

## **Влияние типа волновода на эффективность тромборазрушающего действия ультразвука *in vitro***

*РНПЦ «Кардиология», БНТУ, Беларусь, Минск*

В последние годы разрабатываются и внедряются в клиническую практику новые подходы к интервенционному лечению артериальных окклюзий. Одним из наиболее перспективных методов восстановления артериальной проходимости на фоне тромбоза является ультразвуковой тромболизис-метод сочетанного внутрисосудистого (в/с) воздействия низкочастотного ультразвука (УЗ) и тромболитического препарата [1-9]. В экспериментах *in vitro*, *in vivo*, а затем и в клинике продемонстрирована высокая эффективность УЗ-тромболизиса. Так, у больных с острым тромбозом периферических артерий через 90 мин после в/с воздействия низкочастотным УЗ в течение 3 мин. совместно со стрептокиназой в дозе 250 тыс. ЕД проходимость пораженных артерий восстанавливалась до 87,9% [7-9].

Главным результатом экспериментальных исследований последних нескольких лет в области УЗ-реканализации является установление влияния формы головки волновода в достижении значимого УЗ-тромборазрушающего эффекта [8]. С точки зрения эффективности разрушения тромбов и атеросклеротических бляшек наиболее предпочтительным является использование волновода со сферической головкой. Волновод с плоской головкой обеспечивает также эффективное восстановление проходимости пораженного сосуда, однако при его применении увеличивается по сравнению с волноводом со сферической головкой частота повреждения сосуда [8]. Поэтому, в дальнейшем, с целью исключения перфорации сосудистой стенки было предложено продвигать волновод по внутрисосудистому проводнику, который проведен через отверстие в головке волновода [7]. В тоже время отверстие в головке волновода может способствовать более эффективному разрушению тромбов.

Учитывая вышеизложенное, целью исследования явилось изучение влияния типа волновода на эффективность разрушения тромбов *in vitro* при воздействии различного по параметрам низкочастотного ультразвука.

### **Материал и методы**

Объектом исследования являлись: стабилизированная 3,8 %-ным р-ром цитрата натрия свежая донорская кровь, полученная из ГУ РНПЦ «Гематологии и трансфузиологии»; сгустки крови, сформированные *in vitro*.

Для ультразвукового воздействия на изучаемые объекты использована установка акустоиндуцированного тромболизиса (РНПЦ «Кардиология», технопарк БНТУ «Метолит», Беларусь). Установка состоит из ультразвукового генератора, пьезоэлектрического преобразователя, 4-х типов волноводов со сферической и плоской формами головки без отверстий (ВСФ и ВПФ) и с отверстиями (ВСФО и ВПФО). Волноводы выполнены из стали марки 12Х18Н10 длиной 23,5 см с заданной частотой резонанса 25,01 – 25,1 кГц.

Сгустки крови формировали из стабилизированной донорской крови добавляя к 5 мл крови тромбин (50 НИН) в соотношении 9:1 и инкубируя при 20° С в

течение 2 ч. Отделив плазму, сгустки переносили в полистироловые пробирки объемом 4 мл, добавляли к ним 1 мл 150 мМ раствора натрия хлорида и подвергали ультразвуковому воздействию в течение 3 мин в импульсном режиме. Контролем служили сгустки, не подвергавшиеся ультразвуковому воздействию. После окончания эксперимента сгустки высушивали в термостате до постоянного веса при 50 °С. Процент убыли массы сгустка (DM, %) рассчитывали по формуле:

$$DM = ((M_k - M_o) / M_k) \times 100,$$

где  $M_k$  – масса сухого сгустка в контроле;  $M_o$  – масса сухого сгустка после ультразвукового воздействия.

Ультразвуковое воздействие на сгустки крови проводили в течение 3 минут в импульсном режиме с показателями скважности 15, 45, 60 % и интенсивностью ультразвука 4,2; 14,2; 46,2 Вт/см<sup>2</sup>.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Достоверность изменений показателей для нормально распределяющихся величин оценивали, используя парный t-критерий Стьюдента. Для величин, которые имели распределение отличное от нормального, при сравнении использовался тест Манна-Уитни. Различия считали достоверными при  $p < 0.05$ . Данные приведены как среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка средней ( $M \pm SE$ ) для нормально распределяющихся показателей и для непараметрических – как медиана (25-й и 75-й квартиль).

#### Результаты и обсуждение

При изучении влияния скважности УЗ на степень убыли сгустка не было получено статистически значимых различий между скважностью 15, 45 и 60 % при использовании всех типов волноводов. Поэтому дальнейшие исследования касались изучения влияния типа волновода на степень убыли массы сгустка при различной интенсивности УЗ. Как видно на рисунке, степень убыли сгустка наблюдалась при использовании всех типов волноводов. Так, степень убыли сгустка при озвучивании ВСФ с  $I=4,2$  Вт/см<sup>2</sup> составила  $18,7 \pm 9,24$  %, с  $I = 14,2$  Вт/см<sup>2</sup> –  $27,97 \pm 14,42$  % ( $p < 0.05$  по сравнению с  $I=4,2$  Вт/см<sup>2</sup>), а с  $I=46,2$  Вт/см<sup>2</sup> –  $54,99$  (46,1; 87,8) % ( $p < 0.05$  по сравнению с  $I=14,2$  Вт/см<sup>2</sup>).

При использовании ВПФ УЗ-воздействие с  $I=4,2$  Вт/см<sup>2</sup> приводило к уменьшению массы тромба на  $27,54 \pm 10,15$  %. При  $I=14,2$  Вт/см<sup>2</sup> убыль массы тромба составила  $59,85 \pm 11,69$  % ( $p < 0.01$  по сравнению с  $I=4,2$  Вт/см<sup>2</sup>), а при воздействии с  $I=46,2$  Вт/см<sup>2</sup> достигала наибольшего значения  $82,31$  (76,19; 86,16) % ( $p < 0.01$  по сравнению с  $I=14,2$  Вт/см<sup>2</sup>).

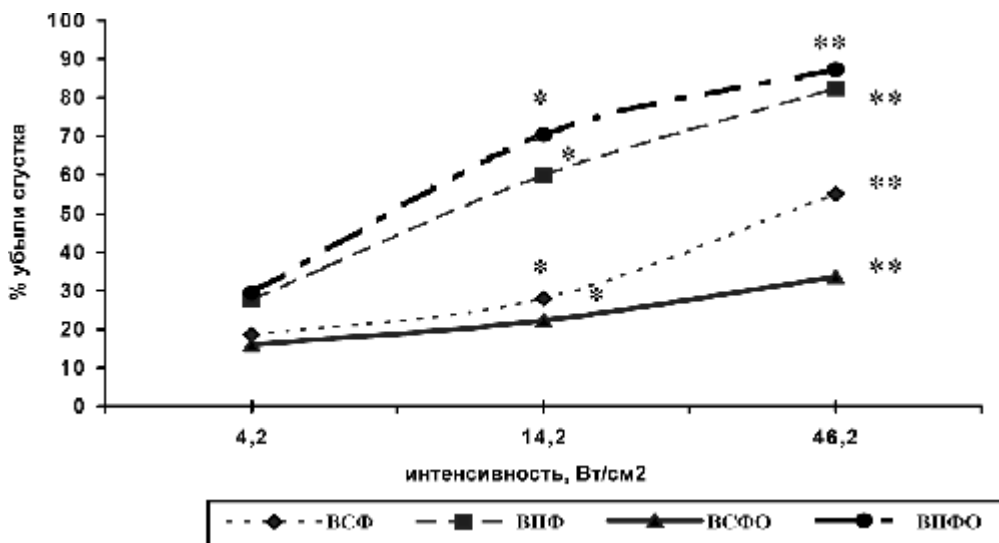


Рис. Влияние типа волновода на степень убыли массы сгустка, сформированного в течение 2 ч, при различной интенсивности УЗ. (\* -  $p < 0.05$  по сравнению с  $I = 4,2$  Вт/см; \*\* -  $p < 0.05$  по сравнению с  $I = 14,2$  Вт/см)

УЗ-воздействие с  $I = 4,2$  Вт/см<sup>2</sup> ВСФО вызывало уменьшение массы тромба на  $15,97 \pm 5,71$  %. При  $I = 14,2$  Вт/см<sup>2</sup> данный показатель составлял  $22,25 \pm 5,71$  % ( $p < 0.05$  по сравнению с  $I = 4,2$ ). При  $I = 46,2$  Вт/см<sup>2</sup> отмечалось также достоверное уменьшение массы тромба по сравнению с  $I = 14,2$  Вт/см<sup>2</sup>, что составило  $33,63$  ( $21,68; 89,9$ ) % (см. рис.).

Использование ВПФО приводило к наибольшей убыли массы тромба по сравнению с вышеописанными волноводами. Так, при УЗ-воздействии с интенсивностями 4,2; 14,2 и 46,2 данный показатель составил  $29,4 \pm 7,34$ %;  $70,32 \pm 7,63$ % и  $87,4 \pm 6,46$ % соответственно.

Сравнение эффективности разрушения тромбов выявило наличие статистически значимых различий между степенью убыли массы сгустка при использовании различных типов волноводов ( $p < 0.05$  во всех случаях).

Результаты данной работы свидетельствуют о том, что выбор типа волновода является важным фактором, позволяющим повысить эффективность УЗ-тромболиза, что согласуется с работами других авторов [8].

Нами показано, что для разрушения тромбов является предпочтительным использование ВПФ и ВПФО, так как масса убыли тромбов наибольшая при применении данных типов волноводов. Изучение кавитационных эффектов позволило получить представление о механизмах УЗ разрушения тромбов. Это является важным, так как ведущая роль при разрушении тромбов отводится акустической кавитации и механическому ударно-циклическому действию головки волновода на патологическую ткань. В работах Ц. Тун с соавт. показано, что эффективность процедуры связана с особенностями кавитационных процессов, протекающих на поверхности головок волноводов [8]. Тип головки волновода определяет форму и направление кавитационной струи, а также ее размер, что лежит в основе различного по силе тромборазрушающего эффекта. Так, на поверхности ВСФ, возникает расходящаяся в виде конуса кавитационная струя до 18-20 мм. Струя ВПФ имеет столбчатый характер и распространяется на расстояние 7-9 мм. Все это позволяет осуществлять фокусированное воздействие на патологическую ткань без значительных потерь. Отверстие же в дистальной части волновода, вероятно, способствует изменению площади, направления и

размера кавитационной струи. Можно предположить, что при использовании ВПФО возникает большая по площади и размеру кавитационная струя, что и обеспечивает более значимое тромборазрушающее действие данного типа волновода.

#### Выводы

1. Тромборазрушающее действие УЗ *in vitro* имеет прямую зависимость от интенсивности, а также типа используемого волновода.

Скважность УЗ-воздействия не влияет на степень разрушения тромба *in vitro*.

2. Наиболее эффективным тромборазрушающим действием обладает ВПФО (убыль массы тромба при  $I=46,2$  Вт/см<sup>2</sup> достигает  $87,4\pm 6,46\%$ ), а наименее – ВСФО (при  $I=46,2$  Вт/см<sup>2</sup> убыль массы тромба –  $33,63$  ( $21,68; 89,9$ ) %).

#### Литература

1. Correlation of cavitation with ultrasound enhancement of thrombolysis / S. Datta [et al] // *Ultrasound Med. Biol.* 2006. Vol. 32, № 8. P. 1257-1267.

2. Ultrasonic clot disruption: an *in vitro* study / A. S. Hong [et al] // *Am. Heart J.* 1990. Vol. 120. P. 418 – 422.

3. Enhancement of enzymatic fibrinolysis with 2-MHz ultrasound and microbubbles / P. Cintas [et al] // *J. Thromb. Haemost.* 2004. Vol. 2. P. 1163 – 1166.

4. Ultrasound accelerates transport of recombinant tissue plasminogen activator into clots / C. W. Francis [et al] // *Ultrasound Med. Biol.* 1995. Vol. 21. P. 419 – 424.

5. High intensity, low frequency catheter-delivered ultrasound dissolution of occlusive coronary artery thrombi: An *in vitro* and *in vivo* study / W. Steffen [et al] // *J. Am. Coll. Cardiol.* 1994. Vol. 24. P. 1571-1579.

6. Experimental ultrasonic angioplasty: disruption of atherosclerotic plaques and thrombi *in vitro* and arterial recanalization *in vivo* / U. Rosenschein [et al] // *J. Am. Coll. Cardiol.* 1990. Vol. 15. P. 711 – 717.

7. Адзериho, И. Э. Ультразвуковой тромболизис в лечении артериального тромбоза: дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.06 / И.Э.Адзериho. Минск, 2004. 322 л.

8. Тун, Цзяи. Эффективность восстановления проходимости пораженных атеросклерозом артерий ультразвуковыми волноводами различных модификаций *in vitro*: автореф. ... дис. канд. мед. наук: 14.00.06 / Цзяи Тун; БелМАПО. Минск, 2006. 21 с.

9. Рачок, С. М. Ультразвуковое разрушение тромбов в присутствии стрептокиназы: эффективность и влияние на гемокоагуляционный и сосудисто-тромбоцитарный гемостаз (экспериментальное исследование): автореф. ... дис. канд. мед. наук: 14.00.06 / С. М. Рачок; БелМАПО. Минск, 2005. 19 с.