

Оригинальная статья / Original article

Оценка морфологических изменений венозной стенки в результате облитерации с применением низкочастотного внутрисосудистого ультразвука в животной модели

А.В. Гавриленко^{1,2}, П.Е. Вахратьян¹, А.Г. Аракелян², А.С. Борде^{3✉}, borde@bmstu.ru, Е.И. Иванова^{1,2}, С.И. Щукин³, А.В. Самородов³

¹ Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского; 119991, Россия, Москва, Абрикосовский переулок, д. 2

² Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119435, Россия, Москва, Большая Пироговская ул., д. 2, стр. 4

³ Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана; 105005, Россия, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1

Резюме

Введение. Наряду с общепризнанными тепловыми методами абляции подкожных вен, при варикозном расширении привлекательным становится использование нетепловых и комбинированных методов. Благодаря разнообразию механизмов воздействия перспективной технологией для выполнения широкого спектра малоинвазивных внутрисосудистых операций, в т. ч. для лечения варикозной болезни, является низкочастотный ультразвук.

Цель. Выяснить механизм действия нового метода эндовенозного лечения варикозной болезни вен нижних конечностей с использованием низкочастотного ультразвука и оценить его влияние на повреждение венозной стенки и облитерацию венозного просвета в животной модели.

Материалы и методы. Тридцать четыре медиальные ветви центральной вены уха (ЦВУ) 17 кроликов были обработаны согласно протоколу хронического эксперимента. Шесть бедренных вен трех кроликов были обработаны в остром эксперименте и исследованы спустя 45 мин после воздействия. В хроническом эксперименте медиальные ветви ЦВУ были разделены на четыре группы в зависимости от времени наблюдения и типа воздействия: (0) 30 дней, контрольная процедура; (1) 60 дней, ультразвуковая абляция; (2) 95 дней, ультразвуковая абляция; (3) 138 дней, ультразвуковая абляция.

Результаты. После ультразвукового воздействия облитерация венозного просвета наблюдалась в 29 из 30 медиальных ветвей ЦВУ (97%). Гистологическое исследование показало признаки теплового и механического повреждения венозной стенки, такие как абразия эндотелия и прогрессирующее фиброза в tunica media и tunica adventitia. Окклюзированные сегменты состояли в основном из клеточного фиброзного материала. В остром эксперименте гистологически подтверждено повреждение всех слоев венозной стенки.

Обсуждение. Ультразвуковая абляция приводит к однородному и равномерному повреждению венозной стенки. Результаты исследования позволяют выдвинуть гипотезу о том, что ультразвуковое воздействие приводит к венозной окклюзии вследствие аддитивного термомеханического механизма повреждения сосудистой стенки.

Выводы. Эндовенозная ультразвуковая абляция приводит к схожей с эндовенозной лазерной абляции (ЭВЛА) и радиочастотной абляции (РЧА) картине теплового повреждения, а также к механическому разрушению эндотелия аналогично механохимической абляции (МХА). Спустя четыре месяца после ультразвуковой абляции частота окклюзии составила 90%.

Ключевые слова: эндовенозная абляция, термооблитерация, нетермическая облитерация, низкочастотный ультразвук, варикозная болезнь

Благодарности. Авторы выражают благодарность Е.С. Карсницкой, ветеринарному хирургу Центра ветеринарной офтальмологии доктора А.Г. Шилкина, за ветеринарное сопровождение эксперимента.

Для цитирования: Гавриленко АВ, Вахратьян ПЕ, Аракелян АГ, Борде АС, Иванова ЕИ, Щукин СИ, Самородов АВ. Оценка морфологических изменений венозной стенки в результате облитерации с применением низкочастотного внутрисосудистого ультразвука в животной модели. *Амбулаторная хирургия*. 2023;20(2):160–169. <https://doi.org/10.21518/akh2023-017>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

A histological study of vessel wall reaction after endovenous ultrasound ablation in an animal model

Alexander V. Gavrilenko^{1,2}, Pavel E. Vakhratyan¹, Amalya G. Arakelyan², Anna S. Borde^{3✉}, borde@bmstu.ru, Elena I. Ivanova^{1,2}, Sergey I. Shchukin³, Andrey V. Samorodov³

¹ Russian Scientific Center of Surgery named after Academician B.V. Petrovsky; 2, Abrikosovsky Lane, Moscow, 119991, Russia

² Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); 2, Bldg. 4, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119435, Russia

³ Bauman Moscow State Technical University; 5, Bldg. 1, 2nd Bauman St., Moscow, 105005, Russia

Abstract

Introduction. Along with the generally accepted thermal methods of saphenous varicose veins ablation, the use of non-thermal and combined methods becomes attractive. Due to the variety of mechanisms of action, low-frequency ultrasound is a promising technology for performing a wide range of minimally invasive intravascular operations, including the treatment of varicose veins.

Aim. To elucidate the mechanism of action of a novel endovenous ultrasound ablation method and evaluate its effect on vein wall injury and lumen occlusion in an animal model.

Materials and methods. A total of 34 central ear vein (CEV) medial ramus were treated in 17 rabbits according to the follow-up protocol. Six femoral veins from three rabbits enrolled into the acute experiment were harvested 45 min after the procedure. All treated CEV medial ramus in the follow-up experiment were divided into four treatment groups with an observation time of: (0) 30 days, control procedure; (1) 60 days, ultrasound ablation; (2) 95 days, ultrasound ablation; (3) 138 days, ultrasound ablation.

Results. Occlusion was achieved in all but one CEV medial ramus (29/30; 97%) treated with ultrasound. Histologic examination of treated veins showed heat- and mechanical-induced changes in the vein wall, such as abrasion of the endothelium and fibrotic lesions in the tunica media and tunica adventitia. The occluded segments consisted mainly of cellular fibrotic material. In the acute group, histological evidence of damage to all vessel wall layers was found.

Discussion. Ultrasound ablation results in homogeneous and uniform damage to the venous wall. The results of this study suggest that the ultrasound treatment leads to venous occlusion by the additive thermomechanical mechanism of damage to the vessel wall.

Conclusions. Endovenous ultrasound ablation showed a similar pattern of thermal damage as endovenous laser (EVLA) and radiofrequency ablation (RFA) and damage to the endothelium as mechanochemical ablation (MOCA). Four months after ultrasound ablation, the occlusion rate was 90%.

Keywords: endovenous ablation, low-frequency ultrasound therapy, varicose veins, varicose veins therapy, saphenous vein

Acknowledgments. Authors would like to thank Ekaterina S. Karsnickaya, MD from Center of Veterinary Ophthalmology of Dr. A.G. Shilkin, for assisting with animal treatment.

For citation: Gavrilenko AV, Vakhryatyan PE, Arakelyan AG, Borde AS, Ivanova EI, Shchukin SI, Samorodov AV. A histological study of vessel wall reaction after endovenous ultrasound ablation in an animal model. *Ambulatornaya Khirurgiya*. 2023;20(2):160–169. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/akh2023-017>.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

За последние несколько десятилетий среди интервенционных методов лечения варикозной болезни вен нижних конечностей (ВБНК) значительно возросла доля процедур с использованием методов эндовенозной абляции [1]. Данные процедуры выполняются амбулаторно чрескожным доступом и наиболее распространены среди них методы тепловой абляции, такие как эндовенозная лазерная абляция (ЭВЛА) и радиочастотная абляция (РЧА), а также нетепловая (химическая) абляция – склеротерапия [2]. В меньшем объеме представлены доказательные исследования, подтверждающие эффективность других методов абляции – нетепловых, включая механохимическую абляцию (МХА) и цианоакрилатную абляцию, а также тепловой абляции с использованием инъекций пара [3]. Кроме того, на сегодняшний день отсутствуют однозначные выводы о сравнительной эффективности различных вариантов интервенционного лечения варикозной болезни вен нижних конечностей, включающих традиционную хирургию, тепловую и нетепловую эндовенозную абляцию [1, 2].

Неравномерное повреждение сосудистой стенки и побочные эффекты, такие как перфорация вены и тепловое повреждение здоровой паравенозной ткани, могут наблюдаться после ЭВЛА и РЧА, что приводит к анатомическому неуспеху процедуры [4–6].

С этой точки зрения привлекательным становится использование нетепловых или комбинированных (аддитивного действия) механизмов. Благодаря разнообразию механизмов воздействия перспективной технологией для выполнения широкого спектра малоинвазивных внутрисосудистых операций является низкочастотный ультразвук (НЧУЗ) [7, 8]. В сосудистой хирургии и терапии используются ультразвуковые системы с канюлированными гибкими волноводами-проводниками из специальных сплавов медицинского назначения, работающие в диапазоне частот 20–60 кГц с амплитудой колебаний более 20 мкм [9, 10].

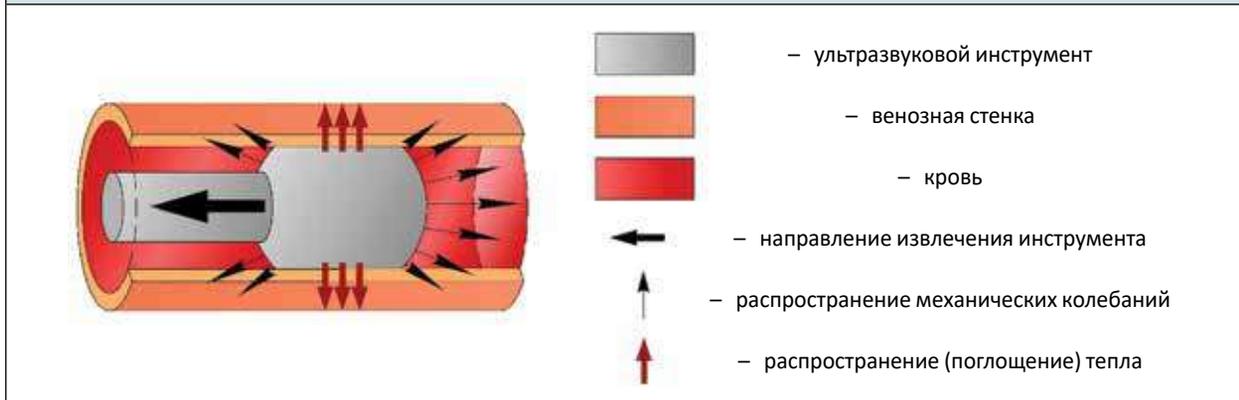
При использовании внутрисосудистого НЧУЗ для лечения ВБНК механизм повреждения венозной стенки связан со следующими типами воздействий (*рис. 1*):

1. Прямое механическое воздействие вызывает повреждение внутренней поверхности венозной стенки (разрушение слоя эндотелиальных клеток) аналогично МХА или механической окклюзии.

2. Поглощение ультразвуковой тепловой энергии в венозной стенке вызывает тепловое повреждение аналогично ЭВЛА и РЧА.

3. Дополнительное введение склерозанта при ультразвуковой абляции вызывает химическое повреждение венозной стенки аналогично МХА или склеротерапии, усиливающееся по мере увеличения проницаемости биологических тканей при ультразвуковой обработке.

Рисунок 1. Механизм эндовенозной ультразвуковой абляции
Figure 1. Mechanism of endovenous ultrasound ablation



Конечно-элементное моделирование ультразвуковой абляции [11, 12] и экспериментальные исследования на модели *ex vivo* [13, 14] показали возможность инициирования необратимых структурных изменений в венозной стенке под действием ультразвука.

Цель и задачи. Целью данного исследования является изучение механизма повреждения венозной стенки в результате эндовенозного ультразвукового воздействия и оценка его эффективности для облитерации вен путем анализа гистологической картины вен после ультразвуковой абляции у 15 кроликов в хронических и острых экспериментах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Прототип ультразвуковой внутрисосудистой системы, использованный в эксперименте, включал в себя три основных блока (рис. 2): 1) генератор ультразвуковых колебаний – блок управления аппарата ультразвукового хирургического кавитационного «ФОТЕК» (ООО «ФОТЕК», г. Екатеринбург, Россия)¹; 2) пьезокерамический электроакустический преобразователь (ООО «ФОТЕК», г. Екатеринбург, Россия), преобразующий электрическую энергию в механические колебания ультразвуковой частоты и передающий их на проводниковую (воздействующую) часть системы; 3) проводниковая часть для эндовенозного доступа, выполненная в форме «иглы» из медицинской нержавеющей стали марки 304, непосредственно осуществляющая абляцию, разработанная и изготовленная на кафедре «Биомедицинские технические системы» МГТУ им. Н.Э. Баумана (МГТУ им. Н.Э. Баумана, г. Москва, Россия).

Технические характеристики прототипа ультразвуковой внутрисосудистой системы представлены в табл. 1.

¹ Ultrasonic surgery cavitation unit ACTITON-A (with suction mode) – FOTEK. Accessed November 10, 2022. Available at: <https://fotek.ru/en/catalog/00000031665/00000031682/00000056290/>.

Рисунок 2. Прототип ультразвуковой внутрисосудистой системы
Figure 2. The prototype system for endovenous ultrasound ablation

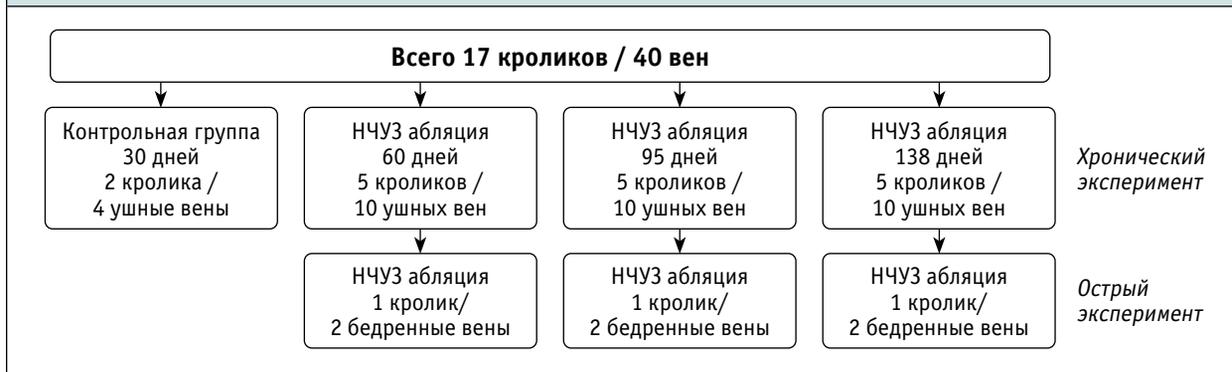


Таблица 1. Технические характеристики прототипа ультразвуковой внутрисосудистой системы
Table 1. The prototype system for endovenous ultrasound ablation, technical details

Ультразвуковой генератор с электроакустическим преобразователем	Блок управления АСТИТОН-А аппарата ультразвукового хирургического кавитационного «ФОТЕК» (ООО «ФОТЕК», г. Екатеринбург, Россия), РУ № РЗН 2020/9643 от 14.02.2020 г.
Ультразвуковой инструмент	Эндовенозный инструмент-игла (МГТУ им. Н.Э. Баумана, г. Москва, Россия)
<ul style="list-style-type: none"> • Геометрические параметры • Материал 	<ul style="list-style-type: none"> • Длина – 52 мм • Диаметр – 0,8 мм (21G) • Медицинская нержавеющая сталь марки 304
<ul style="list-style-type: none"> • Рабочая частота • Ультразвуковая мощность* 	<ul style="list-style-type: none"> • 23 кГц • 1,9 Вт

Примечание: *Усредненное значение акустической мощности, измеренной калориметрическим методом.

Рисунок 3. Дизайн исследования
Figure 3. Study flow chart



В исследование были включены 17 здоровых самцов кроликов породы Советская шиншилла и случайным образом распределены по четырем группам. Лабораторным животным (каждый весом до 5,4 кг на момент процедуры) выполняли ультразвуковую абляцию (или контрольную процедуру) 34 вен (медиальная ветвь центральной вены уха (ЦВУ), как левая, так и правая). Были сформированы следующие экспериментальные группы (рис. 3): (0) хронический эксперимент в течение 30 дней с участием двух животных, подвергшихся контрольной процедуре; (1) хронический эксперимент в течение 60 дней с участием пяти животных, подвергшихся ультразвуковой абляции; (2) хронический эксперимент в течение 95 дней с участием пяти животных, подвергшихся ультразвуковой абляции; (3) хронический эксперимент в течение 138 дней с участием пяти животных, подвергшихся ультразвуковой абляции. Кроме того, одно животное из групп (1)–(3) случайным образом было дополнительно включено в острый эксперимент для оценки прямых эффектов ультразвукового воздействия. Таким образом, трое животных (группа 4) подверглись ультразвуковой абляции шести бедренных вен (как левой, так и правой) в конце каждого периода наблюдения. Размер экспериментальных групп выбран в соответствии с аналогичными публикациями в этой области [15–18].

Исследование проводилось в виварии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) под наблюдением ветеринарного хирурга. Исследования были одобрены локальным комитетом по этике Сеченовского Университета (№ 03-23), соблюдены соответствующие руководства по уходу и обращению с лабораторными животными.

Каждому животному давалась возможность акклиматизироваться не менее чем за 20 дней до начала эксперимента. Животные содержались в металлических

клетках со свободным доступом к пище (стандартный корм без добавок) и воде при естественном освещении, температуре окружающей среды 22 ± 2 °C и с относительной влажностью $60 \pm 10\%$ в виварии Сеченовского Университета. В день эксперимента пища была исключена и разрешалась только вода.

Животным давали время адаптироваться к условиям лабораторной среды до начала процедуры. Температура воздуха в операционной составляла 22 ± 1 °C. Процедуру проводили под общим наркозом. Введение в наркоз осуществляли путем внутримышечной инъекции смеси из 10 мкг/кг дексметомидина (Orion Pharma, Эспоо, Финляндия) и 1 мг/кг золетила (Virbac Sante Animale, Карро, Франция). Затем после утраты болевой чувствительности и наступления сна животное фиксировали на операционном столе в положении лежа на боку.

Контрольная процедура заключалась в канюлировании вены ультразвуковым инструментом-иглой без подачи ультразвуковой энергии. Контрольную процедуру проводили у двух животных (на четырех ушных венах) с целью подтверждения того, что механическое повреждение, вызванное канюлированием, само по себе не приводит к окклюзии вены.

Перед началом ультразвуковой абляции осуществлялось измерение длины выбранных ушных вен. С помощью бритвенного станка на каждом ухе в месте прокола удаляли шерсть и дезинфицировали кожу раствором бетадина и 70%-ным раствором этанола. Эндовенозный доступ осуществлялся путем пункции непосредственно самим ультразвуковым инструментом-иглой (рис. 4). В конце периода наблюдения одному случайно выбранному животному из групп (1)–(3) выполняли ультразвуковую абляцию бедренных вен. Место прокола на задних лапах также обрабатывалось бритвенным станком и дезинфицировалось. Далее выполняли поперечный разрез кожи с фасциотомией и миотомией для обнажения бедренной вены. Эндовенозный доступ выполняли так же, как и в случае

Рисунок 4. Пункция медиальной ветви ЦВУ ультразвуковым инструментом-иглой
Figure 4. Introduction of the ultrasound waveguide into the CEV medial ramus



абляции медиальной ветви ЦВУ, путем пункции непосредственно самим ультразвуковым инструментом-иглой. После манипуляции мягкие ткани сшивали проленом 4/0.

Для оценки энергетических параметров ультразвуковой абляции для каждой выполненной процедуры определялась линейная плотность энергии (ЛПЭ, LEED) – оценка поглощенной энергии на единицу длины вены, вычисляемая по формуле [19]:

$$LEED = \frac{P_{us} \times t}{l},$$

где LEED – линейная плотность энергии (Дж/см), P_{us} – ультразвуковая мощность (1,9 Вт), t – общее время воздействия (с), l – длина обработанного сегмента вены (см).

Важным аспектом исследования нового метода ультразвуковой абляции является обеспечение объективной интерпретации выбранной животной модели. В связи с тем что толщина венозной стенки ЦВУ кролика ($0,12 \pm 0,01$ мм [20]) практически в 10 раз меньше толщины большой подкожной вены человека при варикозном расширении ($1,40 \pm 0,48$ мм [21, с. 44–47]), также требуется пропорциональное уменьшение поглощаемой в процессе ультразвуковой абляции энергии. Средним уровнем ЛПЭ для ЭВЛА считается диапазон от 65 до 85 Дж/см, а высоким – свыше 95 Дж/см [19]. Принимая во внимание данные рекомендации для ЭВЛА, а также особенности выбранной животной модели, при ультразвуковой абляции следует обеспечить уровень ЛПЭ от 6,5 до 8,5 Дж/см в хроническом эксперименте и свыше 9,5 Дж/см в остром эксперименте.

После введения ультразвукового инструмента в вену на всю доступную длину включали ультразвуковой аппарат и начинался процесс абляции с извлечением инструмента. В процессе воздействия подача ультразвуковой энергии осуществлялась в непрерывном режиме. Ультразвуковой аппарат отключали после полного извлечения ультразвукового инструмента из вены, при этом общее время воздействия фиксировалось при

помощи встроенного таймера ультразвукового аппарата. Скорость извлечения ультразвукового инструмента составила приблизительно от 5 до 6 мм/с в хронических экспериментах и от 2 до 3 мм/с в острых экспериментах.

В конце периода наблюдения обработанные вены извлекались для макроскопического и микроскопического анализа. Поверхность ушей проверялась на экхимоз, раневую инфекцию и обесцвечивание. Также одно случайно выбранное животное в каждой группе наблюдения было включено в острый эксперимент. В остром эксперименте процедуру ультразвуковой абляции проводили на бедренных венах (левой и правой) под общим наркозом, выполненным аналогично первой процедуре. Обработанные бедренные вены были извлечены спустя 30–45 мин после процедуры. Перед тем как вены были извлечены, животных усыпляли путем введения летальной дозы пропофола (B. Braun Melsungen AG, Германия). Вены фиксировали в 10%-ном нейтральном буферном растворе формалина в течение 24 ч перед дальнейшим гистологическим исследованием, осуществляли проводку в гистопроцессоре Leica TP1020 (Leica Microsystems, Германия) и заливали в парафин.

Статистический анализ выполнялся в программном пакете Matlab 2019a (MathWorks, Natick, Massachusetts, США). Ни одно животное не было исключено из анализа. Для каждой группы приводились следующие параметры: вес животных (кг), длина обработанных вен (мм), общее время ультразвукового воздействия (с) и ЛПЭ (Дж/см) (табл. 2). Количественные данные были представлены в виде среднего со стандартным отклонением (СКО) и медианы со значениями 25-го и 75-го перцентиля (межквартильный диапазон [IQR]). Вследствие небольшого размера выборки определение распределения вышеупомянутых параметров имеет важное значение для выбора соответствующего статистического метода. Для этого проводился тест Шапиро – Уилка (как для параметров воздействия (табл. 2), так и для гистологических результатов после ультразвуковой абляции (табл. 3), в результате чего для каждой группы была подтверждена гипотеза о нормальности распределения значений параметров воздействия. Однородность групп оценивалась с использованием дисперсионного анализа (ANOVA) при уровне значимости $\alpha = 0,05$.

Усредненная ЛПЭ составила $7,6 \pm 1,1$ (CI = 95%) при ультразвуковой абляции медиальной ветви ЦВУ в группах 1, 2 и 3 и $13,1 \pm 2,3$ (CI = 95%) при ультразвуковой абляции бедренных вен в группе 4.

Макроскопическое и гистологическое исследование после ультразвуковой абляции проводилось в патоморфологическом отделении Российского научного центра хирургии им. академика Б.В. Петровского

Таблица 2. Параметры воздействия при ультразвуковой абляции в животной модели
Table 2. Ultrasound ablation in animal model, treatment parameters

Материал и параметры воздействия	Хронический эксперимент				Острый эксперимент
	Группа 1 (60 дней)	Группа 2 (95 дней)	Группа 3 (138 дней)	p-value (ANOVA)	Группа 4
Число животных (вен)	n = 5 (10)	n = 5 (10)	n = 5 (10)	–	n = 3 (6)
Тип вен	медиальная ветвь ЦВУ	медиальная ветвь ЦВУ	медиальная ветвь ЦВУ	–	бедренная
Масса (кг)	4,884 ± 0,297 4,834 (4,677:5,122)	4,808 ± 0,271 4,783 (4,611:4,912)	4,845 ± 0,295 4,761 (4,615:5,024)	0,916	4,805 ± 0,399 4,611 (4,576:4,938)
Длина вены (мм)	19,3 ± 5,7 20,5 (17,5:22)	18,9 ± 5,3 18,5 (16,3:22)	19,7 ± 5,6 20,5 (18:21,8)	0,943	22,7 ± 6,7 21 (17,5:24,5)
Время воздействия (с)	7,6 ± 2,1 7,5 (7:8,8)	7,4 ± 2,2 7,5 (6,3:8)	7,9 ± 2,0 8 (7:9)	0,869	15,5 ± 3,9 15 (12,5:18,3)
ЛПЭ (Дж/см)	7,6 ± 0,7 7,7 (7,2:7,8)	7,4 ± 0,5 7,4 (7:7,9)	7,7 ± 0,5 7,7 (7,4:8,1)	0,583	13,1 ± 1,1 13,3 (12,5:13,9)

Примечание: Количественные данные представлены как среднее ± СКО и медиана (IQR).

с использованием флуоресцентного микроскопа Leica DM5000B (Leica Microsystems, Германия). Гистологические изображения были получены камерой микроскопа Leica DFC490, работающей под программным обеспечением LAS V4.8 (Leica Microsystems, Германия), и проанализированы с использованием программного пакета AxioVision 4.8.2 (Carl Zeiss, Германия). Гистологическое исследование выполнялось на срезах с парафиновых блоков, окрашенных гематоксилином и эозином и пикрофуксином по Ван Гизону с докраской на эластические волокна по Вейгерту.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проанализировано 34 фрагмента ушей после хронических экспериментов и 6 бедренных вен после острых экспериментов. Макроскопические признаки перфорации венозной стенки отсутствовали во всех случаях.

Макроскопические признаки окклюзии медиальной ветви ЦВУ после контрольной процедуры в группе (0) отсутствовали. Микроскопический анализ показал сохранение структуры венозной стенки. Стенка без признаков утолщения, просвет сохранен на всех поперечных срезах (до 2 мм в диаметре).

В группах (1)–(3) не отмечается экхимозов, гематом и признаков инфекции в области воздействия на поперечных срезах фрагментов ушей, дерма вокруг обработанных вен отека. Все вены из групп (1)–(2) (на 60-й и 95-й дни наблюдения соответственно) были макроскопически окклюзированы. Из 10 вен на 138-й день наблюдения в группе (3) в одной вене наблюдалась реканализация просвета.

Диаметр бедренных вен после ультразвуковой абляции в остром эксперименте варьировался в диапазоне

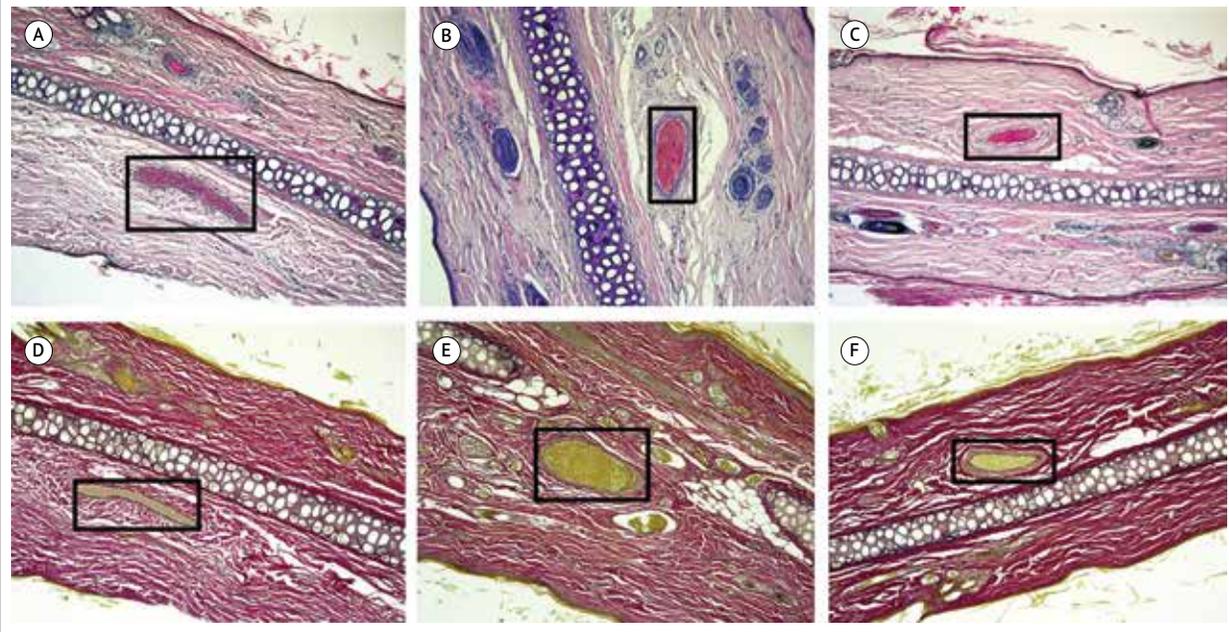
от 2,24 до 8,01 мм. Стенки сосудов плотной структуры, толщины от 1,34 до 4,16 мм, tunica adventitia сероватого цвета. Венозный просвет значительно сужен, на некоторых участках вплоть до точечного. Тромботических масс в просвете не наблюдалось.

Диаметр медиальной ветви ЦВУ после ультразвуковой абляции в группах (1)–(3) варьировался в диапазоне от 47 до 127 мкм. Tunica intima значительно утолщенная, с признаками гиперплазии, состоящей из рыхлой соединительной ткани с миофибробластами (рис. 5А, В, С). На некоторых срезах в окклюзированных венах наблюдается точечный просвет (до 10 мкм в диаметре). Окрашивание по Ван Гизону с докраской на эластические волокна по Вейгерту показало прогрессирование фиброза и частичное замещение соединительной тканью гладких миоцитов в tunica media и tunica adventitia (рис. 5D, E, F). Просвет одной из вен в группе 3 был свободен на некоторых срезах (до 57 мкм в диаметре) со слабо выраженной гиперплазией tunica intima.

С течением времени в хроническом эксперименте наблюдалось сокращение диаметра CEV medial ramus. Минимальный диаметр CEV medial ramus наблюдался на 138-й день и составил от 47 до 92 мкм (табл. 3). Сокращение диаметра вен на 138-й день наблюдения (68 ± 14 мкм) статистически значимо (p-value < 0,001) по сравнению с 60-м днем наблюдения (102 ± 16 мкм).

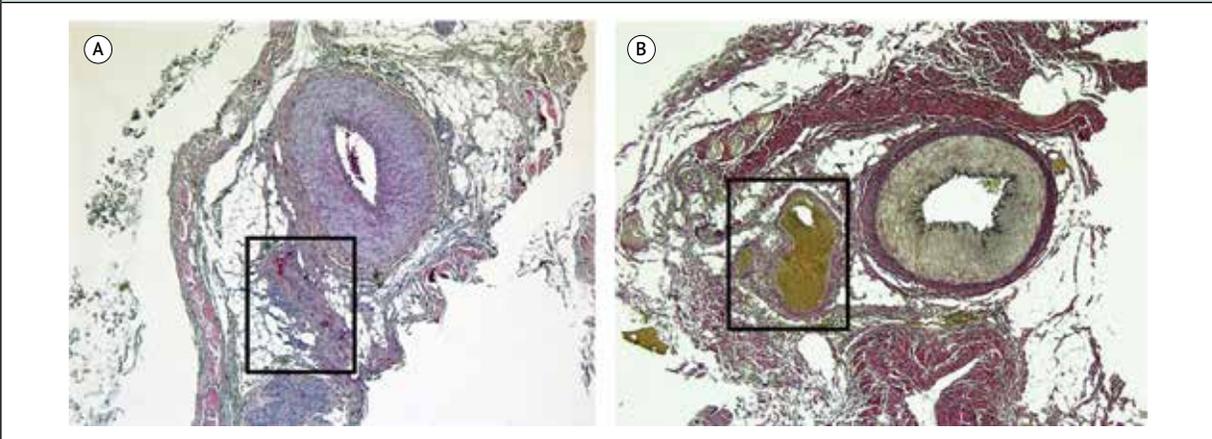
В острых экспериментах для всех обработанных вен гистологически подтверждено повреждение сосудистой стенки вплоть до tunica adventitia. В tunica intima наблюдаются миоинтимальные утолщения и практически полная абразия эндотелия (рис. 6А). Фрагментарное наличие интактного эндотелия отмечается

Рисунок 5. Гистологическая картинка медиальной ветви ЦВУ после ультразвуковой абляции в хроническом эксперименте
Figure 5. Follow-up histology of an ultrasound-treated CEV medial



Примечание: А–С окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 100$, D–F окраска по Ван Гизону с докраской на эластические волокна по Вейгерту, увеличение $\times 100$. Медиальная ветвь ЦВУ выделена прямоугольной рамкой: (A, D) 60 дней после воздействия, (B, E) 95 дней после воздействия, (C, F) 138 дней после воздействия.

Рисунок 6. Гистологическая картинка бедренной вены (выделена прямоугольной рамкой) после ультразвуковой абляции в остром эксперименте
Figure 6. Acute histology of an ultrasound-treated femoral vein (marked by the black rectangle)



Примечание: (A) сокращение венозного просвета и утолщение стенки бедренной вены кролика (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 50$), (B) выраженный фиброз в tunica media и tunica adventitia (окраска по Ван Гизону с докраской на эластические волокна по Вейгерту, увеличение $\times 50$).

только для одной бедренной вены из 6 обработанных вен. Tunica media утолщена, гладкомышечные миоциты замещены соединительной тканью практически на всех участках (рис. 6B). Tunica adventitia также с выраженным фиброзом. Степень сужения просвета (рассчитанная как отношение толщины стенки к радиусу вены) составила от 0,26 до 0,35 (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Целью данного исследования являлось выяснение механизма воздействия внутрисосудистого низкочастотного ультразвука на вены в животной модели в остром и хроническом эксперименте. Проведенное исследование показало статистически значимое сокращение диаметра вен на 138-й день после воздействия.

Таблица 3. Результаты гистологического анализа венозной стенки после ультразвуковой абляции
Table 3. Histological aspects of veins after ultrasound ablation

Хронический эксперимент			Острый эксперимент		
Материал и параметры воздействия	Группа 1 (60 дней)	Группа 2 (95 дней)	Группа 3 (138 дней)	Материал и параметры воздействия	Группа 4
Число животных (вен)	n = 5 (10)	n = 5 (10)	n = 5 (10)	Число животных (вен)	n = 3 (6)
Число окклюзий (%)	10 (100)	10 (100)	9 (90)	Полная абразия эндотелия (%)	5 (83)
Диаметр вены (мкм)	102 ± 16 103 (89:112)	82 ± 14 83 (71:90)	68 ± 14 69 (60:77)	Диаметр вены (мм)	5,4 ± 3 5,78 (3,64:7,18)
Диаметр просвета (мкм)	3 (0–10)	2 (0–8)	6 (0–57)	Толщина стенки (мм)	3,15 ± 1,18 3,55 (2,42:4,10)
Площадь просвета (мкм ²)	10 (0–79)	6 (0–50)	24 (0–2550)	Отношение толщины стенки к радиусу вены	0,30 ± 0,03 0,29 (0,28:0,31)

Примечание: Количественные данные с нормальным распределением представлены как среднее ± СКО и медиана (IQR); количественные данные с распределением, отличным от нормального, представлены как медиана (диапазон); категориальные данные представлены как n (%).

Спустя четыре месяца после ультразвуковой абляции частота окклюзии составила 90% за счет реканализации одной из вен в группе 3.

Эксперименты показали, что механическое повреждение венозной стенки после ультразвукового воздействия проявляется в разрушении эндотелиального слоя аналогично МХА [18]. Кроме того, для tunica media и tunica adventitia характерны признаки теплового повреждения, такие как фиброзное уплотнение просвета вены. В результате анализа экспериментальных исследований методов тепловой абляции на животных моделях (ЭВЛА [16, 22], РЧА [22], тепловая абляция с использованием инъекций пара [17]) сделано предположение о том, что структура вен после ультразвуковой абляции наиболее близка к структуре вен после РЧА. Это проявляется в однородном и равномерном повреждении венозной стенки, а также в практически полной потере покрытия эндотелиальных клеток (денудации). Необходимо отметить, что как в хронических, так и в острых экспериментах не зафиксировано случаев перфорации венозной стенки, характерной для ЭВЛА [16, 22].

Результаты этого исследования позволяют выдвинуть гипотезу о том, что ультразвуковое воздействие приводит к венозной окклюзии вследствие аддитивного термомеханического механизма повреждения сосудистой стенки. В данной работе эндовенозная ультразвуковая абляция выполнялась инструментом диаметром 0,8 мм, а диаметр обрабатываемой ушной вены не превышал 2 мм. Таким образом, можно утверждать, что в эксперименте создавались условия наличия зазора между венозной стенкой и инструментом от 0 мм (прямой контакт) до 1 мм. В случае прямого контакта предполагаемые механизмы действия ультразвуковой абляции: контактное механическое повреждение

эндотелия, усиленное за счет ультразвуковых колебаний, а также контактное тепловое воздействие с последующим поглощением энергии ультразвука венозной стенкой. В случае ультразвуковой абляции с зазором предполагаемые механизмы действия: механическое повреждение эндотелия посредством ультразвуковой кавитации, а также тепловое воздействие посредством теплопередачи через контактную среду и последующего поглощения энергии ультразвука венозной стенкой.

Проведенное экспериментальное исследование имеет некоторые ограничения. В частности, объектом исследования для хронического эксперимента была выбрана медиальная ветвь центральной вены уха кролика. Выбор продиктован невозможностью доступа к подкожным венам нижних конечностей кролика использованным в эксперименте ультразвуковым инструментом в связи с тем, что их внутренний диаметр был меньше 0,8 мм. В целях большего соответствия модельных условий физиологическим условиям подкожных вен нижних конечностей последующие экспериментальные исследования метода ультразвуковой абляции должны проводиться на конечностях более крупных лабораторных животных, таких как козлы [16, 18] и овцы [17].

Для ультразвуковой обработки подкожных вен крупного калибра также необходим дизайн инструмента с рабочим окончанием переменного диаметра, позволяющим более эффективно воздействовать на варикозные вены с внутренним диаметром свыше 5 мм. Кроме того, необходимы исследования, подтверждающие безопасность метода и включающие измерение эндовенозной температуры в процессе воздействия. По результатам конечно-элементного моделирования было показано, что температура на tunica intima составляет порядка 80 °C [12], что требует экспериментальной валидации *in vivo*.

ВЫВОДЫ

Ультразвуковая абляция подкожных вен является новым методом эндовенозного лечения варикозной болезни, основанным на аддитивном термомеханическом механизме воздействия. Эндовенозная ультразвуковая абляция приводит к схожей с ЭВЛА и РЧА картине теплового повреждения, а также к механическому разрушению эндотелия аналогично МХА. Результаты исследования продемонстрировали частоту окклюзии в 90% спустя четыре месяца после ультразвуковой абляции.

В животной модели окклюзия в результате ультразвукового воздействия состоит из клеточного фиброзного материала и фиброзных изменений tunica media и tunica adventitia. Предложенный метод потенциально может иметь преимущества относительно существующих методов эндовенозной абляции, для подтверждения которых требуются дальнейшие доклинические исследования.

Поступила / Received 25.08.2023

Поступила после рецензирования / Revised 07.09.2023

Принята в печать / Accepted 25.09.2023

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Gloviczki P, Lawrence PF, Wasan SM, Meissner MH, Almeida J, Brown KR et al. The 2022 Society for Vascular Surgery, American Venous Forum, and American Vein and Lymphatic Society Clinical Practice Guidelines for the Management of Varicose Veins of the Lower Extremities. Part I. Duplex Scanning and Treatment of Superficial Truncal Reflux. *J Vasc surgery Venous Lymphat Disord.* 2023;11(2):231–261. <https://doi.org/10.1016/j.jvsv.2022.09.004>.
- Farah MH, Nayfeh T, Urtecho M, Hasan B, Amin M, Sen I et al. A systematic review supporting the Society for Vascular Surgery, the American Venous Forum, and the American Vein and Lymphatic Society guidelines on the management of varicose veins. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord.* 2022;10(5):1155–1171. <https://doi.org/10.1016/j.jvsv.2021.08.011>.
- Epstein D, Bootun R, Diop M, Ortega-Ortega M, Lane TRA, Davies AH. Cost-effectiveness analysis of current varicose veins treatments. *J Vasc Surg Venous Lymphat Disord.* 2022;10(2):504–513.e7. <https://doi.org/10.1016/j.jvsv.2021.05.014>.
- Whiteley MS, Shiangoli I, Dos Santos SJ, Dabbs EB, Fernandez-Hart TJ, Holdstock JM. Fifteen Year Results of Radiofrequency Ablation, Using VNUS Closure, for the Abolition of Truncal Venous Reflux in Patients with Varicose Veins. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2017;54(3):357–362. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2017.06.001>.
- Park I. Initial outcomes of endovenous laser ablation with 1940 nm diode laser in the treatment of incompetent saphenous veins. *Vascular.* 2019;27(1):27–32. <https://doi.org/10.1177/1708538118797860>.
- Setia A, Schmedt C, Beisswenger A, Dikic S, Demhasaj S, Setia O et al. Safety and efficacy of endovenous laser ablation (EVLA) using 1940 nm and radial emitting fiber: 3-year results of a prospective, non-randomized study and comparison with 1470 nm. *Lasers Surg Med.* 2022;54(4):511–522. <https://doi.org/10.1002/lsm.23500>.
- Siegel RJ (ed). *Ultrasound Angioplasty.* Springer US; 1996. <https://doi.org/10.1007/978-1-4613-1243-7>.
- Pokrovsky AV, Savrasov GV, Danilin EI, Chepelenko GV, Antusevas AF, Kavaliauskiene Z. Ultrasonic Endarterectomy for Long Superficial Femoral Artery Atherosclerotic Occlusive Disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006;32(6):657–662. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2006.07.006>.
- O'Daly BJ, Morris E, Gavin GP, O'Byrne JM, McGuinness GB. High-power low-frequency ultrasound: A review of tissue dissection and ablation in medicine and surgery. *J Mater Process Technol.* 2008;200(1–3):38–58. <https://doi.org/10.1016/j.jmatprotec.2007.11.041>.
- Savrasov GV, Al'kov SV, Ershov YA. The Development of Ultrasound Technologies in Medicine. *Biomed Eng (NY).* 2019;53(3):211–216. <https://doi.org/10.1007/s10527-019-09911-2>.
- Borde AS, Savrasov GV. Mathematical modeling of varicose veins ultrasound heating. In: *2019 IEEE International Conference on Microwaves, Antennas, Communications and Electronic Systems, COMCAS 2019.* Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc.; 2019. <https://doi.org/10.1109/COMCAS44984.2019.8958371>.
- Borde AS, Savrasov GV, Belikov NV, Khaydukova IV, Borde BI. Numerical modeling of the impact on the vascular wall during endovenous ultrasound treatment. *Med Eng Phys.* 2022;100:103745. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2021.103745>.
- Саврасов ГВ, Гавриленко АВ, Борде АС, Иванова АГ, Федоров ДН, Аракелян АГ. Перспективы и особенности технологии ультразвуковой облитерации подкожных вен нижних конечностей. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2019;25(1):59. Режим доступа: <https://www.angiolsurgery.org/magazine/2019/1/8.htm>.
- Savrasov GV, Gavrilenko AV, Borde AS, Ivanova AG, Fedorov DN, Arakelian AG. Prospects and peculiarities of the procedure of ultrasound ablation of subcutaneous veins of the lower limbs. *Angiology and Vascular Surgery.* 2019;25(1):59. (In Russ.) Available at: <https://www.angiolsurgery.org/magazine/2019/1/8.htm>.
- Борде АС, Беликов НВ, Соколова ДЮ. Экспериментальное исследование нагрева вены в процессе эндовенозной ультразвуковой облитерации *in vitro*. *Политехнический молодежный журнал МГТУ им. Н.Э. Баумана.* 2021;(9). <https://doi.org/10.18698/2541-8009-2021-9-733>.
- Borde AS, Belikov NV, Sokolova DY. Experimental study of vein heating during endovenous ultrasound obliteration *in vitro*. *Politechnical Student Journal of BMSTU.* 2021;(9). (In Russ.) <https://doi.org/10.18698/2541-8009-2021-9-733>.
- Kieser M, Wassmer G. On the Use of the Upper Confidence Limit for the Variance from a Pilot Sample for Sample Size Determination. *Biometrical J.* 1996;38(8):941–949. <https://doi.org/10.1002/bimj.4710380806>.
- Vuylsteke M, Van Dorpe J, Roelens J, De Bo T, Mordon S, Fournau I. Intraluminal fibre-tip centring can improve endovenous laser ablation: A histological study. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2010;40(1):110–116. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2009.09.013>.
- Van Den Bos RR, Milleret R, Neumann M, Nijsten T. Proof-of-principle study of steam ablation as novel thermal therapy for saphenous varicose veins. *J Vasc Surg.* 2011;53(1):181–186. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2010.06.171>.
- Boersma D, van Haelst STW, van Eekeren RRJP, Vink A, Reijnen MMJP, de Vries JPPM, de Borst GJ. Macroscopic and Histologic Analysis of Vessel Wall Reaction After Mechanochemical Endovenous Ablation Using the ClariVein OC Device in an Animal Model. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2017;53(2):290–298. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2016.11.024>.
- Cowpland CA, Cleese AL, Whiteley MS. Factors affecting optimal linear endovenous energy density for endovenous laser ablation in incompetent lower limb truncal veins – A review of the clinical evidence. *Phlebology.* 2017;32(5):299–306. <https://doi.org/10.1177/0268355516648067>.
- Bevan JA, Hosmer DW, Ljung B, Pegram BL, Su C. Innervation pattern and neurogenic response of rabbit veins. *J of Vasc Res.* 1974;11(3):172–182. <https://doi.org/10.1159/000158010>.

21. Саврасов ГВ, Гавриленко АВ, Борде АС, Беликов НВ, Хайдукова ИВ, Селиверстова ИА, Солнцева АД. Сравнение механических параметров большой подкожной вены при различных условиях тестирования. В: *Уральский симпозиум по биомедицинской инженерии, радиоэлектронике и информационным технологиям (USBEREIT)*. Екатеринбург, 25–26 апреля 2019 г. IEEE Xplore; 2019, pp. 44–47. <https://doi.org/10.1109/USBEREIT.2019.8736610>.
22. Weiss RA. Comparison of Endovenous Radiofrequency Versus 810 nm Diode Laser Occlusion of Large Veins in an Animal Model. *Dermatologic Surg*. 2002;28(1):56–61. <https://doi.org/10.1046/j.1524-4725.2002.011191.x>.

Вклад авторов:

Концепция статьи – А.В. Гавриленко, П.Е. Вахратьян

Концепция и дизайн исследования – П.Е. Вахратьян, С.И. Щукин, А.В. Самородов

Написание текста – П.Е. Вахратьян, А.Г. Аракелян, А.С. Борде

Сбор и обработка материала – А.Г. Аракелян, А.С. Борде, Е.И. Иванова

Обзор литературы – П.Е. Вахратьян, А.Г. Аракелян, А.С. Борде

Анализ материала – П.Е. Вахратьян, А.Г. Аракелян, А.С. Борде

Статистическая обработка – А.С. Борде

Редактирование – А.В. Гавриленко, А.В. Самородов

Утверждение окончательного варианта статьи – А.В. Гавриленко, С.И. Щукин

Contribution of authors:

Concept of the article – Alexander V. Gavrilenko, Pavel E. Vakhratyan

Study concept and design – Pavel E. Vakhratyan, Sergey I. Shchukin, Andrey V. Samorodov

Text development – Pavel E. Vakhratyan, Amalya G. Arakelyan, Anna S. Borde

Collection and processing of material – Amalya G. Arakelyan, Anna S. Borde, Elena I. Ivanova

Literature review – Pavel E. Vakhratyan, Amalya G. Arakelyan, Anna S. Borde

Material analysis – Pavel E. Vakhratyan, Amalya G. Arakelyan, Anna S. Borde

Statistical processing – Anna S. Borde

Editing – Alexander V. Gavrilenko, Andrey V. Samorodov

Approval of the final version of the article – Alexander V. Gavrilenko, Sergey I. Shchukin

Информация об авторах:

Гавриленко Александр Васильевич, академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий отделением сосудистой хирургии, Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского; 119991, Россия, Москва, Абрикосовский переулок, д. 2; <https://orcid.org/0000-0001-7267-7369>; a.v.gavrilenko@mail.ru

Вахратьян Павел Евгеньевич, д.м.н., доцент, сердечно-сосудистый хирург отделения сосудистой хирургии, Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского; 119991, Россия, Москва, Абрикосовский переулок, д. 2; <https://orcid.org/0000-0001-6590-2425>; vahratian@mail.ru

Аракелян Амаля Гагиковна, аспирант, сердечно-сосудистый хирург, Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); 119435, Россия, Москва, Большая Пироговская ул., д. 2, стр. 4; <https://orcid.org/0000-0002-2789-3107>; amalya.arakelian@yandex.ru

Борде Анна Сергеевна, к.т.н., ассистент кафедры биомедицинских технических систем, Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана; 105005, Россия, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0001-8359-1819>; borde@bmstu.ru

Иванова Елена Ильинична, врач-патологоанатом патоморфологического отделения, Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского; 119991, Россия, Москва, Абрикосовский переулок, д. 2; <https://orcid.org/0000-0002-5601-0465>; ellen151@rambler.ru

Щукин Сергей Игоревич, д.т.н., профессор, заведующий кафедрой «Медико-технические информационные технологии», Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана; 105005, Россия, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0002-9890-5267>; schookin@bmstu.ru

Самородов Андрей Владимирович, к.т.н., доцент, заведующий кафедрой биомедицинских технических систем, Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана; 105005, Россия, Москва, 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1; <https://orcid.org/0000-0003-3301-2561>; avs@bmstu.ru

Information about the authors:

Alexander V. Gavrilenko, Academician of RAS, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Vascular Surgery Department, Russian Scientific Center of Surgery named after Academician B.V. Petrovsky; 2, Abrikosovsky Lane, Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7267-7369>; a.v.gavrilenko@mail.ru

Pavel E. Vakhratyan, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Vascular Surgeon, Vascular Surgery Department, Russian Scientific Center of Surgery named after Academician B.V. Petrovsky; 2, Abrikosovsky Lane, Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6590-2425>; vahratian@mail.ru

Amalya G. Arakelyan, Postgraduate Student, Vascular Surgeon, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University);

2, Bldg. 4, Bolshaya Pirogovskaya St., Moscow, 119435, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2789-3107>; amalya.arakelian@yandex.ru

Anna S. Borde, Cand. Sci. (Eng.), Assistant, Biomedical Technical Systems Department, Bauman Moscow State Technical University; 5, Bldg.

1, 2nd Bauman St., Moscow, 105005, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8359-1819>; borde@bmstu.ru

Elena I. Ivanova, Pathologist, Anatomical Pathology Department, Russian Scientific Center of Surgery named after Academician

B.V. Petrovsky; 2, Abrikosovsky Lane, Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5601-0465>; ellen151@rambler.ru

Sergey I. Shchukin, Dr. Sci. (Eng.), Professor, Head of the Medical Engineering Information Technologies Department, Bauman Moscow State

Technical University; 5, Bldg. 1, 2nd Bauman St., Moscow, 105005, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9890-5267>; schookin@bmstu.ru

Andrey V. Samorodov, Cand. Sci. (Eng.), Associate Professor, Head of the Biomedical Technical Systems Department, Bauman Moscow State Technical University; Russian Scientific Center of Surgery named after Academician B.V. Petrovsky; 2, Abrikosovsky Lane, Moscow, 119991, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3301-2561>; avs@bmstu.ru