

Оценка состояния жировой клетчатки после однократного ультразвукового воздействия в эксперименте

Р.Х. СУЛЕЙМАНОВ¹, С.А. КИМ², И.И. МАЙБОРОДИН³, И.В. МАЙБОРОДИН³

Кыргызско-Российский славянский университет, Бишкек, Кыргызстан¹

Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызстан²

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация³

Цель исследования Установить особенности изменений жировой клетчатки крыс после однократного ультразвукового воздействия различной длительности в диагностическом режиме.

Материал и методы Методами световой микроскопии изучали морфологические изменения в жировой клетчатке после однократного ультразвукового воздействия различной продолжительности в диагностическом режиме.

Результаты и их обсуждение Было обнаружено, что ультразвуковое воздействие приводит к гиперемии, лимфостазу и увеличению сосудистой проницаемости. Выраженность изменений нарастает по мере увеличения длительности воздействия. Все обнаруженные изменения являются обратимыми, и большинство из них возвращается к исходному уровню в течение 1-2 суток.

Выводы В практической деятельности следует учитывать возможность развития повреждений клеток и тканей при проведении ультразвукового исследования (УЗИ). Целесообразны разработка и применение мероприятий, направленных на снижение отека и стабилизацию сосудистой стенки как во время самой процедуры УЗИ, так и сразу после нее.

Ключевые слова Ультразвук, повреждающее действие ультразвука, жировая клетчатка, гиперемия, лимфостаз

Assessment of the Status of Fatty Tissue after Single Ultrasonic Influence in Experiment

R.KH. SULEIMANOV¹, S.A. KIM², I.I. MAIBORODIN³, I.V. MAIBORODIN³

Kyrgyz Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyzstan¹

Kyrgyz state medical institute of retraining and increase qualifications, 144a Bokonbaeva Str., Bishkek, 720040, Kyrgyzstan²

The Center of New Medical Technologies, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, The Russian Academy of Sciences, 8 Akademika Lavrent'eva Ave., Novosibirsk, 630090, Russian Federation³

The purpose of the study To establish features of changes of rat fatty tissue after single ultrasonic influence of various duration in a diagnostic mode.

Materials and methods The morphological changes in fatty tissue after single ultrasonic influence of various duration in a diagnostic mode were studied by methods of light microscopy.

Results and their discussion It was revealed that such influence leads to a hyperemia, lymphostasis and to increase of vascular permeability. Expressiveness of changes increase in process of increase in duration of influence. All found changes are reversible, and the majority of them comes back to initial level within 1-2 days.

Conclusion In practical activities it is necessary to consider possibility of development of cellular and tissue damages in the time of ultrasonography. Development and application of the actions that are directed on stabilization of a vascular wall and decrease of oedema both during the ultrasonography and right after it are expedient.

Key words Ultrasound, damaging action of ultrasound, fatty tissue, hyperemia, lymphostasis

Ультразвуковое исследование (УЗИ) обычно считается безопасным методом визуализации. Диагностические ультразвуковые сканирования плода, как правило, считаются безопасными во время беременности [13].

Вместе с этим, в последнее время стали появляться сообщения об изменениях тканей и органов млекопитающих после воздействия ультразвуком в медицинском исследовательском режиме. Постоянно высказываются сомнения в безопасности ультразвука в применяемых для диагностики мощностях [6, 14].

Все чаще признается, что ультразвук, даже на применяемых диагностических мощностях, способен повысить температуру тканей и, таким образом, повредить их [10-12]. Особенно это важно для эмбриональных тканей [10], тканей головного мозга [3, 10], глаза [9, 17].

В 2008 году The American Institute of Ultrasound in Medicine (Laurel, Мэриленд) опубликовал 130-страничный доклад под названием "О потенциальных биоэффектах диагностического ультразвука" о том, что действительно есть некоторые потенциальные риски при проведении УЗИ, которые включают в себя «тепловые эффекты, механические воздействия и биоэффекты от применения контрастных средств». Долгосрочные эффекты, связанные с ультразвуковым воздействием на диагностической интенсивности, пока неизвестны. Несмотря на то, что существует вероятность выявления в будущем значительного биологического воздействия на человека, в настоящее время большинство врачей считают, что на основе имеющейся информации польза для пациентов перевешивает риски [7].

Две 15-минутные процедуры воздействия ультразвуком могут быть будущим противозачаточных мер

для мужчин. Исследование на крысах демонстрирует, что доступные в наше время ультразвуковые устройства можно использовать для уничтожения вырабатывающих сперматозоиды клеток. Два сеанса уменьшили число сперматозоидов у крыс до нулевого значения или до крайне малого количества способных к передвижению клеток, при этом оказалось меньше производящих сперматозоиды клеток. Этот вид ультразвуковой стерилизации может применяться и для постоянного бесплодия, обеспечивая бесконтактный способ стерилизации домашних животных [18].

Цель исследования. Установить особенности изменений жировой клетчатки крыс после однократного ультразвукового воздействия различной длительности в диагностическом режиме.

Материал и методы

Эксперименты проводили на самцах крыс инбредной линии Wag весом 180–200 г возрастом 6 месяцев. Все манипуляции с животными осуществляли под общим ингаляционным эфирным наркозом в условиях чистой операционной с соблюдением «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Для воздействия была использована система ультразвука, которую обычно используют в медицинских клиниках [3, 6] для УЗИ-диагностики В-способом с частотой 6,7 МГц в пульсирующем режиме (длительность 0,2 мсек.). Дозиметрическое тестирование системы ультразвука показало интенсивность пиковую в пространстве, среднюю по импульсу 330 Вт/см² и интенсивность среднюю по времени, пиковую по пространству 1,5 мВт/см² при измерении в водной среде. Предполагаемая доза в расположении облучаемой клетчатки при 5-минутной экспозиции составила 1 Вт/см². Крыс выводили из эксперимента через 1, 2, 3, 4 и 5 суток после однократного воздействия ультразвуком длительностью 5, 10 или 20 минут. На каждую точку исследования было использовано 6 крыс, всего 96 животных.

Фрагменты клетчатки из области задней поверхности коленного сустава фиксировали в 4% растворе параформальдегида на фосфатном буфере (рН 7,4) не менее 24 часов, обезвоживали в градиенте этанола возрастающей концентрации, просветляли в ксилоле и заключали в парафин. Срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, изучали на световом микроскопе Axioimager M1 при увеличении до 1500 раз. Дифференцирование кровеносных и лимфатических сосудов в собственной пластинке слизистой оболочки полости рта крыс проводили в соответствии с рекомендациями J.R. Head, L.L. Seeling [8].

Результаты и их обсуждение

У животных из группы интактного контроля в жировой клетчатке задней поверхности коленного сустава было расположено небольшое число кровеносных и лимфатических сосудов с узким, спавшимся, и часто

пустым, просветом. Между ячейками жировой ткани и в соединительнотканых прослойках присутствовало очень мало лейкоцитов, главным образом, лимфоцитов, макрофагов и тканевых базофилов.

Через 1 сутки после 5-минутного ультразвукового воздействия значительных изменений, относительно интактного контроля, отмечено не было. Было найдено незначительное расширение кровеносных капилляров жировой ткани. На некоторых участках, очень ограниченных, возросла численность лейкоцитов (макрофагов и лимфоцитов) и присутствовали эритроциты, расположенные поодиночке, видимо оказавшиеся в ткани в результате диапедеза. Видимых повреждений кровеносных сосудов и геморрагий не было (рис. 1). Начиная со 2 суток изменения, по сравнению с интактными животными, отсутствовали.

В клетчатке спустя 1 сутки после 10 минут воздействия ультразвуком произошло уже более выраженное расширение кровеносных и лимфатических сосудов. Просвет кровеносных чаще всего оставался пустым, но иногда мелкие сосуды были переполнены эритроцитами. В лимфатических сосудах присутствовало содержимое эозинофильной окраски. Кроме того, было отмечено диффузное инфильтрация стенок между ячейками жировой ткани эозинофильной жидкостью, что, скорее всего, является признаком лимфатического отека, лимфостаза (рис. 2, 3). Все указанные изменения не были найдены на последующие сроки исследования.

Через 1 сутки после 20-минутного ультразвукового облучения практически все кровеносные сосуды были расширены и переполнены форменными элементами крови, то есть имела место выраженная венозная и артериальная гиперемия. На этот срок и на следующий день мелкие, средние и крупные лимфатические сосуды также были расширены и содержали различный объем содержимого, интенсивно окрашенного эозином. Гиперемия исчезла уже на 2 сутки, а признаки лимфостаза – к 3-м. Однако, на этот срок некоторые сосуды оставались расширенными, в них присутствовали признаки повреждения эндотелия: было обнаружено краевое стояние лейкоцитов (лимфоцитов) и увеличено число клеточных ядер на единицу длины эндотелиальной выстилки. Кроме этого, на срок с 1 по 3 сутки произошло увеличение содержания тканевых лейкоцитов за счет лимфоцитов и макрофагов. Лейкоцитарная инфильтрация была более выраженной в области измененных сосудов (рис. 4). Все отмеченные отличия жировой клетчатки от интактного уровня не были обнаружены на последующие даты эксперимента.

По мере нарастания продолжительности однократного ультразвукового воздействия на ткани области коленного сустава, в жировой клетчатке, находящейся на его задней поверхности, увеличивается степень расширения кровеносных и лимфатических сосудов. Сначала, после 5 минут облучения, расширяется просвет сосудов и происходит диапедез единичных эритроцитов. После 10-минутного воздействия присоединяются признаки

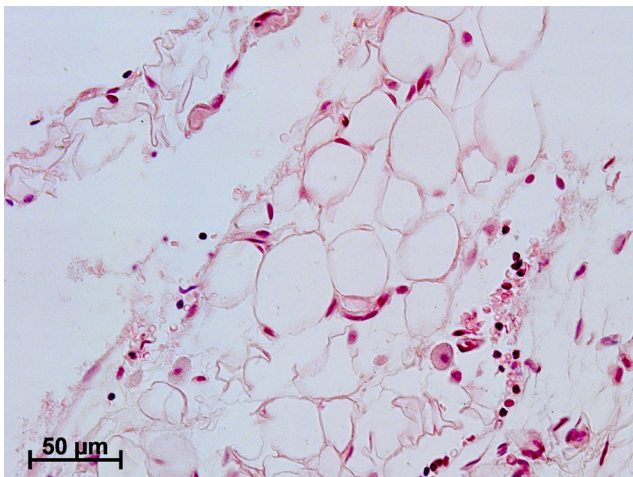


Рис. 1. Незначительное расширение просвета сосудов, появление единичных эритроцитов в жировой клетчатке через 1 сутки после 5-минутного ультразвукового воздействия. Окраска гематоксилином и эозином.

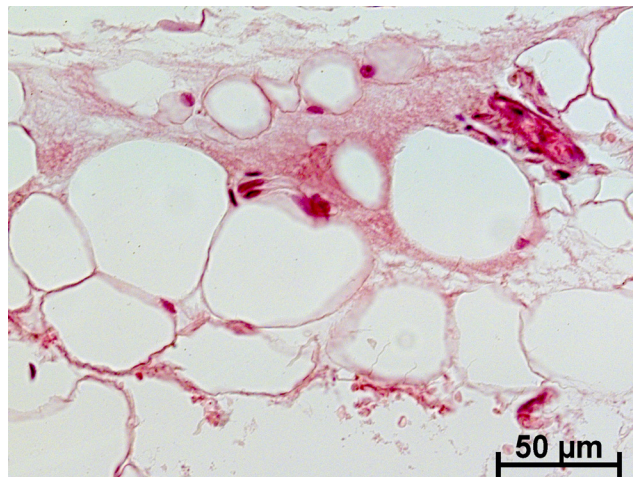


Рис. 2. Жировая клетчатка спустя 1 сутки после 10 минут воздействия ультразвуком. Накопление эозинофильно окрашенной жидкости в ткани (отек). Окраска гематоксилином и эозином.

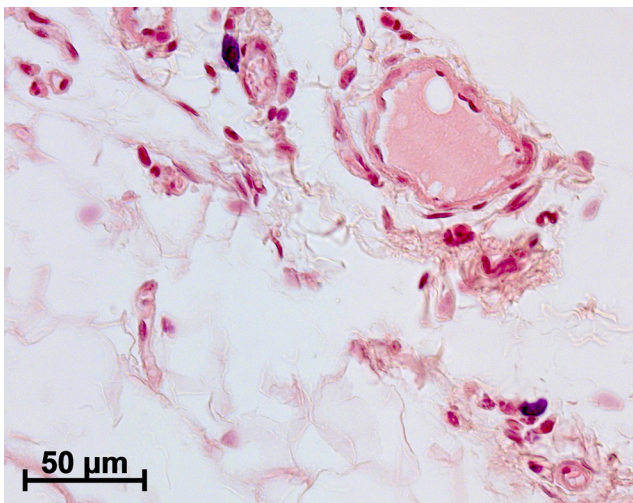


Рис. 3. Эозинофильно окрашенное содержимое в расширенном просвете сосуда жировой клетчатки через 1 сутки после 10-минутного ультразвукового облучения. Окраска гематоксилином и эозином

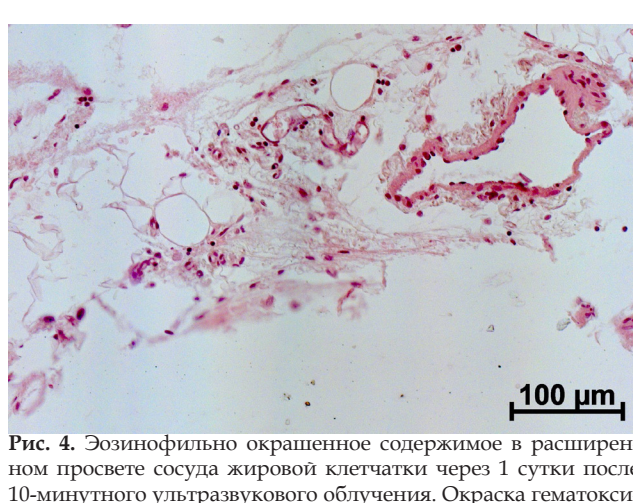


Рис. 4. Эозинофильно окрашенное содержимое в расширенном просвете сосуда жировой клетчатки через 1 сутки после 10-минутного ультразвукового облучения. Окраска гематоксилином и эозином

лимфостаза и гиперемии. Полнокровие и лимфостаз исчезают ко 2-м суткам. На фоне применения ультразвука в течение 20 минут были обнаружены более выраженные явления гиперемии и лимфостаза, а также - отека. Эти изменения были найдены в течение 2-3 суток

Ультразвуковое воздействие, даже выполненное в режиме диагностических процедур, сопровождается нагреванием облученных тканей [12, 16, 17]. Повышение температуры в любых тканях сопровождается компенсаторным расширением сосудов, усилением кровотока и венозной гиперемией. Видимо, в результате такого гипертермического действия ультразвука происходит обнаруженное расширение кровеносных и лимфатических сосудов, появляются явления артериальной и венозной гиперемии, переполнения лимфатического русла и тканевого отека.

Вместе с этим, ультразвук вызывает повреждение тканей [2, 5, 6, 14], в результате этого развивается, пусть и невыраженная, асептическая воспалительная реак-

ция, блокируется венозный кровоток [1] и лимфатический отток [4].

Блокада венозного оттока и лимфотока способствует усилению гиперемии, отека и лимфостаза. Так как при увеличении длительности воздействия нарастает тяжесть повреждения и, соответственно, выраженность воспалительного процесса, при 20-минутном облучении степень гиперемии, отека и лимфостаза более значительна и сохраняется на 1-2 сутки дольше, чем при более коротком воздействии.

Вместе с явлениями гиперемии и лимфостаза в клетчатке присутствовали признаки повреждения эндотелия, такие как адгезия на нем лейкоцитов и увеличение численности клеточных ядер на единицу длины эндотелиальной выстилки. Возможно, что нагревание тканей при ультразвуковом воздействии [12, 16, 17], в частности крови и лимфы, где много воды, приводит к прямому или опосредованному перегреванию и повреждению эндотелия (прямое действие ультразвука или горячей крови или лимфы в просвете). Повреждение эндотелия в сосудах капиллярного звена и крове-

носного и лимфатического русел может привести к их тромбозу и, соответственно, к полнокровию или лимфостазу.

По-видимому, повреждение эндотелия при ультразвуковом воздействии может являться одной из основных причин диapedеза эритроцитов через поврежденные мембраны. Геморрагии после воздействия ультразвуком в диагностическом режиме были найдены и другими исследователями [15].

Деструкция сосудистых стенок способствует также увеличению численности лейкоцитов в жировой ткани. Кроме того, повреждение тканей в результате облучения ультразвуком также активизирует миграцию лейкоцитов к регионам с наличием антигенных веществ, образующихся как в результате прямого воздействия, так и в результате расстройств микроциркуляции, и в результате асептического воспаления.

Заключение

Таким образом, на основании вышеизложенного можно заключить, что однократное ультразвуковое воздействие на клетчатку в области коленного сустава приводит к микроциркуляторным нарушениям в жировой ткани, заключающимся в гиперемии, лимфостазе и увеличении сосудистой проницаемости. Вы-

раженность изменений нарастает по мере увеличения длительности воздействия. Все обнаруженные изменения являются обратимыми и большинство из них возвращается к исходному уровню в течение 1-2 суток. В связи с тем, что ультразвуковое облучение области коленного сустава крыс в режиме диагностических процедур вызывает изменения жировой клетчатки, в практической деятельности следует учитывать возможность развития повреждений клеток и тканей при проведении УЗИ. Так как ультразвуковое воздействие на ткани приводит к микроциркуляторным нарушениям, заключающимся в гиперемии, лимфостазе и увеличении сосудистой проницаемости, целесообразны разработка и применение мероприятий, направленных на снижение отека и стабилизацию сосудистой стенки как во время самой процедуры УЗИ, так и сразу после нее. УЗИ должно быть выполнено только при наличии действительных медицинских показаний, а для получения необходимой диагностической информации должна быть использована самая возможно низкая экспозиция ультразвуковой установки. Необходимо следить за безопасностью и сохранением здоровья не только обследуемых пациентов, но также и персонала, осуществляющего применение ультразвука.

Список литературы

1. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей: 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина. 1990; 592.
2. Миллер Э., Хилл К., Бэмбер Дж. и др. Применение ультразвука в медицине. Физические основы. М.: Мир. 1989; 560.
3. Ang E.S. Jr, Gluncic V., Duque A. et al. Prenatal exposure to ultrasound waves impacts neuronal migration in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103: 34: 12903-12910;
4. Casley-Smith J.R. The lymphatic system in inflammation. *The inflammatory process*, 2nd ed., 1973; 2: 161-204.
5. Forsberg F., Shi W.T., Merritt C.R. et al. On the usefulness of the me-mechanical index displayed on clinical ultrasound scanners for predicting contrast microbubble destruction. *J. Ultrasound Med.* 2005; 24: 4: 443-450.
6. Fowlkes J.B. Bioeffects committee of the american institute of ultrasound in medicine. American Institute of ultrasound in medicine consensus report on potential bioeffects of diagnostic ultrasound: executive summary. *J. Ultrasound. Med.* 2008; 27: 4: 503-515.
7. Fowlkes J.B., Holland C.K. Mechanical bioeffects from diagnostic ultra-sound: AIUM consensus statements. American Institute of Ultrasound in Medicine. *J. Ultrasound Med.* 2000; 19: 2: 69-72.
8. Head J.R., Seeling L.L. Jr. Lymphatic vessels in the uterine endometrium of virgin rats. *J. Reprod. Immunol.* 1984; 6: 3: 157-166.
9. Herman B.A., Harris G.R. Theoretical study of steady-state temperature rise within the eye due to ultrasound insonation. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control.* 1999; 46: 6: 1566-1574;
10. Horder M.M., Barnett S.B., Vella G.J. et al. In vivo heating of the guinea-pig fetal brain by pulsed ultrasound and

References

1. Kuzin M.I., Kostiuhenok B.M. *Rany i ranevaia infektsiia: Rukovodstvo dlia vrachei* [Wounds and wound infection: A Guide for Doctors]. Moscow: Meditsina Publ., 1990; 592. (in Russ.).
2. Miller E., Khill K., Bember Dzh. *Primenenie ul'trazvuka v meditsine. Fizicheskie osnovy* [The use of ultrasound in medicine. Physical basis]. Moscow: Mir Publ., 1989; 560. (in Russ.).
3. Ang E.S. Jr, Gluncic V., Duque A. et al. Prenatal exposure to ultrasound waves impacts neuronal migration in mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103: 34: 12903-12910.
4. Casley-Smith J.R. *The lymphatic system in inflammation. The inflammatory process*, 2nd ed. 1973; 2: 161-204.
5. Forsberg F., Shi W.T., Merritt C.R. et al. On the usefulness of the me-mechanical index displayed on clinical ultrasound scanners for predicting contrast microbubble destruction. *J. Ultrasound Med.* 2005; 24: 4: 443-450.
6. Fowlkes J.B. Bioeffects committee of the american institute of ultrasound in medicine. American Institute of ultrasound in medicine consensus report on potential bioeffects of diagnostic ultrasound: executive summary. *J. Ultrasound. Med.* 2008; 27: 4: 503-515.
7. Fowlkes J.B., Holland C.K. Mechanical bioeffects from diagnostic ultra-sound: AIUM consensus statements. American Institute of Ultrasound in Medicine. *J. Ultrasound Med.* 2000; 19: 2: 69-72.
8. Head J.R., Seeling L.L. Jr. Lymphatic vessels in the uterine endometrium of virgin rats. *J. Reprod. Immunol.* 1984; 6: 3: 157-166.
9. Herman B.A., Harris G.R. Theoretical study of steady-state temperature rise within the eye due to ultrasound insonation. *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control.* 1999; 46: 6: 1566-1574.

- estimates of thermal index. *Ultrasound Med. Biol.* 1998; 24: 9: 1467-1474;
11. Jago J.R., Henderson J., Whittingham T.A., Mitchell G. A comparison of AIUM/NEMA thermal indices with calculated temperature rises for a simple third-trimester pregnancy tissue model. American Institute of Ultrasound in Medicine/National Electrical Manufacturers Association. *Ultrasound Med. Biol.* 1999; 25: 4: 623-628.
 12. Kim Y.T., Kim H.C., Inada-Kim M. et al. Evaluation of tissue mimicking quality of tofu for biomedical ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* 2009; 35: 3: 472-481.
 13. Merritt C.R. Ultrasound safety: what are the issues?. *Radiology.* 1998; 173: 2: 304-306.
 14. Miller D.L., Smith N.B., Bailey M.R. et al. Overview of therapeutic ultra-sound applications and safety considerations. *J. Ultrasound Med.* 2012; 31: 4: 623-634.
 15. O'Brien W.D. Jr, Deng C.X., Harris G.R. et al. The risk of exposure to diagnostic ultrasound in postnatal subjects: thermal effects. *J. Ultrasound Med.* 2008; 27: 4: 517-535.
 16. O'Brien W.D. Jr, Zachary J.F. Mouse lung damage from exposure to 30 kHz ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* 1994; 20: 3: 287-297.
 17. Steinert R.F., Schafer M.E. Ultrasonic-generated fluid velocity with Sovereign WhiteStar micropulse and continuous phacoemulsification. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2006; 32: 2: 284-287.
 18. Tsuruta J.K., Dayton P.A., Gallippi C.M. et al. Therapeutic ultrasound as a potential male contraceptive: power, frequency and temperature re-quired to deplete rat testes of meiotic cells and epididymides of sperm determined using a commercially available system. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2012; 10: 7.
 10. Horder M.M., Barnett S.B., Vella G.J. et al. In vivo heating of the guinea-pig fetal brain by pulsed ultrasound and estimates of thermal index. *Ultrasound Med. Biol.* 1998; 24: 9: 1467-1474.
 11. Jago J.R., Henderson J., Whittingham T.A., Mitchell G. A comparison of AIUM/NEMA thermal indices with calculated temperature rises for a simple third-trimester pregnancy tissue model. American Institute of Ultrasound in Medicine/National Electrical Manufacturers Association. *Ultrasound Med. Biol.* 1999; 25: 4: 623-628.
 12. Kim Y.T., Kim H.C., Inada-Kim M. et al. Evaluation of tissue mimicking quality of tofu for biomedical ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* 2009; 35: 3: 472-481.
 13. Merritt C.R. Ultrasound safety: what are the issues?. *Radiology.* 1998; 173: 2: 304-306.
 14. Miller D.L., Smith N.B., Bailey M.R. et al. Overview of therapeutic ultra-sound applications and safety considerations. *J. Ultrasound Med.* 2012; 31: 4: 623-634.
 15. O'Brien W.D. Jr, Deng C.X., Harris G.R. et al. The risk of exposure to diagnostic ultrasound in postnatal subjects: thermal effects. *J. Ultrasound Med.* 2008; 27: 4: 517-535.
 16. O'Brien W.D. Jr, Zachary J.F. Mouse lung damage from exposure to 30 kHz ultrasound. *Ultrasound Med. Biol.* 1994; 20: 3: 287-297.
 17. Steinert R.F., Schafer M.E. Ultrasonic-generated fluid velocity with Sovereign WhiteStar micropulse and continuous phacoemulsification. *J. Cataract. Refract. Surg.* 2006; 32: 2: 284-287.
 18. Tsuruta J.K., Dayton P.A., Gallippi C.M. et al. Therapeutic ultrasound as a potential male contraceptive: power, frequency and temperature re-quired to deplete rat testes of meiotic cells and epididymides of sperm determined using a commercially available system. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2012; 10: 7.

Поступила 01.06.2013 г.

Received 01.06.2013

Информация об авторах

1. Сулейманов Рустам Ханалиевич - ассистент кафедры анатомии человека, топографической анатомии и оперативной хирургии, Кыргызско-Российский Славянский Университет, Бишкек, Кыргызстан
2. Ким Сергей Анатольевич - к.м.н., преподаватель кафедры лучевой диагностики, Кыргызский государственный медицинский институт переподготовки и повышения квалификации, Бишкек, Кыргызстан
3. Майборodin Игорь Игоревич - аспирант лаборатории стволовой клетки, Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия.
4. Майборodin Игорь Валентинович - д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории стволовой клетки. Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. E-mail: imai@mail.ru

Information about the Authors

1. Suleimanov R. - Assistant Professor of the Department of Human Anatomy, Topographical Anatomy and Operative Surgery, Kyrgyz Russian Slavic University, Bishkek, Kyrgyzstan
2. Kim S. - Candidate of Medical Science, Professor of the Radiology Department, Kyrgyz State Medical Institute of Advanced Training, Bishkek, Kyrgyzstan
3. Maiborodin I. - Post-Graduate Student of the Stem Cell Laboratory, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SB RAS, Novosibirsk, Russia
4. Maiborodin I. - Doctor of Medical Science, Professor, Senior Researcher at the Stem Cell Laboratory, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SB RAS, Novosibirsk, Russia; E-mail: imai@mail.ru