

Д. Р. ФАЙЗУЛЛИНА¹, В. В. ГРЫЗУНОВ¹, А. Е. БЕРКОВИЧ²

Изменение кожного кровотока при HIFU-индуцируемой дегрануляции тучных клеток

¹ 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. Льва Толстого, д. 6-8

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург, Россия
195251, Россия, Санкт-Петербург, ул. Политехническая, д. 2
E-mail: lasmed@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 11.08.19; принята к печати 25.10.19

Резюме

Введение. Одним из перспективных методов лечения онкологических заболеваний является высокоинтенсивный фокусированный ультразвук (HIFU). Генерируемое излучателями акустическое поле порождает механотермические эффекты, значимость которых еще окончательно не оценена, и их изучение позволит изменить тактику терапии. Для анализа их роли были выбраны клеточные периваскулярные регуляторы локального кровотока – тучные клетки (ТК). Изменения микрогемодиляционного русла (МЦР) позволяют судить о морфофункциональном состоянии ТК. **Цель** – оценка состояния перифокального тканевого кровотока кожи крыс и морфофункциональных свойств ТК после воздействия HIFU. **Материал и методы.** Использовали взрослых крыс-самцов линии Wistar. Животных разделили на 3 группы: контроль, бесконтактный локальный нагрев кожи и воздействие HIFU. Для HIFU использовали экспериментальную установку, состоящую из вогнутого излучателя Н-148 S/N 010 с центральной частотой генерации колебаний 1,4 МГц. В усредненном интерференционном пятне интенсивность излучения составляла 8,2 кВт/см². Длительность воздействия – от 150 до 700 мс. Глубина фокусирования – около 1 мм. Для оценки МЦР использовали лазерный доплеровский флуометр. Взятие материала для изготовления пленочных препаратов ТК производили в месте воздействия по стандартной методике. Подсчет ТК осуществляли с использованием программного обеспечения «МультиМедиа Каталог» с учетом их морфофункциональных характеристик. **Результаты.** Воздействие HIFU приводило к значимому усилению кровотока в коже крыс при времени экспозиции 250 мс и более ($p < 0,01$). Максимальное увеличение перфузии отмечено при 400 мс. Наибольшее усиление тканевого кровотока при локальном нагреве наблюдалось при 45 °С ($p < 0,001$). HIFU-воздействие приводило к значимому снижению плотности ТК в подкожно-жировой клетчатке кожи крыс по сравнению с контролем при времени экспозиции 250 мс и более ($p < 0,05$), а также к значимому снижению относительного числа клеток I типа, и нарастанию II и III типов, что свидетельствует о дегрануляции ($p < 0,05$). Похожие изменения числа и морфофункциональных характеристик ТК наблюдали и в серии опытов с локальным нагревом, однако изменения были не столь значимы. **Выводы.** При HIFU-индуцированном воздействии отмечается усиление МЦР в перифокальных зонах, сопровождающееся процессами морфофункциональной перестройки ТК, что свидетельствует о сочетанном механотермическом возмущении в зоне фокуса, формирующем пространственно-временной континуум теплового поля.

Ключевые слова: HIFU-терапия, микроциркуляция, кожа, тучные клетки, лазерная доплеровская флуометрия

Для цитирования: Файзуллина Д. Р., Грызун В. В., Беркович А. Е. Изменение кожного кровотока при HIFU-индуцируемой дегрануляции тучных клеток. Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2019;18(4):81–88. Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-4-81-88.

D. R. FAIZULLINA¹, V. V. GRIZUNOV¹, A. E. BERKOVICH²

Blood flow modification attached to HIFU exposure mast cell degranulation

¹ Pavlov University, Russia, St. Petersburg

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

² Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Russia, St. Petersburg

2 Polytechnicheskaya street, St. Petersburg, Russia, 195251

E-mail: lasmed@yandex.ru

Received 11.08.19; accepted 25.10.19

Summary

Introduction. One of the promising methods of treating oncological diseases is high-frequency focused ultrasound (HIFU). The high-frequency acoustic field generated by the emitters induces mechanothermal effects whose significance has not yet been

fully assessed and their study will change the tactics of therapy. To analyze their role, we selected cellular perivascular regulators of local blood flow – mast cells (MCs). Changes in the microcirculation (MCT) allow us to judge the morphofunctional state of the MC. The aim of the study is to assess the state of the rat's skin periphocal tissue blood flow and MCs morphofunctional properties after HIFU-exposure. **Material and methods.** Adult male Wistar rats were used. Animals were divided into 3 groups: control, non-contact local heating of the skin and HIFU-induced exposure. For HIFU, an experimental setting was used, consisting of a concave emitter H-148 S / N 010 with a central oscillation frequency of 1.4 MHz. In the averaged interference spot, the radiation intensity was 8.2 kW/cm². The exposure duration from 150 to 700 ms. Depth of focus is about 1 mm. To assess the MCT, a laser doppler flowmeter was used. Material for the manufacture of film preparations of MCs was taken at the site of exposure and according to the standard method. MCs calculation was carried out using the software «Multimedia Catalog» taking into account their morphofunctional characteristics. **Results.** HIFU exposure led to a significant increase in blood flow in rat's skin at an exposure time of 250 ms or more ($p < 0.01$). The maximum increase in perfusion was noted at 400 ms. The highest increase in tissue blood flow with local heating was observed at 45°C ($p < 0.001$). HIFU-exposure led to a significant decrease in the density of MCs in the subcutaneous fat tissue of rat's skin compared with the control at an exposure time of 250 ms or more ($p < 0.05$) and a significant decrease in the relative number of type I cells, and an increase in type II and III, which indicates degranulation ($p < 0.05$). Similar changes in the amount and morphofunctional characteristics of MCs were observed in a series of experiments with local heating, but the changes were not so significant. **Conclusions.** With HIFU-induced exposure, increased MCT in the peripheral zones is observed, accompanied by processes of morphofunctional rearrangement of the MCs, which indicates a combined mechanothermal disturbance in the focus zone, which forms the spatiotemporal continuum of the thermal field.

Keywords: HIFU-therapy, microcirculation of the skin, mast cells, laser doppler flowmetry

For citation: Faizullina D. R., Grizunov V. V., Berkovich A. E. Blood flow modification attached to HIFU exposure mast cell degranulation. Regional hemodynamics and microcirculation. 2019;18(4):81–88. Doi: 10.24884/1682-6655-2019-18-4-81-88.

Введение

В последние годы в хирургическую практику широко внедряются высокотехнологичные методы лечения, призванные существенно ограничить инвазивность манипуляций, один из которых основан на использовании высокоинтенсивного фокусированного ультразвука (Hight-Intensity Focused Ultrasound (HIFU)). Биологическое действие HIFU обусловлено трансдукцией акустической энергии в тепловую и механическими возмущениями в биотканях. Оба этих фактора действуют совместно, однако, в зависимости от интенсивности и условий воздействия, один из них может превалировать над другим.

Наибольшую значимость метод HIFU приобрел при лечении онкологических больных, так как обладает рядом существенных преимуществ – неинвазивность, повторяемость и т. д. [1–3]. Лечебный эффект фокусированного ультразвука при воздействии на новообразование основан на локальном нагревании тканей в зоне фокуса [4]. Помимо прямого термического воздействия на биологические структуры, что широко используется в хирургической практике, высокоинтенсивный ультразвук порождает и не прямые механические возмущения, роль которых в механизме действия в наблюдаемых эффектах остается малоизученной [5, 6].

В механизме противоопухолевого действия HIFU большое значение придается нарушениям кровотока, однако особенности влияния остаются недостаточно изученными. Одним из факторов опухолевого роста является интенсивность кровотока в новообразовании, в данной работе мы изучали реакцию микрососудов в коже экспериментальных животных при воздействии HIFU в перифокальных зонах. В литературе описаны измерения кровотока в опухолевой ткани до и после HIFU, полученные методом лазерной доплеровской флуометрии: локализованного рака предстательной железы, СТ-26-инициированной опухоли у мышей в присутствии пегилированного липосомального доксорубина, во всех исследованиях было показано снижение кровотока после лечения [7, 8].

Однако в большинстве работ цель применения данного терапевтического метода в достижении абляции патологической ткани с магнитно-резонансной или ультразвуковой констатацией отсутствия кровотока в месте воздействия. Предлагаемая зональная схема оценки состояния кровотока дает возможность учитывать не только прямое термическое повреждение в фокальной области, но и проявления механических возмущений, вызванных фокусированным ультразвуком в окружающих тканях, значимость которых еще окончательно не определена и не описана подробно в литературе.

В данной работе мы рассматривали в качестве триггера сосудистой реакции тучные клетки (ТК). В последние годы ТК рассматриваются не только как регуляторы тканевого гомеостаза и участники аллергических реакций, но и в качестве иммунных ингибиторов опухолевого роста совместно с Т-регуляторными клетками [9], индукторов ангиогенеза [10], регуляторов постишемической нейтрофильной инфильтрации [11]. Участие же ТК в вазомоторных процессах, изменении проницаемости сосудистой стенки и скорости кровотока основано, в первую очередь, на высвобождении гистамина из гранул, причем данный эффект является НО-зависимым [12]. Исследования по влиянию ультразвука на ТК начались в 1980-х гг., когда показали, что ультразвук может инициировать дегрануляцию клеток, однако было бы некорректно оценивать полученные в те годы результаты в связи со значительным расхождением параметров воздействия [13]. Исследований, посвященных HIFU и ТК, крайне мало. В одной из работ методом проточной цитометрии определяли число ТК в опухолевой ткани после воздействия фокусированного ультразвука с микропузырьками (MB-FUS): в первые 24 ч отмечали увеличение числа ТК на 3-и и 18-е сутки – снижение по сравнению с контролем [14]. Также есть данные о снижении общего количества и дегранулировавших ТК в тканях гениталий крыс после воздействия фокусированным ультразвуком в течение 2

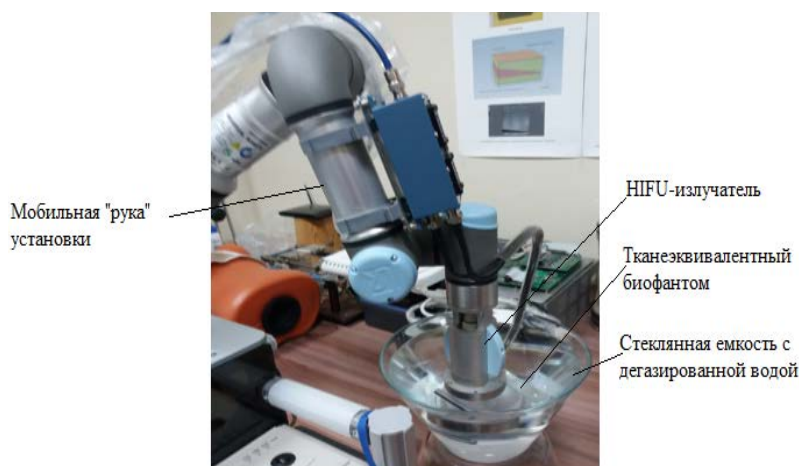


Рис. 1. Мобильная экспериментальная установка для генерации и фокусировки ультразвука высокой интенсивности

Fig. 1. Mobile experimental setup for the generation and focusing of high intense ultrasound

недель на модели склероатрофического лишена [15]. Интересна работа на мышах по сравнительной оценке непрерывного и импульсного фокусированного ультразвука (сFUS и rFUS соответственно), через 10 ч после воздействия в гистологических препаратах сухожилий определяли общее число ТК и деградировавших клеток, оба параметра были выше в группе, подвергшейся непрерывному излучению [16]. Сочетанный механотермический эффект ультразвука лежит в основе реакций немедленного и отсроченного типов у ТК, предположительно, ультразвук может приводить к формированию кавитационных микропузырьков внутри мембран ядра, митохондрий и эндоплазматического ретикулума, таким образом, приводя к повреждению данных органелл [17].

Цель работы – оценка состояния тканевого кровотока кожи крыс и морфофункциональных свойств ТК в перифокальных зонах после воздействия HIFU.

Материал и методы исследования

Работа выполнена на крысах-самцах линии Wistar весом $261 \pm 1,6$ г (питомник лабораторных животных «РАППОЛОВО»). Крысы содержались в обычных условиях вивария. Все эксперименты *in vivo* выполнены в соответствии с «Руководством по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей в ПСПбГМУ им. И. П. Павлова» [18], составленным на основе Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, использующихся для научных целей.

Перед началом эксперимента животных наркотизировали путем внутривенного введения препаратов Золетил 50 (VIRBAC, Франция) и Ксила (De Adelaar B.V., Нидерланды) в равных объемах в дозе 0,5 мл/кг. Затем крысу помещали на термостатируемый столик TSCAT-2 (Physitemp, США) с постоянным поддержанием ректальной температуры в пределах $37,0\text{--}37,5$ °C. Кожу спины очищали от шерсти механическим путем. Маркером по трафарету с учетом костных ориентиров на коже спины отмечали место воздействия и зону оцен-

ки кожного кровотока, которая составляла $0,78\text{ см}^2$. Температуру кожи в ходе эксперимента измеряли бесконтактным инфракрасным термометром (A&D, Япония), исходное значение – $36,5 \pm 0,2$ °C. Температуру в подкожной клетчатке животных измеряли с использованием цифрового многоканального термографа (Т-8, Россия). Перед началом эксперимента под кожу вводили 4 микротермосенсора.

Животных разделили на 3 группы: контроль ($n=6$); группа, в которой осуществляли локальный нагрев кожных покровов крыс ($n=20$), и группа с воздействием HIFU ($n=16$). Для локальной бесконтактной гипертермии кожи крыс использовали прибор с нагреваемым округлым латунным элементом площадью 2 см^2 . Передачу энергии нагреваемому объекту осуществляли в течение 5 мин.

Воздействие на кожу HIFU животных 3-й группы производили с использованием экспериментальной установки, состоящей из вогнутого излучателя H-148 S/N 010 (Sonic Concepts Inc., США) с центральной частотой генерации колебаний 1,4 МГц, интенсивностью $8,2\text{ кВт/см}^2$ в усредненной зоне фокуса, активным диаметром 64 мм и центральным отверстием 20 мм (рис. 1). С целью достижения разной температуры в зоне фокуса изменяли длительность экспозиции от 150 до 700 мс. Фокусирование ультразвуковых колебаний выполнялось на расчетную глубину около 1,0 мм и диаметром пятна до 0,6 мм. Перед воздействием на исследуемый участок кожи наносили Аквагель (Десмо, Россия).

Для оценки кровотока в коже до и сразу после воздействия использовали флуометр Laser Doppler Monitor BLF21 (Transonik Systems Inc., США), подключенный к компьютеру с программным обеспечением для анализа полученных данных. Мощность диодного источника излучения с длиной волны 780 нм не превышает 2,0 мВт. Флуометр позволяет регистрировать тканевую перфузию от 0 до 100 мл/мин на 100 г ткани. Результаты приводятся в перфузионных единицах (пф. ед.).

Взятие материала для изготовления пленочных препаратов ТК производилось в месте воздействия по стандартной методике, сразу после измерения кровотока. Препараты окрашивали толуидиновым

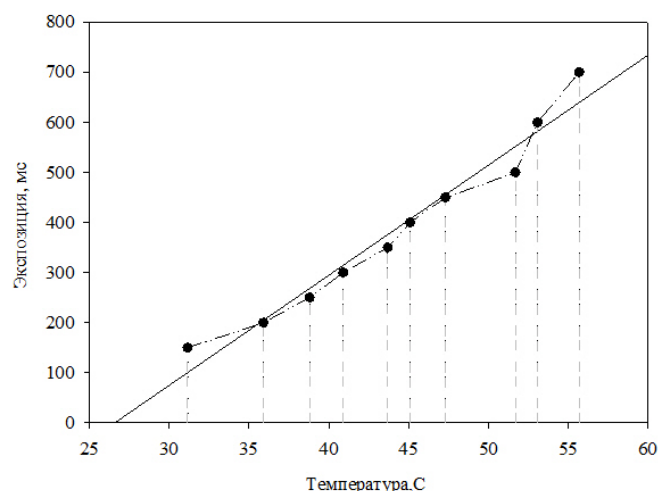


Рис. 2. Изменения перифокальной подкожной температуры в зависимости от экспозиции воздействия HIFU

Fig. 2. Changes in perifocal subcutaneous temperature depending on HIFU exposure dose

синим с добавлением активатора (*БиоВумрум*, Россия) и заключали в среду Био Маунт (*Bio-Optica*, Италия). Подсчет ТК производили на микроскопе «Микмед-5» (*ЛОМО*, Россия), с объективом $\times 40$, прибор оснащен цифровой видеокамерой BR-6601HC-UF (*НПК ЕС-экспертс*, Россия). Программное обеспечение «МультиМедиа Каталог» (*ММС*, Россия) позволило производить автоматический подсчет ТК, а также разделить их на три группы в зависимости от степени дегрануляции. Подсчет клеток производился в полях зрения 50 с последующим пересчетом на 10 полей зрения при увеличении $\times 400$.

Статистическую обработку полученных количественных данных проводили с использованием стандартного пакета программ («Statistica 7.0 Stat Soft for Windows», «Sigma Plot 12.5»). Вид распределения количественных признаков проводили по критерию Шапиро – Уилка. Данные в случае нормально

распределенных признаков описаны средним значением и стандартным отклонением ($M \pm SD$), а параметры, не имеющие нормального распределения, – медианой (Me), нижним и верхним квартилем [$Q25\%$; $Q75\%$]. Оценку значимости различий показателей проводили с применением двухфакторного анализа ANOVA, U-критерия Манна – Уитни. Для оценки силы связи между изучаемыми переменными использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (ρ). Значимость различий определяли при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Тепловой эффект в перифокальной зоне HIFU-воздействия оценивали по данным, полученным при подкожном введении микротермосенсоров многоканального компьютерного термографа Т-8 и измерении инфракрасным термометром кожи крыс. Средние значения температуры кожи крыс до воздействия при измерении инфракрасным термометром составили $36,35 \pm 0,04$ °C, а сразу после HIFU-воздействия – $34,85 \pm 0,11$ °C. Снижение температуры, вероятно, связано с охлаждающим влиянием Аквагеля, необходимого для использования HIFU. В перифокальной зоне в подкожной клетчатке, по данным компьютерного термографа, несмотря на наличие индивидуальных колебаний у животных, была выявлена общая закономерность, которая проявлялась в том, что при увеличении экспозиции воздействия HIFU температура в ближней зоне фокуса пропорционально возрастала, а шаговый прирост температуры при росте времени действия составил в среднем $2,79$ °C (рис. 2). Была выявлена очень высокая положительная корреляция между временем экспозиции и температурой подкожной клетчатки ($\rho = 0,98$; $p = 0,001$).

С помощью лазерного флуометра регистрировали тканевый кровоток в коже спины у контрольных крыс, который составил $4 [3,6; 5,6]$ пф. ед. Данная величина стала отправным показателем при проведении сравнительного анализа.

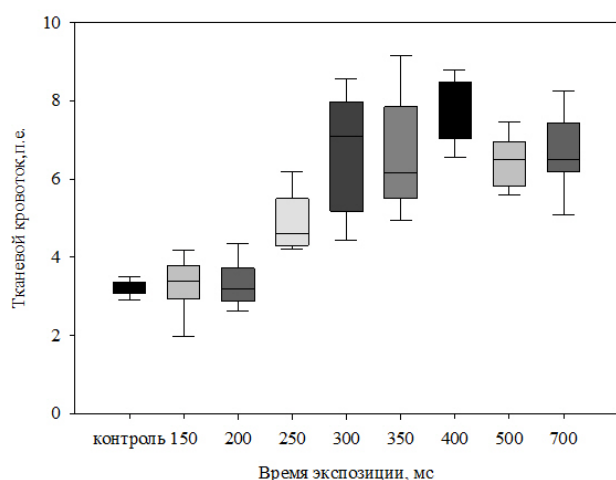


Рис. 3. Изменения перифокального тканевого кровотока кожи крыс после однократного воздействия HIFU с разной экспозицией: * – статистически значимые различия, сравнение с контролем (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$)

Fig. 3. Changes in the perifocal tissue blood flow of rat's skin after a single HIFU impact with different exposure doses: * – statistically significant differences, comparison with control (* – $p < 0,05$; ** – $p < 0,001$)

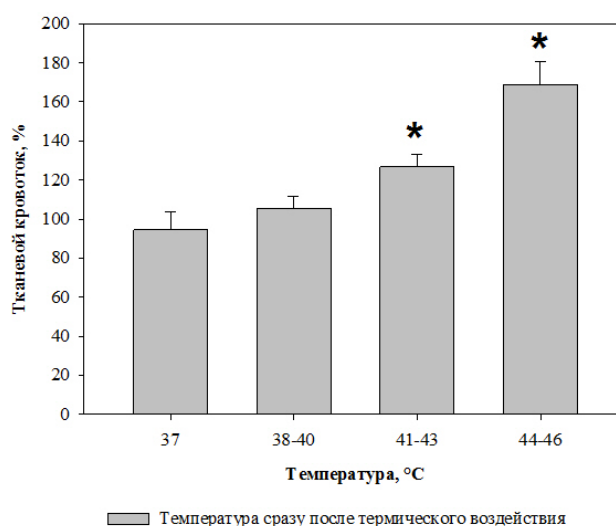


Рис. 4. Диаграмма изменения тканевого кровотока кожи крыс сразу после локального нагрева, в % относительно исходных значений: * – $p < 0,001$ по сравнению с исходными данными

Fig. 4. Diagram of changes in tissue blood flow in the rat's skin immediately after local heating, in percent relative to the initial values: * – $p < 0,001$ in comparison with the initial data

Параллельно с ростом температуры в перифокальных зонах при воздействии HIFU отмечалось увеличение перфузии в коже наркотизированных крыс. Установлено, что с увеличением времени воздействия фокусированным ультразвуком пропорционально возрастала величина кровотока (рис. 3). Была выявлена высокая положительная корреляция между уровнем тканевого кровотока и временем экспозиции ($r=0,707$; $p=0,0374$). При анализе динамики роста перфузии и увеличения времени воздействия выявлен порог времени экспозиции, составивший 250 мс, при котором отмечали значимое усиление кровотока в коже крыс по сравнению с контролем ($p<0,001$). Максимальное увеличение тканевой перфузии отмечено при длительности воздействия в 400 мс (7,6 [7,12; 8,35] пф. ед.). Интересно, что при 500 и 700 мс не происходило дальнейшего усиления кровотока, он оставался на уровне 6,5 [6,05; 6,8] и 6,5 [6,32; 7,3] пф. ед. соответственно и был значимо выше контрольных значений ($p=0,009$, $p=0,005$).

Обращает на себя внимание наибольшее значение тканевой перфузии при фокусированном ультразвуковом воздействии с временем экспозиции 400 мс и зарегистрированной подкожной температурой 45 °С. Это совпадает с результатами проведенной серии экспериментов с локальным нагревом. В этой серии экспериментов измерения температуры кожи проводили инфракрасным термометром. Данные о влиянии локальной гипертермии на кровоток показаны на рис. 4. В интервале от 38 до 46 °С отмечалась высокая положительная корреляция уровня перфузии кожи и температуры нагрева ($r=0,83$; $p=0,000589$). Сразу после нагрева отмечалось значимое усиление кровотока относительно исходных значений в диапазонах 41–43 и 44–46 °С ($p<0,001$). Наибольшее его усиление наблюдалось при нагреве кожных покровов до 45 °С до 8,7 [8,4; 9,95] пф. ед. Полученные результаты согласуются с данными литературы [19].

Учитывая, что в качестве одного из гуморальных триггеров регуляции тканевого кровотока в коже крыс выступают ТК, изучали их количественные и качественные характеристики. Установлено, что после воздействия фокусированным ультразвуком со временем экспозиции 250 мс в перифокальных зонах наблюдается значимое снижение общего числа ТК в подкожно-жировой клетчатке кожи крыс до 94,7 [90,2; 95,8] в пересчете на 10 полей зрения по сравнению с контролем 119,7 [118,4; 120,7] ($p=0,026$). В дальнейшем при увеличении времени воздействия отмечали пропорциональную зависимость между экспозицией и количеством ТК ($r=0,98$; $p<0,001$). При достижении экспозиции 700 мс данный показатель достигал 85,5 [72,5; 93,3] ($p=0,015$).

Также при данных параметрах было отмечено значимое снижение относительного количества клеток I типа, которые характеризуются сравнительно небольшим размером, округлой, овальной или неправильной формой с четкими контурами ядра и цитоплазмы и нарастание числа клеток II и III типа – округлой или овальной формы с эксцентрично расположенными ядрами и крупной зернистостью в цитоплазме с признаками нарушения целостности

и полностью разрушенных клеток с выходом метаболитических гранул в окружающее межклеточное вещество (рис. 5–7) ($p<0,05$). В контроле это соотношение составляло 52,8, 27,4 и 19,8 % соответственно. При 700 мс – 9,4, 32,7 и 50,3 %. Значимых корреляций между тканевым кровотоком и числом ТК или преобладающим типом выявлено не было.

Похожие изменения числа и морфофункциональных характеристик ТК наблюдали и в серии опытов с локальным нагревом, однако преобладали клетки второго типа. Так, при нагревании до 46 °С соотношение типов клеток было следующим: I тип – 35,4 %, II – 43,1 %, III – 21,5 %.

ТК являются высокочувствительными триггерами регуляции местного кровотока, что проявляется изменением их морфофункциональных свойств и снижением числа в ранние сроки после HIFU-индуцированного воздействия. Особенностью данного метода терапии является высокая точность фокусирования ультразвука и сочетание двух основных эффектов – термического и акустического. Современные установки позволяют достигать высокой точности воздействия HIFU, что особенно важно в клинической медицине, однако конечный терапевтический эффект будет зависеть не только от абляции, но и от реакции окружающих тканей, клеток и сосудов, находящихся в перифокальных зонах.

В качестве пускового механизма процесса выброса биологически активных веществ из гранул ТК можно рассматривать формирование акустического поля, порождающего в суспензионной и коллоидной средах вибропотенциал, который по своей величине сопоставим с мембранным потенциалом клетки. В условиях снижения электросопротивления мембраны это приводит к липидному «пробою» мембран гранул и клетки. В результате снижения электросопротивления биомембраны и индуцированного вибропотенциала создаются условия для частичной и тотальной дегрануляции ТК, снижения их числа. С другой стороны, часть энергии фокусированного ультразвука передается биологическим структурам в виде механического импульса, способного породить ударные волны, импульсы давления, вызывающие акустические течения, которые генерируют образование вихревых микропотоков. Они способны вызвать трансмембранные «разрывы» и инициировать дестабилизацию кинетики массопереноса, что также отражается на морфофункциональных характеристиках ТК. Результатом активации выброса вазоактивных веществ в периваскулярное пространство тканей, богатых ТК, в частности, рыхлой соединительной ткани подкожной жировой клетчатки крыс, в сочетании с другими синергичными процессами является усиление тканевого кровотока сосудов МЦР кожи в ответ на проводимое воздействие. Динамика кровотока после воздействия HIFU позволяет оценить фазность процесса дегрануляции ТК, которая инициируется сразу после воздействия фокусированным ультразвуком в течение первых нескольких минут [20]. Для уточнения влияния выброса биологически активных веществ из гранул ТК целесообразно продолжить данное направление исследований с использованием различных блокаторов дегрануляции естественного или искусственного

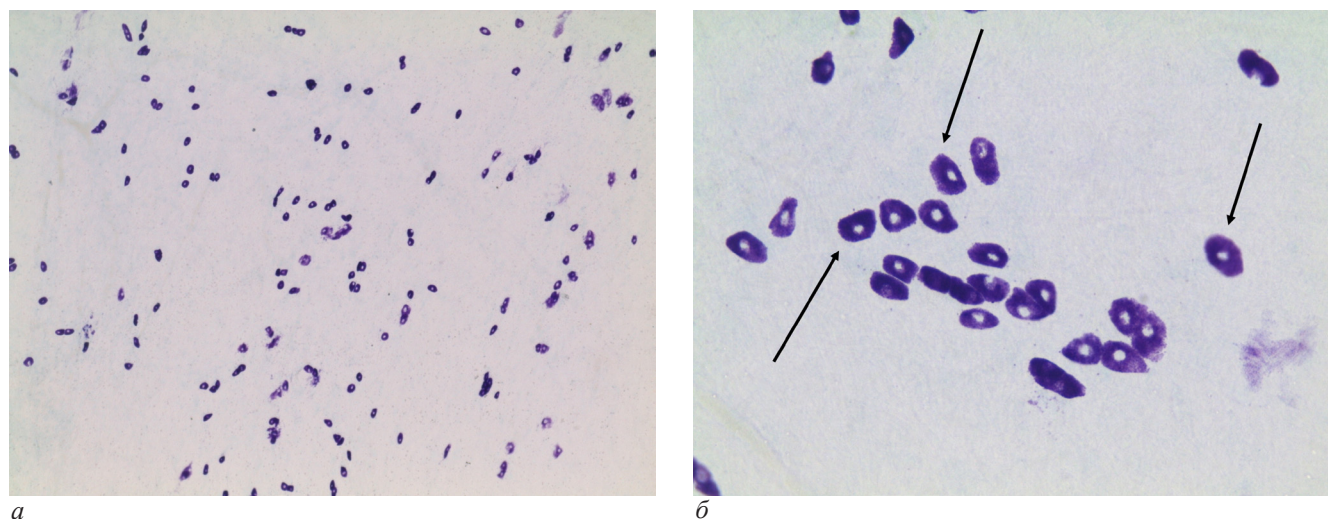


Рис. 5. Пленочные препараты тучных клеток крыс после HIFU-воздействия, время экспозиции – 150 мс, окраска толуидиновым синим: *а* – ув. $\times 100$ (об. $\times 10$, ок. $\times 10$); *б* – ув. $\times 400$ (об. $\times 40$, ок. $\times 10$). Стрелками показаны клетки I типа

Fig. 5. Rat's mast cell film preparations after HIFU impact, exposure time 150 ms, toluidine blue staining: *a* – h. 100 (about $10\times$ approx. 10); *б* – h. 400 (about $40\times$ approx. 10). Arrows indicate type I cells

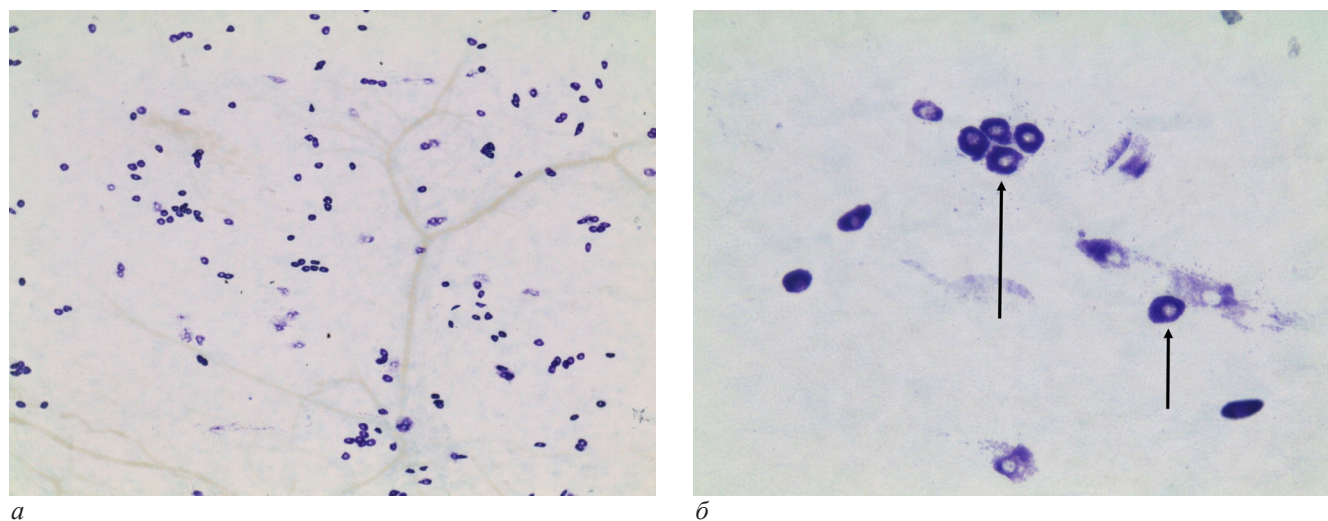


Рис. 6. Пленочные препараты тучных клеток крыс после HIFU-воздействия, время экспозиции – 350 мс, окраска толуидиновым синим: *а* – ув. $\times 100$ (об. $\times 10$, ок. $\times 10$); *б* – ув. $\times 400$ (об. $\times 40$, ок. $\times 10$). Стрелками показаны клетки II типа

Fig. 6. Rat's mast cell film preparations after HIFU impact, exposure time 350 ms, toluidine blue staining: *a* – h. 100 (about $10\times$ approx. 10); *б* – h. 400 (about $40\times$ approx. 10). Arrows indicate type II cells

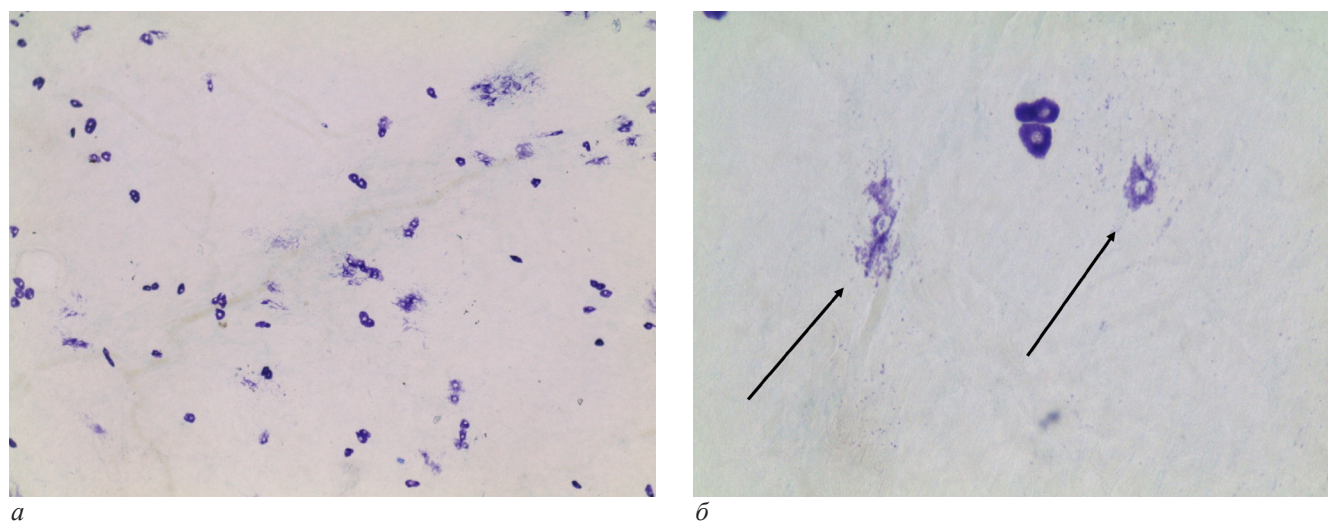


Рис. 7. Пленочные препараты тучных клеток крыс после HIFU-воздействия, время экспозиции – 700 мс, окраска толуидиновым синим: *а* – ув. $\times 100$ (об. $\times 10$, ок. $\times 10$); *б* – ув. $\times 400$ (об. $\times 40$, ок. $\times 10$). Стрелками показаны клетки III типа

Fig. 7. Rat's mast cell film preparations after HIFU impact, exposure time 700 ms, toluidine blue staining: *a* – h. 100 (about $10\times$ approx. 10); *б* – h. 400 (about $40\times$ approx. 10). Arrows indicate type III cells

происхождения (флавоноиды, кумарины, ингибиторы фосфодиэстеразы) относительно новых лекарственных препаратов опосредованного действия (JAK1/JAK2-ингибиторы, ингибиторов тирозинкиназ и др.) или хорошо изученных H_1 -блокаторов [21]. Или с использованием мышей, дефицитных по ТК, с мутациями в генах *Kit* или *Stem Cell Factor* ($Kit^{W/W-v}$, Kit^{W-sh} , and Sl/Sl^d) [22]. Дальнейшие исследования позволят уточнить взаимосвязь между ТК и сосудами МЦР кожи крыс при воздействии HIFU, разделить вклад нервной системы, прежде всего антидромной стимуляции, гуморальных факторов (оксида азота, простаглицина, семейства эндотелиальных факторов, которые вызывают гиперполяризацию и расслабление гладких мышц, эндотелина-1 и др.), а также оценить вклад содержимого гранул ТК в динамику вазомоторных процессов.

Таким образом, можно высказать предположение, что в основе процессов снижения числа ТК, их дегрануляции лежат процессы дестабилизации клеточной мембраны, вызванные механическими возмущениями в биологической среде при HIFU. Кроме того, данный вид воздействия имеет свои отличительные особенности по сравнению с термическим воздействием на сосуды МЦР и ТК кожи крыс. Поэтому целесообразно говорить не только о тепловом эффекте фокусированного ультразвука, а о механотермическом возмущении в тканях, вызванным высокоинтенсивными ультразвуковыми колебаниями, значимость которых еще предстоит уточнить.

Заключение

При HIFU-индуцированном воздействии в перифокальных зонах кожи отмечаются усиление микрогемодинамики, морфофункциональная перестройка ТК со снижением их количества, что является свидетельством сочетанного механотермического возмущения биологических тканей.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Благодарности

Работа выполнена при поддержке поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации. Уникальный идентификатор проекта – RFMEFI57818X0263.

Acknowledgements

This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation. Unique identifier of the project – RFMEFI57818X0263.

Литература / References

1. Chaussy CG, Thüroff S. High-intensity focused ultrasound for the treatment of prostate cancer: a review. *J. Endourol.* 2017;31(S1):S30–S37. Doi: 10.1089/end.2016.0548.
2. Zhu B, Li J, Diao L, Ma K, Fan Y, Yang W. High-intensity focused ultrasound ablation for advanced pancreatic cancer. *J. Cancer Res. Ther.* 2019;15(4):831–835. Doi: 10.4103/jcrt.JCRT_408_18.
3. Suleimanov EA, Filonenko EV, Moskvicheva LI, Kaprin AD, Kostin AA, Samsonov YV, Isaev AR. The possibility

of HIFU therapy at the present stage. *Res. Pract. Med. J.* 2016;3(3):76–82. Doi: 10.17709/2409-2231-2016-3-3-8.

4. 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.

5. Lin CKS, Oehm L, Liebler M, Brehm H, Jenderka K-V, Majschak J-P. Heating of polymer films induced by High-Intensity Focused Ultrasound: study of acoustic and thermal effects. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control.* 2019. Doi: 10.1109/TUFFC.2019.2940380.

6. Zilonova EM, Solovchuk M, Sheu TWH. Simulation of cavitation enhanced temperature elevation in a soft tissue during high-intensity focused ultrasound thermal therapy. *Ultrason. Sonochem.* 2019;53:11–24. Doi: 10.1016/j.ultsonch.2018.12.006.

7. Lin CY, Tseng HC, Shiu HR, Wu MF, Chou CY, Lin WL. Ultrasound sonication with microbubbles disrupts blood vessels and enhances tumor treatments of anticancer nanodrug. *Int. J. Nanomedicine.* 2012;7:2143–2152. Doi: 10.2147/IJN.S29514.

8. Оценка состояния микроциркуляторного русла до и после проведения сеанса HIFU-терапии в лечении локализованного рака предстательной железы с помощью лазерной доплеровской флоуметрии и цветового доплеровского картирования / В. П. Левин, А. И. Неймарк, М. А. Тачалов, Г. А. Лапий // Фундам. исслед. – 2015. – № 1. – С. 1861–1863. [Levin VP, Neimark AI, Tachalov MA, Lapii GA. Assessment of microcirculation before and after the session of hifu therapy in the course of treatment for localized prostate cancer using laser doppler flowmetry and color doppler mapping. *Fundamental research.* 2015;1:1861–1863. (In Russ.)].

9. Khazaie K, Blatner NR, Khan MW, Gounari F, Gounaris E, Dennis K, Bonertz A, Tsai FN, Strouch MJ, Cheon E, Phillips JD, Beckhove P, Bentrem DJ. The significant role of mast cells in cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2011;30(1):45–60. Doi: 10.1007/s10555-011-9286-z.

10. Amani S, Shahrooz R, Mortaz E, Hobbenaghi R, Mohammadi R, Khoshfetrat AB. Histomorphometric and immunohistochemical evaluation of angiogenesis in ischemia by tissue engineering in rats: Role of mast cells. *Vet. Res. Forum.* 2019;10(1):23–30. Doi: 10.30466/vrf.2019.34311.

11. Strbian D, Karjalainen-Lindsberg ML, Tatlisumak T, Lindsberg PJ. Cerebral mast cells regulate early ischemic brain swelling and neutrophil accumulation. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2006;26(5):605–612. Doi: 10.1038/sj.jcbfm.9600228.

12. Javed S, Mitchell K, Sidsworth D, Sellers SL, Reuters-Hernandez J, Massicotte HB, Egger KN, Lee CH, Payne GW. *Inonotus obliquus* attenuates histamine-induced microvascular inflammation. *PLoS One.* 2019;14(8):e0220776. Doi: 10.1371/journal.pone.0220776.

13. Dyson M, Luke DA. Induction of Mast Cell Degranulation in Skin by Ultrasound. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control.* 1986;33(2):194–201. Doi: 10.1109/TUFFC.1986.26814.

14. Liu HL, Hsieh HY, Lu LA, Kang CW, Wu MF, Lin CY. Low-pressure pulsed focused ultrasound with microbubbles promotes an anticancer immunological response. *J. Transl. Med.* 2012;10(221):1–14. Doi: 10.1186/1479-5876-10-221.

15. Yang H, Tang H, Fan Y, Li C. Effects of focused ultrasound on expression of PAR2, SP and NK1-R in genital skin of SD rats with vulvar lichen simplex chronicus. *J Ther Ultrasound.* 2018;6(2). Doi: 10.1186/s40349-018-0110-x.

16. Burks SR, Ziadloo A, Kim SJ, Nguyen BA, Frank JA. Noninvasive pulsed focused ultrasound allows spatiotemporal control of targeted homing for multiple stem cell types in murine skeletal muscle and the magnitude of cell homing

can be increased through repeated applications. *Stem Cells*. 2013;31(11):2551–2560. Doi: 10.1002/stem.1495.

17. Izadifar Z, Babyn P, Chapman D. Mechanical and biological effects of ultrasound: a review of present knowledge. *Ultrasound Med. Biol.* 2017;43(6):1085–1104. Doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2017.01.023.

18. 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. Saint Petersburg, Izd-vo SPbGMU, 2003:57. (In Russ.)].

19. Johnson JM, Minson CT, Kellogg DL. Cutaneous vasodilator and vasoconstrictor mechanisms in temperature regulation. *Compr. Physiol.* 2014;4(1):33–89. Doi: 10.1002/cphy.c130015.

20. Abraham SN, John AL St. Mast cell-orchestrated immunity to pathogens. *Nat. Rev. Immunol.* 2010;10(6):440–452. Doi: 10.1038/nri2782.

21. Finn DF, Walsh JJ. Twenty-first century mast cell stabilizers. *Br. J. Pharmacol.* 2013;170(1):23–37. Doi: 10.1111/bph.12138.

22. Silva EZM da, Jamur MC, Oliver C. Mast Cell Function: A New Vision of an Old Cell. *J. Histochem. Cytochem.* 2014;62(10):698–738. Doi: 10.1369/0022155414545334.

Сведения об авторах

Файзуллина Динара Рафаэлевна – ассистент кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Грызун В. В. – д-р мед. наук, доцент кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова» МЗ РФ, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Беркович Александр Ефимович – зав. лабораторией ультразвуковых технологий ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», e-mail: berkovich_ae@spbstu.ru.

Author information

Faizullina Dinara R. – Assistant of the Department of Pathophysiology with a course of clinical pathophysiology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Grizunov Vladimir V. – Dr. of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Pathophysiology with a course of clinical pathophysiology, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, e-mail: lasmed@yandex.ru.

Berkovich Alexandr E. – The chief of the Ultrasound Technologies Laboratory, Peter the Great St.Petersburg Polytechnic University, e-mail: berkovich_ae@spbstu.ru.