

УДК 616-001.21

DOI: 10.24884/1682-6655-2022-21-4-75-83

В. В. ГРЫЗУНОВ<sup>1</sup>, Т. Г. ГРИШАЧЕВА<sup>1</sup>, С. Г. ЧЕФУ<sup>1</sup>,  
А. Е. БЕРКОВИЧ<sup>2</sup>, Н. Н. ПЕТРИЩЕВ<sup>1</sup>

## Зональность распределения кровотока в микроциркуляторном русле в лимфосаркоме Плисса при однократном воздействии высокоинтенсивного фокусированного ультразвука

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 6-8

<sup>2</sup> Общество с ограниченной ответственностью «Медико-техническая лаборатория», Санкт-Петербург, Россия 19525, Россия, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 29  
E-mail: bajnnemech2@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 23.06.22 г.; принята к печати 12.09.22 г.

### Резюме

**Введение.** В механизме действия высокоинтенсивного фокусированного ультразвука (HIFU) при лечении опухолей имеют значение не только повреждение клеток, но и сопутствующие нарушения микрогемодициркуляции, закономерности изменений которых изучены недостаточно. **Цель** исследования – анализ перфузии по периметру опухоли в зависимости от экспозиции HIFU воздействия. **Материалы и методы.** Использовали стенд для HIFU-терапии (ООО «МТЛ»). Режим: интенсивность – 8,2 кВт/см<sup>2</sup> в фокусном пятне 0,6 мм с частотой 1,4 МГц и экспозициями 150, 200, 250 и 500 мс. Объект исследования – сосудистая сеть лимфосаркомы Плисса. Контроль температуры ткани опухоли осуществляли с помощью термографа Т-8 (Россия), для измерения кровотока использовали лазерный доплерограф BLF21 (USA). **Результаты.** Сразу после HIFU-воздействия с экспозициями от 150–250 мс отмечали снижение перфузии до 1,06 перфузионной единицы (пф. ед.) в центральной зоне ( $p < 0,01$ ) по сравнению в контролем, но с увеличением к 30-й минуте до 1,22 пф. ед. При экспозиции 500 мс признаков улучшения перфузии не выявлено. В периферической зоне на фоне снижения кровотока до 3,6 пф. ед. ( $p < 0,05$ ) к 30-й минуте эксперимента отмечали восстановление гиперперфузии до 5,86 пф. ед. при всех экспозициях. В центральной зоне наблюдалось резкое снижение микроциркуляции, вероятно, вызванное повреждением сосудов, на периферии опухоли изменения перфузии имели фазный и обратимый характер. **Заключение.** Увеличение экспозиции HIFU-индуцированного воздействия коррелирует с ростом температуры в ткани лимфосаркомы Плисса вблизи фокуса воздействия. При однократном облучении HIFU с разной экспозицией лимфосаркомы Плисса крыс регистрируются характерные изменения перфузии в центральной и периферической зонах опухоли, выраженность которых зависит от продолжительности действия ультразвука и характеризуется зональным распределением кровотока, обусловленного формированием зон необратимого и обратимого повреждения микрогемодициркуляции.

**Ключевые слова:** ультразвук, HIFU, микроциркуляция, лимосаркома Плисса

**Для цитирования:** Грызунов В. В., Гришачева Т. Г., Чеву С. Г., Беркович А. Е., Петрищев Н. Н. Зональность распределения кровотока в микроциркуляторном русле в лимфосаркоме Плисса при однократном воздействии высокоинтенсивного фокусированного ультразвука. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2022;21(4):75–83. Doi: 10.24884/1682-6655-2022-21-4-75-83.

UDC 616-001.21

DOI: 10.24884/1682-6655-2022-21-4-75-83

V. V. GRYZUNOV<sup>1</sup>, T. G. GRISHACHEVA<sup>1</sup>, S. G. CHEFU<sup>1</sup>,  
A. E. BERKOVICH<sup>2</sup>, N. N. PETRISHCHEV<sup>1</sup>

## Zonal pattern of blood flow distribution in the pliss lymphosarcoma microcirculatory bed caused by single exposure of high-intensity focused ultrasound

<sup>1</sup> Pavlov University, Saint Petersburg, Russia

6-8, L'va Tolstogo street, Saint Petersburg, Russia, 197022

<sup>2</sup> Limited Liability Company «Medical and technical laboratory», Saint Petersburg, Russia

29, Polytechnicheskaya str., Saint Petersburg, Russia, 195251

E-mail: bajnnemech2@yandex.ru

Received 23.06.22; accepted 12.09.22

### Summary

**Introduction.** Cell damage is not the only important mechanism of high-intensity focused ultrasound (HIFU) for cancer therapy; concomitant microcirculation disorders having alterations patterns not studied enough also have high significance.

The aim of the study was to analyze perfusion along the tumor perimeter depending on the HIFU exposure. *Materials and methods.* We used a stand for HIFU therapy (MTL LLC). Mode: 8.2 kW/cm<sup>2</sup> intensity at 0.6 mm focal spot at 1.4 MHz, exposure time: 150, 200, 250 and 500 ms. The object of the study is the vascular bed of Pliss lymphosarcoma. Tumor tissue temperature was monitored by a T-8 thermograph (Russia), blood flow was measured by the BLF21 laser Doppler recorder (USA). *Results.* After HIFU exposure time from 150–250 ms, perfusion was noted to have decreased to 1.06 perfusion units (pf.u) in the central zone ( $p < 0.01$ ) compared to the control, but by the 30 min perfusion has increased to 1.22 pf.u. No signs of perfusion improvement were found in exposure time of 500 ms. In the peripheral zone, against the background of a decrease in blood flow to 3.6 pf. u. ( $p < 0.05$ ) by 30 min of the experiment, hyperperfusion was restored to 5.86 pf. u. in all exposure time. In the central zone, a sharp decrease in microcirculation was observed, probably caused by damage of blood vessels; in the periphery of the tumor, perfusion changes had a phasic and reversible pattern. *Conclusion.* An increase of HIFU exposure correlates with an increase of temperature of Pliss lymphosarcoma tissue near the focus of exposure. Specific perfusion changes are recorded in the central and peripheral zones of the tumor when single exposed to HIFU with different time exposure; the severity of changes depends on ultrasound exposure-time and is characterized by a zonal pattern of blood flow distribution due to the formation of zones of irreversible and reversible damage to microcirculation.

**Keywords:** ultrasound, HIFU, microcirculation, Pliss limosarcoma

**For citation:** Gryzunov V. V., Grishacheva T. G., Chefu S. G., Berkovich A. E., Petrishchev N. N. Zonal pattern of blood flow distribution in the pliss lymphosarcoma microcirculatory bed caused by single exposure of high-intensity focused ultrasound. *Regional hemodynamics and microcirculation.* 2022;21(4):75–83. Doi: 10.24884/1682-6655-2022-21-4-75-83.

## Введение

Одним из перспективных направлений лечения онкологических заболеваний является метод, связанный с использованием фокусированного высокоинтенсивного ультразвука (HIFU), основной лечебный эффект которого обусловлен локальной термической деструкцией патологически измененной ткани [1–3]. Поглощенная биологической средой ультразвуковая энергия способна породить не только тепловые, но и нетепловые эффекты [4]. Тепловая энергия концентрируется в очаге HIFU-фокуса, обеспечивая селективную термоабляцию [5]. Возможность использовать управляемую избирательную термодеструкцию в патологически измененных тканях, обеспечивающую максимально щадящую, селективную, малотравматичную, практически бескровную операцию, привлекает внимание врачей [6]. Поэтому HIFU-терапию можно рассматривать в качестве альтернативного варианта лечения онкологических заболеваний или в качестве дополнения для повышения эффективности химиотерапии, лучевой терапии [3, 6–8].

Источники генерации ультразвука, расположенные экстракорпорально, генерируют акустические колебания, не вызывающие повреждения тканевых структур на пути распространения волн, а обеспечивающих быструю термоабляцию целевого участка [6–8]. Несмотря на всю привлекательность метода HIFU-терапии [9], у больных возникают осложнения, частота которых варьирует, по данным разных авторов [10]. Неопределенность в отношении клинической эффективности HIFU-терапии опухолей дала основания Американской урологической ассоциации (AUA) и Европейской ассоциации урологов (EUA) рассматривать HIFU-терапию только в рамках клинических испытаний [10]. Характер ряда осложнений указывает на возможность электромеханического повреждения, вызванного акустическими колебаниями, и в этом немаловажную роль играет нарушение микроциркуляции в опухоли вследствие термического, механического и электрического эффектов [4].

Формирование температурного градиента инициирует термомеханические и термоэлектрические

явления (эффекты Зеебека, Пельтье, Томсона), которые способны повлиять на интенсивность кровотока на разных расстояниях от фокуса воздействия, что можно обозначить как феномен распределенной зональности микрогемодинамики при HIFU-индуцированном воздействии.

**Цель** исследования – сравнительно-пространственный анализ изменения интенсивности перфузии по периметру опухоли в зависимости от экспозиции HIFU-индуцированного воздействия и от расстояния до фокуса термоабляции.

## Материалы и методы исследования

Исследования проводили на 17 крысах-самцах Wistar весом 260±25 г, полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных „Рапполово“ ФГБУ «Национальный исследовательский центр „Курчатowski институт“»). Эксперименты проводили с соблюдением этических принципов в работе с лабораторными животными [11].

Животные содержались на неограниченном потреблении корма (стандартный рацион для лабораторных крыс «К-120» фирмы «Информ-корм», Россия) и воды при фиксированном световом режиме 12.00:12.00 ч (свет:темнота). Температура поддерживалась в пределах 22–25 °С, относительная влажность – 50–70 %. Длительность карантина (акклиматизационного периода) для всех животных составляла не менее 14 дней.

Крысам подкожно перевивался клеточный гомогенат лимфосаркомы Плисса (штамм из ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России). Трансплантацию солидного штамма лимфосаркомы Плисса проводили в асептических условиях подкожно в области правого бедра. Вводили 10 %-й суспензию клеточной взвеси на 0,9 %-м стерильном растворе хлорида натрия в объеме 0,2 мл.

На 6–7-е сутки после перевивки, когда диаметр неоплазии достигал в среднем 1,5±0,1 мм, опухолевую ткань подвергали HIFU-индуцированному воздействию. Перед облучением животных экспериментальной группы наркотизировали путем внутривенного введения препаратов Золетил 50 (VIRBAC,

Франция) и Ксила (*Interchemie werken «De Adelaar» B.V.*, Нидерланды) в равных объемах и в дозе 0,5 мл/кг. Затем крыс помещали на термостатируемый столик TCAТ-2 Temperature Controller (*Physitemp*, США), с постоянным поддержанием ректальной температуры в пределах 37,0–37,8 °С.

Для контроля за температурой в зонах воздействия HIFU с помощью венозного катетера вводили микротермодатчики многоканального цифрового термографа Т-8 (Россия) в опухолевую ткань. Измерение величины перфузии осуществляли по периметру опухоли в 12 условных точках с выделением центральной и периферической зон, расположенных на разных расстояниях от фокуса, с помощью контактного датчика лазерного флуометра Laser Doppler Monitor BLF21 (*Transonic Systems, Inc. USA*), подключенного к компьютеру с программным обеспечением для анализа полученных данных. Расстояние между условными точками по периметру каждой зоны выдерживали в средних пределах от 4 – 8 мм. Результаты оценивали в перфузионных единицах (пф. ед.). Объем исследуемой зоны кровотока с помощью лазерного датчика не превышал 1 мм<sup>3</sup>, а глубина оценки микрогемодинамики – не более 1 мм, что позволяло исследовать пространственные и временные вариации кровотока в прилежащих к коже структурах лимфосаркомы Плисса, так как толщина эпидермиса и дермы крыс не превышает 312–589 мкм [12]. Для оценки распределенности регионарного кровотока в центральной и периферических зонах, окружающих фокус HIFU-индуцированного воздействия, у крыс экспериментальной группы анализировали степень тканевой перфузии с помощью контактного датчика лазерного флуометра сразу после воздействия и на 30-й минуте после эксперимента.

Экспериментальная работа проведена на установке, состоящей из вогнутого преобразователя Н-148 S/N 010 (компания *Sonic Concepts, Inc.*) с центральной частотой генерации колебаний 2,5 МГц (минимальная частота – 1,4 МГц), активным диаметром 64 мм и центральным отверстием 20 мм. Частота воздействия – 1,4 МГц с интенсивностью 8,2 кВт/см<sup>2</sup> в усредненном фокусном пятне 0,6 мм и экспозициями 150, 200, 250 и 500 мс. Для обеспечения прохождения ультразвуковых волн использовали эхогель «Аквагель» с вязкостью 6 ед. (Россия, ЗАО «ДЕСМО»). После HIFU-облучения и удаления эхогеля осуществляли измерение кровотока в центральной и периферических зонах (по отношению к фокусу воздействия) по 6 выбранным точкам с помощью контактного датчика лазерного флуометра, а в каждой точке проводили от 7–10 замеров.

Экспериментальная установка была представлена ООО «Медико-техническая лаборатория», лабораторией ультразвуковых исследований Санкт-Петербургского политехнического университета Петра Великого и состояла из штатива с вертикальным расположением оптической оси с двойной системой микровинтов, позволяющих регулировать точку фокусировки в двух плоскостях, и с лазерным целеуказателем.

Процедуры статистического анализа экспериментальных данных выполняли с использованием

статистического пакета IBM «SPSS Statistics 21». При проверке нулевых гипотез критическое значение уровня статистической значимости принималось равным 0,05.

Проверка нормальности распределения количественных признаков в группах сравнения проводилась с использованием критерия Колмогорова – Смирнова. Для всех количественных переменных в сравниваемых группах рассчитывали и оценивали средние арифметические величины и среднеквадратичные ошибки с расчетом доверительного интервала и вариации. При определении класса распределения осуществляли оценку достоверности различий переменных в каждой конкретной выборке с использованием параметрических и непараметрических критериев – t Стьюдента для зависимых переменных и T (Уилкоксона). Для выявления связей между парами дискретных переменных проводили корреляционный анализ, позволяющий выявить зависимость между переменными и совместную изменчивость исследуемых показателей, оценить интенсивность их связей. Учитывая минимальный размах вариации (<15 %) в динамическом ряду переменных одинакового качества, по формуле Стерджесса определяли количество выделяемых точек (6,8) для каждой зоны в зависимости от суммарного числа наблюдений для выбора и построения диаграмм. За основу взято 6 точек, каждая из которых являлась отражением средней величины 7–10 измерений тканевой перфузии, что позволяло построить графический образ в виде гексаграмм центральной и периферической зон. Используя метод наименьших квадратов, разработали аппроксимирующие уравнения, отражающие общую тенденцию в поведении некоторых переменных. Для оценки точности подбора тренда рассчитывали коэффициент детерминации, тесноту эмпирической корреляционной связи по шкале Чеддока между переменными, определяли критерий Фишера для оценки значимости тренда.

### Результаты исследования и их обсуждение

Учитывая особенности сосудистой сети лимфосаркомы Плисса, был проведен статистический анализ с использованием критериев достоверности различий эмпирических распределений в каждой выборке тканевой перфузии 5 крыс контрольной группы, которые не облучались. Распределение в каждой выборке являлось нормальным, что позволяло использовать параметрические и непараметрические критерии для оценки значимости полученных результатов.

Средние показатели перфузии лимфосаркомы в центральной и периферической зонах не отличались (центральная зона – 6,03±0,08; периферическая зона – 6,03±0,13 пф. ед.), однако при сравнении показателей в разных точках одной зоны были выявлены значимые различия (рис. 1) Так, например, во 2-й и 6-й точках центральной зоны величина перфузии превалировала над аналогичными параметрами в периферической зоне (p<0,05), а в 3-й и 4-й точках разных зон существенных различий не выявлено (p>0,05). В других случаях отмечается

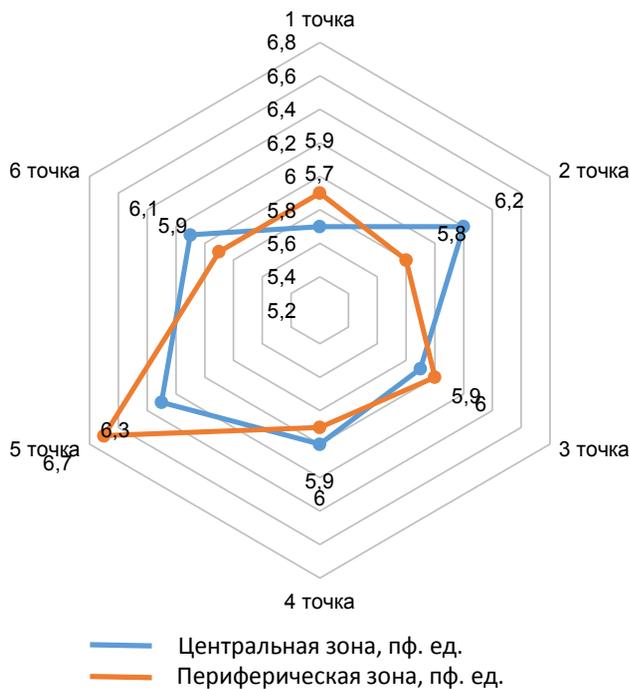


Рис. 1. Гексаграмма, построенная по 12 точкам измерения, расположенным по периметру патологического образования, в углах которых отражены средние показатели тканевой перфузии (пф. ед.) центральной и периферической зон лимфосаркомы Плисса крыс контрольной группы

Fig. 1. Hexagrams constructed from 12 measurement points located along the perimeter of the pathological lesion, in the corners of which the average tissue perfusion parameters (perf. units) of the central and peripheral zones of the Pliss lymphosarcoma of rats are reflected (control group)

обратная картина, когда интенсивность кровотока в 1-й и 5-й точках периферической зоны существенно выше, чем в симметричных структурах центральной зоны. На основании полученных данных построена гексаграмма, позволяющая оценить ряд зависимых переменных, отражающих кровотоки в центральной и периферической зонах (рис. 1).

Подобные различия в интенсивности перфузии опухолевой ткани свидетельствуют о сложности в установлении закономерности кровотока, что подтверждается литературными данными [13–15] и отражает мозаичность кровотока, характеризующего хаотический васкулогенез. Средняя величина перфузии контрольной группы стала отправным показателем при использовании метода сопоставления выборок. Следует отметить, что во всех исследуемых точках интенсивность кровотока в опухолевой конструкции сосудистой сети на 44,7 % превышала аналогичный показатель в коже здоровых крыс [16]. На феномен опухолевой гиперперфузии еще в 1895 г. обратил внимание Р. Вирхов [13].

Таким образом, можно отметить, что вариации интенсивности перфузии в исследуемых точках разных зон лимфосаркомы Плисса крыс контрольной группы не выявили четкой закономерности и, вероятно, отражали мозаичность гиперперфузионной конструкции опухолевой сосудистой сети, в которой чередовались зоны с высокоинтенсивной и низкоинтенсивной гемодинамикой.

Для анализа зависимости температуры от времени воздействия HIFU в опухоли 5 крыс контрольной

группы вводили 4 микротермодатчика цифрового многоканального термографа Т-8. Экспозиции HIFU-индуцированного воздействия – от 150, 200, 250 до 500 мс при однократном акустическом импульсе. В каждом споте отмечалось статистически значимое приращение средней температуры при нормальном распределении переменных ( $p < 0,05$ ). Логарифмические преобразования исследуемых параметров свидетельствовали о линеаризации отношений между переменными величинами, что указывало на прямо пропорциональную зависимость между температурой вблизи фокуса термоабляции и экспозицией HIFU-воздействия (рис. 2).

На основании полученных данных с использованием метода наименьших квадратов построен аппроксимирующий тренд, характеризующий связь между экспозицией HIFU ( $Y$ ) и температурой ( $X$ ) в районе фокуса термоабляции:

$$X = 0,0921 \cdot Y + 30,431.$$

Сам тренд отражал линейное поведение рассматриваемых параметров с достаточно высокой точностью, о чем свидетельствуют эмпирическая корреляция по шкале Чеддока, отражающая высокую связь ( $\eta = 0,99$ ), коэффициент детерминации (0,98), указывающий на высокую точность подбора уравнения с надежностью более 95 %. По критерию Фишера достоверность тренда составляет 98,37 % и является статистически значимой.

В целях изучения особенностей регионарного кровотока в опухолевой ткани исследовали реакцию микроциркуляторной конструкции в ответ на HIFU-индуцированное воздействие у 12 крыс в центральной и периферических зонах лимфосаркомы, которых разделили на 4 группы ( $n = 3$ ). В каждой группе проводили около 720 измерений.

При экспозиции 150 мс HIFU-индуцированного воздействия максимальная температура, зарегистрированная термодатчиками, расположенными вблизи очага термоабляции, достигла 46 °С, что ниже температуры, вызывающей термоабляцию. В этой группе экспериментальных животных наиболее выраженное снижение перфузии отмечается сразу после HIFU-индуцированного воздействия в центральной зоне (рис. 3, а; б), где интенсивность кровотока уменьшилась в 5 раз ( $p < 0,05$ ), а в периферической области интенсивность перфузии снизилась на 42 % по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ). На 30-й минуте исследования в центральной зоне исследования параметры перфузии свидетельствовали о значительном ограничении кровотока ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой, что, возможно, обусловлено комбинированным воздействием акустической волны на сосудистую стенку (таблица). Несмотря на точечный характер HIFU-индуцированного воздействия при экспозиции 150 мс, изменения со стороны сосудистой сети лимфосаркомы носят необратимые и обратимые черты. Об обратимости сосудистой реакции свидетельствует интенсивность перфузии в периферической зоне, которая возросла на 30-й минуте исследования практически в 2 раза по сравнению с аналогичным показателем сразу после HIFU-индуцированного воздействия

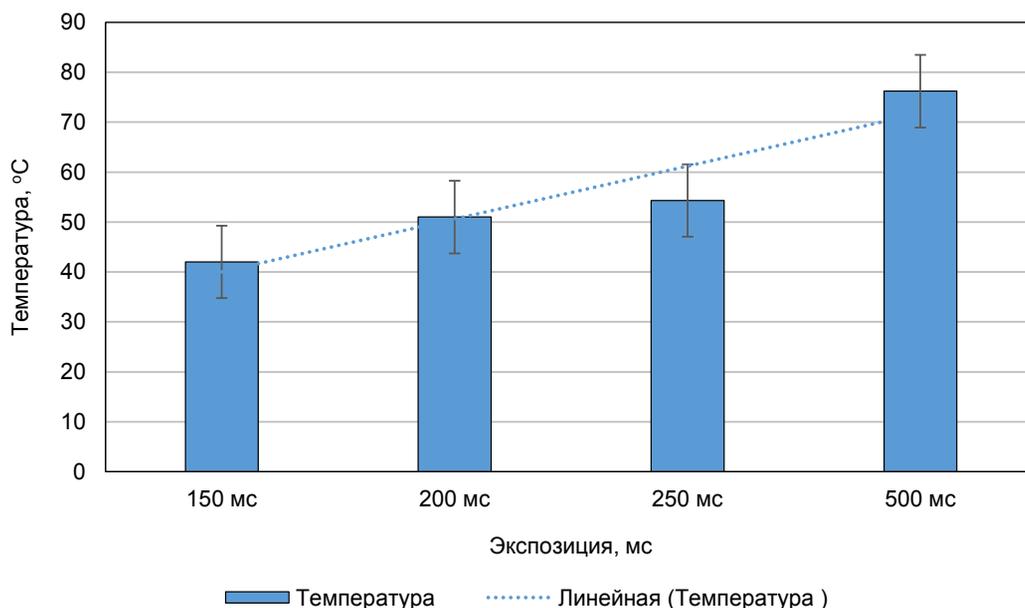


Рис. 2. Динамика роста средней температуры в опухоли вблизи фокуса воздействия HIFU в зависимости от экспозиции

Fig. 2. Average temperature growth in the studied zones depending on exposure time

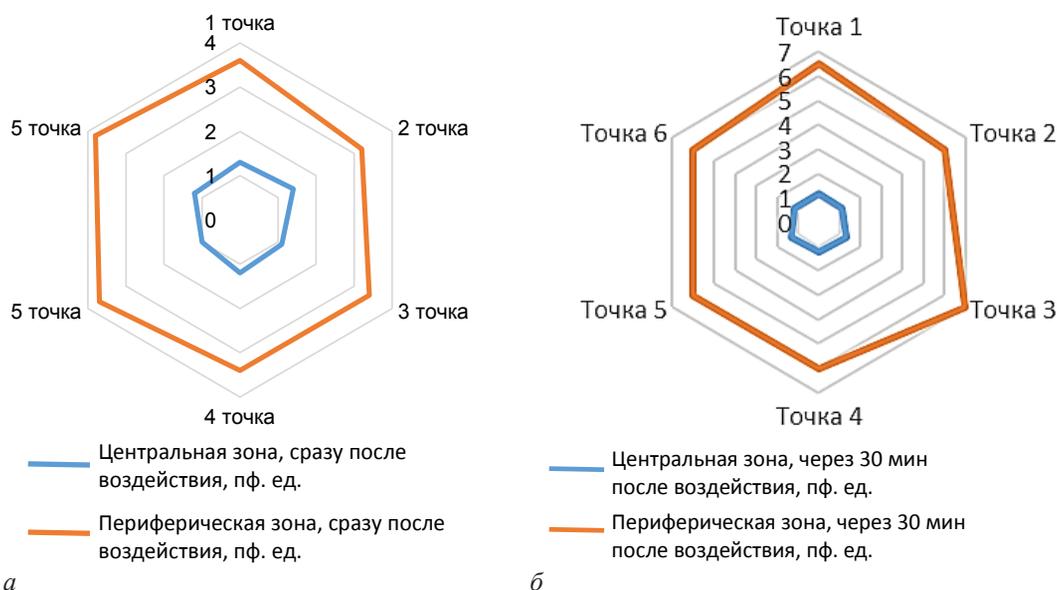


Рис. 3. Паттерн перфузии центральной и периферической зон лимфосаркомы у крыс при экспозиции 150 мс сразу после воздействия (а) и через 30 мин после воздействия (б)

Fig. 3. Perfusion pattern of the central and peripheral zones of P133 lymphosarcoma, exposure time of 150 ms immediately after HIFU (a) and 30 minutes after HIFU (b)

( $p < 0,05$ ) и незначительно, лишь на 6 %, превысила контрольный показатель. Подобное распределение циркуляции в микрососудистой конструкции лимфосаркомы Плисса (таблица) указывает на тенденцию к формированию распределенной зональности кровотока после однократного HIFU-воздействия. Следует отметить отсутствие признаков мозаичности функционирования микроциркуляторного русла лимфосаркомы Плисса к 30-й минуте исследования.

При увеличении экспозиции HIFU-воздействия до 200 мс и повышении температуры до 53 °C (зона термоабляции) вблизи фокуса отмечается более выраженное снижение тканевой перфузии ( $p < 0,05$ ) сразу после термоабляции в центральной зоне, чем при экспозиции в 150 мс. Некоторая вариация интенсив-

ности перфузии в зонах исследования при сравнительном анализе двух выборок с разной экспозицией 150 и 200 мс может быть обусловлена несколькими причинами:

- 1) особенностями локации точки измерения в каждом конкретном случае;
- 2) характером геометрического периметра при выборе точек измерения;
- 3) особенностями микрососудистой конструкции лимфосаркомы Плисса в конкретном случае.

На 30-й минуте исследования отмечаются признаки усиления перфузии в центральной и периферической зонах, соответственно, в 1,42 и 1,52 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с анализируемыми параметрами сразу после воздействия ультразвуком. Однако и в данном

## Показатели перфузии в центральной и периферической зонах лимфосаркомы Плисса при HIFU-индуцированном воздействии

## Perfusion parameters in the central and peripheral zones of Pliss lymphosarcoma with HIFU-exposure

Экспозиция, мс	Показатели перфузии, пф. ед.			
	Центральная зона		Периферическая зона	
	сразу после воздействия	через 30 мин после воздействия	сразу после воздействия	через 30 мин после воздействия
150	1,2±0,05*	1,22±0,03*	3,5±0,02*	6,44±0,19
200	0,9±0,04*	1,28±0,06*	3,85±0,06*	5,86±0,4
250	1,1±0,04*	1,18±0,07*	3,94±0,09*	6,05±0,05
500	0,42±0,05*	0,3±0,08*	3,25±0,20*	5,1±0,08

\* – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группой контроля.

эксперименте прослеживается универсальная реакция со стороны сосудистого русла лимфосаркомы Плисса после HIFU-воздействия, что обусловлено, вероятно, повреждением сосудов центральной зоны и обратимой реакцией со стороны сосудов микроциркуляторного русла периферической зоны, что указывает на эффект распределенной зональности кровотока. К 30-й минуте исследования перфузия в периферической зоне восстанавливается до контрольных цифр (таблица).

Паттерн изменений интенсивности перфузии указывает на универсальность реакции микроциркуляторного русла на всех этапах исследований при экспозиции 200 мс и отсутствие признаков мозаичности кровотока, характерных для лимфосаркомы Плисса, наблюдавшихся в контрольной группе. Сравнительный анализ двух выборок при экспозициях 150 мс и 200 мс HIFU-воздействия продемонстрировал однотипность изменений. При дальнейшем увеличении экспозиции точечного воздействия ультразвуком до 250 мс на лимфосаркому Плисса (рис. 4, а, б) и повышении температуры до 57 °С (зона абляции) вблизи фокуса отмечается снижение тканевой перфузии ( $p < 0,05$ ) сразу после воздействия в центральной и в периферической зонах, по сравнению с группой контроля. Существенных различий в уровне перфузии сразу после воздействия при экспозициях 200 и 250 мс не выявлено (таблица).

Аналогичность паттернов перфузии при экспозициях 200 и 250 мс при HIFU-воздействии свидетельствует об однотипности сосудистой реакции, связанной как необратимыми процессами в опухолевой конструкции гемодинамики, так и с обратимыми реакциями, степень выраженности которых зависит от продолжительности действия акустической волны. Имеющиеся различия в параметрах перфузии во многом связаны с объективностью выбора точек локализации и геометрическим расположением по периметру опухоли, особенностями кровотока в лимфосаркоме Плисса. В периферической зоне на 30-й минуте исследования отмечается восстановление перфузии до контрольных значений, но, несмотря на признаки гиперперфузии в периферической зоне опухолевой ткани, по сравнению с показателями кровотока в коже здоровых крыс ( $p < 0,05$ ), мозаичность гемодинамики не регистрировалась. Вероятно, подобный

эффект микрососудистой конструкции опухоли объясняется переключением ауторегуляторных сосудистых механизмов хаотического васкулогенеза, природа которого недостаточно исследована.

При увеличении экспозиции до 500 мс HIFU-воздействия, когда температура в перифокальной зоне достигает 79 °С (зона абляции), наблюдается более выраженное снижение тканевой перфузии в центральной и периферической зонах, чем в остальных случаях ( $p < 0,05$ ). Аналогичность перфузионных паттернов при экспозициях в 250 и 500 мс свидетельствует о направленности сосудистой реакции, выраженность которой зависит от продолжительности воздействия акустической волны. Сохранность кровотока в центральной зоне при экспозиции 500 мс свидетельствует, вероятно, о неравномерности распространения тепловой энергии в зоне термоабляции и перифокальных областях. Низкая величина перфузии в центральной зоне лимфосаркомы Плисса указывает на необратимые процессы в сосудистом русле опухоли, лишь в периферической зоне регистрируются признаки восстановления кровотока (таблица).

Таким образом, основные механизмы, инициирующие распределенную зональность тканевой перфузии, связаны с необратимыми и обратимыми процессами в сосудистой сети опухолевой ткани. Однородность направленности реакций кровотока оценивали с помощью метода наименьших квадратов, позволившего построить аппроксимирующие тренды, отражающие тенденцию в поведении переменных.

Для ближней зон аппроксимация приняла вид

$$Y = 1,216 \cdot X - 0,105,$$

где  $Y$  – величина перфузии сразу после воздействия HIFU в ближней зоне;  $X$  – величина перфузии через 30 мин после воздействия HIFU в ближней зоне.

Эмпирическое корреляционное отношение составило 0,906, что демонстрирует о высокой связи по шкале Чеддока, а коэффициент эластичности превысил 1 и указывает, что изменение  $X$  существенно влияет на  $Y$ . Коэффициент детерминации достигал 82,1 %, что свидетельствует о высокой точности подбора тренда.

Для дальней зоны формула тренда приняла вид

$$Y = 0,891 \cdot X + 2,625,$$

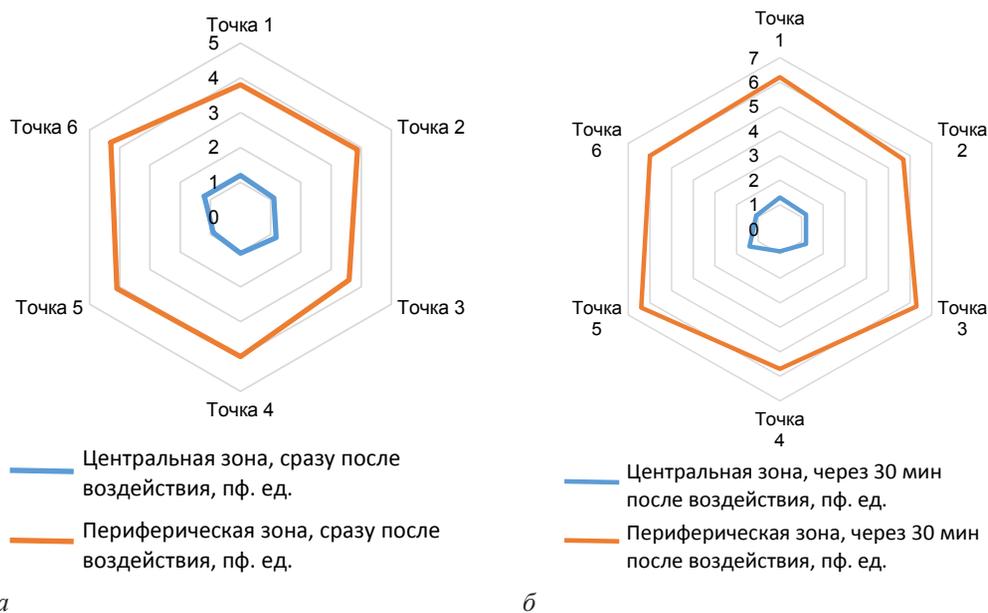


Рис. 4. Паттерн перфузии центральной и периферической зон лимфосаркомы у крыс при экспозиции 250 мс сразу после воздействия (а) и через 30 мин после воздействия (б)

Fig. 4. Perfusion pattern of the central and peripheral zones of Pliss lymphosarcoma exposure time of 250 ms immediately after HIFU (a) and 30 minutes after HIFU (b)

где  $Y$  – величина перфузии сразу после воздействия HIFU в дальней зоне;  $X$  – величина перфузии через 30 мин после воздействия HIFU в дальней зоне.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об однородной направленности реакций кровотока в центральной и периферической зонах после воздействия HIFU, выраженность которых зависит от экспозиции.

Использование высокоинтенсивного фокусированного ультразвука в онкологии остается одним из методов выбора, так как многие физико-химические процессы, возникающие в тканевых структурах в ответ на действие акустических волн, недостаточно изучены [4]. HIFU вызывает несколько физических эффектов в биотканях. Ультразвук за счет механизмов релаксационного и классического поглощения волн в тканях генерирует тепловые эффекты, инициирует формирование температурных градиентов, вызывающих дополнительные повреждающие эффекты [17]. Механические воздействия связаны с ударно-волновой кавитацией, сдвиговыми напряжениями, акустическими потоками.

Основные физические эффекты HIFU в биотканях реализуются в виде термоабляции, причем граница между летальным и сублетальным воздействием на ткани может быть чрезвычайно резкой [18, 19]. Кроме того, в механизме действия HIFU на биоструктуры важное значение придается нарушениям микроциркуляции, что сопровождается тромбозом, разрывами сосудов и их окклюзией в результате сдавливания [20]. Термические и механические факторы действуют сочетанно, но, в зависимости от характеристик акустической волны и условий воздействия, один из факторов может превалировать над другим. Фокальная область термоабляции представляет собой эллипсоид, вытянутый в направлении распространения ультразвуковых волн. Диаметр фокального пятна

уменьшается с увеличением частоты ультразвука, что указывает на ограниченность термической деструкции [21, 22].

Механические эффекты HIFU способны инициировать повреждения биоструктур и за пределами термоабляции. Если в зоне термического повреждения HIFU процессы носят необратимый характер, то механические явления, инициируя необратимые и обратимые реакции, способствуют увеличению области поражения. Подобные эффекты наблюдали при действии высокоинтенсивного фокусированного ультразвука на сосудистую сеть лимфосаркомы Плисса крыс. Тепловые эффекты, обуславливающие стойкие, необратимые изменения в фокальной области, обнаруживают прямую зависимость от экспозиции воздействия акустической волны [23].

Нетепловые эффекты (гистотрипсия) в зависимости от интенсивности HIFU способны инициировать необратимые и обратимые процессы, что наглядно проявляется в реакциях микрососудистой сети лимфосаркомы Плисса. Показано, что векторы выраженности и направленности изменений микроциркуляции во многом определяются суммарной величиной поглощенной энергии акустической волны биоструктурами. При экспозиции в 150 мс в центральной зоне на 30-й минуте отмечается лишь тенденция к незначительному росту перфузии, по сравнению с величиной кровотока сразу после воздействия HIFU, что, вероятно, обусловлено механическими повреждениями микрососудов в виде их разрыва с последующим кровоизлиянием. В динамике наблюдения за уровнем перфузии в периферической зоне регистрируется устойчивый рост увеличения кровотока, что указывает на обратимость сосудистой реакции. Аналогичные процессы с разной степенью выраженности сосудистой реакции отмечали в центральных зонах при экспозициях в 200, 250 и 500 мс. Однако

значимое улучшение тканевой перфузии выявили во всех случаях в периферических зонах на 30-й минуте эксперимента.

Последствия вышеуказанных явлений, возможно, находят свое проявление в распределенной зональности тканевой перфузии, в которой снижение интенсивности микрогемодинамики в центральной зоне обусловлено прямым повреждением сосудов и уменьшением плотности сосудистой сети, а в периферической зоне, вероятно, связано с функциональным нарушением за счет механотрансдукции, вызванной коллапсирующей кавитацией, акустическими потоками. Во всех случаях уровень тканевой перфузии в периферической зоне уже к 30-й минуте исследования приближался к контрольным показателям, что свидетельствует об обратимости сосудистой реакции. В центральной зоне характер изменения интенсивности перфузии после воздействия ультразвуком не демонстрировал положительной динамики, а свидетельствовал о признаках повреждении близлежащих сосудов и частично сохранившегося кровотока даже при температуре 79 °С. Подобное явление не может быть объяснено только неравномерным распространением тепловой энергии и, в связи с практической значимостью, требует дальнейшего исследования. Несмотря на признаки мозаичности сосудистой конструкции опухоли и гиперперфузии в контроле, при HIFU-индуцированном воздействии с разной экспозицией регистрируются однотипные паттерны перфузии, что указывает на универсальность сосудистых реакций.

Можно полагать, что необратимые нарушения в близлежащих к фокальной области сосудистых структурах способны разорвать порочный круг опухолевого ангиогенеза и роста опухолевых клеток. Как известно, ангиогенез неопластического процесса и его регенераторный потенциал взаимозависимы и образуют отягчающий сосудисто-клеточный цикл, который приводит к бесконечной пролиферации [22]. Обратимость реакции со стороны микроциркуляторной сети лимфосаркомы Плисса в периферической зоне указывает на ограниченность механических возмущений при использованных режимах воздействия высокоинтенсивного фокусированного ультразвука.

### Заключение

Увеличение экспозиции HIFU-воздействия коррелирует с ростом температуры в ткани лимфосаркомы Плисса вблизи фокуса воздействия.

При однократных воздействиях HIFU с разной экспозицией на лимфосаркому Плисса крыс регистрируются характерные изменения перфузии в центральной и периферической зонах опухоли, выраженность которых зависит от продолжительности действия ультразвука и характеризуется зональным распределением кровотока, обусловленного формированием зон необратимого и обратимого повреждения микроциркуляции.

### Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

### Литература / References

1. Ганцев Ш. Х., Липатов О. Н., Ганцев К. Ш. и др. Современное применение ультразвуковых технологий в хирургии и онкологии // *Мед. вестн. Башкортостана*. – 2016. – Т. 11, № 6. – С. 90–96. [Gantsev ShKh, Lipatov ON, Gantsev KSh, Leonteva OS, Tursumetov DS, Mazitov IM. Rationale for the use of ultrasound technology in surgery and oncology // *Medical Bulletin of Bashkortostan*. 2016;11(66):90–96. (In Russ.)].
2. Stanislavova N, Karamanliev M, Ivanov T, Yotsov TKD. Is high-intensity focused ultrasound (HIFU) an option for neoadjuvant therapy for borderline resectable pancreatic cancer patients? – a systematic review // *Int J Hyperthermia*. 2021;38(20):75–80. Doi: 10.1080/02656736.2021.1909150.
3. Lopez W, Nguyen NJCh, Shung KK. Ultrasound Therapy, Chemotherapy and Their Combination for Prostate Cancer. *Technol // Cancer. Res. Treat*. 2021;(20):15330338211011965. Doi: 10.1177/15330338211011965.
4. Gryzunov VV, Zaycev AN, Kim YuVi, Tkhai DV. Effects of collapsing cavitation on HIFU-exposed biological objects // *Eastern European Scientific J*. 2021;10(74):22–25. Doi: 10.31618/ESSA.2782-1994.2021.3.74.140.
5. Marinova M, Wilhelm-Buchstab T, Strunk H. Advanced Pancreatic Cancer: High-Intensity Focused Ultrasound (HIFU) and Other Local Ablative Therapies // *Rofo*. 2019;191(3):216–227. Doi: 10.1055/a-0820-5564.
6. Hwang H. Emerging HIFU applications in cancer therapy // *Int. J. Hyperthermia*. 2015;31(3):302–309. Doi: 10.3109/02656736.2014.969789.
7. Шевченко Е. В., Хлопенко Н. А. Действие ультразвука на организм // *Сибир. мед. журн.* – 2009. – № 2. – С. 96–99. [Shevchenko E, Kchlopenko NA. The influence of ultrasound on the organism // *Siberian Medical J*. 2009;(2):96–99. (In Russ.)].
8. Сулейманов Э. А., Филоненко Е. В., Москвичева Л. И. др. Самсонов Ю.В., Исаев А.Р. Возможности HIFU-терапии на современном этапе // *Исследования и практика в медицине*. – 2016. – Т. 3, № 3. – С. 76–82. [Suleimanov EA, Filonenko EV, Moskvicheva LI, Kaprin AD, Kostin AA, Samsonov YuV, Isaev AR. The possibility of HIFU therapy at the present stage // *Research 'n Practical Medicine Journal*. 2016;3(3):76–82. (In Russ.)]. Doi: 10/17709/2409-2231-2016-3-3-8.
9. Crouzet S, Chapelon JY, Rouvière O, Mege-Lechevalier F, Colombel M, Tonoli-Catez H, Martin X, Gelet A. Whole-gland ablation of localized prostate cancer with high-intensity focused ultrasound: oncologic outcomes and morbidity in 1002 patients. *Clinical Tri*. 2014;65(5):907–914. Doi: 10.1016/j.euro.2013.04039.
10. Ahdoot M, Lebastchi AH, Turkbey B, Wood B, Pinto PA. Contemporary treatments in prostate cancer focal therapy. *Curr Opin Oncol*. 2019;31(3):200–206. Doi: 10.1097/CCO.0000000000000515.
11. Белозерцева И. В., Беспалов А. Ю., Большаков О. П. Руководство по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. – СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2003. – 57 с. [Belozerceva IV Bepalov AJu, Bol'shakov OP. Guidance on the use of laboratory animals for scientific and educational purposes in SPbGMU im. Akad. I. P. Pavlova. SPb., SPbGMU, 2003:57. (In Russ.)].
12. Гуцин Я. А., Ковалева М. А. Сравнительная морфология кожи человека и лабораторных животных (краткое сообщение) // *Лабораторные животные для науч. иссл.* – 2019. – № 2. [Guschin, YaA Kovaleva MA. Comparative Morphology of Human and Laboratory Animals // *Laboratory animals for scientific research*. 2019;(2). (In Russ.)]. Doi: 10.29296/2618723X-2019-02-06.

13. Кораблев Р. В., Васильев А. Г. Неоангиогенез и опухолевый рост // *Рос. биомед. исслед.* – 2017. – Т. 2, № 4. – С. 3–10. [Korablev RV, Vasilyev AG. Neovascularization and tumor growth. *Russian Biomedical Research*. 2017;2(4):3–10. (In Russ.)].

14. Guan L, Xu G. Destructive effect of HIFU on rabbit embedded endometrial carcinoma tissues and their vascularities // *Oncotarget*. 2017;8(12):19577–19591. Doi: 10.18632/oncotarget.14751.

15. Guan L, Xu G. Damage effect of high-intensity focused ultrasound on breast cancer tissues and their vascularities // *World J Surg Oncol*. 2016;(14):153. Doi: 10.1186/s12957-016-0908-3.

16. Файзуллина Д. Р., Беркович А. Е., Грызунов В. В. и др. Влияние гипертермии, индуцированного HIFU-воздействия и лазерного облучения на микроциркуляцию в коже // *Актуальные проблемы лазерной медицины.* – СПб., 2022. – С. 300–322. [Faizullina DR, Berkovich AE, Gryzunov VV, Chifu SG, Struy AV, Grishacheva TG, Petrishchev NN. Influence of hyperthermia induced by HIFU exposure and laser irradiation on microcirculation in skin. *Actual problems of laser medicine*. SPb., 2022:300–322. (In Russ.)].

17. Поверхность кавитирующего пузырька / В. Б. Аюпьян, С. В. Альков, М. В. Бамбура, Ю. А. Ершов // *Машиностроение.* – 2015. – № 12. – С. 10–15. [Аюпьян ВБ, Алков СВ, Бамбура МВ, Ершов ЮА. The surface of the cavitating bubble // *Mechanical engineer*. 2015;(12):10–15. (In Russ.)].

18. Петрищев Н. Н., Семенов Д. Ю., Цибин А. Ю. и др. Применение HIFU-технологий в ангиологии // *Вестн. хир. им. И. И. Грекова.* – 2017. – № 5. – С. 101–105. [Petrishchev NN, Semyonov DYU, Tsibin AYU, Berkovich AE, Bursian AA. Application of HIFU technology in angiology // *Vestnik khirurgii named after I. I. Grekov*. 2017;(5):101–105. (In Russ.)].

19. Schlesinger D, Benedict S, Diederich Ch, Gedroyc W, Klivanov A, Larner J. MR-guided focused ultrasound surgery, present and future // *Med Phys*. 2013;40(8):080901. Doi: 10.1118/1.4811136.

20. Li Sh, Xu H-X, Wu Ch-T, Wang W-Q, Jin W, Gao H-L, Li H, Zhang Sh-R, Jin-Zhi Xu J-Z, Qi Z-H, Ni Q-X, Yu X-J, Liu L. Angiogenesis in pancreatic cancer: current research status and clinical implications // *Angiogenesis*. 2019;22(1):15–36. Doi: 10.1007/s10456-018-9645-2.

21. Sanda MG, Cadeddu JA, Kirkby E, Chen RC, Crispino T, Fontanarosa J, Freedland SJ, Greene K, Klotz LH, Makarov DV, Nelson JB, Rodrigues G, Sandler HM, Taplin ME, Treadwell JR. *Clinical Localized Prostate Cancer: AUA/ASTRO/SUO Guideline. Part I: Risk Stratification, Shared Decision Making, and Care Options* // *J Urol*. 2018;199(3):683–690. Doi: 10.1016/j.juro.2017.11.095.

22. Giordano G, A, Venditti M, Campidoglio S, N, Raieta K, P, GC, Remo A, Pancione M. Targeting angiogenesis and tumor microenvironment in metastatic colorectal cancer: role of

*aflibercept* // *Gastroenterol. Res. Pract.* 2014;(2014):526178. Doi: 10.1155/2014/526178.

23. Yadav L, Puri N, Rastogi V, Satpute P, Sharma V. *Tumour Angiogenesis and Angiogenic Inhibitors: A Review* // *J Clin Diagn Res*. 2015;9(6):XE01–XE05. Doi: 10.7860/JCDR/2015/12016.6135.

### Информация об авторах

**Грызунов Владимир Викторович** – д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: bajnnemech2@yandex.ru.

**Гришачева Татьяна Георгиевна** – канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальных исследований Центра лазерной медицины Научно-образовательного института биомедицины, ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: laser82@mail.ru.

**Чёфу Светлана Григорьевна** – канд. биол. наук, зав. лабораторией экспериментальных исследований Центра лазерной медицины Научно-образовательного института биомедицины, ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: svetlanachefu@gmail.com.

**Беркович Александр Ефимович** – генеральный директор ООО «Медико-техническая лаборатория», Санкт-Петербург, Россия, e-mail: aeberkovich@yandex.ru.

**Петрищев Николай Николаевич** – д-р мед. наук, профессор, руководитель Центра лазерной медицины Научно-образовательного института биомедицины, профессор кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии, ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: lasmed@yandex.ru.

### Authors information

**Gryzunov Vladimir V.** – doctor of Medical Sciences, professor of the Department of Pathophysiology with a Course of Clinical Pathophysiology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: bajnnemech2@yandex.ru.

**Grishacheva Tatyana G.** – candidate of Biological Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Experimental Research of the Center for Laser Medicine of the Scientific and Educational Institute of Biomedicine, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: laser82@mail.ru.

**Chifu Svetlana G.** – Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory for Experimental Research of the Center for Laser Medicine of the Scientific and Educational Institute of Biomedicine, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: svetlanachefu@gmail.com.

**Berkovich Alexander E.** – Limited Liability Company «Medico-Technical Laboratory», Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: aeberkovich@yandex.ru.

**Petrishchev Nikolai N.** – doctor of Medical Sciences, professor, Head of the Center for Laser Medicine of the Scientific and Educational Institute of Biomedicine, professor of the Department of Pathophysiology with a Course in Clinical Pathophysiology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russia, e-mail: lasmed@yandex.ru.