ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЫСОКОИНТЕНСИВНОГО ДИАГНОСТИЧЕСКОГО УЛЬТРАЗВУКА В ОФТАЛЬМОЛОГИИ

Киселева Т.Н., Зайцев М.С., Луговкина К.В., Рябина М.В., Селиверстова К.Е., Измайлова Н.С., Зайцева А.А.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр глазных болезней им. Гельмгольца» МЗ РФ. г. Москва, Россия.

Цель исследования. Изучить влияние высокоинтенсивного диагностического ультразвука на структуры переднего и заднего отделов глаза в эксперименте in vivo.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование было выполнено на 46 кроликах (92 глаза) самцах породы Шиншилла. Из них 38 кроликов (76 глаз) составили основную группу и 8 интактных кроликов (16 глаз) – контрольную группу. Животным основной группы выполнялось воздействие высокоинтенсивным диагностическим ультразвуком (MI 0,9-1,0, TI 1,5-2.0, Ispta.3 50 мВт/см2) на глаза в режимах цветового допплеровского картирования (ЦДК) и импульсной допплерографии (ИД) в течение 30 минут. Методы обследования глаз включали бесконтактную термометрию роговицы, биомикроскопию переднего отдела глаза, пупиллометрию, тонометрию глаза, оптическую когерентную томографию (ОКТ) роговицы и сетчатки, которые проводили животным основной группы до и сразу после акустического воздействия и через 2 недели. Морфологическое исследование с морфометрической оценкой тканей сетчатки энуклеированных глаз животных осуществлялась в 1-е сутки (40 глаз) и через 2 недели (36 глаз) после воздействия ультразвука.

Результаты. Анализ результатов показал отсутствие статистически достоверных изменений температуры роговицы у животных основной группы по сравнению с контрольной. По данным биомикроскопии признаков повреждения переднего отдела глаза, как в ближайшем, так и отсроченном периодевыявлено не было. С помощью ОКТ у животных основной группы структурных изменений роговицы и ретинальной ткани не определялось. Морфологическое исследование с морфометрией позволило с высокой достоверностью определить отсутствие патологических изменений всех слоев сетчатки после воздействия высокоинтенсивного ультразвука.

Обсуждение. На сегодняшний день доказана высокая информативность ультразвуковых исследований (ЦДК и ИД) в диагностике сосудистых заболеваний сетчатки и зрительного нерва, офтальмоонкологии, диабетического поражения глаза. Однако использование этих методов в офтальмологии ограничено вследствие отсутствия доказательной базы безопасности влияния высокоинтенсивного ультразвука на ткани глаза. В нашем исследовании впервые на большом экспериментальном материале была проведена комплексная оценка воздействия диагностического ультразвука высокой акустической мощности на роговицу, оптические среды глаза и сетчатку.

Заключение. По данным термометрии, биомикроскопии, тонометрии, ОКТ роговицы и сетчатки, морфологического исследования ретинальной ткани у кроликов установлено отсутствие негативного влияния высокоинтенсивного диагностического ультразвука на структуры переднего и заднего отделов глаз животных в эксперименте.

Ключевые слова: высокоинтенсивный диагностический ультразвук, цветовое допплеровское картирование, импульсная допплерография, роговица, сетчатка, механический индекс, термический индекс, оптическая когерентная томография, морфологическое исследование.

Контактный автор: Киселева Татьяна Николаевна, tkisseleva@yandex.ru

Для цитирования: Киселева Т.Н., Зайцев М.С., Луговкина К.В., Рябина М.В., Селиверстова К.Е., Измайлова Н.С., Зайцева А.А. Экспериментальное обоснование безопасности использования высокоинтенсивного диагностического ультразвука в офтальмологии REJR 2023; 13(2):50-62. DOI: 10.21569/2222-7415-2023-13-2-50-62.

Статья получена: 29.01.23 Статья принята: 28.03.23

EXPERIMENTAL DEMONSTRATION OF THE SAFETY OF THE HIGH-INTENSITY DIAGNOSTIC ULTRASOUND IN OPHTHALMOLOGY

Kiseleva T.N., Zaitsev M.S., Lugovkina K.V., Ryabina M.V.,
Seliverstova K.E., Izmailova N.S., Zaitseva A.A.

Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases. Moscow, Russia.

Purpose. To study the effect of the high-intensity diagnostic ultrasound on the tissues of the anterior and posterior segments of the eyes in the experiment in vivo.

Materials and methods. The experimental investigations were performed in 46 Chinchilla rabbits (92 eyes). The main group included 38 rabbits (76 eyes), the control group − 8 intact rabbits (16 eyes). Animals of the main group were exposed on the eyes with the high-intensity diagnostic ultrasound (MI 0.9-1.0, TI 1.5-2.0, Ispta.3 50 mW/cm2) using color Doppler imaging (CDI) and pulsed wave Doppler (PWD) within 30 minutes. Methods of ocular examinations included: non-contact thermometry of cornea, biomicroscopy of ocular anterior segment, pupillometry, ocular tonometry, optical coherence tomography (OCT) of cornea and retina, which were performed before and immediately after ultrasound exposure (in 20 rabbits) and 2 weeks later (in 18 rabbits). Morphological examinations with the morphometric assessment of retinal tissues of enucleated eyes of rabbits were performed on the 1st day (40 eyes) and 2 weeks (36 eyes) after ultrasound exposure.

Results. Analysis of the results of the corneal temperature showed no statistically significant changes in animals of the main group, compared with the control group. Biomicroscopy didn't demonstrate structures damage of the ocular anterior segment as well immediately after exposure of ultrasound as follow up. There were no structural changes in the cornea and retinal tissues according to OCT data. A morphological examination and the morphometry with high integrity revealed absence of pathological changes in the layers of the retina follow-up evaluation after exposure of the high-intensity diagnostic ultrasound.

Discussion. Currently ultrasound examinations (CDI and PWD) are very informative in the diagnostic of vascular pathology of the retina and optic verve, ophthalmo-oncology, diabetic eye diseases. However, there are the limitations for these methods in ophthalmology because of the evidential base of the safety of the high-intensity diagnostic ultrasound for ocular tissues is not present. We have introduced a novel complex assessment of the high-intensity ultrasound effect on cornea, ocular media and retina.

Conclusions. According the data of thermometry, biomicroscopy, ocular tonometry, OCT of cornea and retina, morphological examinations of retinal tissues there was no immediate and delayed effects the high-intensity diagnostic ultrasound on the structures of ocular anterior and ocular posterior segments of animals eyes in the experiment.

Keywords: the high-intensity diagnostic ultrasound, color Doppler imaging, pulsed wave Doppler, cornea, retina, mechanical index, thermal index, optical coherence tomography morphological examination.

Corresponding author: Kiseleva T.N., e-mail: tkisseleva@yandex.ru

For citation: Kiseleva T.N., Zaitsev M.S., Lugovkina K.V., Ryabina M.V., Seliverstova K.E., Izmailova N.S., Zaitseva A.A. Experimental demonstration of the safety of the high-intensity diagnostic ultrasound in ophthalmology. REJR 2023; 13(2):50-62. DOI: 10.21569/2222-7415-2023-13-2-50-62.

Received: **29.01.23** **Accepted:** **28.03.23**

В офтальмологической практике диагностика и выбор метода лечения заболеваний органа зрения основывается на комплексном обследовании с использованием стандартных клинико-инструментальных и функциональных методов исследования глаза, которые не всегда позволяют точно оценить тяжесть патологического процесса. Современные компьютерные технологии в медицине, включающие различные методы визуализации, позволили значительно расширить возможности ранней диагностики офтальмопатологии. Внедрение в рутинную клиническую практику

компьютерной томографии (КТ), магнитно-резонансной томографии (МРТ), высокочастотной эхографии и цветового допплеровского картирования (ЦДК) дают возможность получить важные объективные критерии для верификации патологии глаза и орбиты.

С помощью КТ и МРТ можно точно определить локализацию патологического очага, его характер, степень повреждающего воздействия на смежные структуры, что является необходимым для планирования хирургической тактики и обеспечения минимальной травматизации тканей. В то же время при проведении КТ необходимо учитывать лучевое воздействиена структуры глазного яблока. Так, в зависимости от толщины среза и скорости продвижения томографа общая доза облучения находится в пределах от 40,3 до 41,5 мЗв на 1 срез, что может вызвать помутнение хрусталика [1].

МРТ считается весьма перспективным методом диагностики в офтальмологии благодаря высокой тканеспецифической интенсивности сигналов наряду с отсутствием воздействия ионизирующего излучения и целому ряду преимуществ. Метод МРТ обладает целым рядом преимуществ [2]. Однако наличие таких противопоказаний, как присутствие в организме пациента металлических конструкций (инсулиновая помпа, кардиостимулятор, сосудистые клипсы и др.), беременность и период лактации, аллергии на контрастное вещество (при проведении МРТ с контрастированием) делает недоступным исследование для некоторых пациентов.

Следует отметить, что по сравнению с ультразвуковым исследованием (УЗИ) разрешающая способность КТ и МРТ является недостаточной для детальной оценки состояния оптических сред глаза и внутриглазных структур. Кроме того, методы КТ и МРТ не позволяют регистрировать качественные и количественные характеристики глазного кровотока.

Высокая воспроизводимость результатов, методическая простота и информативность определяет растущий интерес к УЗИ в офтальмологической практике. К основным достоинствам метода относятся безопасность и безвредность исследования, возможность его многократного применения у пациентов любого возраста без опасения возникновения каких-либо нежелательных последствий, отсутствие необходимости особой предварительной подготовки больных к проведению исследования, экономичность и относительная быстрота, а также отсутствие абсолютных противопоказаний к применению метода. Недостатком является затруднение визуализации структур у вершины орбиты, что связано с ограничением проникновения ультразвуковой волны в эту анатомическую зону.

Появление новых высокотехнологичных методик ультразвукового сканирования, таких как ЦДК, энергетическое картирование (ЭК) и импульсная допплерография (ИД), объемная эхография (3D), соноэластография и др., значительно повысило информативность стандартной эхографии, обеспечивая качественную и количественную оценку патологических изменений глаза и орбиты. Однако необходимо учитывать физико-биологическое действие высокоинтенсивного диагностического ультразвука на ткани глазного яблока с использованием указанных техник визуализации, в основе которых лежит кавитационное или механическое влияние, термическое или тепловое воздействие. В связи с этим, международные профессиональные организации FDA (Food and Drug Administration − Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств) и Американский Институт Ультразвука в Медицине установили для исследования глаз верхний нормативный безопасный предел для усредненной по времени акустической мощности (ISPTA), который составляет не более 50 мВТ/см² с тепловым индексом (TI) воздействия ультразвука менее 1,0 и механическим индексом (MI) − 0,23 и ниже [3].

Учитывая, что качество получаемых изображений при проведении УЗИ с оценкой кровотока, и, соответственно, информативность количественных показателей гемодинамики в окулярных и орбитальных сосудах напрямую зависят от интенсивности ультразвуковых сигналов, возникает необходимость повышения рекомендованных параметров акустической мощности. Наибольшая интенсивность акустической энергии отмечается при проведении ЦДК и ИД, что теоретически может привести к неблагоприятному воздействию на биологические ткани глаза.

В связи с этим, целью нашей работы явилось изучение влияния высокоинтенсивного диагностического ультразвука на структуры переднего и заднего отделов глаза в эксперименте in vivo.

Материалы и методы.

Экспериментальное исследование in vivo было выполнено на 46 кроликах (92 глаза) – самцах породы Шиншилла средней массой тела 2-2,5 кг. Из них 38 кроликов (76 глаз) составили основную группу и 8 интактных кроликов (16 глаз) – контрольную группу. Возраст животных колебался от 3 до 5 месяцев.

Основные правила содержания и ухода за животными соответствовали «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Санитарным правилам по содержанию экспериментально-

Таблица №1. Средние показатели пупиллометрии (мм) глаз кроликов в динамике после акустического воздействия.

Группа	Сроки наблюдения		
	До воздействия (n=76)	1-е сутки (n=76)	14-е сутки (n=36)
Основная (n=76)	8,1±0,10 8,6±0,20	8,2±0,20 8,7±0,15	8,1±0,20 8,8±0,30
Контроль (n=16)	8,5 ± 0,20 8,7±0,10		

Примечание: n – число глаз
В числителе – значения диаметра зрачка в горизонтальном меридиане
В знаменателе – значения диаметра зрачка в вертикальном меридиане
p>0,05 – достоверность относительно исходных показателей

биологических клиник (вивариев), утвержденным МЗ СССР 06.07.73 г., приказу МЗ СССР №755 от 12. 08.77 и положениям Хельсинской декларации. Согласно протоколу № 54/5 Заседания Комитета по этике ФГБУ «НМИЦ ГБ им. Гельмгольца» МЗ РФ от 13.05.2021 экспериментальное исследование соответствовало всем этическим требованиям, предъявляемым к научным работам.

После предварительной инстилляционной анестезии конъюнктивы 0,4% раствором оксибупрокаина (инокаин) всем животным основной группы проводилось акустическое воздействие на оба глаза в режимах ЦДК и ИД с использованием многофункциональной диагностической ультразвуковой системы Voluson E8 (GE) при максимальной акустической мощности (MI 0,9-1,0, TI 1,5-2.0, Ispta.3 > 50 мВт/см2) в течение 30 минут.

Методы инструментального обследования животных включали бесконтактную термометрию роговицы, биомикроскопию переднего отдела глаза, пупиллометрию, прямую и обратную офтальмоскопию, тонометрию глаза, оптическую когерентную томографию (ОКТ) роговицы и сетчатки. Инструментальные исследования животным основной группы проводили до и сразу после акустического воздействия (38 кроликов) и через 2 недели (18 кроликов).

Для проведения гистологического исследования с морфометрической оценкой толщины сетчатки энуклеацию глазного яблока у кроликов осуществляли в первые сутки (20 кроликов – 40 глаз) и через 2 недели (18 кроликов – 36 глаз) после ультразвукового воздействия. Аутопсийный материал погружался в криогель, подвергался заморозке в жидком азоте и хранился при температуре -87°С. Срезы толщиной 20 мкм были приготовлены в криомикротоме Thermo Fisher HM525 NX при температуре -20° С, помещены на адгезивные полилизиновые стекла и окрашены гематоксилином и эозином по стандартному протоколу. Патогистологическая оценка препаратов выполнялась на универсальном микроскопе LEICA DM4000 B LED с видеокамерой LEICA DFC7000 T. Для морфометрического анализа изображений использовано программное обеспечение LAS V4.8 Software («Leica Microsystems», Switzerland).

Математическая и статистическая обработка экспериментальных данных проводилась с использованием стандартного пакета программы GraphPad Prism, версия 8.00 для Windows (GraphPad Software, Inc). Для определения распределения полученных значений использовался Shapiro-Wilk's тест. Для сравнительного анализа показателей толщины сетчатки животных, полученных с помощью ОКТ и морфологического исследования использовали критерии корреляции Пирсона.

Результаты.

Учитывая вероятность термического воздействия высокоинтенсивного диагностического ультразвука на ткани глаза кролика и роль теплового фактора в механизме биологического эффекта энергии ультразвуковых колебаний, мы провели всем животным основной группы термометрию передней поверхности роговицы с помощью инфракрасного бесконтактного термометра SENSITEC NF-3101 с точностью измерения до 0,1.

Анализ показателей термометрии показал, что до и сразу после акустического воздействия средние значения температуры роговицы составили 33,1 ± 0,6 и 34,0± 0,3 градусов Цельсия соответственно. Через 2 недели

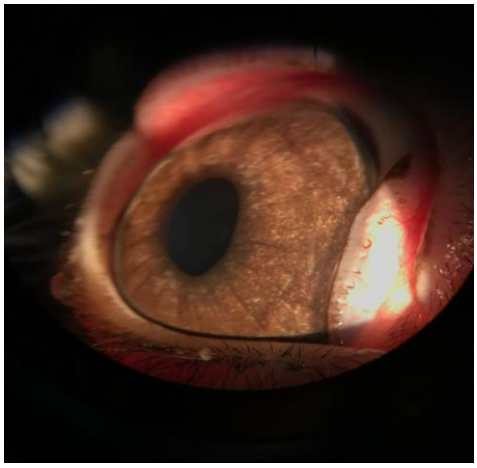

Рис. 1 а (Fig. 1 a)

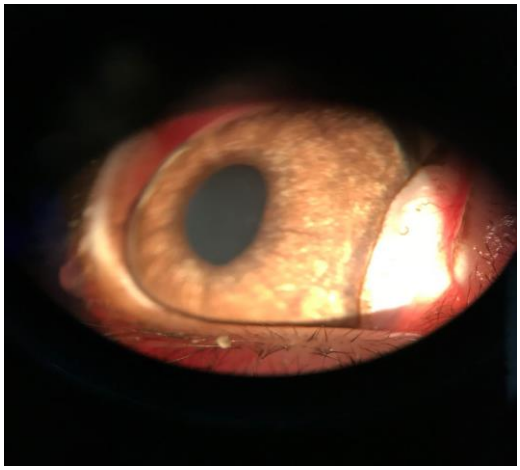

Рис. 1 б (Fig. 1 b)

Рис. 1. Биомикроскопия переднего отдела глаза кролика с помощью щелевой лампы при боковом фокальном освещении с последующей фоторегистрацией для оценки состояния зрачка и радужной оболочки.

а – до ультразвукового воздействия; б - сразу после ультразвукового воздействия: отсутствие изменений формы зрачка и его диаметра, структура радужки соответствует исходной.

Fig. 1. Slit lamp biomicroscopy of ocular anterior segment of the rabbit using lateral focal lightening and photographic recording for the assessment of the pupil and iris.

a – before ultrasound exposure; b – after ultrasound exposure: the abnormality of the diameter and the configuration of iris is not registered. Iris structure corresponds with initial form.

показатели термометрии роговицы (33,4 ±0,3 град.) статистически достоверно не отличались от исходных данных и от таковых в группе контроля (p >0,1).

При проведении биомикроскопии было установлено, что глаза животных оставались спокойными в течение всего срока наблюдения. Размер зрачка (в горизонтальном и вертикальном меридиане) в 1-е сутки и через 14 дней после акустического воздействия не изменялся. Статистически достоверных отличий средних значений размера зрачка в основной и контрольной группах не отмечалось (p>0,05).

Сразу после ультразвукового облучения животным промывали конъюнктивальную полость и поверхность роговицы от остатков акустического геля путем инстилляций офтальмологического антисептического средства (бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмоний 0,01%). В 1-е сутки и через 2 недели после акустического воздействия роговица оставалась прозрачной, блестящей, гладкой и сферичной. Влага передней камеры была прозрачной, цвет и рисунок радужной оболочки не изменялся (рис.1 а, б). Для определения возможных дефектов поверхности роговицы дополнительно проводили биомикроскопию сразу после окрашивания роговицы 0,5% раствором флюоресцеина. После акустического воздействия в динамике при обследовании переднего отдела глаз кроликов с помощью щелевой лампы участков, накапливающих флюоресцеин на поверхности роговицы, не было обнаружено (рис.2 а, б).

При биомикроскопии в проходящем свете была выполнена оценка прозрачности хрусталика и стекловидного тела. До и после воздействия ультразвука на глаза животных опытной и контрольной групп помутнений хрусталика и стекловидного тела не наблюдалось.

Анализ результатов тонометрии не выявил статистически достоверных изменений средних показателей внутриглазного давления (ВГД) у животных основной группы в динамике. Исходное среднее значение ВГД составило 20,40±0,54 мм рт. ст., сразу после ультразвукового облучения и через 2 недели – 20,22±0,63 мм рт. ст. и 20,71±0,71 мм рт. ст. соответственно (p=0,5). В группе контроля средний показатель ВГД составил 20,63 ±0,65 мм рт.ст (p=0,7), (рис. 3).

В результате проведения ОКТ переднего отдела глаза с послойным изображением роговицы и измерением ее толщины не было выявлено изменений рефлективности ее слоев после воздействия высокоинтенсивного диагностического ультразвука в ближайшем (1-е сутки) и отсроченном (14-е сутки) периодах. Отмечалось незначительное увеличение средних показателей центральной толщины роговицы от 412±20 мкм до 410±23 мкм сразу по

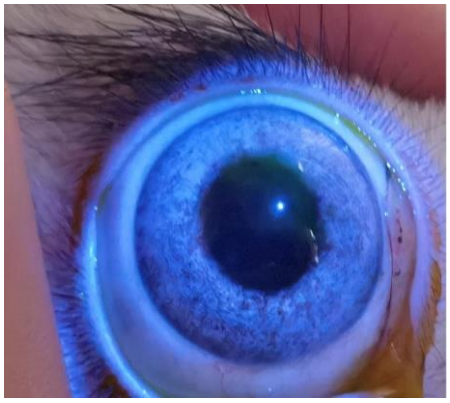

Рис. 2 а (Fig. 2 a)

Рис. 2 б (Fig. 2 b)

Рис. 2. Биомикроскопия переднего отдела глаза кролика при фокальном синем освещении после окрашивания роговицы флюоресцеином

а – до воздействия, б – сразу после воздействия ультразвуком, отмечается равномерное распределение контраста по передней поверхности роговицы, что свидетельствует о целостности ее эпителия и отсутствии зон поражения.

Fig. 2. Slit lamp biomicroscopy of ocular anterior segment of the rabbit using lateral focal blue lightening after the fluorescein staining of the cornea .

a – before ultrasound exposure, b –after ultrasound exposure, homogeneous distribution of contrast on the anterior cornea surface is noted. This test demonstrates the corneal epithelium continuity and the absence of the damage zones.

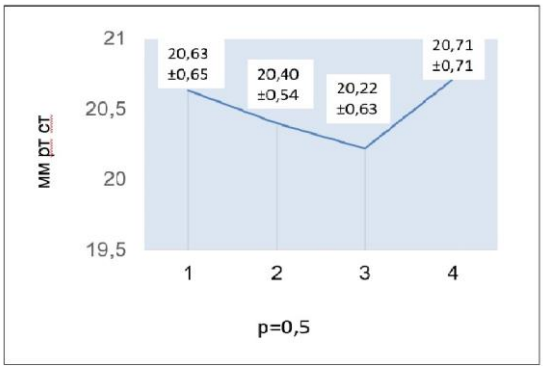

Рис. 3 (Fig. 3)

Рис. 3. График.

Средние показатели внутриглазного давления (мм рт. ст.), полученные методом Маклакова у кроликов до и после воздействия высокоинтенсивного диагностического ультразвука в динамике.

Примечание: контрольная группа – 1; основная группа: 2 – до воздействия ультразвука, 3 – сразу после воздействия, 4 – через 2 недели.

Fig. 3. Graph.

Mean values of intraocular pressure (mm Hg) by Maklakov methods in rabbits before and ultrasound exposure follow up.

Note: the control group – 1; the main group: 2 – before ultrasound exposure, 3 – immediately after ultrasound exposure, 4 – 2 weeks later.

сле акустического воздействия и 411±22 мкм (p≥0,1) через 14 суток (рис. 4). Полученные значения толщины роговицы в центральной зоне у животных основной группы статистически достоверно не отличались от таковых в группе контроля (400±21 мкм, p≥0,73).

Анализ изображений ОКТ заднего отдела глаза в группе контроля и у животных до акустического воздействия позволил четко определить слои сетчатки кролика. Пигментный эпителий визуализировался в виде трех параллельных полос: двух широких гиперрефлективных, между которыми выявлялась тонкая гипорефлективная линия. Слой палочек и колбочек визуализировался в виде гипорефлективной полосы с гиперрефлективной горизонтальной линией сочленения наружных и внутренних сегментов фоторецепторов. Наружная пограничная мембрана определялась как тонкая линия, параллельная линии сочленения фоторецепторов. Наружный ядерный слой на томограмме был представлен в виде тонкой гипорефлективной структуры. Наружный плексиформный слой обладал более высокой рефлективностью, чем наружный ядерный. Снижение рефлективности наблюдалось у внутреннего ядерного слоя. Внутренний плексиформный слой визуализировался в виде полосы высокой рефлективности, разграничивающей внутренний ядерный слой и слой ганглиозных клеток. Далее рефлективность снижа-

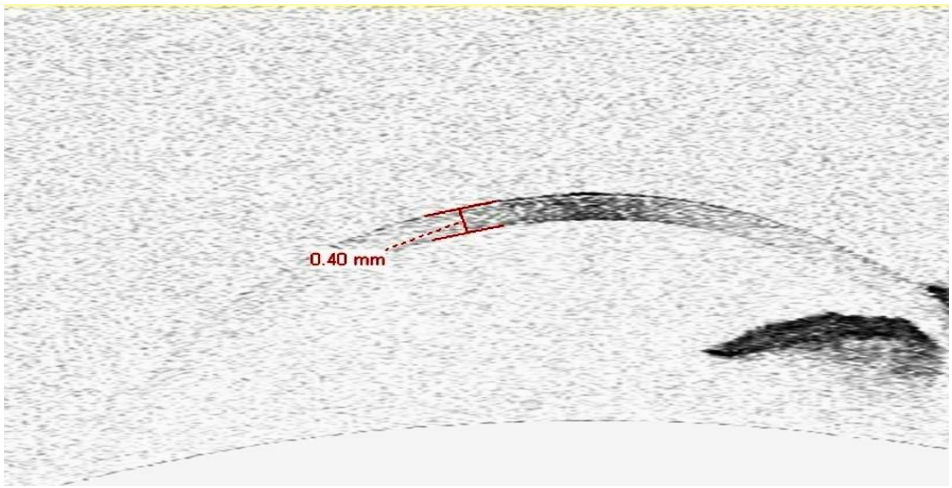

Рис. 4 а (Fig. 4 a)

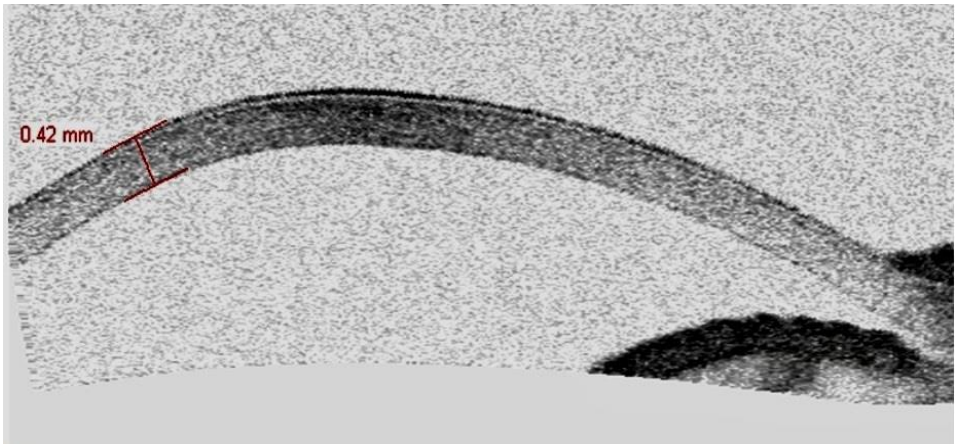

Рис. 4 б (Fig. 4 b)

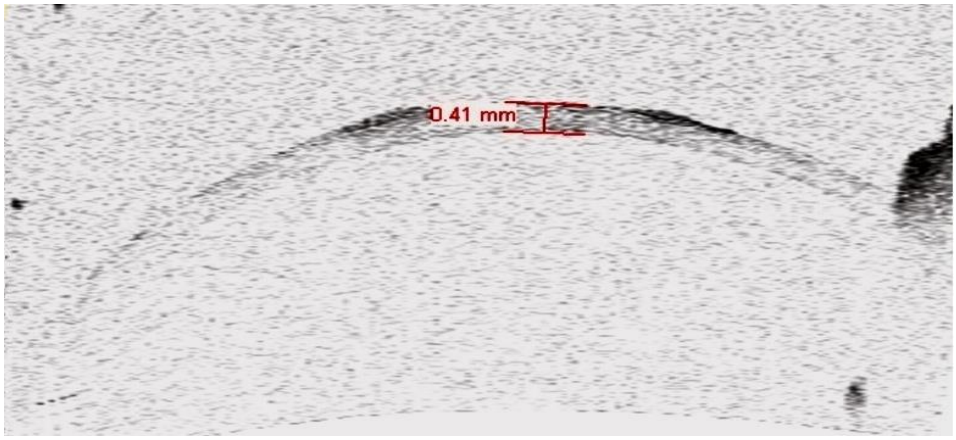

Рис. 4 в (Fig. 4 c)

Рис. 4. Оптическая когерентная томография (ОКТ) переднего отдела глаза кролика с измерением центральной толщины роговицы и оценкой рефлективности ее слоев.

а – до воздействия ультразвука (толщина роговицы – 400 мкм); б – сразу после воздействия ультразвука (420 мкм); в – через 2 недели (410 мкм).

Fig. 4. Optical coherence tomography (OCT) of ocular anterior segment of the rabbit with measurements of central thickness of the cornea and the assessment of the reflectivity of corneal layers .

a – before ultrasound exposure (corneal thickness – 400 mcm); б – immediately after ultrasound exposure (420 mcm); в – 2 weeks later (410 mcm).

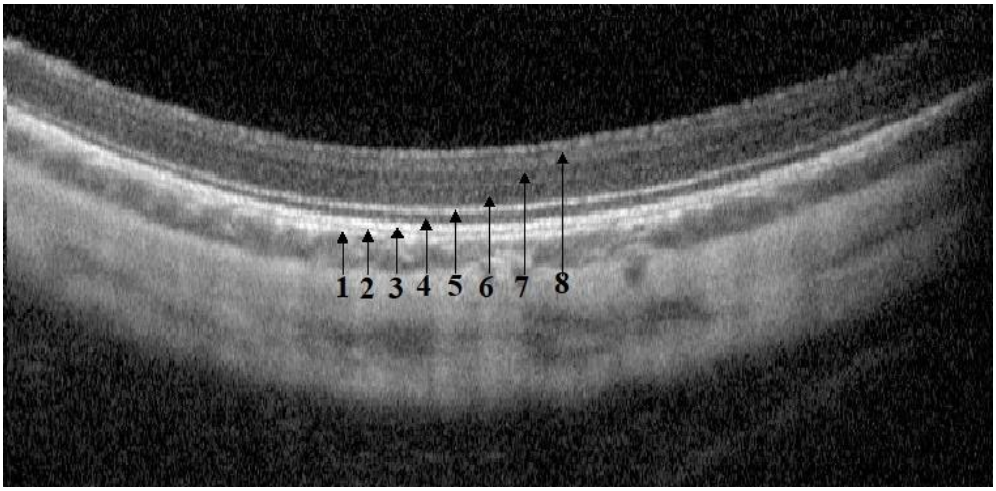

Рис. 5 а (Fig. 5 a)

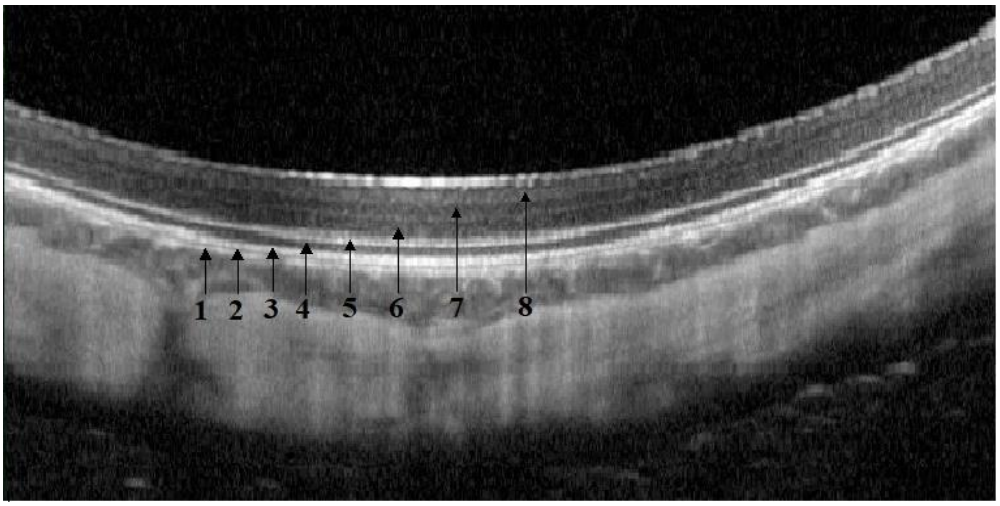

Рис. 5 б (Fig. 5 b)

Рис. 5. ОКТ сетчатки кролика в инфракрасном режиме и режиме Multicolor, визуализируются слои сетчатки.

а – сразу после ультразвукового воздействия, б – через 2 недели: 1 – пигментный эпителий, 2 – слой фоторецепторов, 3 – наружный ядерный слой, 4 – наружный плексиформный слой, 5 – внутренний ядерный слой, 6 – внутренний плексиформный слой, 7 – слой ганглиозных клеток, 8 – слой нервных волокон.

Fig. 5. OCT of rabbit's retina using infrared light and Multicolor method, there are following retinal layers.

a – immediately after ultrasound exposure; b – at 2 weeks after exposure of high acoustic power ultrasound: 1 – retinal pigment epithelium, 2 – photoreceptors, 3 – outer nuclear layer, 4 – outer plexiform layer, 5 – inner nuclear layer, 6 – inner plexiform layer, 7 – ganglion cell layer, 8 – nerve fibre layer.

лась на уровне слоя ганглиозных клеток и вновь повышалась у комплекса нервных волокон и внутренней пограничной мембраны (рис. 5 а).

По данным ОКТ сетчатки после ультразвукового облучения глаз животных основной группы таких признаков повреждения ретинальной ткани, как дефекты и нарушение целостности слоев сетчатки, кровоизлияния, отек, деструкция и дезорганизация нервных волокон выявлено не было (рис. 5 б). Микроструктурные характеристики сетчатки у кроликов в 1-е и 14-е сутки после акустического воздействия полностью соответствовали таковым в исходном состоянии и в группе контроля.

Морфометрическая оценка общей толщины сетчатки проводилась в 300 мкм книзу

Таблица №2. Средние значения толщины слоев сетчатки по данным ОКТ заднего отдела глаза с морфометрической оценкой.

Слои сетчатки	Контрольная группа (мкм)	Основная группа		Степень достоверности (p)
		сразу после воздействия (мкм)	через 14 дней после воздействия (мкм)	
Пигментный эпителий	3,73 ± 1,66	4,74 ± 1,91	3,64 ±2,07	p>0,05
Фотосенсорный слой	29,97 ± 9,15	25,50 ± 6,608	29,25 ± 13,54	p=0,12
Наружный ядерный слой	33,1± 15,73	30,51± 11,94	30,35±10,39	p=0,47
Наружный плексиформный слой	7,02±2,96	7,57±1,81	7,83 ± 3,22	p>0,2
Внутренний ядерный слой	15,8±5,02	13,27±6,44	13,51±6,23	p=0,09
Внутренний плексиформный слой	23,61±5,52	20,75±10,65	22,23±8,327	p=0,14
Слой ганглиозных клеток и нервных волокон	57,8 (95% доверительный интервал 53,4 – 69,3)	52,3 (95% доверительный интервал 35,7 – 62,7)	54,43 (95% доверительный интервал 48,23 – 64,6)	p=0,09
Общая толщина сетчатки	164,7±50,79	165,0±57,96	162,7±40,79	p=0,79

Примечание: n – число глаз; p – достоверность относительно контрольной группы.

от диска зрительного нерва. Анализ результатов морфометрии при проведении ОКТ показал недостоверное изменение средних показателей толщины сетчатки непосредственно после воздействия высокоинтенсивного диагностического ультразвука и через 2 недели по сравнению с исходными данными (164,8±3,61мкм, 163,3±5,2 мкм и 163 ±5,57 мкм соответственно) (p≥0,77) (табл. №2).

Морфологическое исследование ретинальной ткани в ближайшем периоде (40 глаз) и отсроченном периоде (36 глаз) после акустического воздействия показало статистически недостоверные изменения показателей толщины ретинальной ткани. Средние значения морфометрических параметров сетчатки составили 164,7±50,79 мкм в группе контроля, 165,0±57,96 мкм и 162,7±40,79 мкм сразу после воздействия ультразвука и через 2 недели соответственно (рис. 6 а – в).

Корреляционный анализ параметров общей толщины сетчатки кроликов, полученных с помощью двух разных методов исследования – прижизненной оценки заднего отдела глаза методом ОКТ и морфологического исследования с морфометрией, показал наиболее сильную прямую корреляцию между этими показателями в основной группе через 2 недели после акустического воздействия (r=0,99; p<0,01). Средние показатели общей толщины сетчатки по данным этих исследований достоверно не отличались между собой в группе контроля и основной группе в 1-е сутки после ультразвукового воздействия (r=0,78; p=0,03 по результатам ОКТ) и (r=0,86; p<0,01 по результатам морфологии).

Обсуждение.

В последние годы широкое применение новых высокотехнологичных инструментальных методов исследования органа зрения значительно повысило эффективность специализированной офтальмологической помощи. Доказана высокая информативность ультразвуковых исследований (ЦДК, ЭК и ИД) в оценке состояния гемодинамики в сосудах глаза при различных заболеваниях органа зрения [4, 5]. Ультразвуковые допплеровские методы приобретают огромное значение в диагностике и определении тактики лечения сосудистой и опухолевой патологии глаза, витреоретинальных поражений у больных с сахарным диабетом [6, 7]. Однако в офтальмологической клинической практике большинство зарубежных и отечественных специалистов не используют многофункциональные ультразвуковые сканеры для проведения высокотехнологичных допплеровских методов ввиду отсутствия доказательной базы безопасности высокоинтенсивного ультразвука.

С момента внедрения ультразвука в клиническую медицину активно изучались вопросы его воздействия на биологические ткани. Еще на начальном этапе развития метода его безопасность связывали с уровнем интенсивности ультразвуковых волн или акустической мощности [8, 9]. Поэтому, как было выше ука-

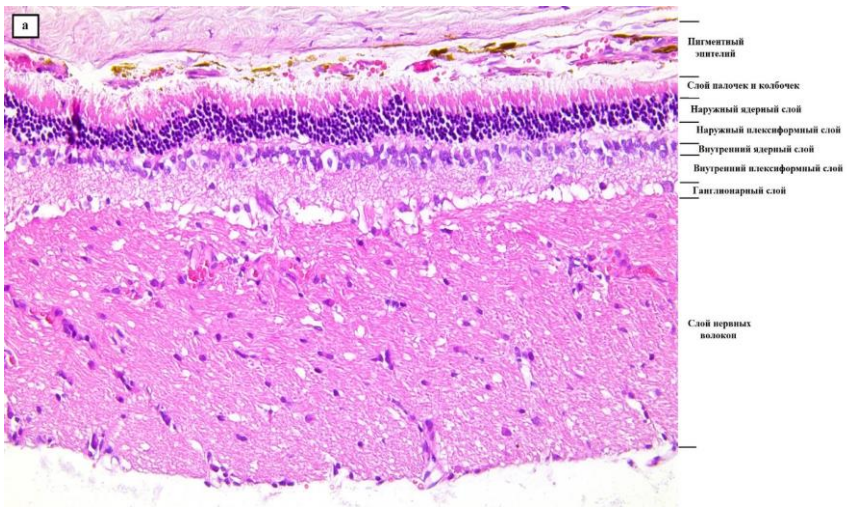

Рис. 6 а (Fig. 6 a)

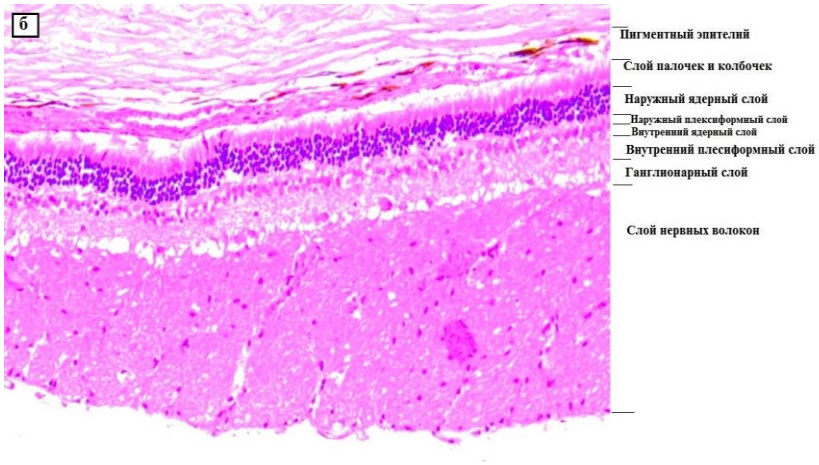

Рис. 6 б (Fig. 6 b)

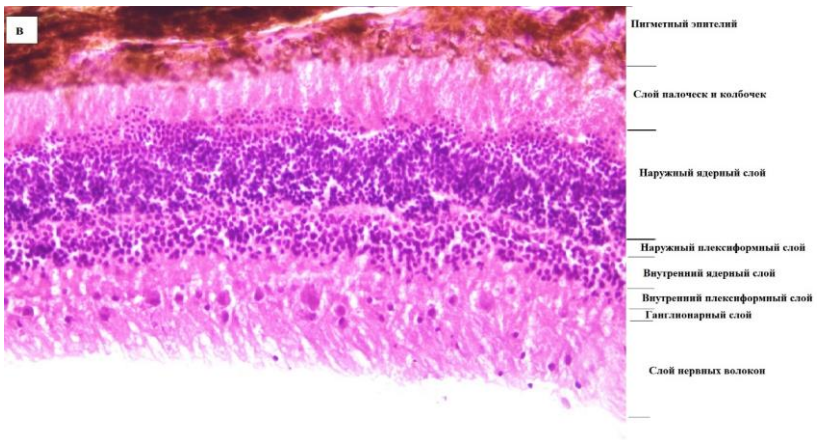

Рис. 6 в (Fig. 6 c)

Рис. 6. Микропрепараты.

Гистологическая картина сетчатки кролика, визуализируются ретинальные слои: а – в группе контроля; б – в основной группе сразу после воздействия ультразвука; в – в основной группе через 2 недели после воздействия ультразвука высокой акустической мощности. Окраска гематоксилином-эозином. Увеличение х 200.

Fig. 6. Microsections.

Histological structure of rabbit's retina; retinal layers are seen: a – control group; b – immediately after ultrasound exposure; c – 2 weeks after exposure of high acoustic power ultrasound. H&E. Zoom x200.

зано, интенсивность диагностического ультразвука ограничивается настолько, насколько возможно обеспечить максимальную информативность исследования при минимизации его повреждающего действия (принцип ALARA) [10].

В литературе имеются лишь единичные сообщения, подтверждающие безопасность проведения УЗИ глазного яблока с использованием высокоинтенсивных акустических сигналов. H.D. Palte et al. изучали морфологические изменения глаз у животных in vivo в эксперименте после длительного акустического воздействия с помощью различных приборов и режимов эхографии. У 8 кроликов глаза подвергали непрерывной инсонации в течение 10 минут, при этом на правый глаз устанавливался трансдьюсер частотой излучения от 4 до 8 МГц с параметрами MI=1,0, TI=0,8, на левый глаз – 40 МГц (MI и TI составляли 0,3). Патоморфологических признаков повреждения тканей оболочек обоих глаз опытных животных в результате исследования выявлено не было [11].

Другие авторы исследовали безопасность проведения соноэластографии сдвиговой волны (ARFI) в эксперименте на 126 крысах. В ходе исследований мощность ультразвукового сигнала (5, 10, 20, 50 и 100%) и кратность исследования (5–10 повторов) варьировали. Для оценки анатомо-функционального состояния органа зрения на 1, 3 и 7-е сутки после акустического воздействия выполняли биомикроскопическое, электрофизиологическое и патоморфологическое исследование тканей глаза. Полученные результаты показали отсутствие каких-либо структурных нарушений со стороны оболочек глазного яблока [12].

Silverman R.H., Lizzi F.L. с соавт. с помощью биомикроскопии показали отсутствие изменений роговицы после воздействия ультразвука частотой 10 МГц и интенсивностью 4 мкДж [13]. В экспериментальной работе К.Э. Слободина было изучено влияние ультразвука частотой 12 МГц и MI = 1,2–1,3 в режимах В-сканирования и ЦДК в течение 30 минут на ткани глаз 15 кроликов. При этом контрольный глаз подвергался воздействию ультразвуковых волн лишь в режиме В-сканирования при MI не более 0,3 на протяжении 10 минут [14]. Через 12–14 часов после ультразвукового воздействия автором было выполнено патоморфологическое исследование оболочек энуклеированных глаз животных, в результате которого структурные изменения оболочек обоих глаз не были обнаружены.

В отличие от предыдущих экспериментальных исследований, нами впервые была проведена морфометрическая оценка состояния сетчатки в динамике после акустического воздействия на глазное яблоко и установлено отсутствие достоверного влияния диагностического ультразвука высокой акустической мощности с MI 0,9-1,0 и TI 1,5-2.0 на толщину ретинальной ткани животных. Кроме того, комплексное обследование переднего отдела глаза, включающее пуппилометрию, окрашивание флюоресцеином роговой оболочки и термометрию поверхности роговицы, которая является бессосудистой структурой с вероятностью ее перегрева при высокоинтенсивном акустическом влиянии, также не выявило структурных повреждений, как в ближайшем, так и отсроченном периоде.

Нами установлено, что воздействие диагностического ультразвука максимальной мощности не вызывает повышения ВГД у животных, не смотря на вероятность кавитационного воздействия ультразвука на влагу передней камеры. Схожие результаты были представлены R. Urs и соавт. в эксперименте на животных в эксперименте на крысах при использовании импульсной допплерографии. Авторы не выявили каких-либо структурных повреждений переднего отдела глаза на всех этапах работы [15].

В нашем эксперименте впервые была выполнена прижизненная оценка микроструктурных характеристик заднего отдела глаза у животных после воздействия ультразвуком и достоверно установлено отсутствие структурных ретинальных изменений в центральной зоне сетчатки.

Таким образом, представленные нами результаты экспериментального исследования, включающего комплекс инструментальных и морфологических методов, позволили оценить влияние диагностического ультразвука высокой акустической мощности на ткани глаза и определить отсутствие повреждения структур переднего и заднего отделов глаза в ближайшем и отсроченном периоде после его воздействия. Согласно нашим данным, интенсивность ультразвука, используемая при выполнении УЗИ глаза и орбиты с оценкой кровотока, значительно ниже таковой, которая может вызвать повреждение оптических сред глаза и тканей сетчатки.

Выводы.

1. На основании результатов экспериментального исследования на кроликах in vivo впервые доказано, что высокоинтенсивный диагностический ультразвук (MI 0,9-1,2; TI 1,5-2.0, Ispta.3 50 мВт/см2) не оказывает влияния на офтальмотонус, температуру роговицы, состояние зрачков и не вызывает структурных изменений переднего и заднего отделов глаза в ближайшем и отсроченном периоде после акустического воздействия.

2. Учитывая отсутствие негативного

влияния высокоинтенсивного диагностического ультразвука на оптические среды и оболочки глаза в эксперименте, необходимо проведение дальнейших исследований по корректировке индексов акустической мощности, рекомендованных FDA (Food and Drug Administration – Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств) в 1997 г. для проведения ультразвуковых исследований в офтальмологии.

Источник финансирования и конфликт интересов.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования и конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

Список литературы:

1. Чепурина А.А., Свириденко Н.Ю., Ремизов О.В., Беловалова И. М. Визуализирующие методы исследования в диагностике эндокринной офтальмопатии. Медицинская визуализация. 2012; 1: 36-44.

2. Любавска В., Белдовская Н.Ю., Новиков С.А., Зубарева А.А., Шавгулидзе М.А. Лучевые методы диагностики патологии слезоотводящих путей. Офтальмологические ведомости. 2017; 10 (3): 35-45.

3. Guidance for Industry and FDA staff.: information for manufacturers seeking marketing clearance of diagnostic ultrasound systems and transducers – USA: Silver Spring, 2008. 64 p.

4. Киселева Т.Н., Бедретдинов А.Н. Эхоконтрастирование в диагностике патологии органа зрения: перспективы применения. Офтальмология. 2021; 18 (2): 216-221. DOI:10.18008/1816-5095-2021-2-216-221

5. Singh A.D. Ophthalmic Ultrasonography. Philadelphia, Elsevier/Saunders, 2012. 272 p.

6. Harris G.R. Safety considerations for diagnostic ultrasound in the eye. J. Ultrasound Med. 2019; 38: 1163-1165. DOI: 10.1002/jum.14977

7. Skidmore C., Saurey T., Ferre R.M., Rodriguez-Brizuela R., Spaulding J., Lundgreen Mason N. A Narrative Review of Common Uses of Ophthalmic Ultrasound in Emergency Medicine. J Emerg Med. 2021; 60(1): 80-89. DOI: 10.1016/j.jemermed.2020.08.003.

8. Фридман Ф.Е. Ультразвук в офтальмологии. Москва, Медицина, 1989. 256 с.

9. Насникова И. Ю. Пространственная ультразвуковая диагностика заболеваний глаза и орбиты. Клиническое руководство. Москва, Изд-во Рос. акад. мед. наук, 2004. 174 с.

10. Moyano D.B., Paraiso D.A., González-Lezcano R.A. Possible Effects on Health of Ultrasound Exposure, Risk Factors in the Work Environment and Occupational Safety Review. Healthcare (Basel). 2022; 10 (3): 423. DOI: 10.3390/healthcare10030423.

11. Palte H.D., Gayer S., Arrieta E., Scot Shaw E., Nose I., Lee E. et al. Are ultrasound-guided ophthalmic blocks injurious to the eye? A comparative rabbit model study of two ultrasound devices evaluating intraorbital thermal and structural changes. Anesth. Analg. 2012; 115 (1): 194-201. DOI: 10.1213/ANE.0b013e318253622e.

12. Zha L, Chen K.Q., Zheng X.Z., Wu J. The safety and feasibility of diagnostic acoustic radiation force impulse elastography used for eyes. A preliminary in vivo study. Med Ultrason. 2017; 19 (2): 185-189. DOI: 10.11152/mu-996.

13. Silverman R.H., Lizzi F.L., Ursea B.G., Cozzarelli L., Ketterling J.A., Deng C.X., Folberg R., Coleman D.J.Safety levels for exposure of cornea and lens to very high-frequency ultrasound. Ultrasound Med Biol. 1987; 13 (10): 607-18.

14. Слободин К.Э. Лучевая диагностика повреждений глаз: Руководство для врачей. Спб., СпбМАПО, 2007. 144 с.

15. Urs R., Ketterling J.A., Silverman R.H. Ultrafast Ultrasound Imaging of Ocular Anatomy and Blood Flow. Invest. Ophthalmol.Vis. Sci. 2016; 57 (8): 3810-6. DOI: 10.1167/iovs.16-19538.

References:

1. Chepurina A.A., Sviridenko N.Yu., Remizov O.V., Belovalova I. M. Imaging research methods in the diagnosis of endocrine ophthalmopathy. Medical imaging. 2012; 1: 36-44 (in Russian).

2. Lyubavska V., Beldovskaya N.Yu., Novikov S.A., Zubareva A.A., Shavgulidze M.A. Radiation methods for diagnosing the pathology of the lacrimal ducts. Ophthalmological statements. 2017; 10 (3): 35-45 (in Russian).

3. Guidance for Industry and FDA staff.: information for manufacturers seeking marketing clearance of diagnostic ultrasound systems and transducers – USA: Silver Spring, 2008. 64 p.

4. Kiseleva T.N., Bedretdinov A.N. Echocontrasting in the diagnosis of pathology of the organ of vision: prospects for application. Ophthalmology. 2021; 18 (2): 216-221 (in Russian). DOI:10.18008/1816-5095-2021-2-216-221

5. Singh A.D. Ophthalmic Ultrasonography. Philadelphia, Elsevier/Saunders, 2012. 272 p.

6. Harris, G.R. Safety considerations for diagnostic ultrasound in the eye. J. Ultrasound Med. 2019; 38: 1163-1165. DOI: 10.1002/jum.14977

7. Skidmore C., Saurey T., Ferre R.M., Rodriguez-Brizuela R., Spaulding J., Lundgreen Mason N. A Narrative Review of Common Uses of Ophthalmic Ultrasound in Emergency Medicine. J Emerg Med. 2021; 60 (1): 80-89. DOI: 10.1016/j.jemermed.2020.08.003.

8. Fridman F.E. Ultrasoundinophthalmology. Moscow: Medicina, 1989. 256 p. (in Russian).

9. Nasnikova I. Yu. Spatial ultrasound diagnostics of diseases of the eye and orbit. Clinical guide. Moscow, Russian Academy of Medical Sciences, 2004. 174 p. (in Russian).

10. Moyano D.B., Paraiso D.A., González-Lezcano R.A. Possible Effects on Health of Ultrasound Exposure, Risk Factors in the Work Environment and Occupational Safety Review. Healthcare (Basel). 2022; 10 (3): 423. DOI: 10.3390/healthcare10030423.

11. Palte H.D., Gayer S., Arrieta E., Scot Shaw E., Nose I., Lee E. et al. Are ultrasound-guided ophthalmic blocks injurious to the eye? A comparative rabbit model study of two ultrasound devices evaluating intraorbital thermal and structural changes. Anesth. Analg. 2012; 115 (1): 194-201. DOI: 10.1213/ANE.0b013e318253622e.

12. Zha L, Chen K.Q., Zheng X.Z., Wu J. The safety and feasibility of diagnostic acoustic radiation force impulse elastography used for eyes. A preliminary in vivo study. Med Ultrason. 2017; 19 (2): 185-189. DOI: 10.11152/mu-996.

13. Silverman R.H., Lizzi F.L., Ursea B.G., Cozzarelli L., Ketterling J.A., Deng C.X., Folberg R., Coleman D.J.Safety levels for exposure of cornea and lens to very high-frequency ultrasound. Ultrasound Med Biol. 1987; 13 (10): 607-18.

14. Slobodin K.E. Radiation diagnosis of eye injuries: A guide for doctors. St. Petersburg: SPbMAPO, 2007. 144 p. (in Russian).

15. Urs R., Ketterling J.A., Silverman R.H. Ultrafast Ultrasound Imaging of Ocular Anatomy and Blood Flow. Invest. Ophthalmol.Vis. Sci. 2016; 57 (8): 3810-6. DOI: 10.1167/iovs.16-19538.