

УДК 616.36-006-002-031.84-073.755.4:546.226'161

DOI 10.20538/1682-0363-2017-1-101-107

Для цитирования: Фомина С.В., Завадовская В.Д., Чурин А.А., Юсубов М.С. Экспериментальная апробация нового эхоконтрастного препарата на основе гексафторида серы в диагностике очаговых образований печени воспалительного генеза. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (1): 101–107

## Экспериментальная апробация нового эхоконтрастного препарата на основе гексафторида серы в диагностике очаговых образований печени воспалительного генеза

Фомина С.В.<sup>1</sup>, Завадовская В.Д.<sup>1</sup>, Чурин А.А.<sup>2</sup>, Юсубов М.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

<sup>2</sup> НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга (НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга),  
Томский национальный исследовательский медицинский центр (ТНИМЦ) Российской академии наук (РАН)  
Россия, 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3

### РЕЗЮМЕ

**Цель исследования.** Экспериментальная апробация нового отечественного эхоконтрастного препарата (ЭКП) на основе гексафторида серы в диагностике очаговых образований печени воспалительного генеза.

**Материал и методы.** Исследуемый эхоконтрастный препарат представлял собой гетерогенную систему «газ – жидкость», состоящую из микропузырьков слаборастворимого газа гексафторида серы (SF<sub>6</sub>), окруженных гибкой мобильной мембраной из поверхностно-активных веществ. Экспериментальная работа проведена на кроликах. Исследуемая группа включала кроликов самцов и самок с очаговым поражением печени воспалительного генеза ( $n = 12$ ) массой 1500–1700 г. ЭКП вводили животным в ушную вену. Очаговые поражения печени у животных создавали в условиях экспериментальной операционной лаборатории. Через 14 сут после операции всем животным проводили ультразвуковое исследование (УЗИ) зоны оперативных вмешательств на сканерах Toshiba Aplio 400 (Япония) конвексным датчиком частотой 3,5–8 МГц. При нативном исследовании проводили оценку размеров, структуры и экзогенности очага, определяли степень васкуляризации, ровность и четкость контуров. При постконтрастном УЗИ регистрировали время начала контрастного усиления, общую длительность контрастирования, оценивали изменения контрастного усиления очага в разные фазы исследования, измеряли размеры очага, оценивали ровность и четкость контуров. Для гистологического исследования использовали фрагменты печени (в непосредственной близости от инородного тела и на удалении от него) и легких.

**Результаты.** Продемонстрирована высокая специфическая эффективность отечественного ЭКП, что подтверждается контрастным усилением, которое регистрировалось с 3–6-й с и длилось 3–4 мин у всех животных. Очаговые образования печени воспалительного генеза (абсцессы) визуализировались у всех животных как неконтрастные на протяжении фаз исследования (артериальная, порталная, поздняя), с неоднородной аваскулярной структурой, с гиперэхогенным ободком, что соответствует их патоморфологической структуре.

**Ключевые слова:** ультразвуковая диагностика, эхоконтрастные препараты, микропузырьки, пофазное контрастирование, акустическое сопротивление, очаговые образования.

✉ Фомина Светлана Викторовна, e-mail: statfom@mail.ru.

## ВВЕДЕНИЕ

Ультразвуковое исследование является частью современной лучевой диагностики. В отечественной клинической медицине эхография относится к наиболее широко используемым методам визуализации [1, 2]. Использование контрастных препаратов при ультразвуковом исследовании широко распространено в мировой клинической практике [3–12]. Использование ультразвуковых контрастных препаратов в условиях применения современного оборудования позволяет выявлять патологический очаг размером от 5 мм, значительно повышая уровень диагностической точности ультразвукового исследования [7, 12].

Принцип повышения качества изображения при использовании ультразвуковых контрастных препаратов состоит во введении в кровь пациента суспензии, содержащей микропузырьки, которые усиливают рассеивание ультразвуковых волн и увеличивают чувствительность метода в регистрации магистрального и органного кровотока. В состав микропузырька входит слабо растворимый газ, стабилизированный мембраной из фосфолипидов. К данному комплексу предъявляют ряд требований: размер до 10 мкм, стабильность состояния, отсутствие возможности образования конгломератов и безопасность для пациента [3–5].

В настоящее время использование в отечественной клинической практике искусственного контрастирования при ультразвуковом исследовании не нашло широкого применения. Поэтому создание отечественных ультразвуковых контрастных препаратов актуально для диагностического алгоритма заболеваний различных органов и систем.

Цель исследования – экспериментальная апробация нового отечественного эхоконтрастного препарата на основе гексафторида серы в диагностике очаговых образований печени воспалительного генеза.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследуемый эхоконтрастный препарат (ЭКП) представлял собой гетерогенную систему «газ – жидкость», состоящую из микропузырьков слабо растворимого газа гексафторида серы (SF<sub>6</sub>), окруженных гибкой мобильной мембраной из поверхностно-активных веществ [7]. В качестве стерильной среды использовался физиологический раствор.

Работа включала исследование специфической активности ЭКП в эксперименте на животных.

Оценку контрастного усиления проводили с использованием специальной опции Contrast Harmonic Imaging (СНІ) с фиксированием длительности контрастирования.

Экспериментальная работа проведена на кроликах. Исследуемая группа включала кроликов самцов и самок с очаговым поражением печени воспалительного генеза ( $n = 12$ ) массой 1500–1700 г. ЭКП вводили животным в ушную вену.

Очаговые поражения печени у животных создавали в условиях экспериментальной операционной лаборатории. Оперативное вмешательство проводилось под наркозом с использованием препарата «Золетил 100», вводимого из расчета 7–25 мг/кг. Выполнялась верхне-срединная лапаротомия с ревизией органов брюшной полости и травматизацией ткани печени путем внедрения в ткань инородного тела и формированием абсцесса. В качестве способа формирования абсцесса печени за основу была взята известная модель (М.С. Арикьянц, А.Г. Тышко, А.Ф. Макеев и Л.Н. Вольнец, Патент SU 1518827). Рана в печени не ушивалась. Передняя брюшная стенка ушивалась послойно наглухо. В качестве инородного тела кроликам внедряли ватный шарик, пропитанный *B. fragilis* в дозе  $0,5 \times 10^9$  микробных тел в 1 мл и *E. coli* в дозе  $0,5 \times 10^8$  микробных тел в 1 мл (рис. 1, 2). Через 14 сут после операции всем животным проводили ультразвуковое исследование зоны оперативных вмешательств.



Рис. 1. Формирование очаговых образований в печени кролика

Ультразвуковое исследование (УЗИ) проводили на сканерах Toshiba Aplio 400 (Япония) конвексным датчиком частотой 3,5–8 МГц в В-режиме и с использованием опции СНІ. При нативном исследовании проводили оценку размеров, структуры и эхогенности очага, определяли степень васкуляризации, ровность и четкость контуров.



Рис. 2. Формирование очаговых образований в печени кролика (внедрение в ткань печени микробного инородного тела)

При постконтрастном УЗИ регистрировали время начала контрастного усиления, общую длительность контрастирования, оценивали изменения контрастного усиления очага в артериальную (10–35 с), портальную (35–120 с) и позднюю (более 120 с) фазы исследования, измеряли размеры очага, оценивали ровность и четкость контуров. Выведение животных из эксперимента проводили методом декапитации под эфирным наркозом через 14 сут после операции. Для гистологического исследования использовали фрагменты печени (в непосредственной близости от инородного тела и на удалении от него) и легких. Материал фиксировали в 10%-м растворе формалина, обезвоживали в изопропанолу и заливали в парафиновую смесь. Из парафиновых блоков на микротоме готовили срезы толщиной 5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Статистический анализ выполнен в пакете программ Statistica 6.0. Для описания количественных показателей вычисляли среднее значение ( $X$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При нативном УЗИ печени кроликов очаговые образования визуализировались как изоэхогенные, размером 15–31 мм, с разнородной структурой, кровоток у большинства не регистрировался, контуры имели неровный и нечеткий характер (рис. 3). После введения ЭКП факт контрастного усиления регистрировался с 3–6-й с, достигал максимальной интенсивности к 20-й с. Общее время контрастного усиления ЭКП составило при однократном введении 3–4 мин.

В артериальную фазу (10–35 с) отмечалась нечеткая визуализация очаговых образований на фоне нарастающей контрастности печени (рис. 4).

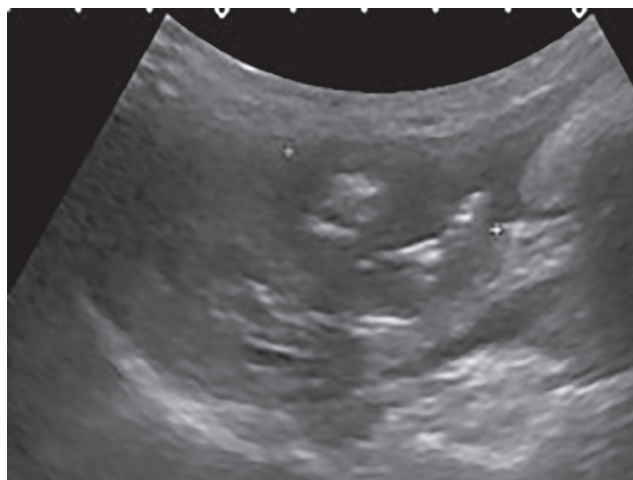


Рис. 3. Эхограмма ткани печени до введения отечественного ЭКП

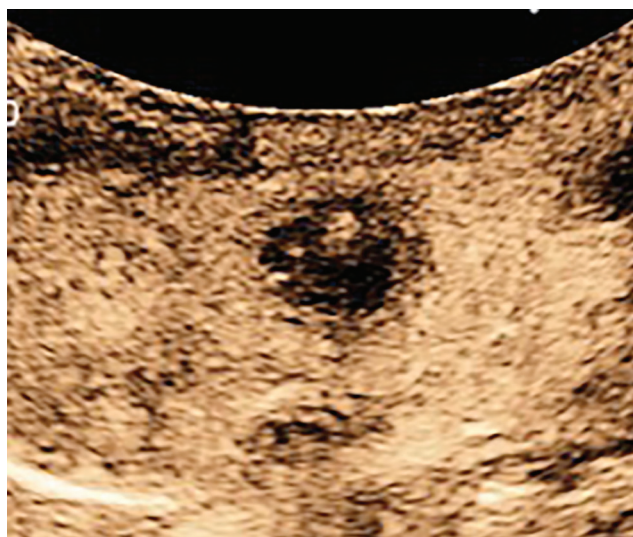


Рис. 4. Эхограмма ткани печени кролика после введения ЭКП, артериальная фаза (15-я с)

В портальную фазу (35–120 с) очаговые образования отчетливо визуализировались как гипоэхогенные (неконтрастные) на фоне высокой контрастности окружающей печени (рис. 5). В позднюю фазу (более 120 с) сохранялась хорошая визуализация очаговых неконтрастных образований на фоне снижающейся контрастности печени (рис. 6). Размер их составил 13–34 мм, у самок размер очага был несколько меньше, чем у самцов, но различия были недостоверны (таблица).

Структура очагов неоднородная, аваскулярная с наличием жидкостного компонента и солидных участков. По периферии образований визуализировался гиперэхогенный ободок на протяжении всех фаз контрастирования (артериальная, портальная, поздняя), обусловленный зоной грануляции (см. рис. 4–6).

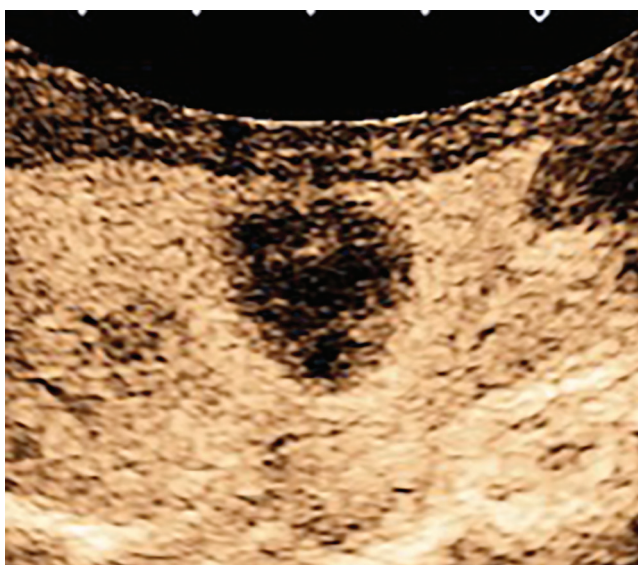


Рис. 5. Эхограмма ткани печени кролика после введения ЭКП, портальная фаза (50-я с)



Рис. 6. Эхограмма ткани печени кролика после введения ЭКП, поздняя фаза (210-я с)

Контуры приобрели четкий неровный вид. Видимая картина соответствовала образованиям воспалительного генеза (абсцессам). При вскрытии животных в печени определялись овальной формы абсцессы, окруженные толстой фиброзной капсулой розовато-белесоватого цвета размером 1,3–3 см. В просвете абсцессов содержались белесоватые творожистые массы и фрагменты ваты (рис. 7, 8). В подлежащей паренхиме отмечалась зернистая дистрофия гепатоцитов, в единичных полях зрения встречались мелкоочаговые лимфоцитарные инфильтрации (рис. 9). Макроскопическое исследование остальных внутренних органов не выявило какой-либо патологии.

Т а б л и ц а

Размер воспалительного очага (УЗИ, В-режим) и показатели контрастирования, 14-е сут после индукции воспалительного очага				
№ животного	Очаговое образование		ЭКП	
	Размер, мм	Средний диаметр (В-режим), мм	Время начала контрастирования, с	Общее время контрастирования, с
1	18 x 16	17	5	210
2	30 x 22	26	6	180
3	19 x 18	18,5	4	196
4	29 x 26	27,5	3	227
5	22 x 15	17,5	3	185
6	44 x 18	31	6	190
7	16 x 14	15	4	185
8	13 x 10	11,5	4	215
9	35 x 16	25,5	6	230
10	35 x 12	23,5	4	185
11	44 x 18	31	3	237
12	16 x 14	15	3	220

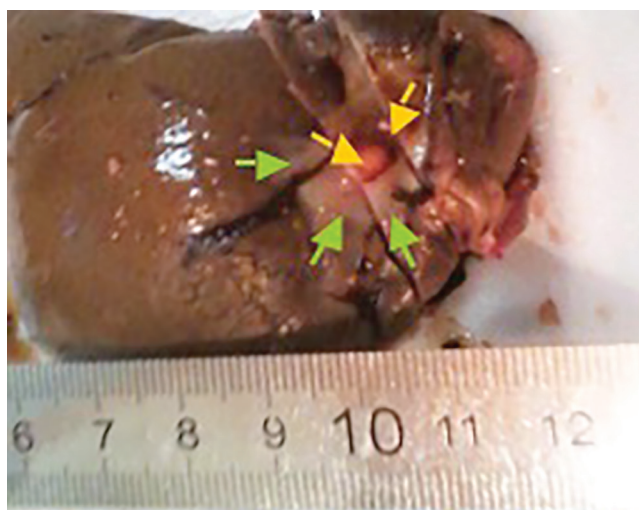


Рис. 7. Макропрепарат правой доли печени: желтыми стрелками указано подкапсульное образование, зелеными – утолщение капсулы печени

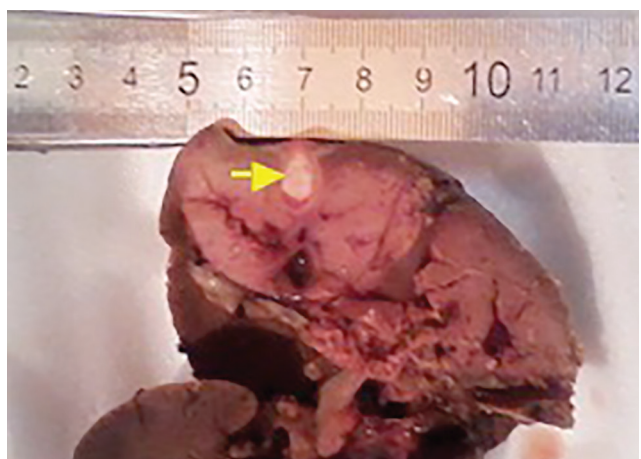


Рис. 8. Макропрепарат правой доли печени на разрезе: стрелкой указано подкапсульное образование

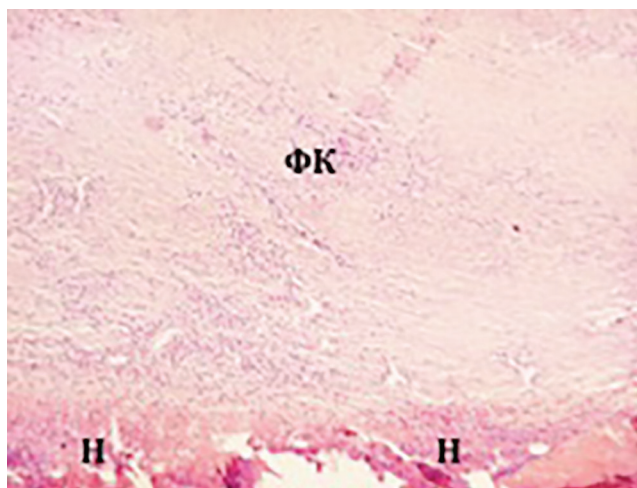


Рис. 9. Фиброзно измененная капсула (ФК) печени в области абсцесса (Н – некротические массы). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 100

Для описания данных групп самцов и самок использовали показатели – средний размер очага, время начала контрастирования, общее время контрастирования (см. таблицу). У всех животных введение ЭКП диагностировало наличие очагового образования воспалительного генеза (абсцесса). Все очаговые образования верифицированы морфогистологически как абсцессы.

В результате проведенного исследования была продемонстрирована высокая специфическая эффективность отечественного ЭКП на примере диагностики очаговых образований воспалительного генеза, что подтверждается контрастным усилением, которое регистрировалось с 3–6-й с и длилось 3–4 мин у всех животных. Очаговые образования печени воспалительного генеза (абсцессы) визуализировались у всех животных как неконтрастные на протяжении фаз исследования (артериальная, портальная, поздняя), с неоднородной аваскулярной структурой, с гиперэхогенным ободком, что соответствует их патоморфологической структуре.

## ВЫВОДЫ

1. Показана высокая эффективность ЭКП в диагностике очаговых образований воспалительного генеза у экспериментальных животных.

2. Очаговые образования печени воспалительного генеза при введении ЭКП визуализируются как неконтрастные на протяжении всего исследования, с неоднородной аваскулярной структурой, с гиперэхогенным ободком, что соответствует их патоморфологической структуре.

3. Полученные данные обосновывают и создают предпосылки работы в направлении создания отечественных ультразвуковых контрастных препаратов для клинической практики.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Все авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Финансирование научной работы проводилось согласно ГК № 14.N08.12.0027.

## СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Содержание животных и экспериментальное исследование осуществлялось в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986); Приказом МЗ РФ № 708 Н от 28 августа 2010 г.; ГОСТ Р 53434 – 2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики»; со ст. 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»; «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (Москва, 2012).

Протокол исследования соответствовал этическим принципам и нормам проведения биомедицинских исследований с участием животных. Протокол исследования одобрен этическим комитетом СибГМУ, рег. № 1400, дата заседания 21.06.2010 г.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Митьков В.В. Практическое руководство по ультразвуковой диагностике. Общая ультразвуковая диагностика: учеб. для вузов. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Видар, 2011: 720.
2. Ультразвуковая диагностика сосудистых заболеваний: учеб.-метод. пособие / В.П. Куликов, Л.Э. Шульгина, М.А. Дическул и др. М.: Стром, 2011: 512.
3. Greis C. Contrast-enhanced ultrasound in general imaging. Italia, Springer-Verlag, 2005: 326.
4. Quasia E. Microbubbleultrasound contrast agents: an update // *Eur. Radiol.* 2007; 17 (8): 1995–2008.
5. Lencioni R. Enhancing the Role of Ultrasound with Contrast Agents. Italia, Springer-Verlag, 2009: 378.
6. Atri M., Gertner M.R., Haider M.A. et al. Contrast-Enhanced ultrasonography for real-time monitoring of interstitial laser thermal therapy in the focal treatment of prostate cancer // *CUAJ.* 2009; 3: 38–44.
7. Badea A.F., Tamas-Szora A., Clichici S. Contrast enhanced ultrasonography (CEUS) in the characterization of tumor microcirculation. Validation of the procedure in the animal experimental model // *Med. Ultrason.* 2013. 15 (2): 85–94.
8. Takada H., Tsuchiya K., Yasui Y. et al. Comparison of contrast-enhanced ultrasound and gadolinium-ethoxybenzyl-diethylenetriamine pentaacetic acid-enhanced MRI for

- the diagnosis of macroscopic type of hepatocellular carcinoma // *Cancer Med.* 2016. 5 (11): 3111–3120.
9. Ueda N., Nagira H., Sannomiya N. et al. Contrast-enhanced ultrasonography in evaluation of the therapeutic effect of chemotherapy for patients with liver metastases // *Yonago Acta Med.* 2016; 26: 255–261.
10. Pfister K., Rennert J., Uller W. et al. Contrast harmonic imaging ultrasound and perfusion imaging for surveillance after endovascular abdominal aneurysm repair regarding detection and characterization of suspected endoleaks // *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009; 43: 119–128.
11. Dong Y., Wang W.P., Mao F. et al. Contrast enhanced ultrasound features of hepatic cystadenoma and hepatic cystadenocarcinoma // *Gastroenterol.* 2017; 52 (3): 365–372.
12. Streba C.T., Ionescu M., Gheonea D.I. et al. Contrast-enhanced ultrasonography parameters in neural network diagnosis of liver tumors // *World J Gastroenterol.* 2012; 18 (32): 4427–4434.

Поступила в редакцию 17.11.2016

Утверждена к печати 19.12.2016

Фомина Светлана Викторовна, врач отделения ультразвуковой диагностики, СибГМУ, г. Томск.

Завадовская Вера Дмитриевна, д-р мед. наук, профессор кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии, СибГМУ, г. Томск.

Чуринов Алексей Александрович, д-р мед. наук, зав. отделением лекарственной токсикологии, НИИФирм им. Е.Д. Гольдберга, ТНИМЦ РАН, г. Томск.

Юсубов Мехман Сулейманович, д-р хим. наук, профессор кафедры химии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Фомина Светлана Викторовна, e-mail: statfom@mail.ru

УДК 616.36-006-002-031.84-073.755.4:546.226'161

DOI 10.20538/1682-0363-2017-1-101-107

For citation: Fomina S.V., Zavadovskay V.D., Churin A.A., Jusubov M.S. Experimental approbation of a new ultrasound contrast agent based on sulfur hexafluoride in diagnostics of focal liver lesions of inflammatory genesis. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2017; 16 (1): 101–107

## Experimental approbation of a new ultrasound contrast agent based on sulfur hexafluoride in diagnostics of focal liver lesions of inflammatory genesis

Fomina S.V.<sup>1</sup>, Zavadovskay V.D.<sup>1</sup>, Churin A.A.<sup>2</sup>, Jusubov M.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Siberian Medical State University (SSMU)

2, Moscow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup>Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named E.D. Goldberg, Tomsk National Research Medical Center (TNRMC), Russian Academy of Sciences (RAS)

3, Lenina, Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

**Purpose of the study.** Experimental approbation of a new domestic ultrasound contrast agent (UCA) based on sulfur hexafluoride in the diagnosis of focal liver lesions of inflammatory genesis.

**Materials and methods.** The investigated ultrasound contrast agent (UCA) was a heterogeneous gas-liquid system consisting of micro bubbles of a sparingly soluble gas of sulfur hexafluoride (SF<sub>6</sub>) surrounded by a flexible mobile membrane of surfactants. Experimental work was carried out on rabbits. The study group included rabbits of males and females with focal liver lesion of inflammatory genesis ( $n = 12$ ) weighing 1500–1700 g. UCA was administered to animals in the ear vein. Focal lesions of the liver in animals were created in the experimental laboratory conditions. 14 days after the operation, all animals were subjected to ultrasound examination of the surgical intervention zones by using the Toshiba Aplio 400 scanners (Japan) with a 3,5–8

MHz convection sensor. In a natural study, the size, structure and echogenicity of the focus were assessed, the degree of vascularization, the evenness and clarity of the contours were determined. When performing post contrast ultrasound, the time of the onset of contrast enhancement, the total duration of contrast, the changes in the contrast enhancement of the focus in different phases of the study were measured, the dimensions of the focus were measured, and the evenness and acuity of contours were measured. For histological examination, liver fragments and lungs were used.

**Key words:** ultrasound diagnosis, echocontrast preparations, microbubbles, phasic contrasting, acoustic resistance, focal formations.

#### REFERENCES

1. Mitkov V.V. *Prakticheskoye rukovodstvo po ul'trazvukovoy diagnostike. Obshchaya ul'trazvukovaya diagnostika: ucheb. dlya vuzov* [Practical guidance on ultrasound diagnostics. General ultrasound diagnosis: textbook for universities]. M.: Vidar. Publ., 2011: 720 (in Russian).
2. Kulikov V.P., Shul'gina L.E., Dicheskul M.L. i dr. *Ul'trazvukovaya diagnostika sosudistykh zabolevaniy: ucheb.-metod. posobiye* [Ultrasonic diagnostics of vascular diseases: a teaching method]. M.: Strom Publ., 2011: 512 (in Russian).
3. Greis C. *Contrast-Enhanced Ultrasound in General Imaging*. Italia, Springer-Verlag, 2005: 326.
4. Quasia E. Microbubbleultrasound contrast agents: an update. // *Eur. Radiol.* 2007; 17 (8): 1995–2008.
5. Lencioni R. *Enhancing the Role of Ultrasound with Contrast Agents*. Italia, Springer-Verlag, 2009: 378.
6. Atri M., Gertner M.R., Haider M.A. et al. Contrast-Enhanced Ultrasonography for Real-time Monitoring of Interstitial Laser Thermal Therapy in the Focal Treatment of Prostate Cancer // *CUAJ*. 2009; 3: 38–44.
7. Badea A.F., Tamas-Szora A., Clichici S. Contrast enhanced ultrasonography (CEUS) in the characterization of tumor microcirculation. Validation of the procedure in the animal experimental model // *Med. Ultrason.* 2013. 15 (2): 85–94.
8. Takada H., Tsuchiya K., Yasui Y. et al. Comparison of contrast-enhanced ultrasound and gadolinium-ethoxybenzyl-diethylenetriamine pentaacetic acid-enhanced MRI for the diagnosis of macroscopic type of hepatocellular carcinoma // *Cancer Med.* 2016. 5 (11): 3111–3120.
9. Ueda N., Nagira H., Sannomiya N. et al. Contrast-enhanced ultrasonography in evaluation of the therapeutic effect of chemotherapy for patients with liver metastases // *Yonago Acta Med.* 2016; 26: 255–261.
10. Pfister K., Rennert J., Uller W. et al. Contrast harmonic imaging ultrasound and perfusion imaging for surveillance after endovascular abdominal aneurysm repair regarding detection and characterization of suspected endoleaks // *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009; 43: 119–128.
11. Dong Y., Wang W.P., Mao F. et al. Contrast enhanced ultrasound features of hepatic cystadenoma and hepatic cystadenocarcinoma // *Gastroenterol.* 2017; 52 (3): 365–372.
12. Streba C.T., Ionescu M., Gheonea D.I. et al. Contrast-enhanced ultrasonography parameters in neural network diagnosis of liver tumors // *World J Gastroenterol.* 2012; 18 (32): 4427–4434.

Received November 17.2016

Accepted December 19.2016

Fomina Svetlana V., Doctor of the Department Ultrasonic Diagnosis, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Zavadovskaya Vera D., DM, Professor, Department of Radiation Diagnostics and Radiation Therapy, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

Churin Aleksey A., DM, Head of the Department of Drug Toxicology, Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named E.D. Goldberg, TNRMС, RAS, Tomsk, Russian Federation.

Jusubov Mehman S., DChS, Professor of the Department of Chemistry, SSMU, Tomsk, Russian Federation.

(✉) Fomina Svetlana V., e-mail: statfom@mail.ru