделяли бедренную артерию от уровня общей подвздошной до уровня подколенной артерии, коллатерали перевязывали и пересекали. Далее выделенный сегмент удаляли. Для определения степени и протяженности сосудистого стеноза выполняли рентгеноконтрастное исследование на специализированном дигитальном рентгенологическом аппарате Advantx (General Electric, США), предварительно зафиксировав сегменты артерий. Для выполнения ангиографии использовали рентгеноконтрастный препарат Оптирей-350. Перед проведением УЗ-воздействия сосудистые сегменты промывали в 0,9% физиологическом растворе хлорида натрия 30 минут.

С целью выполнения внутрисосудистого ультразвукового воздействия использовали установку для акустоиндуцированного тромболиза (Республиканский научно-практический центр «Кардиология», государственное предприятие «Научно-технологический парк Белорусского национального технического университета «Политехник»), состоящую из ультразвукового генератора, пьезоэлектрического преобразователя и волновода со сферической головкой. Выходная мощность установки составляла 80 Вт. Диапазон плавного регулирования частоты генератора позволяет произвести изменения в диапазоне 24–26 кГц. Ультразвуковой генератор работает в импульсном режиме со скважностью 50% и поперечными колебаниями различной амплитуды. Волновод выполнен из стали марки 12х18Н10 длиной 235 мм, диаметром 1,7 мм, имеет сферическую головку. Волновод сконструирован по типу стержневого концентратора, что позволяет без существенных энергетических потерь передавать колебания на дистальный конец волновода. Интенсивность ультразвукового воздействия на выходе волновода находится в диапазоне от 3,5 Вт/см² до 12,9 Вт/см², амплитуда поперечных колебаний – от 10 мкм до 56 мкм.



После акустического воздействия на сосудистую стенку зону воздействия шириной 5 мм иссекали, а затем фиксировали в 10%-ном буферном растворе нейтрального формалина. В дальнейшем каждый опытный образец проводили через спирты восходящей концентрации, после чего заливали в парафиновые блоки, из которых готовили поперечные срезы толщиной 7–10 мкм. На следующем этапе подготовки образцы окрашивали гематоксилином и эозином, комбинированным методом для одномоментного выявления эластических, коллагеновых и мышечных волокон (MSB) с дополнительной окраской орсеином по методу Харта, альтернативно – с окраской по методу Массона, для выявления солей кальция применялось окрашивание микропрепарата по Коссу, а для выявления нейтральных жиров и холестерина – окраска суданом 3.

Гистологическое исследование сосудистых образцов и последующая съемка выполнялись при помощи тринокулярного микроскопа Leica 2500 DM (Швейцария) с увеличением $\times 25$ – $\times 200$.

Гистологическая оценка степени повреждения (площадь зоны УЗ-повреждения) сосудистой стенки проводилась с помощью компьютерной программы «IM 500».

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Было выявлено, что при ультразвуковом воздействии мощностью 3,5 Вт/см² и амплитудой поперечных колебаний 10 мкм в течение 3 минут вне зоны атеросклеротического поражения появляются очень мелкие фокусы отслоения и разрыва интимы (рис. 1, 2). При этом были заметны небольшие по размеру множественные очаги расслоения субинтимального узкого слоя меди с формированием полиморфных, в основном мелких, щелевидных полостей без содержимого в их просвете (рис. 1).

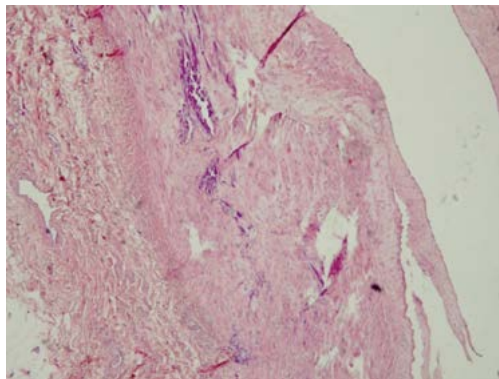


Рис. 1. Морфологические изменения атеросклеротической бляшки в зоне ультразвукового воздействия (интенсивность – 3,5 Вт/см², амплитуда поперечных колебаний – 10 мкм). Отслойка эндотелия с атероматозными массами от базальной мембраны (увел. $\times 100$, окраска гематоксилин-эозин)

Fig. 1. Morphological changes in an atherosclerotic plaque in the zone of ultrasound exposure (intensity – 3.5 W/cm², transverse oscillation amplitude – 10 μ m). Detachment of the endothelium with atheromatous masses from the basement membrane (magnified $\times 100$, hematoxylin-eosin staining)

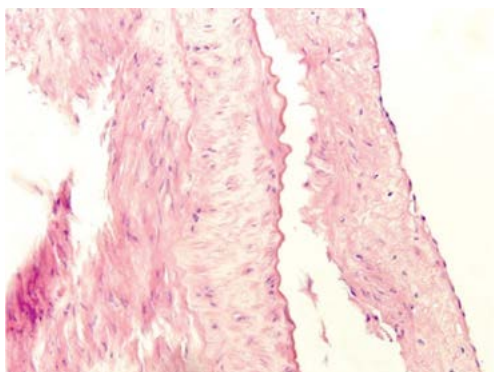


Рис. 2. Отслойка эндотелия с атероматозными массами от базальной мембраны в зоне ультразвукового воздействия (интенсивность – 3,5 Вт/см², амплитуда поперечных колебаний – 10 мкм) (увел. $\times 200$, окраска гематоксилин-эозин)

Fig. 2. Detachment of the endothelium with atheromatous masses from the basement membrane in the zone of ultrasound exposure (intensity – 3.5 W/cm², transverse oscillation amplitude – 10 μ m) (magnified $\times 200$, hematoxylin-eosin staining)

В участках расслоения медиі отмечалось нарушение структуры мышечных клеток: гиперхромия, фрагментация, разрушение. В зоне атеросклероза наблюдали явления глыбчатого распада небольшой по размерам атероматозной массы (рис. 2).

Увеличение амплитуды поперечных колебаний до 23 мкм при интенсивности 3,5 Вт/см² способствовало увеличению размеров очага повреждения интимы с одновременным разрывом и распадом ее, увеличением от 1/4 до 1/3 глубины поражения медиі вне зоны атеросклеротических изменений. А в зоне атеросклероза отмечалось увеличение по площади зоны глыбчатого распада атероматозных масс.

При увеличении интенсивности до 8,6 Вт/см² с амплитудой поперечных колебаний 23 мкм вне зоны атеросклеротических изменений визуализировались вышеописанные изменения, но большие по площади. Глубина повреждения медиі



Рис. 3. Глыбчатый распад атероматозной массы (интенсивность – 8,6 Вт/см², амплитуда поперечных колебаний – 23 мкм). Увеличение $\times 100$. Окраска гематоксилином и эозином
Fig. 3. Lumpy disintegration of the atheromatous mass (intensity – 8.6 W/cm², transverse oscillation amplitude – 23 μ m). Magnified $\times 100$. Hematoxylin-eosin staining



достигала 1/3–1/2. В зоне атеросклеротической бляшки, помимо дальнейшего увеличения площади глыбчатого распада атероматозной массы (рис. 3), обнаружены явления фрагментации коллагеновых волокон фиброзной ткани бляшки с формированием единичных щелевидных пространств. Также отмечали слабовыраженные признаки дробления солевых отложений.

При интенсивности 8,6 Вт/см² и амплитуде поперечных колебаний 56 мкм отмечались крупные участки отслойки эндотелия с формированием единичных «язв», участки разволокнения и фрагментации подлежащей базальной мембраны. В не пораженной атеросклерозом стенке в субинтимальной зоне меди (глубиной до 1/2 ее толщины) сформировались полиморфные мелкие и средние, преимущественно щелевидные, полости без содержимого в их просвете, мышечные клетки с явлениями эозинофилии и гиперхромии. В зоне атеросклеротического поражения отмечаются умеренно выраженные явления глыбчатого распада большей части атероматозной массы, слабовыраженное дробление солевых отложений, единичные фокусы разволокнения и фрагментации коллагеновых волокон фиброзной ткани с формированием щелевидных пространств без содержимого.

При использовании таких параметров, как интенсивность 12,9 Вт/см² и амплитуда поперечных колебаний 56 мкм, повреждения носили наиболее выраженный характер. Было выявлено образование нескольких крупных по размеру очагов повреждения интимы в виде ее отрыва от эндотелия, разволокнения и фрагментации подлежащей базальной мембраны. Кроме того, в большей части (примерно 1/2–2/3 толщины, местами на всю глубину) прилежащей меди отмечалась фрагментация ее с распадом внутренних отделов сосудистой стенки и «изъязвлением». При этом сохранившаяся часть меди в местах воздействия также была расслоена и фрагментирована с обилием мелких неправильной формы полостей без содержимого в их просвете. В перифокальной зоне по периферии от изъязвления наблюдались расслоение и фрагментация меди с формированием щелевидных полостей и элиминацией мышечных клеток. В зоне атеросклеротического поражения отмечены выраженные явления глыбчатого распада практически всей атероматозной массы, умеренные явления дробления солевых отложений (рис. 4), фокусы разволокнения и фрагментации коллагеновых волокон фиброзной ткани, местами с мелкими разрывами и отрывом мелких фрагментов, с формированием довольно крупных щелевидных пространств без содержимого.

Проведенный морфометрический анализ площади индуцированного ультразвуком повреждения сосудистой стенки артерии, пораженной атеросклерозом, показал прямую зависимость от интенсивности и амплитуды озвучивания (см. таблицу).

При интенсивности 3,5 Вт/см² и амплитуде поперечных колебаний 10 мкм очаг зоны ультразвукового повреждения занимал $11,52 \pm 1,3\%$ всей площади ткани сосудистой стенки.

При увеличении амплитуды поперечных колебаний до 23 мкм при той же интенсивности озвучивания площадь зоны повреждения сосуда составила $14,1 \pm 3,5\%$, что было статистически незначимо ($p > 0,05$) по сравнению с действием ультразвука интенсивностью 3,5 Вт/см² и с амплитудой поперечных колебаний 10 мкм.

При интенсивности 8,6 Вт/см² и амплитуде поперечных колебаний 23 мкм очаг зоны повреждения ультразвуком занимал $17,21 \pm 1,5\%$ всей площади ткани сосудистой стенки, что было достоверно большим по сравнению с контролем ($p < 0,05$),

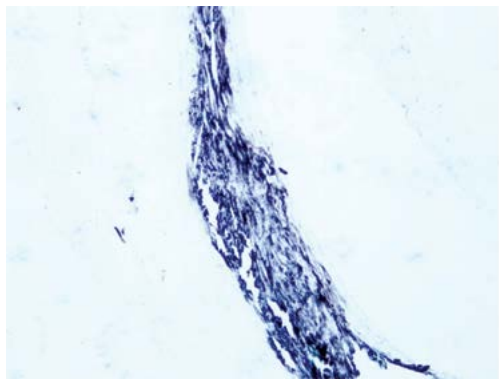


Рис. 4. Дробление отложений солей кальция (интенсивность – 12,9 Вт/см², амплитуда поперечных колебаний – 56 мкм). Увеличение ×100. Окраска по Коссу
Fig. 4. Crushing of deposits of calcium salts (intensity – 12.9 W/cm², transverse oscillation amplitude – 56 μm). Magnified ×100. Kossa staining

Площадь повреждения сосудистой стенки в зависимости от мощностных характеристик УЗ
The area of damage to the vascular wall depending on the power characteristics of ultrasound exposure

№ п/п	Характеристики ультразвукового воздействия	Площадь зоны поражения сосудистой стенки, %	Р
1	3,5 Вт/см ² , 10 мкм	11,52±1,3	P ₁₋₂ >0,05, P ₁₋₃ <0,05, P ₁₋₄ <0,05, P ₁₋₅ <0,05, P ₂₋₃ <0,05, P ₂₋₄ <0,05, P ₂₋₅ <0,05, P ₃₋₄ <0,05, P ₃₋₅ <0,05, P ₄₋₅ <0,05
2	3,5 Вт/см ² , 23 мкм	14,1±3,5	
3	8,6 Вт/см ² , 23 мкм	17,21±1,5	
4	8,6 Вт/см ² , 56 мкм	27,71±2,5	
5	12,9 Вт/см ² , 56 мкм	59,47±2,4	

но незначимо (p>0,05) по сравнению с аналогичным воздействием интенсивностью 3,5 Вт/см² и амплитудой поперечных колебаний 23 мкм.

При увеличении амплитуды поперечных колебаний до 56 мкм зона повреждения сосудистой стенки достоверно (p<0,05) увеличивалась по сравнению с контролем и при меньших по величине мощностных характеристиках внутрисосудистого ультразвука. Наибольшая зона сосудистого повреждения отмечалась при интенсивности озвучивания в 12,9 Вт/см² и амплитуде поперечных колебаний 56 мкм. При этом площадь повреждения сосуда занимала 59,47±2,4% всей площади ткани сосудистой стенки, что было достоверно больше по сравнению с меньшими характеристиками УЗ (p<0,05).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С точки зрения эффективности и безопасности внутрисосудистого ультразвукового воздействия на сосудистую стенку с целью улучшения ее биомеханических свойств оптимальным режимом для применения в клинике является следующий: интенсивность ультразвукового воздействия – 8,6 Вт/см², амплитуда поперечных колебаний – 23 мкм, время воздействия – 3 минуты.



■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Adzerikho I.E., Bubulis A., Efimova N.N., Minchenya V.T., Gamzeleva T.V., Bansevicius R. Electronic-microscopic estimation of changes in erythrocytes ultrastructure under influence of low-frequency ultrasound. *Journal of Vibroengineering*. 2012;14(Issue 1-2012):325–330.
2. Adzerikho I.E., Chur S.N. The use of high-intensity ultrasound in improving the biomechanical properties of the arterial wall in patients with DFS. Proceedings of the XV Congress of Surgeons of the Republic of Belarus: Topical issues of surgery. Brest, October 16–17. 2014:345. (in Russian)
3. Pokrovsky A.V., Kazakov Yu.I., Lukin I.B. *Critical ischemia of the lower extremities. Infrainguinal lesion*. Tver: Ed.-publ. of Tver State University. 2018; 225 p. (in Russian)
4. Tarabrin A.S., Kuznetsov M.R., Khovalkin R.G. Endovascular revascularisation in patients with necrotic wounds and extended infrainguinal arterial disease. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2020;9:102–108. (in Russian)
5. Khochenkov A.V., Minchenya V.T. Study of the penetrating ability of drugs into biological tissue under the action of ultrasound in vitro. New directions in the development of instrumentation: Proceedings of the 6th International Scientific and Technical Conference. April 24–26, 2013. Minsk, BNTU. 2013:309. (in Russian)
6. Chur S.N. The value of high-intensity and low-frequency ultrasound in the prevention of restenosis after endovascular treatment of patients with ischemic forms of diabetic foot syndrome. Proceedings of the VIII all-Russian scientific and practical conference with international participation: topical issues in the diagnosis, treatment and prevention of diabetic foot syndrome. Kazan, October 20–21, 2016. 2016:188–191. (in Russian)