



ISSN 2410- 5155 (Online), ISSN 2311- 4495 (Print)

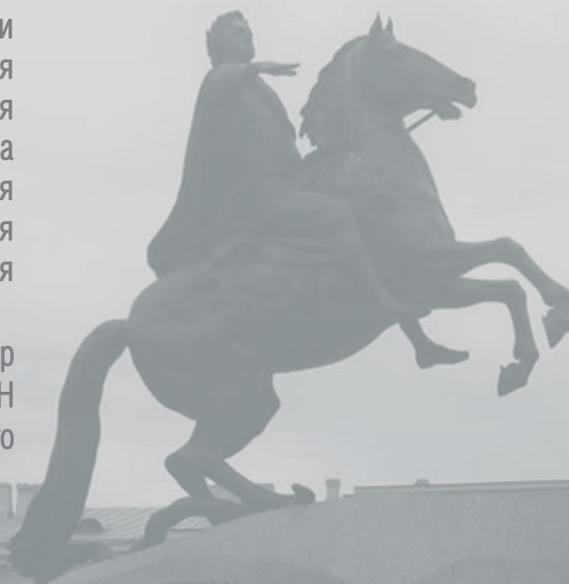
Трансляционная Медицина Translational Medicine

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

том 11 № 5 / 2024

Фундаментальная медицина
Сердечно-сосудистые заболевания
Эндокринология
Нейронауки
Педиатрия и детская хирургия
Неонатология
Лучевая диагностика
Акушерство и гинекология
Онкология
Гематология

Главный редактор
Академик РАН
Е.В. Шляхто



ПЕТРУ ПЕРВОМУ
ЕКАТЕРИНА ВТОРАЯ
1713



ISSN 2410-5155 (Online), ISSN 2311-4495 (Print)

Трансляционная Медицина

Translational Medicine

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

том 11 № 5 / 2024

Фундаментальная медицина
Сердечно-сосудистые заболевания
Эндокринология
Нейронауки
Педиатрия и детская хирургия
Неонатология
Лучевая диагностика
Акушерство и гинекология
Онкология
Гематология

Главный редактор
Академик РАН
Е.В. Шляхто

**Национальный медицинский
исследовательский центр им. В. А. Алмазова
Министерства здравоохранения Российской Федерации**

ISSN 2311–4495 (печатная версия)
ISSN 2410–5155 (электронная версия)



ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Шлякто Е. В.

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Конради А. О.

Галагудза М. М.

ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР

Петриченко А. К.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Беленков Ю. Н. (Москва)
Вавилова Т. В. (Санкт-Петербург)
Вебер В. Р. (Великий Новгород)
Волкова Н. И. (Ростов-на-Дону)
Галявич А. С. (Казань)
Гринева (Санкт-Петербург)
Гринштейн Ю. И. (Красноярск)
Даренская М. А. (Иркутск)
Ефремушкина А. А. (Барнаул)
Захарова И. Н. (Москва)
Зенин С. А. (Новосибирск)
Королев Д. В. (Санкт-Петербург)
Кашталап В. В. (Кемерово)
Климонтов В. В. (Новосибирск)
Костарева А. А. (Санкт-Петербург)
Лебедев Д. С. (Санкт-Петербург)
Лопатин Ю. М. (Волгоград)

Макаров С. А. (Кемерово)
Малашичева А. Б. (Санкт-Петербург)
Меликян М. А. (Москва)
Моисеева О. М. (Санкт-Петербург)
Неймарк М. И. (Барнаул)
Никитина И. Л. (Санкт-Петербург)
Протасов К. В. (Иркутск)
Рыжкова Д. В. (Санкт-Петербург)
Рябов В. В. (Томск)
Савченко А. А. (Красноярск)
Садыкова Д. И. (Казань)
Самородов А. В. (Уфа)
Сироткина О. В. (Санкт-Петербург)
Троян В. Н. (Москва)
Усов В. Ю. (Томск)
Чесникова А. И. (Ростов-на-Дону)
Шаповалов К. Г. (Чита)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Ольшанский Б. (США)
Ханссон Г. (Швеция)
Сёберг Г. (Швеция)
Керр Д. (США)
Бакс Ж. (Нидерланды)
Массард Ж. (Франция)
Орлов М. (США)
Содер О. (Швеция)
Феррари Р. (Италия)
Хельманн Р. (Германия)
Сили-Торок Т. (Нидерланды)
Сейерсен Т. (Швеция)
Вааге Я. (Норвегия)
Беркович О. А. (Санкт-Петербург)
Виллевалде С. В. (Санкт-Петербург)
Головкин А. С. (Санкт-Петербург)
Голухова Е. З. (Москва)
Гудкова А. Я. (Санкт-Петербург)
Гурьева И. В. (Москва)
Дземешкевич С. Л. (Москва)
Жлоба А. А. (Санкт-Петербург)
Зазерская И. Е. (Санкт-Петербург)
Заклязьменская Е. В. (Москва)
Звартау Н. Э. (Санкт-Петербург)
Калуев А. В. (Санкт-Петербург)
Карпенко М. А. (Санкт-Петербург)
Карпов Р. С. (Томск)
Козырев С. В. (Санкт-Петербург)
Кухарчик Г. А. (Санкт-Петербург)
Лишманов Ю. Б. (Томск)
Ломиворотов В. В. (Новосибирск)
Мазурок В. А. (Санкт-Петербург)
Маслов Л. Н. (Томск)
Мельниченко Г. А. (Москва)
Михайлов Е. Н. (Санкт-Петербург)
Мосоян М. С. (Санкт-Петербург)
Недошивин А. О. (Санкт-Петербург)
Неймарк А. Е. (Санкт-Петербург)
Поддубный И. В. (Москва)
Пузырев В. П. (Томск)
Салогуб Г. Н. (Санкт-Петербург)
Самочерных К. А. (Санкт-Петербург)
Сидоркевич С. В. (Санкт-Петербург)
Ткачук В. А. (Москва)
Труфанов Г. Е. (Санкт-Петербург)
Фадеев В. В. (Москва)
Чернявский М. А. (Санкт-Петербург)
Шевцов М. А. (Санкт-Петербург)

Журнал зарегистрирован в Государственном комитете РФ по печати.

Свидетельство о рег. ПИ № ФС77–56793 от 29.01.2014 г.

Журнал включен в Российский индекс научного цитирования

Журнал включен Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации в «Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук».

Периодичность — 6 выпусков в год. Тираж — 1100 экземпляров.

Тематическая рассылка по специалистам.

Верстка — Л. П. Попова. Корректра — А. В. Медведева

Издательство «ФОНД АЛМАЗОВА»

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2

Телефон издательства: +7(812)702–37–16

Отпечатано в ООО «Типография Принт24»

Санкт-Петербург, ул. Самойловой, 5

Подача рукописей и переписка с авторами, размещение рекламы и подписка —

e-mail: buletен@almazovcentre.ru

Подписка по каталогу агентства «Роспечать»: подписной индекс 57996

Архив номеров: http://www.almazovcentre.ru/?page_id=20396

http://elibrary.ru/title_about.asp?id=50986

Все права защищены. © 2024.

Полное или частичное воспроизведение материалов, опубликованных в журнале, допускается только с письменного разрешения редакции.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов

Выход в свет 11.11.2024

18+

**V. A. Almazov National
Medical Research Centre**

Ministry of Health of the Russian Federation



EDITOR-IN-CHIEF

Evgeny Shlyakhto

DEPUTY EDITORS:

Alexandra Konradi

Mikhail Galagudza

ISSN 2311-4495 (printed)

ISSN 2410-5155 (online)

TECHNICAL EDITOR

Anastasia Petrichenko

EDITORIAL BOARD:

Yu. Belenkov (Moscow)	M. Neimark (Barnaul)
A. Chesnikova (Rostov-on-Don)	I. Nikitina (St. Petersburg)
M. Darenskaya (Irkutsk)	K. Protasov (Irkutsk)
A. Efremushkina (Barnaul)	V. Ryabov (Tomsk)
A. Galyavich A. S. (Kazan)	D. Ryzhkova (St. Petersburg)
E. Grineva (St. Petersburg)	D. Sadykova (Kazan)
Yu. Grinshtein (Krasnoyarsk)	A. Samorodov (Ufa)
V. Kashtalap (Kemerovo)	A. Savchenko (Krasnoyarsk)
V. Klimontov (Novosibirsk)	K. Shapovalov (Chita)
D. Korolev (St. Petersburg)	O. Sirotkina (St. Petersburg)
A. Kostareva (St. Petersburg)	V. Troyan (Moscow)
D. Lebedev (St. Petersburg)	V. Usov (Tomsk)
Yu. Lopatin (Volgograd)	T. Vavilova (St. Petersburg)
S. Makarov (Kemerovo)	N. Volkova (Rostov-on-Don)
A. Malashicheva (St. Petersburg)	V. Weber (Veliky Novgorod)
M. Melikyan (Moscow)	I. Zakharova (Moscow)
O. Moiseeva (St. Petersburg)	S. Zenin (Novosibirsk)

**INTERNATIONAL EDITORIAL
COUNCIL:**

J. Bax (Netherlands)
R. Ferrari (Italy)
G. Hansson (Sweden)
R. Hehlmann (Germany)
D. Kerr (USA)
G. Massard (France)
B. Olshansky (USA)
M. Orlov (USA)
T. Sejersen (Sweden)
G. Sjöberg (Sweden)
O. Söder (Sweden)
T. Szili-Torok (Netherlands)
J. Vaage (Norway)
O. Berkovich (St. Petersburg)
M. Chernyavsky (St. Petersburg)
S. Dzemeshevich (Moscow)
V. Fadeev (Moscow)
A. Golovkin (St. Petersburg)
E. Golukhova (Moscow)
A. Gudkova (St. Petersburg)
I. Guryeva (Moscow)
A. Kaluev (St. Petersburg)
M. Karpenko (St. Petersburg)
R. Karpov (Tomsk)
S. Kozyrev (St. Petersburg)
G. Kukharchik (St. Petersburg)
Yu. Lishmanov (Tomsk)
V. Lomivorotov (Novosibirsk)
L. Maslov (Tomsk)
V. Mazurok (St. Petersburg)
G. Melnichenko (Moscow)
E. Mikhailov (St. Petersburg)
M. Mosoyan (St. Petersburg)
A. Nedoshivin (St. Petersburg)
A. Neumark (St. Petersburg)
I. Poddubny (Moscow)
V. Puzyrev (Tomsk)
G. Salogub (St. Petersburg)
K. Samochnykh (St. Petersburg)
M. Shevtsov (St. Petersburg)
S. Sidorkevich (St. Petersburg)
V. Tkachuk (Moscow)
G. Trufanov (St. Petersburg)
S. Villevalde (St. Petersburg)
E. Zaklyazmenskaya (Moscow)
I. Zazerskaya (St. Petersburg)
A. Zhloba (St. Petersburg)
N. Zvartau (St. Petersburg)

Journal is registered in State Committee for Publishing of the Russian Federation.

Certificate of registration. ПИ № ФС77-56793 on 29.01.2014

The Journal is included in the Russian Citation Index

The journal is listed among Russian peer-reviewed scientific journals approved by the Higher Attestation Commission of the Russian Ministry of Education and Science for the publication of major scientific results of theses for academic degrees of Doctor and Candidate of Sciences.

Periodicity — 6 issues per year. Edition 1100 copies.

Distribution to specialists.

Make-up — L. P. Popova. Proofreader — A. V. Medvedeva

Publisher «ALMAZOV FOUNDATION»

Address: 197341, Saint-Petersburg, Akkuratova str. 2

Tel.: +7(812)702-37-16

Printed by Typography Print24 LLC

5 Samoilova street, St. Petersburg

Manuscript submission and correspondence with authors,
advertising and subscription —

e-mail: bulleten@almazovcentre.ru

Subscription on catalogue of Rospechat agency: index 57996

Archive: http://www.almazovcentre.ru/?page_id=20396

http://elibrary.ru/title_about.asp?id=50986

All rights reserved. © 2024.

Full or partial reproduction of materials printed in journal is allowed by the written permission of publisher.

Editors accept no responsibility for the content of advertising materials.

Published November 11, 2024

18+

СОДЕРЖАНИЕ

СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

378 Трешкур Т. В., Пармон Е. В., Жданова О. Н., Иванова Т. Э., Жабина Е. С.

О ВЫБОРЕ АНТИАРИТМИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА У ПАЦИЕНТОВ С ЖЕЛУДОЧКОВОЙ АРИТМИЕЙ СМЕШАННОГО ХАРАКТЕРА

388 Успенский В. Е., Торопова Я. Г., Сапранков В. Л., Мазин В. И., Минин С. А., Гуськова М. В., Моисеева О. М., Гордеев М. Л.

РАЗРАБОТКА УСТРОЙСТВА ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ КОРНЯ АОРТЫ И ПОЗИЦИОНИРОВАНИЯ СТВОРОК АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА ПРИ КЛАПАНОСОХРАНЯЮЩЕМ ПРОТЕЗИРОВАНИИ КОРНЯ АОРТЫ

ИНФЕКЦИОННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

398 Старшинова А. А., Беляева Е. Н., Кудрявцев И. В., Рубинштейн А. А., Чурилов Л. П., Линг Х., Чжуан М., Кудлай Д. А.

ОСОБЕННОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВОГО ТУБЕРКУЛЕЗА

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

407 Башенджиева Е. О., Барашкова Е. А., Татищева Ю. А., Калугина А. С., Енукашвили Н. И.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *AREG* В КЛЕТКАХ КУМУЛЮСА ЧЕЛОВЕКА КАК МАРКЕР ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КАЧЕСТВА ООЦИТОВ

419 Кишня М. С., Соболев Д. В., Анчикова Е. В., Висягин А. В.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА RS1800629 ГЕНА $TNF\alpha$ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ОСЛОЖНЕННОМ ТЕЧЕНИИ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У ПОСТРАДАВШИХ С БОЕВОЙ ТРАВМОЙ

РАДИОЛОГИЯ

428 Усов В. Ю., Минин С. М., Никитин Н. А., Ногина Е. Н., Косарев И. А., Кобелев Е., Башкиров Л. В., Анашбаев Ж. Ж., Тарабановская Н. А., Бабилов В. Ю., Денисова Н. В., Чернышова А. Л., Чернявский А. М.

МР-ТОМОГРАФИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПО ДАННЫМ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОГО ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПОГЛОЩЕНИЯ ОПУХОЛЮ ПАРАМАГНЕТИКОВ ПРИ ВНУТРИВЕННОМ КОНТРАСТНОМ УСИЛЕНИИ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

445 Верховская Е. В., Ванюркин А. Г., Пантелеева Ю. К., Поплавский Е. О., Цветкова Е. В., Самуйловская С. А., Когай С. В., Евдокимов А. С., Евдокимов С. В., Чернявский М. А.

НОВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ САМОРАСШИРЯЮЩИЙСЯ НИТИНОЛОВЫЙ СТЕНТ: ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VIVO*

456 Косовцова Н. В., Бируля Н. И., Овсянников Ф. А., Хацко С. Л., Зеленина Е. В., Федоренко А. В.

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ-5 НА ФОРМИРОВАНИЕ ЛЕГКИХ ПРИ ЛОЖНОЙ ДИАФРАГМАЛЬНОЙ ГРЫЖЕ ПЛОДОВ КРЫС

CONTENT

CARDIOVASCULAR DISEASE

378 Tatyana V. Treshkur, Elena V. Parmon, Olga N. Zhdanova, Tatyana E. Ivanova, Ekaterina S. Zhabina
ON THE CHOICE OF ANTIARRHYTHMIC DRUG IN PATIENTS WITH VENTRICULAR ARRHYTHMIA OF MIXED CHARACTER

388 Vladimir E. Uspensky, Yana G. Toropova, Valeriy L. Saprankov, Viktor I. Mazin, Sergey A. Minin, Maria V. Guskova, Olga M. Moiseeva, Mikhail L. Gordeev
DEVELOPMENT OF A DEVICE FOR ASSESSMENT OF AORTIC ROOT PARAMETERS AND POSITIONING OF AORTIC VALVE CUSPS DURING AORTIC VALVE-SPARING ROOT REPLACEMENT

INFECTIOUS DISEASES

398 Anna A. Starshinova, Ekaterina N. Belyaeva, Igor V. Kudryavtsev, Artem A. Rubinstein, Leonid P. Churilov, Hong Ling, Min Zhuang, Dmitry A. Kudlay
FEATURES OF THE PATHOGEN AND EFFICACY OF DRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS TREATMENT

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

407 Ekaterina O. Bashendjieva, Ekaterina A. Barashkova, Julia A. Tatishcheva, Alla S. Kalugina, Natella I. Erukashvily
AREG EXPRESSION IN CUMULUS CELLS AS A PROGNOSTIC MARKER OF OOCYTE QUALITY

419 Maria S. Kishenya, Dmitrii V. Sobolev, Ekaterina V. Anchikova, Artur V. Visyagin
THE EFFECT OF THE TNF α GENE RS1800629 POLYMORPHISM ON CYTOKINE PROFILE PARAMETERS IN THE COMPLICATED WOUND HEALING IN COMBAT TRAUMA VICTIMS

RADIOLOGY

428 Wladimir Yu. Ussov, Stanislav M. Minin, Nikita A. Nikitin, Elena N. Nogina, Ilya A. Kosarev, Evgeny Kobelev, Leonid V. Bashkirov, Zhanat Zh. Anashbaev, Natalia A. Tarabanovskaya, Viktor Yu. Babikov, Natalia V. Denisova, Alyona L. Chernyshova, Aleksandr M. Chernyavsky
MR TOMOGRAPHIC EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY FOR BREAST CANCER BASED ON PHARMACOKINETIC NUMERICAL ANALYSIS OF TUMOR UPTAKE OF PARAMAGNETIC CONTRAST IN INTRAVENOUS CONTRAST ENHANCEMENT

ORIGINAL RESEARCH

445 Ekaterina V. Verkhovskaya, Almaz G. Vanyurkin, Yulia K. Panteleeva, Evgeny O. Poplavsky, Elena V. Tsvetkova, Sofia A. Samuylovskaya, Sergey V. Kogay, Alexander S. Evdokimov, Sergey V. Evdokimov, Mikhail A. Chernyavsky
A NEW DOMESTIC SELF-EXPANDING NITINOL STENT: IN VIVO PRECLINICAL STUDY

456 Natalia V. Kosovtsova, Natalia I. Birulya, Filipp A. Ovsyannikov, Sergey L. Khatsko, Ekaterina V. Zelenina, Anastasia V. Fedorenko
EFFECT OF TADALAFIL ON PULMONARY HYPOPLASIA IN CONGENITAL DIAPHRAGMATIC HERNIA OF RAT FETUSES

О ВЫБОРЕ АНТИАРИТМИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА У ПАЦИЕНТОВ С ЖЕЛУДОЧКОВОЙ АРИТМИЕЙ СМЕШАННОГО ХАРАКТЕРА

Трешкур Т. В.¹, Пармон Е. В.¹, Жданова О. Н.², Иванова Т. Э.¹,
Жабина Е. С.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Жабина Екатерина Сергеевна,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: zhabina-ekaterina@mail.ru

Статья поступила в редакцию 01.09.2024
и принята к печати 01.10.2024.

Резюме

Актуальность. При наличии показаний к медикаментозному лечению у пациентов с некоронарогенной желудочковой аритмией выбор антиаритмического препарата, доказательство его эффективности и безопасности в короткие сроки — наиболее актуальные проблемы практической аритмологии. **Цель.** Решение вопроса выбора антиаритмического препарата у пациентов со смешанным характером желудочковой аритмии, несколькими эктопическими очагами и оптимизация дальнейшей тактики их ведения. **Материалы и методы.** Из 167 пациентов с распределением желудочковой аритмии в периоды бодрствования, выполнивших нагрузочную пробу, выбраны 32 человека с некоронарогенными аритмиями смешанного характера (по участию вегетативной нервной системы). Всем участникам проводилась острая фармакологическая нагрузочная проба с бета-адреноблокатором. Подбор антиаритмической терапии осуществлялся под контролем многосуточного телемониторирования ЭКГ. **Результаты.** В претесте нагрузочных проб у всех 32 пациентов регистрировалась одиночная желудочковая парасистолия. У 3 человек аритмия сохранялась на всем протяжении нагрузки, у 4 — прогрессировала, у 25 — парасистолия исходной морфологии исчезала, на пике нагрузки/раннем восстановительном периоде появлялась аритмия другой морфологии. Всем пациентам были определены показания к медикаментозному лечению с выбором препарата после проведения острых фармакологических проб. Далее инициировалась терапия двумя антиаритмическими препаратами с применением многосуточного телемониторирования ЭКГ, целью которого был контроль за эффективностью, безопасностью, выбором доз и времени приема препаратов. На 5–6-е сутки комбинированная терапия была эффективной у 25 пациентов (78 %). **Заключение.** С помощью нагрузочных проб можно ускорить не только поиск причины желудочковой аритмии, но и выбор персонализированного метода лечения. Дополнение обследования фармакологическими пробами позволяет прогнозировать результат комбинированной антиаритмической терапии бета-адреноблокатором и препаратом IC класса с холинолитическим эффектом.

Ключевые слова: вегетативная нервная система, желудочковые аритмии, желудочковая парасистолия, проба с физической нагрузкой, холтеровское мониторирование.

Для цитирования: Трешкур Т.В., Пармон Е.В., Жданова О.Н. и др. О выборе антиаритмического препарата у пациентов с желудочковой аритмией смешанного характера. Трансляционная медицина. 2024; 11(5): 378-387. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-378-387. EDN: BDVCOL

ON THE CHOICE OF ANTIARRHYTHMIC DRUG IN PATIENTS WITH VENTRICULAR ARRHYTHMIA OF MIXED CHARACTER

Tatyana V. Treshkur¹, Elena V. Parmon¹, Olga N. Zhdanova²,
Tatyana E. Ivanova¹, Ekaterina S. Zhabina¹

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Ekaterina S. Zhabina,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.

E-mail: zhabina-ekaterina@mail.ru

Received 01 September 2024; accepted
01 October 2024.

Abstract

Background. The choice of an antiarrhythmic drug, proof of its effectiveness and safety in a short period of time in patients with non-coronary ventricular arrhythmia are the most pressing problems of practical arrhythmology. **Objective.** To resolve the issue of choosing an antiarrhythmic drug in patients with a mixed nature of ventricular arrhythmia, several ectopic foci, and to optimize further tactics for their management. **Design and methods.** Of 167 patients with ventricular arrhythmia distribution during periods of wakefulness who performed a stress test, 32 individuals with non-coronary arrhythmias of a mixed nature (by the participation of the autonomic nervous system) were selected. All patients underwent an acute pharmacological stress test with a beta-blocker. Antiarrhythmic therapy was selected under the control of multi-day ECG telemonitoring. **Results.** In the pretest of exercise tests, single ventricular parasystole was recorded in all 32 patients. In 3 patients, the arrhythmia persisted throughout the entire load, in 4 patients it progressed, in 25 patients the parasystole of the initial morphology disappeared, and at the peak of the load/early recovery period, arrhythmia of a different morphology appeared. Indications for drug treatment were determined for all patients with the choice of the drug after acute pharmacological tests. Then, therapy with two antiarrhythmic drugs was initiated using multi-day ECG telemonitoring, the purpose of which was to control the efficacy, safety, choice of doses and time of drug administration. On days 5–6, combination therapy was effective in 25 patients (78 %). **Conclusion.** With the help of stress tests, it is possible to accelerate not only the search for the cause of ventricular arrhythmia, but also the choice of a personalized method of treatment. Supplementing the examination with pharmacological tests allows predicting the result of combined antiarrhythmic therapy with a beta-blocker and a class IC drug with an anticholinergic effect.

Key words: antiarrhythmic drug, autonomic nervous system, exercise test, holter monitoring, ventricular arrhythmias, ventricular parasystole.

For citation: Treshkur TV, Parmon EV, Zhdanova ON, et al. On the choice of antiarrhythmic drug in patients with ventricular arrhythmia of mixed character. *Translational Medicine.* 2024; 11(5): 378-387. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-378-387. EDN: BDVCOL

Список сокращений: ААП — антиаритмический препарат, ААТ — антиаритмическая терапия, АД — артериальное давление, ВНС — вегетативная нервная система, ВП — восстановительный период, ВЭМ — велоэргометрия, ЖА — желудочковая аритмия, ЖТ — желудочковая тахикардия, ЖЭК — желудочковый эктопический комплекс,

ИБС — ишемическая болезнь сердца, ММ ЭКГ — многосуточное мониторирование электрокардиограммы, ПС — парасистолия, ССЗ — сердечно-сосудистое заболевание, ФЖ — фибрилляция желудочков, ФН — физическая нагрузка, ХМ — холтеровское мониторирование, ЭхоКГ — эхокардиография, β-АБ — бета-адреноблокатор.

За последние два десятилетия благодаря внедрению персонализированного подхода к ведению пациентов с желудочковыми аритмиями (ЖА), усовершенствованию методов оценки прогноза жизни и развития осложнений, несколько изменились и способы лечения больных с нарушениями ритма [1]. Стало абсолютно очевидным: прежде чем начинать лечение ЖА, необходимо установить причинно-следственную связь аритмии с сердечно-сосудистым заболеванием (ССЗ), на фоне которого она развилась. Вовремя диагностировать заболевание сердца необходимо еще и потому, что в ряде случаев своевременное его лечение позволит обойтись без антиаритмической терапии (ААТ). В первую очередь, это справедливо для ишемической болезни сердца (ИБС), при которой ЖА встречается в 90–95 % случаев [1]. Особенно неблагоприятен прогноз при желудочковой парасистолии (ПС), сопровождающей ишемию миокарда. Ситуация наиболее опасна при совпадении очага аритмогенеза и зоны ишемизированного миокарда в связи со снижением порога фибрилляции желудочков (ФЖ), а также в связи с независимостью активности синусового и парасистолического водителей ритма, что увеличивает вероятность попадания ПС в уязвимый период миокарда при низком пороге ФЖ [2]. В таких случаях эффективная реваскуляризация ишемизированной зоны является основой лечения без дополнительного назначения антиаритмических препаратов (ААП) [3]. Эффективное лечение гипертонической болезни, нормализация артериального давления (АД) уменьшают вероятность ремоделирования миокарда и также могут значительно уменьшить количество и комплексность ЖА [1]. Однако даже при выявлении какого-либо ССЗ, причинно-следственную связь аритмии с этой патологией нельзя считать доказанной априори. Тщательный поиск причины нарушений ритма с помощью таких дополнительных методов исследования, как психологическая диагностика, ментальные пробы, многосуточное мониторирование электрокардиограммы (ММ ЭКГ), позволяющих оценить характеристики ЖА, их связь с определенными событиями в жизни пациента, помогают выявлять, в частности, психогенный фактор в индукции аритмии и не использовать в лечении ААП, которые в этом случае будут патогенетически не обоснованными. Тем более, что давно известно, что любая ААТ, не направленная на устранение причины, является лишь симптоматической. Однако на практике не всегда быстро удается обнаружить как ССЗ на ранней, доклинической стадии, так и фактор, провоцирующий аритмию, в то время как ЖА

может быть симптомной, требующей активного вмешательства. Сложнее всего решаются вопросы тактики ведения пациентов с некоронарогенными и идиопатическими ЖА в случаях большого их суточного количества и плохой субъективной переносимости, когда «бремя эктопии» велико и качество жизни нарушено. Такие ЖА требуют пристального врачебного внимания, целью которого будет выбор способа лечения: хирургического или медикаментозного, а при выборе медикаментозного — определение показаний к назначению того или иного ААП.

Для того чтобы решить, какой из ААП предпочесть для лечения некоронарогенной и — ЖА, как правило, проводят анализ клинико-электрокардиографических характеристик эктопического очага, для выявления преимущественного влияния одного из отделов ВНС на аритмогенез [4]. Кроме того, обращается внимание на «важный треугольник взаимоотношений: ВНС — Аритмия — ААП» [5]. Мы солидарны с С. П. Голицыным, который считает, что ВНС в аритмогенезе при некоронарогенных и идиопатических ЖА играет ведущую роль. В частности, для диагностики вагусзависимых ЖА используются результаты проб с физической нагрузкой (ФН) и холтеровского мониторирования (ХМ): ЖА, возникающие в покое и исчезающие при ФН или значительно уменьшающиеся в количестве (более чем на 50 %), расцениваются как аритмии, ассоциированные с преобладающим влиянием парасимпатического отдела ВНС на аритмогенез, что может служить рекомендацией для их лечения ААП IC класса с холинолитическим эффектом [6]. Напротив, в лечении пациентов с ЖА, индуцированными ФН, отдается предпочтение бета-адреноблокаторам (β -АБ), а результаты острой фармакологической пробы с ними позволяют прогнозировать успешность длительной терапии [1, 7].

На протяжении последних двадцати лет в ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России (Центр) ведется аналитическое ретроспективное и проспективное исследование пациентов с различным влиянием ВНС на ЖА. Одной из целей работы является изучение клинико-ЭКГ характеристик аритмий для последующей разработки алгоритмов ведения пациентов с ЖА [7–9]. Среди пациентов особое внимание привлекает группа больных, имевших ЖА смешанного характера по участию ВНС в аритмогенезе. Кроме того, у большей части пациентов оказалось несколько активных парацентров, вследствие чего предполагалось, что интервенционный метод лечения

(абляция) может быть малоэффективным. Поэтому предпочтение было отдано медикаментозной терапии, чему и посвящена данная работа.

Цель настоящего исследования — решение вопроса выбора ААП у пациентов со смешанным (симпато- и вагозависимым) характером ЖА, несколькими эктопическими очагами и оптимизация дальнейшей тактики их ведения.

Материалы и методы

Из 167 пациентов с распределением ЖА в периоды бодрствования в патологическом суточном количестве (по данным ХМ), находившихся на динамическом наблюдении в НИЛ электрокардиологии Центра и выполнивших нагрузочную пробу, выбраны 32 человека, имеющих некоронарогенные воспроизводимые ЖА смешанного по участию ВНС характера (по данным нагрузочной пробы). Все больные обследовались амбулаторно. Возраст пациентов составил от 18 до 61 года (медиана возраста 42 года).

Проба с ФН у 30 больных проводилась на тредмиле по стандартному протоколу Bruce в утреннее время без какой-либо терапии, за исключением гипотензивной, на оборудовании “Schiller CS-200” с использованием ЭКГ регистрирующей системы «Кардиотехника-07» (ЗАО «Инкарт», Россия), и у 2 — с помощью велоэргометрии (ВЭМ). Во время нагрузочной пробы оценивались симптомность, гемодинамическая значимость, количество, морфология и комплексность ЖА, ЧСС, АД, при которых возникала аритмия.

Так называемый смешанный характер участия ВНС в аритмогенезе устанавливался у пациентов с наличием ЖА в претесте нагрузочной пробы и последующим ее сохранением или прогрессированием при ФН/раннем ВП (1–3 мин.). Также к смешанным относились нарушения ритма в случае, если ЖА, которая регистрировалась в претесте, исчезала в нагрузочной фазе теста, но при увеличении длительности и интенсивности ФН, а иногда в раннем ВП появлялась новая, отсутствующая ранее в покое (рис. 1). Всем пациентам после определения воспроизводимости результатов проводилась острая фармакологическая проба с β -АБ короткого действия, то есть еще одна проба с ФН через 60 мин. после перорального приема 60 мг пропранолола. Всем пациентам были выполнены эхокардиография (ЭхоКГ) и биохимическое исследование крови с целью исключения электролитных, гормональных нарушений, а также оценки липидного обмена. По показаниям проводились стресс-ЭхоКГ, МРТ сердца, генетическое исследование, консультации специалистов.

При определении показаний к медикаментозному лечению ЖА, подбор терапии проводился под контролем ММ ЭКГ с телеметрией, для которого использовался программно-аппаратный комплекс «Кардиотехника-07-03» с беспроводными каналами связи с передачей сигнала на кардиосервер в любое время текущей и сохраненной ЭКГ. Пациенту устанавливался водонепроницаемый прибор, представляющий собой компактное устройство, регистрирующее 12 отведений ЭКГ, реопневмограмму и имеющее встроенные датчики движения и положения тела. Подзарядка регистратора осуществлялась одновременно с передачей данных во время его подключения к смартфону. ММ ЭКГ в комплексе с программным обеспечением интерпретации данных мониторинга позволяло в режиме онлайн оценивать передаваемые пациентом записи ЭКГ. В заданное время, два раза в день пациент подключал регистратор к смартфону, и информация передавалась на сервер. Кроме того, врачу ежедневно высылались дневник самочувствия, а при необходимости данные передавались в любое время и по требованию.

Назначение препаратов проводилось последовательно: в первые сутки β -АБ, далее наблюдение и титрация дозы в течение 2–3 суток, при уменьшении желудочковой ПС более чем на 75 % и сохранении симптомной желудочковой ПС в покое/ночное время, на третьи сутки добавлялся ААП IC класса с холинолитическим эффектом, с последующим контролем эффективности и безопасности.

Терапия считалась эффективной, если достигалось уменьшение количества одиночных желудочковых эктопических комплексов (ЖЭК) на 75 %, парных — на 90 %, неустойчивой желудочковой тахикардии (ЖТ) — на 100 % [4].

Результаты

По результатам ХМ у всех пациентов, включенных в исследование, регистрировался синусовый ритм, количество одиночных ЖЭК в среднем в группе составило 9247 ± 1176 в сутки, парных — 1863 ± 639 , неустойчивых ЖТ — 103 ± 41 . У всех были признаки желудочковой ПС: выраженные колебания предэктопических интервалов, сливные комплексы.

По данным нагрузочных проб в претесте у всех 32 пациентов регистрировались только одиночные ЖЭК в среднем количестве 6 ± 3 в 1 мин. Так же, как и при ХМ, отмечались признаки ПС.

Варианты «поведения» ЖА, зарегистрированные на пике пробы с ФН, представлены во фрагменте алгоритма цифрами 1, 2, 3 (рис. 1):

1. У 3 пациентов ЖЭК сохранялись на всем протяжении ФН.

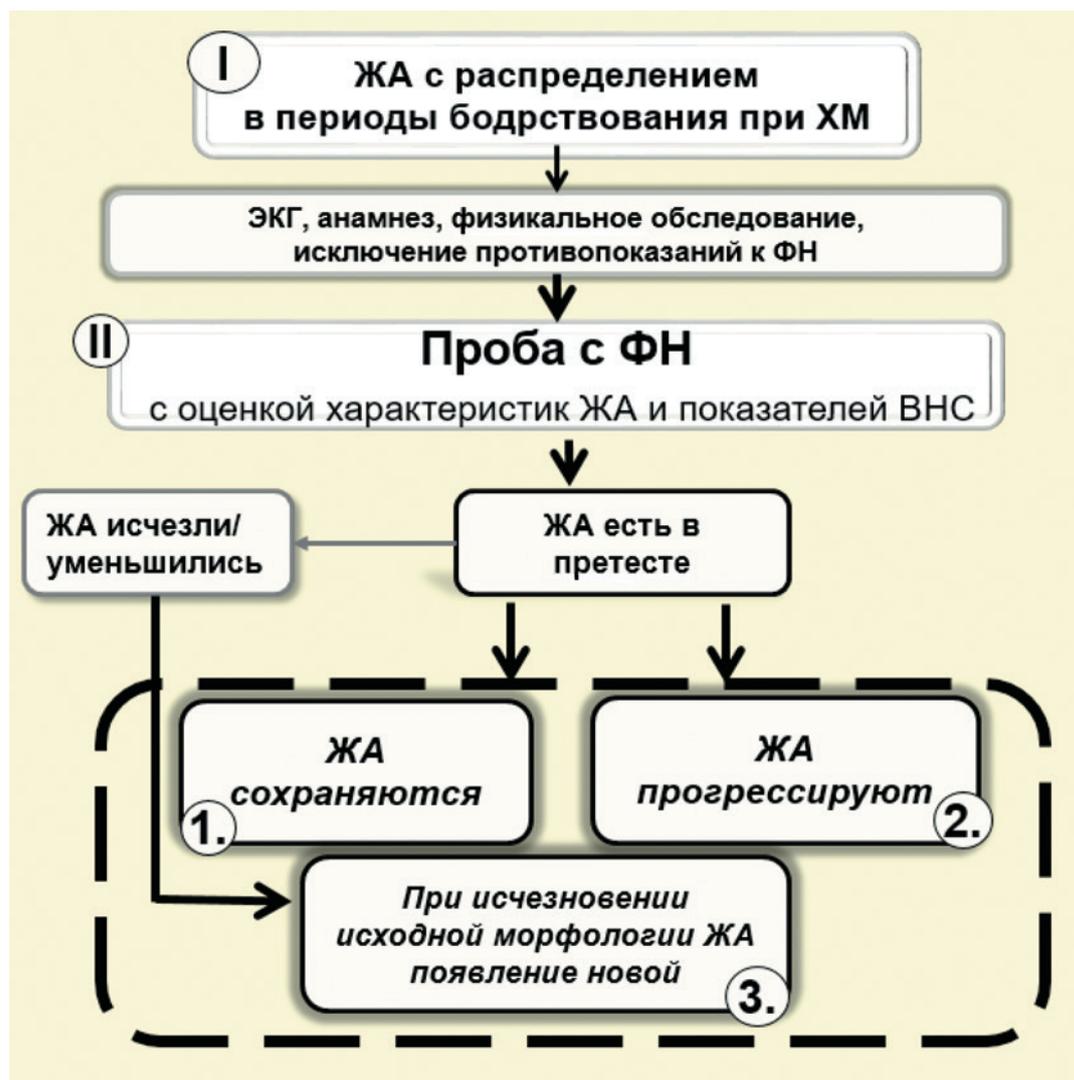


Рис. 1. Фрагмент алгоритма ведения пациентов с ЖА, зарегистрированными в периоды бодрствования по данным ХМ

Сокращения: ЖА — желудочковые аритмии; ХМ — холтеровское мониторирование; ЭКГ — электрокардиограмма; ФН — физическая нагрузка; ВНС — вегетативная нервная система.

Figure 1. A fragment of the algorithm for managing patients with VA registered during periods of wakefulness according to HM

Abbreviations: VA — ventricular arrhythmia; HM — Holter monitoring; ECG — electrocardiogram; PA — physical activity; ANS — autonomic nervous system.

2. У 4 человек желудочковая ПС во время ФН прогрессировала*, увеличиваясь в количестве (переход на бигеминию, появление парных ЖЭК), у 2 — до неустойчивой ЖТ.

3. У 25 больных во время ФН желудочковая ПС исходной морфологии исчезала, но на пике нагрузки/раннем ВП появлялись ЖЭК другой морфологии.

Переносимость пробы с ФН у всех больных была удовлетворительной, большинство ощущали «перебои и сердцебиения». По результатам комплексного обследования: у 17 человек выявлена гипертоническая болезнь I–II стадии, у 8 — малые аномалии сердца (прогиб задней створки митрального клапана, ложные хорды левого желудочка). У 7 — даже после дообследования выявить ССЗ

* Под прогрессированием ЖЭК следует понимать как увеличение количества комплексов, так и комплексности — появления парных и неустойчивой ЖТ (если были одиночные), что служило критерием прекращения ФН.

или другую причину аритмии не удалось. У всех ЖА была некоронарогенной, все имели сохранную фракцию выброса левого желудочка. С учетом симптомности аритмии, большого ее количества и комплексности были определены показания к медикаментозному лечению с выбором ААП после проведения острых фармакологических проб (с β -АБ и ААП IC класса).

Результаты повторной пробы с ФН через 60 мин. после приема пациентами 60 мг пропранолола показали следующее: у 19 человек желудочковая ПС совсем перестала регистрироваться на высоте ФН, однако увеличилось количество одиночных ПС в покое и в ВП в 2 и более раз; у оставшихся 13 пациентов на высоте ФН после приема β -АБ количество одиночных ПС уменьшилось в среднем в 2,3 раза, исчезли парные и эпизоды неустойчивой ЖТ, однако в претесте сохранялись одиночные ЖЭК в том же количестве. Такая реакция у 19 и 13 человек является положительным ответом на нагрузочную ПС на β -АБ, а сохранение и увеличение количества ПС в покое закономерно, так как β -АБ эффективны только в отношении аритмии, прогрессирующей при ФН.

Результаты проведенной пробы с β -АБ послужили доказательством «смешанного» влияния ВНС на парасистолический очаг и позволили прогнозировать эффективность применения двух ААП — β -АБ и препарата IC класса с холинолитической активностью. Поэтому следующим этапом инициировалась терапия двумя ААП с применением ММ ЭКГ с телеметрией, целью которого был контроль за эффективностью и безопасностью ААТ, выбор доз и времени приема β -АБ и препарата IC класса с холинолитической активностью, так как все это требовало нестандартного подхода.

В первые сутки в утренние часы назначали β -АБ в индивидуально подобранных дозах с последующим наблюдением в течение 2–3 суток, титрацией дозы и оценкой АА эффекта. У 29 пациентов на третьи сутки наблюдалось уменьшение количества ЖЭК не менее 75 % в активное время суток, при этом сохранялось избыточное количество симптомной ПС в покое и в ночное время. На третьи сутки добавлялся второй ААП (IC класса с холинолитическим эффектом) во второй половине дня в индивидуальное для каждого пациента время — за час до времени появления ПС покоя. На 5–6-е сутки после титрации доз и оценки безопасности комбинированная ААТ была эффективной у 25 пациентов (78 %).

Исключение составили 3 пациента, у которых, несмотря на положительный ответ на острую пробу с короткодействующим неселективным β -АБ,

прием пролонгированных селективных форм не дал ожидаемого эффекта в отношении нагрузочной ПС. У 2 пациентов не достигнут АА эффект несмотря на увеличение доз, вероятно, по причине резистентности, еще у 2 — на фоне приема ААП IC класса появилось выраженное головокружение, потребовавшее отмены препарата.

На основании проведенного исследования (было закончено в 2024 г.) по лечению пациентов с некоронарогенной желудочковой ПС, регистрирующейся в покое, оформлен патент [10].

Приводим клинический пример с описанием пациента со смешанным характером желудочковой ПС, прошедшего подбор медикаментозной ААТ под контролем ММ ЭКГ с телеметрией.

Пациент Р. 43 лет обратился к врачу с жалобами на неприятные ощущения перебоев в сердце, беспокоящие его на протяжении нескольких месяцев, мешающие ему сосредоточиться на работе. Периодически, измеряя АД, обнаруживал повышение его до 155/90 мм рт. ст. в периоды напряжения на работе, вне этого цифры АД нормальные. Знает об анацидном гастрите (в настоящий момент вне обострения), соблюдает диету.

На ЭКГ в покое — синусовый ритм, ЧСС 80 в 1 мин., возможно, начальные признаки гипертрофии левого желудочка. ЭхоКГ в пределах нормы. При мониторинге ЭКГ: желудочковая ПС I типа (морфология с блокадой левой ножки пучка Гиса) регистрировалась при ХМ преимущественно в период бодрствования, но вне ФН, в количестве 11 230 за сутки, однако при ЧСС 110 в 1 мин. уже не определялась. При ЧСС более 110 в 1 мин. зафиксирована желудочковая ПС II типа (морфология с блокадой правой ножки пучка Гиса) в небольшом количестве — 700 за сутки. В день ХМ, судя по записям в дневнике пациента, ФН была незначительной. Судить о характере ЖА, которая все-таки появлялась у пациента при ФН, хоть и в незначительном количестве по данным ХМ, было трудно, записи дневника не всегда были четкими, поэтому было решено выполнить ему ВЭМ (рис. 2).

Во время ВЭМ была достигнута максимальная ЧСС, при этом ни жалоб, ни изменений на ЭКГ, ни ЖА не было — проба с ФН была отрицательной. Однако II тип желудочковой ПС появился в ранний ВП — на 15-й с. (квадригеминия). Появление ЖА другой морфологии в раннем ВП у пациентов встречается довольно редко. Зная, что как нагрузочная ЖА, так и аритмия ВП могут быть первым проявлением ССЗ, в рамках дифференциальной диагностики и выяснения ее причин дополнительно были проведены пробы с Ng (отрицательная) и пропранололом (положительная),

что подтверждает, что ЖЭК II типа, появившаяся в раннем ВП, не связана с ишемией.

Далее пациенту было поставлено ММ ЭКГ с телеметрической передачей данных. Уже на 2-й день на фоне терапии был замечен отчетливый АА эффект препарата с β -блокирующим действием — желудочковая ПС II типа больше не регистрировалась, однако количество ЖЭК I типа на фоне приема β -АБ увеличилось (на 1-е сутки мониторинга — 12 тыс., на 2-е — 14 тыс.). На 3-и сутки к лечению был добавлен ААП IC класса с холинолитическим эффектом, на 4–5-е сутки ПС

II типа не было, количество ПС I типа уменьшилось на 85 %. На фоне минимальных поддерживающих доз препаратов АА эффект сохранялся, монитор был снят.

Пациент в настоящее время находится в группе динамического наблюдения с диагнозом «гипертоническая болезнь I стадии». На фоне лечения АД в пределах нормальных значений.

Обсуждение

При ИБС уже давно известно, что ЖА в ВП связаны с негативным прогнозом в отношении

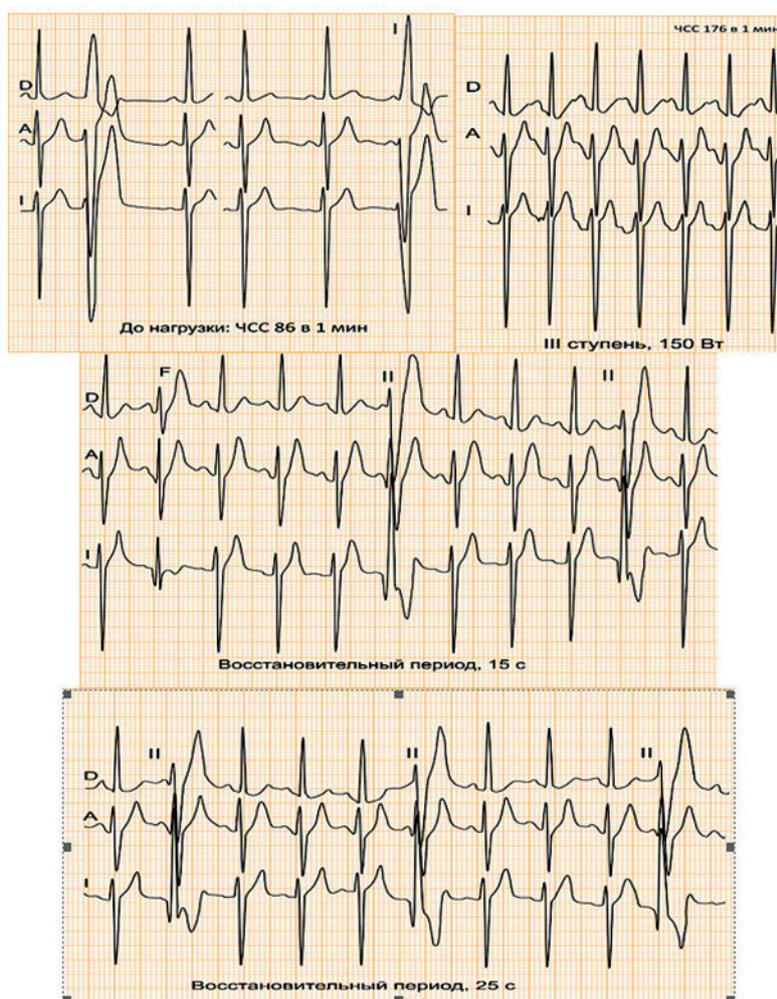


Рис. 2. Фрагменты ЭКГ во время выполнения ВЭМ пациентом Р. 43 лет. Отведения по Небу. Скорость записи 25 мм/с

До нагрузки: при ЧСС 86 в 1 мин. регистрируются одиночные ЖЭК I типа (желудочковая ПС покоя). III ступень (пик нагрузки): при ЧСС 176 в 1 мин. аритмия отсутствует. В раннем ВП: при ЧСС 130 в 1 мин. возникают ЖЭК II типа (нагрузочная желудочковая ПС). F — сливной комплекс.

Figure 2. ECG fragments during VEM performed by patient R., 43 years old. Leads according to Neb. Recording speed is 25 mm/s

Before the load: at a heart rate of 86 per 1 min, single type I ventricular ectopic complex (resting ventricular PS) are recorded. Stage III (peak load): at a heart rate of 176 per 1 min, there is no arrhythmia. In the early VP, at a heart rate of 130 per 1 min, type II ventricular ectopic complex (exertion ventricular PS) occur. F — fusion complex.

сердечно-сосудистой смертности. Последние годы стали активно изучаться ЖА в ВП и у пациентов без ИБС. Оказалось, что они могут быть даже клинически более значимыми, чем ЖА, наблюдаемые во время ФН, как показал метаанализ литературы и отдельные исследования на тысячных когортах неишемических пациентов, где была продемонстрирована связь ЖА в ВП с высоким риском общей смертности и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в общей популяции [11, 12].

Также особого внимания заслуживает сочетание ЖА на высоте ФН и в ВП. После поправки на клинические факторы риска сочетание > 20 ЖЭК во время ФН и > 5 ЖЭК во время ВП было связано как с инфарктом миокарда/сердечной недостаточностью/жизнеугрожающими нарушениями ритма (ОР 1,7 [95 % ДИ 1,2–2,3], $P < 0,001$), так и со смертностью от всех причин (ОР 1,6 [95 % ДИ 1,2–2,2], $P < 0,001$) [13]. При такой комбинации патофизиологические механизмы и нарушения регуляции ВНС могут дополнять друг друга, о чем необходимо помнить и подбирать соответствующую ААТ, что мы и продемонстрировали в нашем исследовании.

Учитывая участие ВНС в возникновении нарушений ритма, аритмии принято делить на 2 группы: симпатическую и вагусную. Однако в литературе недостаточно данных относительно того, какие особенности ВНС приводят к появлению некоронарогенных ЖА в ВП. Как правило, в этом периоде симпатические влияния ослабевают, и появление ЖА можно связать с преобладанием вагусной активности. Однако, как показало исследование на более чем 5 тысячах пациентов, наблюдаемых в среднем на протяжении 20 лет, именно ЖА, возникающая во время ВП, была связана с повышенной смертностью у больных без ИБС, причем показатели оказались даже выше по сравнению с группой нагрузочных аритмий. Если появление и прогрессирование ЖА во время ФН объясняют повышенным уровнем катехоламинов, то авторы предполагают, что ЖА, возникающая во время ВП, связана с недостаточной реактивацией блуждающего нерва после ФН [14].

Возвращаясь к клиническому случаю, приведенному в нашей работе, АА эффект пропранолола в острой фармакологической пробе объясняет симпатозависимый характер ЖА раннего ВП, доказывает эффект лечения β -АБ. В литературе мало освещены вопросы лечения ЖА такого называемого смешанного характера, обусловленного влиянием как симпатического, так и парасимпатического отделов ВНС на эктопический очаг. Однако есть данные, что такой вариант желудочковой эктопии от-

личается резистентностью к терапии одним ААП. Вместе с тем, назначение двух и более ААП увеличивает риски развития побочных, в том числе аритмогенных эффектов. В этой связи очень важно учитывать все патофизиологические механизмы, лежащие в основе ЖА у конкретного пациента.

Заключение

Таким образом, используя результаты нагрузочных проб, можно не только ускорить поиск причины ЖА, но и выбрать персонализированный метод лечения.

Так, получив данные, что некоронарогенная ЖА зависит от повышенного влияния как парасимпатического, так и симпатического отделов ВНС на аритмогенез не только во время ФН, но и во время ВП, обследование дополняют фармакологическими пробами с ААП, которые описаны в каждом конкретном случае. Результат положительной острой фармакологической нагрузочной пробы с β -АБ позволяет прогнозировать и результат комбинированной терапии β -АБ с приемом его в первую половину дня и препаратом IC класса с холинолитическим эффектом — во вторую.

ММ ЭКГ с телеметрией, результаты которого в течение 5–6 дней после начала приема препаратов помогают оценить эффективность и безопасность АА лечения, подобрать индивидуальные дозы препаратов и оптимальное время их приема, позволяет внедрять персонализацию в ведение каждого пациента с ЖА смешанного генеза.

Взаимосвязь между ЖА, зарегистрированными во время ВП и ФН, требует дальнейшего изучения. В любом случае клиницисты должны знать об измеримой прогностической значимости этих ЖА для оптимальной оценки сердечно-сосудистого риска у таких пациентов, даже бессимптомных, и дальнейшего их лечения в целях предотвращения жизнеугрожающих событий.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Lebedev DS, Mikhailov EN, Neminschiy NM, et al. Ventricular arrhythmias. Ventricular tachycardias and sudden cardiac death. 2020 Clinical guidelines. Russian Journal of Cardiology. 2021; 26:7: 4600. In Russian [Лебедев Д.С., Михайлов Е.Н., Неминущий Н.М. и др. Желудочковые нарушения ритма. Желудочковые тахикардии и внезапная сердечная смерть. Клинические рекомендации 2020. Российский кардиологический журнал. 2021; 26:7: 4600]. DOI:10.15829/1560-4071-2021-4600.

2. Treshkur TV. Clinical and electrocardiographic characteristics of ischemic ventricular arrhythmias. *Bulletin of arrhythmology*. 2002; 30:31–38. In Russian [Трешкур Т.В. Клинико-электрокардиографическая характеристика ишемических желудочковых аритмий. *Вестник аритмологии*. 2002; 30:31–38].
3. Treshkur TV, Tatarinova AA, Ryngach EA. Method for predicting antiarrhythmic efficacy of myocardial revascularization surgery in patients with ischemic heart disease with ventricular arrhythmias caused by myocardial ischemia. Patent on the application № 2020133895, 14.10.2020. In Russian [Трешкур Т.В., Татаринова А.А., Рынгач Е.А. Способ прогнозирования антиаритмической эффективности операции реваскуляризации миокарда у больных ишемической болезнью сердца с желудочковыми аритмиями, спровоцированными ишемией миокарда. Патент по заявке № 2020133895 от 14.10.2020].
4. Treshkur TV, Tulintseva TE, Tatarinova AA, et al. Ventricular arrhythmias and Holter monitoring — principles of forming a conclusion based on the results of the study. *Bulletin of arrhythmology*. 2018; 93:53–63. In Russian [Трешкур Т.В., Тулинцева Т.Э., Татаринова А.А. и др. Желудочковые аритмии и холтеровское мониторирование — принципы формирования заключения по результатам исследования. *Вестник аритмологии*. 2018; 93:53–63]. DOI 10.25760/VA-2018-93-53-63.
5. Golitsyn SP. Elimination of ventricular arrhythmias and reduction of risk of death: are the paths always in the same direction? *Heart*. 2006; 1:4–11. In Russian [Голицын С.П. Устранение желудочковых аритмий и снижение риска смерти: всегда ли пути в одном направлении? *Сердце*. 2006; 1:4–11].
6. Трешкур Т.В., Пармон Е.В., Овечкина М.А. Способ диагностики вагусзависимых желудочковых аритмий и оценки антиаритмической терапии с помощью холтеровского мониторирования. <https://www.incart.ru/publish/learning-aids/sposob-diaagnostiki-vaguszavisimyix-zheludochkovyix-aritmij/>
7. Zhabina ES, Tulintseva TE, Treshkur TV. Algorithm for the management of patients with ventricular arrhythmias recorded during wakefulness. *Russ J Cardiol*. 2022; 27:7:5048. In Russian [Жабина Е.С., Тулинцева Т.Э., Трешкур Т.В. Алгоритм ведения пациентов с желудочковыми аритмиями, зарегистрированными в периоды бодрствования при мониторировании электрокардиограммы. *Российский кардиологический журнал*. 2022; 27:7:5048]. DOI:10.15829/1560-4071-2022-5048.
8. Shlyakhto EV, Treshkur TV, Tulintseva TE, et al. Algorithm for managing patients with ventricular arrhythmias. *Terapevticheskij arxiv=Therapeutic Archive*. 2015; 87:5:106–112. In Russian [Шляхто Е.В., Трешкур Т.В., Тулинцева Т.Э. и др. Алгоритм ведения пациентов с желудочковыми аритмиями. *Терапевтический архив*. 2015; 87:5:106–112]. DOI 10.17116/terarkh2015875106-112.
9. Ryngach EA, Treshkur TV, Tatarinova AA, et al. Algorithm for the management of patients with stable ischemic heart disease and high-grade ventricular arrhythmias. *Terapevticheskij arxiv=Therapeutic Archive*. 2017; 89:1:94–102. In Russian [Рынгач Е.А., Трешкур Т.В., Татаринова А.А. и др. Алгоритм ведения пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и желудочковыми аритмиями высоких градаций. *Терапевтический архив*. 2017; 89:1:94–102]. DOI: 10.17116/terarkh201789194-102.
10. Ivanova TE, Zhabina ES, Treshkur TV. A method for the treatment of non-coronary ventricular parasystole, registered at rest. Patent on the application No. 2822705, 11.07.2024. In Russian [Иванова Т.Э., Жабина Е.С., Трешкур Т.В. Способ лечения некоронарогенной желудочковой парасистолии, регистрирующейся в покое. Патент РФ на изобретение № 2822705 от 11.07.2024].
11. Pay L, Tezen O, Çetin T, et al. The association between exercise-induced ventricular premature contractions and long-term mortality in patients without obstructive coronary artery disease. *Acta Cardiol Sin*. 2024; 40:3:267–274. DOI: 10.6515/ACS.202405_40(3).20231227A.
12. Gupta K, Zahedi S, Kakar T, et al. Independent prognostic value of high-risk ventricular premature complexes during exercise or recovery in asymptomatic patients: A meta-analysis of observational studies. *Indian Heart J*. 2023; 75:6:423–428. DOI: 10.1016/j.ihj.2023.10.001.
13. van Duijvenboden S, Ramírez J, Orini M, et al. Prognostic significance of different ventricular ectopic burdens during submaximal exercise in asymptomatic UK biobank subjects. *Circulation*. 2023; 148:24:1932–1944. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.123.064633.
14. Refaat M, Gharios C, Moorthy M, et al. Exercise-Induced Ventricular Ectopy and Cardiovascular Mortality in Asymptomatic Individuals. *J Am Coll Cardiol*. 2021; 78:23:2267–2277. DOI: 10.1016/j.jacc.2021.09.1366.

Информация об авторах:

Трешкур Татьяна Васильевна, к.м.н., доцент, ведущий научно-исследовательской лабораторией электрокардиологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Пармон Елена Валерьевна, к.м.н., доцент, доцент кафедры факультетской терапии с клиникой, директор Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Жданова Ольга Николаевна, к.м.н., доцент кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии и кардиологии с клиникой им. Г. Ф. Ланга ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Иванова Татьяна Эдуардовна, к.м.н., доцент, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории электрокардиологии, доцент кафедры факультетской терапии с клиникой ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Жабина Екатерина Сергеевна, к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории электрокардиологии, ассистент кафедры факультетской терапии с клиникой ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Authors information:

Tatyana V. Treshkur, PhD, associate professor, head of the research laboratory of electrocardiology of the Almazov National Medical Research Centre;

Elena V. Parmon, PhD, associate professor, associate professor of the department of faculty therapy with clinic, director of the Institute of medical education of the Almazov National Medical Research Centre;

Olga N. Zhdanova, PhD, associate professor of the department of therapy of the faculty with the course of endocrinology and cardiology with the clinic named after G. F. Lang of the Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University;

Tatyana E. Ivanova, PhD, associate professor, senior researcher of the research laboratory of electrocardiology, associate professor of the department of faculty therapy with clinic of the Almazov National Medical Research Centre;

Ekaterina S. Zhabina, PhD, senior researcher of the research laboratory of electrocardiology, assistant of the department of faculty therapy with clinic of the Almazov National Medical Research Centre.

РАЗРАБОТКА УСТРОЙСТВА ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ПАРАМЕТРОВ КОРНЯ АОРТЫ И ПОЗИЦИОНИРОВАНИЯ СТВОРОК АОРТАЛЬНОГО КЛАПАНА ПРИ КЛАПАНОСОХРАНЯЮЩЕМ ПРОТЕЗИРОВАНИИ КОРНЯ АОРТЫ

Успенский В. Е., Торопова Я. Г., Сапранков В. Л., Мазин В. И.,
Минин С. А., Гуськова М. В., Моисеева О. М., Гордеев М. Л.

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Успенский Владимир Евгеньевич,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: v.e.uspenskiy@gmail.com

Статья поступила в редакцию 02.09.2024
и принята к печати 27.09.2024.

Резюме

Актуальность. Перспективным методом хирургического лечения аневризмы корня и восходящей аорты (ВА) при неизменных створках аортального клапана (АК) является протезирование корня и ВА с реимплантацией АК (операция Дэвида). До настоящего времени не сформулированы однозначные критерии, позволяющие сделать выбор в пользу клапаносберегающей либо клапаноуносящей операции. Главными критериями остаются результаты визуальной ревизии и выбор метода лечения на основании опыта хирурга. **Цель.** В эксперименте разработать прототип и методику применения устройства позиционирования створок АК, которое позволит упростить и стандартизировать клапаносохраняющее протезирование корня аорты, улучшить результаты и повысить воспроизводимость данных операций. **Материалы и методы.** Трехмерное (3D) моделирование компонентов устройства выполнено в параметрической среде автоматизированного проектирования с открытым исходным кодом FreeCAD 0.20.1. Двумерные эскизы преобразовывались в трехмерные модели и экспортировались в виде файлов формата stl для 3D-печати. Твердые компоненты модели изготавливались из полимолочной кислоты (PLA-пластик), эластичные — из резиноподобного фотополимера (Dropstil F556 10 shore A) также методом 3D-печати по технологии SLA. **Результаты.** Устройство представляет собой 2 одинаковых кольца-измерителя переменного диаметра, соединенных между собой тремя стойками переменной длины. В верхней части каждого из креплений стоек к дистальному кольцу имеются Т-образные вырезы для временного закрепления нитей-держалок, проведенных через комиссуры створок АК. Для проксимальной фиксации протеза аорты и проксимального кольца-измерителя используются 3 П-образных шва, проведенных внутри кнаружи через фиброзное кольцо АК, проксимальную часть сосудистого протеза и взятых в турникеты. Диаметры колец-измерителей могут бесступенчато меняться в диапазоне 25–40 мм путем вращения червячного привода. С внутренней стороны устройства помещается сосудистый протез, швы-держалки, фиксированные к вершинам комиссур, фиксируются в Т-образных вырезах в верхних частях стоек. Устройство позволит менять положение точки коаптации створок, площадь коаптации и выполнять гидравлические пробы в условиях разных позиций створок, а также переменных диаметров на уровне фиброзного кольца АК и синотубулярного соединения (25–40 мм). При достижении целевой позиции точки коаптации, площади коаптации и удовлетворительного результата гидравлической пробы створки с комиссурами фиксируются внутри протеза, устройство удаляется. **Заключение.** Создано новое устройство для облегчения выполнения, воспроизводимости и стандартизации клапаносохраняющего протези-

рования АК. Полученные результаты позволят облегчить и ускорить выполнение клапаносохраняющего протезирования корня и ВА, повысить воспроизводимость методики, снизить риски осложнений.

Ключевые слова: аневризма, аортальный клапан, воспроизводимость результатов, грудная аорта, клапаносохраняющий, реимплантация, технология, трехмерная печать.

Для цитирования: Успенский В.Е., Торопова Я.Г., Сапранков В.Л. и др. Разработка устройства для измерения параметров корня аорты и позиционирования створок аортального клапана при клапаносохраняющем протезировании корня аорты. *Трансляционная медицина.* 2024; 11(5): 388-397. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-388-397. EDN: CDZJQE

DEVELOPMENT OF A DEVICE FOR ASSESSMENT OF AORTIC ROOT PARAMETERS AND POSITIONING OF AORTIC VALVE CUSPS DURING AORTIC VALVE-SPARING ROOT REPLACEMENT

Vladimir E. Uspensky, Yana G. Toropova, Valeriy L. Saprankov,
Viktor I. Mazin, Sergey A. Minin, Maria V. Guskova,
Olga M. Moiseeva, Mikhail L. Gordeev

Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Vladimir E. Uspensky,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.

E-mail: v.e.uspenskiy@gmail.com

Received 02 September 2024; accepted
27 September 2024.

Abstract

Background. A promising method of surgical treatment of aneurysms of the root and ascending aorta (AA) with unchanged aortic valve (AV) cusps is aortic valve-sparing root replacement (VSRP) with AV reimplantation (David procedure). To date, there are no clear indications to make a choice in favor of valve-replacing or valve-sparing intervention. The result of visual evaluation and the choice of treatment method based on the surgeon's experience remains the main criteria. **Objective.** In the experiment to develop a prototype and method of application of the device for positioning of AV cusps, which will simplify and standardize aortic valve-sparing root replacement, improve the results and increase the reproducibility of these operations. **Design and methods.** Three-dimensional (3D) modeling of the device components was performed in the parametric open-source computer-aided design environment FreeCAD 0.20.1. Two-dimensional sketches were converted into three-dimensional models and exported as stl files for 3D printing. Solid components of the model were made of polylactic acid (PLA-plastic), elastic components were made of rubber-like photopolymer (Dropstil F556 10 shore A) also by 3D printing using SLA technology. **Results.** The device consists of 2 similar ring-sizers of variable diameter connected by three struts of variable length. In the upper part of each of the struts fastenings to the distal ring represents T-shaped cutouts for temporary locking of the suture-holders passed through the commissures of the AV cusps. For proximal locking of the aortic graft and the proximal ring-sizer, 3 U-shaped sutures are used, passed from inside to outside through the AV ring, the proximal part of the graft and taken in the tourniquets. The diameters of the ring-sizers can be varied between 25–40 mm by rotating a worm drive. A graft is placed on the inner side of the device, the suture-holders attached to the tops of the commissures are locked in the T-shaped notches in the upper parts of the struts. The device will allow changing the position of the coaptation point, coaptation square and performing hydraulic tests in different positions of the cusps, as well as variable diameters at the level of the AV ring and sinotubular junction (25–40 mm). When the target position of the coaptation point,

coaptation area and satisfactory hydraulic test result are achieved, the cusps with commissures are locked inside the graft and the device is removed. **Conclusion.** A new device has been developed to facilitate, reproduce, and standardize VSRR. The results obtained will facilitate and accelerate the performance of VSRR, increase the reproducibility of the technique, and reduce the risks of complications.

Key words: aneurysm, aortic valve, reimplantation, reproducibility of results, technology, thoracic aorta, three-dimensional printing, valve-sparing.

For citation: Uspensky VE, Toropova YG, Saprankov VL, et al. Development of a device for assessment of aortic root parameters and positioning of aortic valve cusps during aortic valve-sparing root replacement. Translational Medicine. 2024; 11(5): 388-397. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-388-397. EDN: CDZJQE

Список сокращений: АВА — аневризма восходящей аорты, АК — аортальный клапан, АР — аортальная регургитация, ВА — восходящая аорта, ВТЛЖ — выходной тракт левого желудочка, САПР — среда автоматизированного проектирования, СВ — синусы Вальсальвы, СТС — синотубулярное соединение, ФК — фиброзное кольцо.

Введение

Аортальная регургитация (АР) — одно из часто встречающихся состояний, ассоциированных с аневризмой восходящей аорты (АВА). Причинами АР могут быть расширение фиброзного кольца (ФК) АК, синусов Вальсальвы (СВ), синотубулярного соединения (СТС) с изменением соотношений размеров этих структур корня аорты при отсутствии морфологических изменений самих полунных створок [1, 2]. Для планирования лечения и оценки возможности сохранения АК необходимо проанализировать механизм формирования АР [3, 4]. Основными методами хирургической коррекции АВА в сочетании с АР и вовлечением корня аорты являются протезирование АК, корня и восходящей аорты (ВА) клапаносодержащим кондуитом (операция Бенталла-Де Боно), протезирование корня и ВА с реимплантацией (операция Дэвида) или ремоделированием (операция Якуба) АК, реимплантация корня аорты (операция Florida sleeve — «Флоридский рукав») [5–9]. Небольшую долю вмешательств по поводу АВА в сочетании с АР составляет замещение корня аорты легочным аутографтом — операция Росса [10]. При аневризме ВА на уровне СВ и тубулярной части ВА рекомендуется протезирование корня и ВА с реимплантацией АК (операция Дэвида) [2]. Оптимальными кандидатами являются больные с АР I типа (расширение корня аорты в сочетании с морфологически нормальными створками) и II типа (пролапс створок) [3]. Исключая особенности тех-

ники и опыт хирурга, к основным факторам, лимитирующим эффективное клапаносохраняющее вмешательство, относятся степень расширения ФК АК и состояние створок АК. При клапаносберегающем протезировании корня и ВА в клинике с достаточным опытом риск осложнений и рецидива АР невелик. Операция Дэвида существенно снижает риск ассоциированных с протезом АК отдаленных осложнений и повышает качество жизни пациентов [11–13]. Госпитальная летальность не превышает 2 %, а в отдаленном периоде после операций с сохранением АК клапан-ассоциированные осложнения редки, их встречаемость существенно ниже, чем при клапаноуносящих вмешательствах [14, 15].

Несмотря на тенденцию к росту количества операций на ВА в нашей стране, оно остается небольшим. В 2022 г. в России было выполнено 3010 операций на ВА (в 2021 г. — 2564) в 86 клиниках с общей госпитальной летальностью 7,5 %. Следует отметить 346 (11,5 %) операций Дэвида (госпитальная летальность в 2022 г. — 4,05 %, в 2021 г. — 4,12 %) и 16 (0,53 %) операций Florida sleeve (госпитальная летальность в 2022 г. — 0 %, в 2021 г. — 6,67 %). Таким образом, доля клапаносохраняющих операций протезирования корня и ВА в РФ в общей массе вмешательств на грудной аорте остается крайне малой — не более 12–14 % от всех вмешательств на ВА [16].

Этапами клапаносберегающего протезирования корня аорты являются интраоперационные измерения параметров корня аорты, а также выбор протеза аорты подходящего диаметра, и общепринятая методика для решения данной задачи отсутствует. Выбор протеза аорты подходящего диаметра может основываться на значениях диаметра ФК АК, измеренного интраоперационно при чреспищеводной эхокардиографии или прямым методом стандартными калибрами (сайзерами), либо на значении

высоты корня аорты [17, 18]. Ключевыми элементами эффективной реконструкции АК являются локализация точки коаптации створок АК выше уровня ФК АК и длина коаптации не менее 3–4 мм [19]. Для моделирования проксимальной зоны протеза аорты возможна его дозированная пликация, и для упрощения данной задачи российскими исследователями было разработано специальное устройство для формирования проксимальной части сосудистого протеза [20]. Группа Н.-J. Schäfers разработала специальный инструмент, позволяющий с высокой точностью измерять планиметрические характеристики АК, облегчая выполнение клапаносохраняющего протезирования корня аорты [21]. Разработан и запатентован ряд приспособлений для клапаносохраняющих операций на ВА, однако эти устройства технически сложны, непросты в использовании и не нашли широкого применения в клинической практике [22–25]. Вышеописанные устройства и приемы в основном предназначены для решения какой-то одной задачи: измерения диаметра ФК АК, позиционирования створки (створок) АК либо подбора оптимального диаметра протеза аорты. До настоящего времени не сформулированы однозначные критерии, позволяющие сделать выбор в пользу вмешательства с сохранением либо протезированием АК, центральным остается результат визуальной оценки и выбор метода коррекции на основании опыта хирурга. Создание специального устройства позиционирования створок АК, которое позволит упростить и стандартизировать клапаносохраняющее протезирование корня аорты, улучшить результаты и повысить воспроизводимость клапаносохраня-

ющих операций, является актуальной задачей сердечно-сосудистой хирургии.

Материалы и методы

В работе использовались методы виртуально-трехмерного (3D) моделирования и 3D-печати. 3D-моделирование компонентов устройства выполнено в параметрической среде автоматизированного проектирования (САПР) с открытым исходным кодом FreeCAD 0.20.1. Двумерные эскизы преобразовывались в трехмерные модели и экспортировались в виде файлов формата stl для 3D-печати. Твердые компоненты модели изготавливались из полимолочной кислоты (PLA-пластик — Polylactic Acid) методом 3D-печати по технологии FDM (Fused Deposition Modeling — моделирование плавным осаждением). Параметры печати: температура печати 190–220 °С, высота слоя 0,1–0,3 мм, скорость печати 60–150 мм/с, подогрев стола до 40–60 °С [26]. Эластичные элементы изготовлены из резиноподобного фотополимера (Dropstil F556 10 shore A) также методом 3D-печати по технологии SLA (Stereolithography — стереолитография). Параметры печати: толщина слоев 0,33 мм при плотности заполнения 100 %, высота слоя 100 мкм [27].

Результаты

Разработка прототипа устройства была вдохновлена изобретением Н. Akimoto и соавторов (2001), создавших устройство под названием Commissure Holder (держатель комиссур), упрощающее выбор протеза аорты подходящего диаметра и определение оптимального положения, в котором каждая ко-

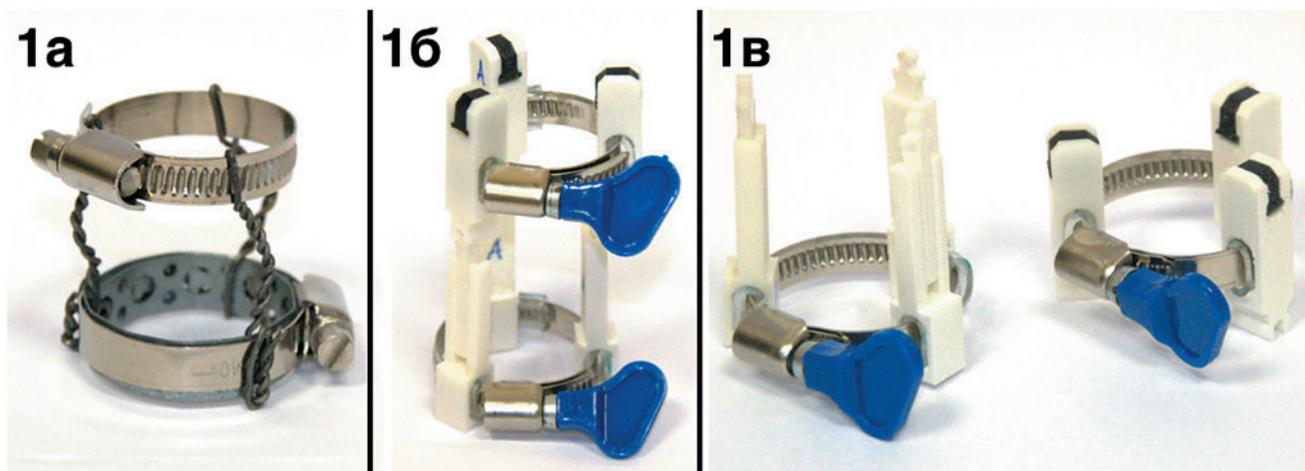


Рис. 1. Прототипы первого (1а) и второго поколений устройства Almazov Leaflet Holder (1б — в собранном виде, 1в — в разобранном виде)

Figure 1. Prototypes of the first (1a) and second (1b) generations of the Almazov Leaflet Holder device

миссура АК должна быть имплантирована в протез [28]. Также идея нашего устройства частично базировалась на изобретении М. Jelenc и коллег (2018), разработавших кольца-измерители (сайзеры), позволяющие правильно определить диаметр протеза аорты при реимплантации АК и дополнительно выполнить пластику створки [29].

Первый прототип нашего устройства был сконструирован для оценки возможности эффективно применения в клапаносохраняющей хирургии ВА и состоял из двух регулируемых по диаметру колец-измерителей, жестко соединенных меж-

ду собой тремя стойками — модель ALH-gen1 (Almazov Leaflet Holder, поколение 1) (рис. 1a). Предполагалось создание линейки устройств с регулируемыми диаметрами колец-измерителей и несколькими вариантами высоты стоек, соответственно переменной высоте комиссур и корня аорты. От данной конструкции пришлось отказаться в связи с высокой вариабельностью дистанции от уровня ФК АК до СТС, а также из-за неодинаковой высоты комиссур, в особенности при выраженном и асимметричном аневризматическом расширении корня аорты. Для решения

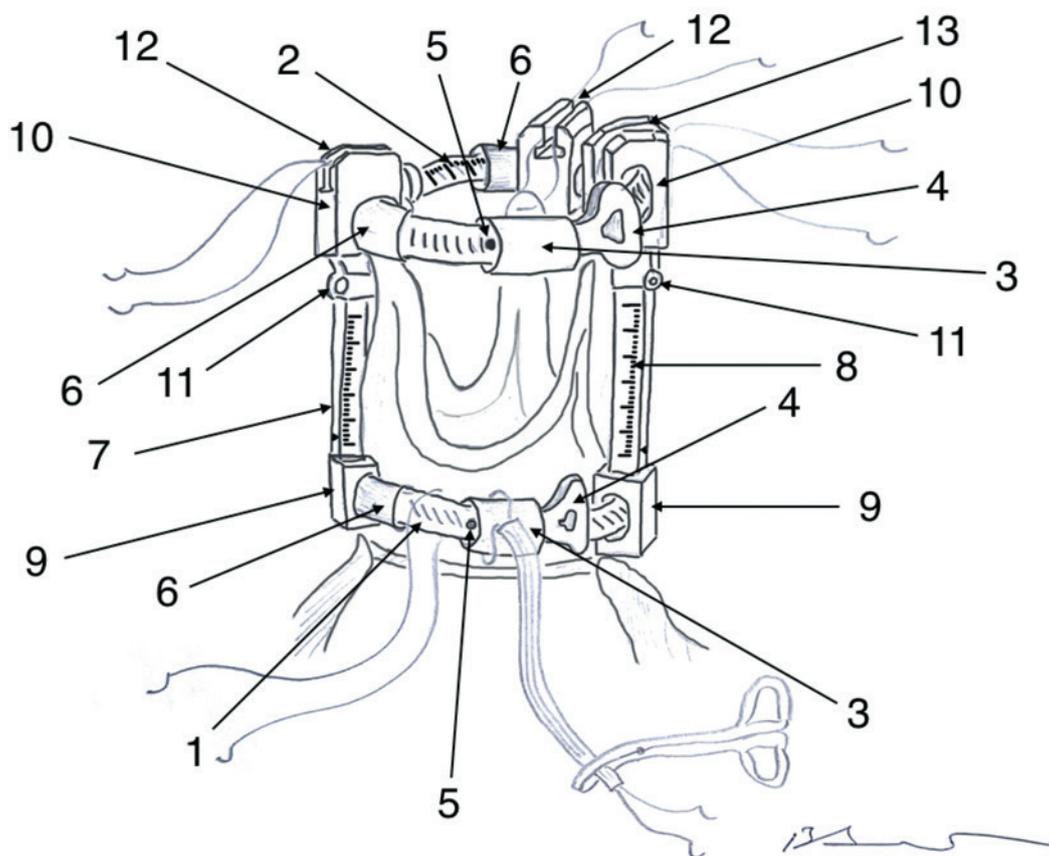


Рис. 2. Схематическое изображение компонентов устройства Almazov Leaflet Holder

Примечание: 1 — проксимальное кольцо-измеритель, 2 — дистальное кольцо-измеритель, 3 — основание корпуса привода, 4 — барашек, вращающий червячную передачу, 5 — «червяк», 6 — трубки из прозрачного силикона, надетые на кольца, 7 и 8 — раздвижные соединительные стойки, 9 — крепления стоек к проксимальному кольцу, 10 — крепления стоек к дистальному кольцу, 11 — разъемное присоединение дистального крепления к дистальному концу раздвижной стойки, 12 — Т-образные вырезы в верхней части каждого из креплений стоек к дистальному кольцу-измерителю, 13 — помещенный внутрь выреза мягкий Т-образный элемент.

Figure 2. Schematic representation of the Almazov Leaflet Holder device components

Note: 1 — proximal ring-sizer, 2 — distal ring-sizer, 3 — base of the actuator body, 4 — thumb screw rotating the worm gear, 5 — “worm”, 6 — silicone tubes put on the rings, 7 and 8 — sliding connecting struts, 9 — attachments of struts to the proximal ring, 10 — attachments of the struts to the distal ring, 11 — detachable connection of the distal attachment to the distal end of the sliding strut, 12 — T-shaped cutouts in the upper part of each of the strut attachments to the distal measuring ring, 13 — soft T-shaped element placed inside the cutout.

этой проблемы в модели второго поколения ALH-gen2 были применены соединительные стойки переменной длины, а также разъемные соединения стоек и колец-измерителей (рис. 1б, 1в).

В САПР FreeCAD были построены виртуальные модели компонентов устройства, далее компоненты были распечатаны на 3D-принтере с последующей сборкой устройства. Второе поколение устройства представляет собой 2 одинаковых кольца-измерителя переменной диаметра, соединенных между собой тремя стойками таким образом, что одно кольцо располагается над другим. Кольца-измерители выполнены в виде тонкой металлической полоски длиной 150 мм с нанесенными на внешней стороне зубьями, с внутренней стороны кольца нанесены обозначения миллиметров, отражающие диаметр кольца. Каждая металлическая полоска одним концом прикрепляется к основанию корпуса привода, другой конец (свободный) проходит через корпус привода. Диаметр кольца меняется при помощи червячной передачи. Каждая из трех соединительных стоек представляет собой 2 панели разных размеров. Панель большего размера, представляющая собой прямоугольный параллелепипед (внешняя часть стойки), имеет продольный паз, на внешней части стойки нанесены обозначения миллиметров. Внутренняя часть стойки имеет поперечное сечение, соответствующее пазу внешней части, и помещается внутрь последней,

что обеспечивает возможность их продольного перемещения друг относительно друга и изменения общей длины конструкции в диапазоне 30–50 мм. Крепления стоек выполнены в виде прямоугольных параллелепипедов с овальным отверстием, надеваются на кольца-измерители и могут перемещаться по периметру кольца. Присоединение дистальных креплений к концам раздвижных стоек выполнено разъемным, по типу шарикоподшипниковых. В верхней части каждого из креплений стоек к дистальному кольцу-измерителю имеются радиальные Т-образные вырезы с помещенным внутрь выреза элементом, выполненным из мягкого резиноподобного фотополимера. Вырезы служат для временного закрепления нитей-держалок, проведенных через вершины комиссур мобилизованных створок аортального клапана (рис. 2). Все составляющие устройства нетоксичны, могут быть в разобранном виде стерилизованы без повреждений методом холодной стерилизации для последующего интраоперационного применения.

Алгоритм применения разработанного устройства следующий. После пережатия аорты и кардиоплегии выполняется аортотомия, ревизия ВА и АК, измененные зоны стенки корня и ВА иссекаются, створки АК выкраиваются на комиссурах до уровня выходного тракта левого желудочка (ВТЛЖ). Через вершины комиссур проводятся швы-держалки. Для проксимальной фиксации про-

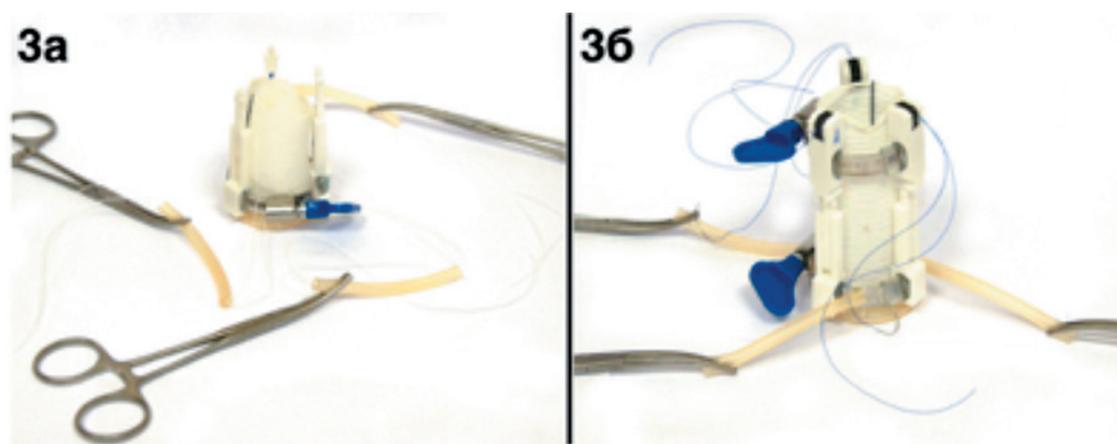


Рис. 3. Позиционирование сосудистого протеза внутри устройства Almazov Leaflet Holder — gen2

Примечание: 3а — проксимальное кольцо-измеритель установлено в области фиброзного кольца аортального клапана и фиксировано тремя П-образными швами на турникетах, 3б — с внутренней стороны устройства помещен сосудистый протез, швы-держалки фиксированы в Т-образных вырезах в верхних частях стоек.

Figure 3. Placement of the graft inside the Almazov Leaflet Holder device

Note: 3a — the proximal ring-sizer is placed in the area of the aortic valve ring and stabilized with three U-shaped sutures on the tourniquets, 3b — vascular prosthesis is placed on the inner side of the device, the retainer sutures are stabilized in the T-shaped notches in the upper parts of the struts.

теза аорты используются 12 П-образных швов с тефлоновыми прокладками, проведенных из ВТЛЖ изнутри кнаружи через ФК АК с последующим проведением через проксимальную часть сосудистого протеза. Далее в область ФК АК устанавливается проксимальное кольцо-измеритель со стойками таким образом, что выкроенные створки АК оказываются внутри кольца, а каждая пара (от 3 до 6) П-образных швов, проведенных через ВТЛЖ, охватывает проксимальное кольцо, захватывается в турникет и таким образом тестово фиксирует кольцо устройства на уровне ФК АК (рис. 3а). Диаметр проксимального кольца может бесступенчато меняться в диапазоне 25–40 мм путем вращения червячного привода. Следующим этапом дистальное кольцо присоединяется к раздвижным стойкам через разъемные соединения, а швы-держалки, фиксированные к вершинам выкроенных комиссур, проводятся через дистальное кольцо. Далее с внутренней стороны устройства помещается сосудистый протез таким образом, как он будет располагаться после завершения реконструктивной операции, а швы-держалки, фиксированные к вершинам комиссур, фиксируются в Т-образных вырезах в верхних частях стоек (рис. 3б). Таким образом, комиссуры могут перемещаться по вертикали и по горизонтали с возможностью бесступенчатой фиксации в любых крайних и промежуточных положениях, а также возможно бесступенчатое изменение диаметра дистального кольца за счет вращения червячного привода, что позволяет моделировать диаметр области СТС в диапазоне 25–40 мм. В процессе тестового позиционирования створок внутри сосудистого протеза возможно изменение положения точки коаптации створок, площади коаптации и выполнение гидравлических проб в условиях разных позиций створок относительно ФК АК и сосудистого протеза, а также различных диаметров на уровне ФК АК и СТС (25–40 мм). При достижении целевой позиции точки коаптации, площади коаптации и удовлетворительного результата гидравлической пробы створки с комиссурами фиксируются внутри протеза, нити-держалки удаляются из Т-образных вырезов, от стоек отсоединяется дистальное кольцо-измеритель, размыкается и снимается проксимальное кольцо-измеритель. Двенадцать П-образных швов, ранее проведенных через ВТЛЖ и проксимальную часть сосудистого протеза, завязываются.

Обсуждение

В результате работы создан прототип нового устройства для клапаносберегающей хирургии

ВА, получен патент «Устройство для интраоперационного позиционирования створок аортального клапана при формировании проксимального анастомоза сосудистого протеза с выходным трактом левого желудочка в процессе протезирования корня аорты с сохранением аортального клапана методом реимплантации». Разработанное устройство обеспечивает хорошую экспозицию зоны хирургической коррекции и снижает вероятность повреждения структур корня аорты в процессе реимплантации, в особенности створок АК. Тестовое позиционирование на различных уровнях створок, помещенных в сосудистый протез, изменения диаметра сосудистого протеза на уровнях ФК АК и СТС упрощают контроль позиции точки коаптации, выбор протеза оптимального диаметра, а также позволяют выполнить гидравлические пробы в различных условиях. Разработанное устройство решает проблему невозможности адекватного тестирования функции реимплантированного АК до момента запуска кровотока и снятия зажима с аорты, устраняя риски осложнений при повторном пережатии аорты для коррекции резидуальной АР. Ожидается, что применение разработанного устройства улучшит воспроизводимость протезирования корня аорты с реимплантацией АК, снизит оператор-зависимость и повысит стандартизацию методики, что обеспечит возможность применения данного метода «средними» хирургами и приблизит сложность клапаносохраняющего протезирования корня аорты к операции изолированного протезирования АК. Направлениями дальнейшей работы являются совершенствование конструкции, в том числе изменение конструкции разъемных соединений и колец-измерителей, определение параметров безопасности и эффективности устройства для оптимизации клапаносохраняющей коррекции АР в эксперименте на крупных лабораторных животных.

Заключение

Создано новое устройство для облегчения выполнения, воспроизводимости и стандартизации клапаносохраняющего протезирования АК. Полученные результаты позволят облегчить и ускорить выполнение клапаносохраняющего протезирования корня и ВА, повысить воспроизводимость методики, снизить риски осложнений.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Благодарности / Acknowledgement

Авторы благодарят Гурщенко А.В., к.м.н., доцента кафедры сердечно-сосудистой хирургии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, за помощь в экспериментальной работе по моделированию и коррекции аортальной недостаточности. / The authors thank A. V. Gurshchenkov, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Cardiovascular Surgery, Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre, for assistance in experimental work on modeling and correction of aortic regurgitation.

Финансирование / Funding

Работа выполнена в рамках плановой темы государственного задания «Разработка устройства для клапаносохраняющей коррекции аортальной недостаточности», номер ЕГИСУ 123021000152-9. / The work was performed within the framework of the planned topic of the state task “Development of a device for valve-sparing correction of aortic insufficiency”, EGISU number 123021000152-9.

Список литературы / References

1. Khubulava GG, Marchenko SP, Starchik DA, et al. Geometric and morphological features of the aortic root in norm and aortic regurgitation. *Xirurgiya. Zhurnal im. N. I. Pirogova=Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2018; 5:4–12. In Russian [Хубулава Г.Г., Марченко С.П., Старчик Д.А. и др. Геометрические и морфологические характеристики корня аорты в норме и при недостаточности аортального клапана. *Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова*. 2018; 5:4–12]. DOI: 10.17116/hirurgia201854-12.
2. Mazzolai L, Teixido-Tura G, Lanzi S, et al. 2024 ESC Guidelines for the management of peripheral arterial and aortic diseases. *European heart journal*. 2024; 45:36:3538–3700. DOI: 10.1093/eurheartj/ehae179.
3. Le Polain de Waroux JB, Pouleur AC, Goffinet C, et al. Functional anatomy of aortic regurgitation: accuracy, prediction of surgical reparability, and outcome implications of transesophageal echocardiography. *Circulation*. 2007; 116(11 Suppl):I264–9. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.680074.
4. El Khoury G, de Kerchove L. Principles of aortic valve repair. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2013; 145(3 Suppl): S26–9. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2012.11.071.
5. Bentall H, De Bono A. A technique for complete replacement of the ascending aorta. *Thorax*. 1968; 23:4:338–9. DOI: 10.1136/thx.23.4.338.
6. De Paulis R, Scaffa R, Salica A, et al. Biological solutions to aortic root replacement: valve-sparing versus bioprosthetic conduit. *Journal of visualized surgery*. 2018; 4:94. DOI: 10.21037/jovs.2018.04.12.
7. David TE, Feindel CM. An aortic valve-sparing operation for patients with aortic incompetence and aneurysm of the ascending aorta. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 1992; 103:4:617–21; discussion 622. DOI: 10.1016/s0003-4975(02)04135-8.
8. Fagan A, Pillai R, Radleysmith R, et al. Results of new valve conserving operation for treatment of aneurysms or acute dissection of aortic root. *Br Heart J*. 1983;49:302.
9. Hess PJ, Jr., Klodell CT, Beaver TM, et al. The Florida sleeve: a new technique for aortic root remodeling with preservation of the aortic valve and sinuses. *The Annals of thoracic surgery*. 2005; 80:2:748–50. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2004.02.092.
10. Ross DN. Replacement of aortic and mitral valves with a pulmonary autograft. *Lancet (London, England)*. 1967; 2:7523:956–8. DOI: 10.1016/s0140-6736(67)90794-5.
11. Chernyavsky AM, Khvan DS, Alsov SA, et al. Quality of life of patients with the ascending aorta aneurism after valve-sparing surgery. *Cardiology*. 2017; 57:9:47–52. In Russian [Чернявский А.М., Хван Д.С., Альсов С.А. и др. Качество жизни пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты после клапаносохраняющих операций. *Кардиология*. 2017; 57:9:47–52]. DOI: 10.18087/cardio.2017.9.10017.
12. Arabkhani B, Klautz RJM, de Heer F, et al. A multicentre, propensity score matched analysis comparing a valve-sparing approach to valve replacement in aortic root aneurysm: Insight from the AVIATOR database. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2023; 63:2:ezac514. DOI: 10.1093/ejcts/ezac514.
13. Charchian ÉR, Belov IuV, Stepanenko AB, et al. Valve-sparing technique for type A aortic dissection with insufficiency of aortic valve. *Cardiology*. 2014; 6:91–6. In Russian [Чарчян Э.Р., Белов Ю.В., Степаненко А.Б. и др. Клапансберегающие операции при расслоении аорты А типа с аортальной недостаточностью. *Кардиология*. 2014; 6:91–6]. DOI: 10.18565/cardio.2014.6.91-96.
14. Mastrobuoni S, Govers PJ, Veen KM, et al. Valve-sparing aortic root replacement using the reimplantation (David) technique: a systematic review and meta-analysis on survival and clinical outcome. *Annals of cardiothoracic surgery*. 2023; 12:3: 149–58. DOI: 10.21037/acs-2023-avs1-0038.
15. Khvan DS, Sirota DA, Zhul'kov MO, et al. Remote results of Florida Sleeve technique in patients with ascending aortic aneurysms and aortic insufficiency. *Angiology and Vascular Surgery*. 2020; 26:4:108–118. In Russian [Хван Д.С., Сирота Д.А., Жульков М.О. и др. Отдаленные результаты методики Florida sleeve у пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты и аортальной недостаточностью. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2020; 26:4:108–118]. DOI: 10.33529/ANGIO2020411.
16. Bokeria LA, Milievskaya EB, Pryanishnikov VV, et al. *Cardiovascular surgery—2022. Diseases and congenital*

anomalies of the circulatory system. Moscow: Bakoulev NMRC of CVS of the Ministry of Health of Russia. 2023: 344. In Russian [Бокерия Л.А., Милюевская Е.Б., Прянишников В.В. и др. Сердечно-сосудистая хирургия—2022. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения. М.: НМИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева Минздрава России; 2023: 344].

17. Schafers HJ. Aortic valve repair: easy and reproducible? *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2015; 149:1:129–30. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2014.09.022.

18. Schafers HJ, Schmied W, Marom G, et al. Cusp height in aortic valves. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2013; 146:2:269–74. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2012.06.053.

19. Gordeev ML, Uspenskiĭ VE, Ibragimov AN, et al. Surgical treatment of ascending aortic aneurysms. *Kardiologiya i serdechno-sosudistaya xirurgiya* =Russian Journal of Cardiology and Cardiovascular Surgery. 2016; 9:3:42–50. In Russian [Гордеев М.Л., Успенский В.Е., Ибрагимов А.Н. и др. Хирургическое лечение аневризм восходящего отдела аорты. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2016; 9:3:42–50]. DOI: 10.17116/kardio20169342-50.

20. Boldyrev SĬu, Man'kov DR, Rossokha OA, et al. New device for forming of the proximal part of vascular graft for the aortic root reconstruction in patients with ascending aorta aneurysm and bundle. *Kardiologiya i serdechno-sosudistaya xirurgiya*=Russian Journal of Cardiology and Cardiovascular Surgery. 2014; 7:1:41–43. In Russian [Болдырев С.Ю., Маньков Д.Р., Россоха О.А. и др. Новое устройство для формирования проксимальной части сосудистого протеза для реконструкции корня аорты у больных с аневризмой и расщеплением восходящей аорты. Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. 2014; 7:1:41–43].

21. David TE. Aortic valve-sparing operations. *Ann Thorac Surg*. 2024; 117:1:45–53. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2023.09.027.

22. Elibol A. A novel device for technical standardization of valve-sparing aortic root reimplantation. *Turk Gogus Kalp Damar Cerrahisi Derg*. 2020; 28:1:43–52. DOI: 10.5606/tgkdc.dergisi.2020.19182.

23. Love JW, Hanlon JG. Device and method for assessing the geometry of a heart valve. Patent #US 6598307 B2, 29.06.2003.

24. Paolitto A, Paquette J, Valentini V. Surgical tool for measurement of valve annulus and cusp geometry. Patent #US 8317696 B2, 27.11.2012.

25. Dobrilovich N. Heart valve sizing ring for valve-sparing aortic root remodeling procedures. Patent #US 10182913 B2, 22.01.2019.

26. Tyler B, Gullotti D, Mangraviti A, et al. Polylactic acid (PLA) controlled delivery carriers for biomedical applications. *Advanced drug delivery reviews*. 2016; 107:163–75. DOI: 10.1016/j.addr.2016.06.018.

27. Yu C, Schimelman J, Wang P, et al. Photopolymerizable biomaterials and light-based 3D printing strategies for biomedical applications. *Chemical reviews*. 2020; 120:19:10695–10743. DOI: 10.1021/acs.chemrev.9b00810.

28. Akimoto H, Tsuru Y, Yokoyama H, et al. Commissure holder: an innovative device for aortic valve-sparing technique. *The Annals of thoracic surgery*. 2001; 71:4:1380–1. DOI: 10.1016/s0003-4975(00)02451-6.

29. Jelenc M, Jelenc B, Knežević I, et al. New graft sizing rings for aortic valve reimplantation procedures. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. 2018; 26:1:1–3. DOI: 10.1093/icvts/ivx257.

Информация об авторах:

Успенский Владимир Евгеньевич, д.м.н., заведующий научно-исследовательской лабораторией заболеваний аорты и аортального клапана ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Торопова Яна Геннадьевна, д.б.н., заместитель директора по научной работе Института экспериментальной медицины ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Сапранков Валерий Леонидович, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории заболеваний аорты и аортального клапана ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Мазин Виктор Игоревич, очный аспирант кафедры сердечно-сосудистой хирургии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Минин Сергей Александрович, врач — анестезиолог-реаниматолог ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Гуськова Мария Владимировна, врач-стажер отделения сердечно-сосудистой хирургии № 1 ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Моисеева Ольга Михайловна, д.м.н., директор Института сердца и сосудов ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Гордеев Михаил Леонидович, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательского отдела кардиоторакальной хирургии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Authors information:

Vladimir E. Uspensky, M.D., Dr. Habil., Head of the Research Laboratory of Aorta and Aortic Valve Diseases, Almazov National Medical Research Centre;

Yana G. Toropova, Dr. Habil., Deputy Director for Research, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Centre;

Valeriy L. Saprankov, M.D., Junior Researcher, Research Laboratory of Aorta and Aortic Valve Diseases, Almazov National Medical Research Centre;

Viktor I. Mazin, full-time postgraduate student of the Department of Cardiovascular Surgery, Almazov National Medical Research Centre;

Sergey A. Minin, anesthesiologist-intensive care specialist, Almazov National Medical Research Centre;

Maria V. Guskova, fellow of the cardiovascular surgery department No. 1, Almazov National Medical Research Centre;

Olga M. Moiseeva, M.D., Dr. Habil., Director of the Heart and Vessels Institute, Almazov National Medical Research Centre;

Mikhail L. Gordeev, M.D., Dr. Habil., Full Professor, Chief Researcher of the Research Department of Cardiothoracic Surgery, Almazov National Medical Research Centre.

FEATURES OF THE PATHOGEN AND EFFICACY OF DRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS TREATMENT

Anna A. Starshinova^{1,2}, Ekaterina N. Belyaeva¹,
Igor V. Kudryavtsev³, Artem A. Rubinstein³, Leonid P. Churilov¹,
Hong Ling⁴, Min Zhuang⁴, Dmitry A. Kudlay^{5,6,7}

¹ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

² Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

³ Institution of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

⁴ Harbin Medical University, Harbin, China

⁵ Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

⁶ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

⁷ Institute of Immunology FMBA of Russia, Moscow, Russia

Corresponding author:

Anna A. Starshinova,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.

E-mail: starshinova_aa@almazovcentre.ru,
starshinova_777@mail.ru

Received 10 September 2024; accepted
11 October 2024.

Abstract

According to the World Health Organization (WHO), nearly 10.6 million new cases of tuberculosis were detected in 2022, indicating an increase of 3.5 % from the reported 10.3 million in 2021. After the COVID-19 pandemic, the incidence of tuberculosis increased by 3.9 % from 2020 to 2022. According to the latest regulatory documents, multidrug-resistant pathogen is diagnosed when any bacteriologic or molecular genetic methods reveal drug resistance of *M. Tuberculosis complex* at least to isoniazid and rifampicin regardless of resistance to other antituberculosis drugs.

With a wide range of virulence genes, the tuberculosis pathogen expresses genes in different phases of infection. Some genes are “switched on” in the early phases and are important for overcoming immune defenses and spreading the pathogen in the host, while others are important for survival in the latent phase. These characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* determine the need for correct and adequate selection of therapy. The problem of diagnostics and treatment of drug-resistant tuberculosis remains extremely urgent. Despite the introduction of new tests for rapid determination of drug susceptibility spectrum of *Mycobacterium tuberculosis*, the problem of timely and adequate prescription of chemotherapy regimen remains. When selecting therapy, the problem of prescribing a combination of antituberculosis drugs with proven efficacy against *M. tuberculosis* remains. The need to assess the patient’s comorbid status, which affects the effectiveness of treatment and the occurrence of relapses, remains relevant.

Despite the introduction of new tests for rapid determination of the drug susceptibility spectrum of *Mycobacterium tuberculosis*, the problem of timely and adequate prescription of chemotherapy remains relevant. The problem of prescribing a combination of antituberculosis drugs with proven efficacy against *M. tuberculosis* remains in the selection of therapy. Currently, the introduction of bedaquiline in therapy regimens is important for improving the effectiveness of tuberculosis treatment. In addition, studies are underway to shorten the duration of therapy for MDR-TB and XDR-TB, which is particularly important for maintaining patient adherence to treatment.

Key words: bedaquiline, drug-resistant tuberculosis, efficacy of treatment, MDR, tuberculosis, XDR.

For citation: Starshinova AA, Belyaeva EN, Kudryavtsev IV, et al. Features of the pathogen and efficacy of drug-resistant tuberculosis treatment. 2024; 11(5): 398-406. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-398-406. EDN: CHZLGY

ОСОБЕННОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЯ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННО-УСТОЙЧИВОГО ТУБЕРКУЛЕЗА

Старшинова А. А.^{1,2}, Беляева Е. Н.¹, Кудрявцев И. В.³,
Рубинштейн А. А.³, Чурилов Л. П.¹, Линг Х.⁴, Чжуан М.⁴,
Кудлай Д. А.^{5,6,7}

Контактная информация:

Старшинова Анна Андреевна,
ФГБУ «НМИЦ им. Алмазова» Минздрава
России,
ул. Акkuratова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: starshinova_aa@almazovcentre.ru,
starshinova_777@mail.ru

*Статья поступила в редакцию 10.09.2024
и принята к печати 11.10.2024.*

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский
государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

⁴ Харбинский медицинский университет, Харбин, Китай

⁵ Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Первый Московский
государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва,
Россия

⁶ Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования «Московский государственный
университет имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия

⁷ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственный научный центр «Институт иммунологии»
Федерального медико-биологического агентства России, Москва,
Россия

Резюме

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2022 году было выявлено около 10,6 млн новых случаев заболевания туберкулезом, что на 3,5 % больше, чем в 2021 году, когда было зарегистрировано 10,3 млн. После пандемии COVID-19 заболеваемость туберкулезом выросла на 3,9 % с 2020 по 2022 годы. Согласно последним нормативным документам, диагноз «возбудитель с множественной лекарственной устойчивостью» ставится в том случае, если любые бактериологические или молекулярно-генетические методы выявляют лекарственную устойчивость комплекса *M. Tuberculosis* как минимум к изониазиду и рифампицину, независимо от устойчивости к другим противотуберкулезным препаратам.

Обладая широким набором генов вирулентности, возбудитель туберкулеза экспрессирует гены на разных стадиях инфекции. Одни гены «включаются» на ранних стадиях и важны для преодоления иммунной защиты и распространения возбудителя в организме хозяина, другие важны для выживания в латентной фазе. Эти особенности микобактерий туберкулеза определяют необходимость правильного и адекватного подбора терапии. Проблема диагностики и лечения лекарственно-устойчивого туберкулеза остается чрезвычайно актуальной.

Несмотря на внедрение новых тестов для быстрого определения спектра лекарственной чувствительности *Mycobacterium tuberculosis*, проблема своевременного и адекватного назначения режима химиотерапии остается актуальной. При подборе терапии сохраняется проблема назначения комбинации противотуберкулезных препаратов с доказанной эффективностью в отношении *M. tuberculosis*. В настоящее время внедрение бемаквилина в схемах терапии имеет значение для повышения эффективности лечения туберкулеза. Кроме того, проводятся исследования по сокращению сроков терапии МЛУ и ШЛУ туберкулеза, что особенно важно для сохранения приверженности пациентов к лечению.

Ключевые слова: бемаквилин, лекарственно-устойчивый туберкулез, МЛУ (множественная лекарственная устойчивость), туберкулез, ШЛУ (широкая лекарственная устойчивость), эффективность лечения.

Для цитирования: Старшинова А.А., Беляева Е.Н., Кудрявцев И.В. и др. Особенности возбудителя и эффективность лечения лекарственно-устойчивого туберкулеза. 2024; 11(5): 398-406. (In Engl.). DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-398-406. EDN: CHZLGY

Introduction

Tuberculosis infection is one of the major infectious diseases that causes the most frequent deaths worldwide. According to the World Health Organization (WHO), nearly 10.6 million new cases of tuberculosis were detected in 2022, indicating an increase of 3.5 % from the reported 10.3 million in 2021. After the COVID-19 pandemic, the incidence of tuberculosis increased by 3.9 % from 2020 to 2022 [1, 2].

In 2022, in 30 high TB burden countries accounted for 87 % of global TB cases, with eight countries accounting for two-thirds of the total: India (27 %), Indonesia (10 %), China (7.1 %), Philippines (7.0 %), Pakistan (5.7 %), Nigeria (4.5 %), Bangladesh (3.6 %) and Democratic Republic of Congo (3.0 %). In 2022, 55 % of people who developed TB were male, 33 % were female and 12 % were children (aged 0–14 years) [3]. In 2021, the Russian Federation was withdrawn from the list of countries with a high burden of tuberculosis, but remained on the list of countries with a high burden of multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB) and tuberculosis with HIV infection [1].

Globally, an estimated 410,000 people (95 % CI: 370,000–450,000) developed multidrug-resistant or rifampicin-resistant tuberculosis (MDR/XDR-TB) of the causative agent in 2022. The number of people with MDR and XDR-TB was diagnosed and treatment was started much lower: 175,650 in 2022, equivalent to about two in five people in need, and still below the pre-pandemic level of 181,533 in 2019 [3].

In 2022, TB treatment was initiated in 7.5 million patients. However, only 70 % of TB patients received treatment [3, 4].

Despite the introduction of new methods of diagnostics and treatment of tuberculosis worldwide, it has not been possible to achieve an increase in the most important indicator — the effectiveness of treatment, which should be about 75–80 %, taking into account the drug sensitivity of the pathogen. The effectiveness of tuberculosis treatment with preserved sensitivity of mycobacteria (60 %) and with multidrug-susceptibility of the pathogen (51 %) continues to be low and does not meet the WHO recommended indicators [1, 3].

The People's Republic of China (PRC) and the Russian Federation (RF) have experience in tuberculosis control with a steady decline in tuberculosis incidence in recent years to 52 and 31 per 100,000 population by 2022, according to statistical analysis. The incidence of drug-resistant tuberculosis remains quite high and it is 2.1 and 21 per 100 thousand population in these countries, respectively. Globally, the overall effectiveness of treatment of first-detected TB is 87 % in 2022. Treatment of multidrug-resistant tuberculosis globally, in Europe and in the Russian Federation remains low with a slight upward trend by 2022 (51 % in the Russian Federation, 51 % in the PRC, 55 % in Europe and 64 % globally) [https://worldhealthorg.shinyapps.io/tb_profiles/?_inputs_&entity_type=%22country%22&iso2=%22RU%22&lan=%22RU%22].

According to the latest regulatory documents, multi-drug-resistant pathogen is diagnosed when any bacteriologic or molecular genetic methods reveal drug resistance of *M. Tuberculosis complex* at least to isoniazid and rifampicin regardless of resistance to other antituberculosis drugs. At the same time, we can talk about broad drug resistance of the pathogen when drug resistance of *M. tuberculosis complex* to not only isoniazid and rifampicin is detected. Tuberculosis complex not only rifampicin and isoniazid, but also any fluoroquinolone and linezolid or bedaquiline [1, 4].

Characteristics of *Mycobacterium tuberculosis*

One hypothesis based on the current genomes of *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC) suggests that the closest common ancestor of *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) migrated from Africa around 70,000 BCE [5].

However, studies of ancient genomes have determined earlier dates of less than 6,000 years. *Mycobacterium tuberculosis* was isolated from the calcified lymph node of the Bishop of Lund, who was a famous theologian of the 17th century. The genotype of *Mycobacterium tuberculosis* was also reconstructed, covering 141 genomes. Prior to this, the latest cases of bone and joint tuberculosis were found from the Neolithic era and date back to 4000 BC, and the first cases of pulmonary tuberculosis were identified in Egypt (3500–2650 BC) [6].

According to the phylogenetic classification based on the similarity of 16S rRNA genes, *M. tuberculosis* belongs to the kingdom Bacteria, type *Actinobacteria*, class *Actinobacteridae*, subclass *Actinomycetales*, order *Firmicutes*, suborder *Corynebacterineae*, family *Mycobacteriaceae*, genus *Mycobacterium* [7].

The genus *Mycobacterium* comprises more than 170 species, including harmless saprophytes, conditionally pathogenic nontuberculous mycobacteria (NTMB) — causative agents of mycobacteriosis, and pathogenic-causative agents of human and animal diseases. Microorganisms of the genus *Mycobacterium* are characterized by a complex composition of the cell wall, which has extremely low permeability. The presence of long chains of α -alkyl, β -hydroxy fatty acids determines such a taxonomically important feature as acid resistance, which provides the ability to perceive differential staining by the Cyl-Nielsen (CN) method [8].

Mycobacterium tuberculosis complex is represented by several closely related species: *M. tuberculosis*, *M. canettii* and *M. africanum* are the causative agents of human tuberculosis; *M. bovis* is the main causative agent of bovine and human tuberculosis (attenuated BCG strain is used for immunization); *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedii* (and recently discovered species *M. mungi*, *M. orygis*, and *M. suricattae*) cause tu-

berculosis in animals and very rarely in humans [9]. It should be noted that genetic families of *Mycobacterium tuberculosis*, named Haarlem, Africa, and Filipino, have been identified in various regions of the world. These families probably arose as a result of adaptation of mycobacterial strains to specific host populations or environmental conditions [10].

Studying the genetic polymorphism of mycobacteria is important for understanding their evolutionary history, their distribution in different regions of the world, and for developing more effective methods for diagnosing and treating diseases caused by these microorganisms. In addition, these studies may shed light on the mechanisms of pathogenesis and virulence of different strains of mycobacteria, which opens up new opportunities for combating these dangerous infections.

The biodiversity of properties and phenotypic manifestations of *Mycobacterium tuberculosis* (MBT) is largely determined by its genome contained in a single ring chromosome. The genomes of *M. tuberculosis complex* representatives are characterized by a high degree of conservatism, demonstrating DNA homology at the level of 85–100 %. At the same time, the DNA of other species of the genus *Mycobacterium* is homologous to the genome of *M. tuberculosis* only by 5–29 %, which indicates significant evolutionary differences [11, 12].

The genome of *M. tuberculosis* is characterized by its smaller size compared to the genomes of other mycobacteria. The classical human tuberculosis pathogen, *M. tuberculosis*, has a larger number of genes than *M. africanum* and *M. bovis*, which have lost some genetic material in the process of evolutionary divergence [13].

In 1998, the nucleotide sequence of the chromosome of the H37Rv strain of *M. tuberculosis*, the reference “classical” strain for research, was fully deciphered. The chromosome is a toroidal structure containing over 4000 protein-coding genes and 60 genes encoding functional RNA components. The genome contains a unique ribosomal RNA operon, 16S rRNA involved in the degradation of proteins with atypical matrix RNA, 45 transport RNAs (tRNAs), and about 100 genes encoding lipoproteins.

Using basic molecular genetic techniques, *M. tuberculosis* typing can be performed to recognize strain differences. This is the basis for the molecular epidemiology of tuberculosis. More than 2,000 different genotypes have been discovered, some of which are widespread, while others are less common or characteristic of a particular region [11]. Thus, the most common genotype is the *Beijing/W* family (the so-called “Beijing strain”), with LAM (Latin American strain) and Haarlem being somewhat less common. The *Beijing* genotype is largely associated with an unfavorable course of tuberculosis,

increased virulence and transmissibility, and more frequent detection of drug resistance to antituberculosis drugs. Thus, in the territory of the North-West of the Russian Federation, the Beijing genotype has been detected in 57 % of cases in recent years. In half of the cases, the isolated Beijing strain showed multidrug resistance (MDR) to TB drugs [12].

With a wide range of virulence genes, the tuberculosis pathogen expresses genes in different phases of infection. Some genes are “switched on” in the early phases and are important for overcoming immune defenses and spreading the pathogen in the host, while others are important for survival in the latent phase.

These characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* determine the need for correct and adequate selection of therapy.

Treatment of drug-resistant tuberculosis

In 1943, a real breakthrough in the treatment of tuberculosis was made when scientists A. Vaksman, Shatz, and Buji managed to obtain streptomycin, a powerful antituberculosis antibiotic [4]. It was with the introduction of streptomycin into phthisiatric practice that the first successes in reducing the mortality rate from tuberculosis were achieved. From 1950 to 1969, according to official data, the mortality rate in the USSR decreased by 6.5 times, and in some areas by 10 times (Figure 1) [15].

A new era of tuberculosis control began. Streptomycin was used in clinical practice and also aminosalicylic acid and isoniazid. Since 1960, courses of

anti-TB therapy for a long time (12–24 months) with the use of 2 anti-TB drugs have been used. In the 70s, a new drug, rifampicin, was introduced into practice for the treatment of patients with tuberculosis, which reduced the duration of specific therapy to less than 12 months [15].

In order to increase the effectiveness of specific therapy in 1970–2000, pathogenetic therapy with the use of hormones, immunomodulators, antioxidants and hypoxants began to be developed, which led to a significant decrease in tuberculosis morbidity, which reached the lowest values in the history of Russia [4, 16].

Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* is one of the main factors limiting the effectiveness of tuberculosis chemotherapy, which requires the development of new antituberculosis drugs (ATDs) for the treatment of tuberculosis patients, including multidrug-resistant tuberculosis (MDR-TB).

One of the new drugs used in the most severe category of patients is bedaquiline, which belongs to the group of diarylquinolines — a new class of antitubercular compounds. Bactericidal action of bedaquiline is caused by specific inhibition of proton pump ATP synthase of mycobacteria (adenosine 5'triphosphate synthase) — an enzyme that plays the main role in the process of cellular respiration of *Mycobacterium tuberculosis*. Suppression of ATP synthesis leads to impaired energy production and, as a result, to microbial cell death [17–20].

In recent years, a large number of preclinical studies have been conducted in search of drugs effective against

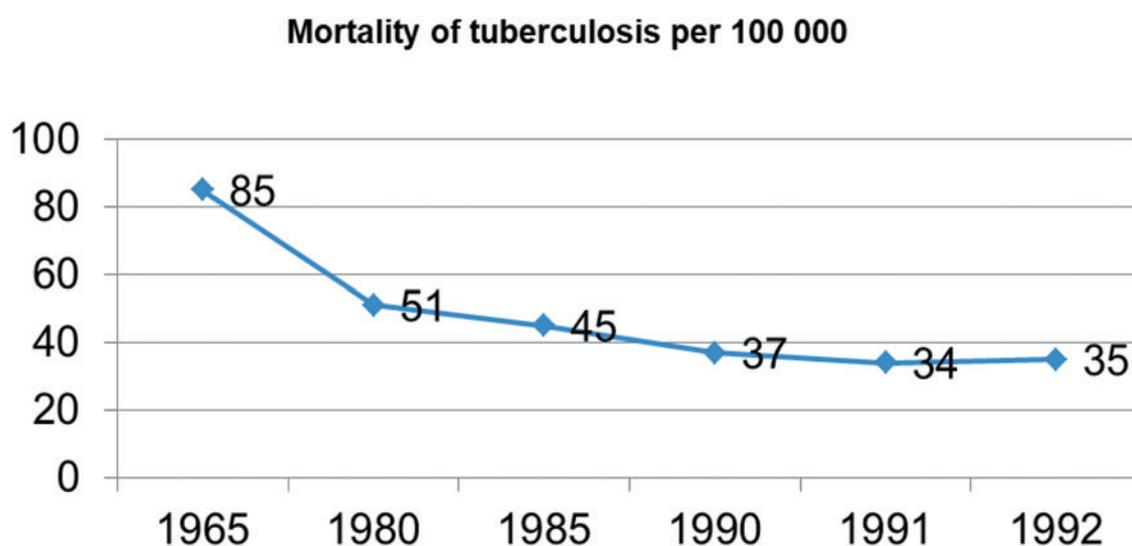


Figure 1. Tuberculosis mortality rate in the USSR in 1965–1992 [4, 15]

Рис. 1. Показатели смертности от туберкулеза на 100 тыс. населения в СССР в 1965–1992 гг. [4, 15]

Table 1. Clinical studies with tuberculosis treatment regimens using anti-tuberculosis drugs

Таблица 1. Исследования новых схем лечения туберкулеза

Title of the study / Название исследования	Experimental groups [the control] / Экспериментальная группа [контрольная группа]	Treatment of tuberculosis / Лечение туберкулеза	Study phase and number of patients included / Фаза клинического исследования	Study completion data / Данные о завершении исследования
HIGHSHORT-RP NCT04694586	2HRHd ZE/2HRHd [2HRZE/4HR]	DST *	II / 40	Suspended recruitment
STEP2C-01 NCT05807399	3RHd HZM600 3RHd HZHdM600 3BDMS1200 [2HRZE/4HR]	DST*	IIb/c/ 360	Recruitment through February 2025
OptiRiMoxTB NCT05575518	4HRHd ZE 4HRHd MZ [2HRZE/4HR]	DST	III/ 414	Recruitment through March 2026
ORIENT NCT05401071	2HP600 MZ/2HP600 M 2HP900 MZ/2HP900 M 2HP1200 MZ/2HP1200 M [2HRZE/4HR]	DST	II/III 2 442	Recruitment through November 2027
Hi-DoRi-3 NCT04485156	1–2HRHd Z/3HRHd [2HRZE/4HR]	DST	III / 926	No set
PORT NCT06057519	2HRHd ZE/4HRHd [2HRZE/4HR]	DST	III / 136	No set
endTB NCT02754765	9BLzMZ 9BLzLxCZ 9BDLzLxZ 9DLzLxCZ 9DMCZ	MDR-TB **	III/ 754	The study is completed research submitted
K21-024 NCT05278988	6–9BDCZ 6BDLzC 9BDLzC	MDR-TB	IV/ 60	Finalization in September 2024
DRAMATIC NCT03828201	16wkBDCLxLz8wk 24wkBDCLxLz8wk 32wkBDCLxLz8wk 40wkBDCLxLz8wk	MDR-TB	IIc/ 220	Finalization in July 2025

Note: * DST — drug-susceptible tuberculosis.

** MDR-TB — multidrug-resistant tuberculosis.

B = bedaquiline, C = clofazimine, D = delamanid, E = ethambutol, H = isoniazid, Lx = levofloxacin, Lz = linezolid, M = moxifloxacin, P = rifapentine, Pa = pretomanid, R = rifampicin, S = sutezolid, Sx = sitafloxacin, SMZ/TMP = sulfamethoxazole/ trimethoprim, Z = pyrazinamide.

Примечания: * ЛЧ — лекарственно-чувствительный туберкулез.

** МЛУ-ТБ — туберкулез со множественной лекарственной устойчивостью возбудителя.

M. tuberculosis, including those with drug resistance. Data on clofazimine analog — TBI-166, TBI-354 — a 2nd generation nitroimidazole with similar activity to delamanid, CPZEN-45 (caprazamycin) — a nucleoside antibiotic, SQ641 (sapuramycin) — a nucleoside antibiotic were obtained, Spectinamide 1599 is a semi-synthetic streptomycin analog, SEQ-9 (sequanamycin) is a macrolide, Q203 is an imidazopyridine derivative, a new class of drugs, blocks the respiratory cytochrome

bc1 complex, TBK-613 — fluoroquinolone, VXc-486 — aminobenzimidazole, BTZ-043 — has a novel mechanism of action (inhibits the formation of the enzyme DprE1 (decaprinylphosphoryl-b-D-ribose-2'epimerase), which disrupts cell wall synthesis and leads to lysis of the bacterium, which have showed certain results that allow further phase II clinical trials [21].

Phase II clinical trials were conducted to determine the efficacy and safety in TB patients with LU MBT

when TBA-354, Q203 (imidazopyridine), Sutezolid (PNU-100480 — oxazolidinone), OPC-67683 (delamanid), TMC207 (bedaquiline, diarylquinoline), AZD5847 (oxazolidinone), PBTZ-169 (benzothiazinone derivative), SQ109 (ethylenediamine — an analog of ethambutol), tedizolid (a representative of oxazolidones), and thioureidoiminomethylpyridinium perchlorate (Tpp) was studied in the Russian Federation [22–26].

A large number of clinical trials are currently underway examining the efficacy and safety of various regimens for the treatment of both drug-sensitive and drug-resistant tuberculosis (Table 1).

As can be seen from the data presented in Table 1, many studies will be completed after 2025. Many clinical trials are not completed for various reasons.

Different approaches to tuberculosis chemotherapy have been developed worldwide [22–26].

The BPaLM (6 Bdq-Pa-Lzd-Mfx) regimen is used to treat patients with MDR-TB in the presence or absence of additional resistance to fluoroquinolones. This six-month all-oral regimen includes the administration of bedaquiline, pretomanid, linezolid, and moxifloxacin. In patients with MDR/XDR-TB and confirmed fluoroquinolone resistance, moxifloxacin can be excluded from this regimen and BPaL can be initiated or continued.

A nine-month all-oral regimen (4-6 Bdq(6 months)-Lfx/Mfx-Cfz-Z-E-Hh-Eto or Lzd(2 months)/5 Lfx/Mfx-Cfz-Z-E) is used to treat patients with MDR-TB and excluded fluoroquinolone resistance. This nine-month all-oral regimen includes bedaquiline (for six months) in combination with levofloxacin/moxifloxacin, ethionamide, ethambutol, isoniazid (high-dose), pyrazinamide, and clofazimine (for four months, with an option to extend to six months if the patient remains sputum smear positive after four months); followed by levofloxacin/moxifloxacin, clofazimine, ethambutol and pyrazinamide (for five months). Ethionamide can be substituted for two months of linezolid.

Longer individualized regimens are used to treat MDR-TB patients who are not indicated or have not benefited from the six- or nine-month regimens described above, whose TB is caused by extensively drug-resistant strains of *M. tuberculosis* (e.g., extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB)), or who are intolerant to the main components of the above regimens. Such regimens have a duration of at least 18 months and are individually tailored based on sequentially grouped second-line antituberculosis drugs, taking into account the nature of drug resistance and the patient's medical history. Ethambutol and pyrazinamide (for five months). Ethionamide can be substituted for two months of linezolid.

Conclusion

Currently, the problem of diagnostics and treatment of drug-resistant tuberculosis remains extremely urgent. Despite the introduction of new tests for rapid determination of drug susceptibility spectrum of *Mycobacterium tuberculosis*, the problem of timely and adequate prescription of chemotherapy regimen remains. When selecting therapy, the problem of prescribing a combination of antituberculosis drugs with proven efficacy against *M. tuberculosis* remains. The need to assess the patient's comorbid status, which affects the effectiveness of treatment and the occurrence of relapses, remains relevant.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Финансирование / Funding

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках научного проекта по соглашению № 075-15-2024-631. / The study was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation in the framework of a scientific project under agreement No. 075-15-2024-631.

Благодарности / Acknowledgement

Мы благодарны за помощь, оказанную Мин Чжан, Чун-Лэй Чжан, Хонг Лин из Центра инновационных исследований в области инфекций и иммунитета провинции Хэйлуцзян. / We are thankful for the assistance provided by Min Zhuang, Chun-Lei Zhang, Hong Ling at the Center for Innovative Research in Infection and Immunity of Heilongjiang Province.

Список литературы / References

1. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 4: treatment - drug-susceptible tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. Mitnick C, Khan U, Guglielmetti L, et al. SP01 Innovation to guide practice in MDR/RR-TB treatment: efficacy and safety results of the end TB trial. Presented at: Union World Conference on Lung Health. 2023 November 15. <https://theunion.floq.live/event/worldconf2023/symposia?objectClass=timeslot&objectId=64ef5819e-0400915b209e22f&type=detail>.
3. Global tuberculosis report 2023. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO, ISBN 978-92-4-008385-1.

4. Starshinova AA, Vishnevski BI, Grashenkov AS et al. Principles of differential diagnosis of tuberculosis of the respiratory system and other lung diseases. In Russian [Старшинова А.А., Вишневецкий Б.И., Гращенко А.С. и др. Принципы дифференциальной диагностики туберкулеза органов дыхания и других заболеваний легких: Учебное пособие. Красноярск: изд. АС-КИТ, 2024. 148 с.].
5. Sabin S, Herbig A, Vågene ÅJ, et al. A seventeenth-century *Mycobacterium tuberculosis* genome supports a Neolithic emergence of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Genome Biol.* 2020; 21, 201. DOI: 10.1186/s13059-020-02112-1.
6. Masson M, Bereczki Z, Molnár E, et al. 7000 year-old tuberculosis cases from Hungary — Osteological and Biomolecular Evidence, *Tuberculosis.* 2015; 1:S13–7. DOI: 10.1016/j.tube.2015.02.007.
7. Gupta RS, Lo B, Son J. Phylogenomics and Comparative Genomic Studies Robustly Support Division of the Genus *Mycobacterium* into an Emended Genus *Mycobacterium* and Four Novel Genera. *Front. Microbiol.* 2018; 13: 9:67. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00067.
8. Wanger A, Chavez V, Huang RSP, et al. *Mycobacterium tuberculosis* complex comprises *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *Mycobacterium africanum*, among others. *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology.* 2017; 75–117. DOI: 10.1016/B978-0-12-805351-5.00006-5.
9. Damene H, Tahir D, Diels M, et al. Broad diversity of *Mycobacterium tuberculosis* complex strains isolated from humans and cattle in Northern Algeria suggests a zoonotic transmission cycle. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020; 30:14:11. e0008894. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008894.
10. Godreuil S, Torrea G, Terru D, et al. First Molecular Epidemiology Study of *Mycobacterium tuberculosis* in Burkina Faso. *J Clin Microbiol.* 2007; 45:3: 921–927. DOI: 10.1128/JCM.01918-06.
11. Mokrousov I, Chernyaeva E, Vyazovaya A, et al. Rapid Assay for Detection of the Epidemiologically Important Central Asian/Russian Strain of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing Genotype. *J Clin Microbiol.* 2018; 56:2: e01551–17. DOI: 10.1128/JCM.01551-17.
12. Vyazovaya A, Gerasimova A, Mudarisova R, et al. Genetic Diversity and Primary Drug Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing Genotype Strains in Northwestern Russia. *Microorganisms.* 2023; 11:2: 255. DOI: 10.3390/microorganisms11020255.
13. Krajewski WW, Jones TA, Mowbray SL. Structure of *Mycobacterium tuberculosis* glutamine synthetase in complex with a transition-state mimic provides functional insights. *PNAS.* 2005; 102:30: 10499–10504. DOI: 10.1073/pnas.0502248102.
14. Massino SV. Main stages of development of tuberculosis in the USSR. The *Tuberculosis Handbook* edited by A. I. Lapina and S. V. Massino. Moscow: Medgiz. 1962; 4: 9–24. In Russian [Массино С.В. Основные этапы развития борьбы с туберкулезом в СССР. Руководство по туберкулезу / Под ред. А. И. Лапиной, С. В. Массино. М.: Медгиз. 1962; 4: 9–24].
15. Starshinova AA, Pavlova MV, Yablonskiy PK, et al. Evolution of phthisiatry — a search for new methods and drugs effective for the treatment of tuberculosis. *Prakticheskaya medicina=Practical medicine.* 2014; 7:83: 127–132. In Russian [Старшинова А.А., Павлова М.В., Яблонский П.К. и др. Эволюция фтизиатрии — это поиск новых методов и препаратов, эффективных при лечении туберкулеза. *Практическая медицина.* 2014; 7:83: 127–132].
16. *Tuberculosis in the Russian Federation 2011 Analytical Review of Statistical Indicators Used in the Russian Federation and in the World.* 2015; Moscow. 280 p.
17. Borisov SE, Filippov AV, Ivanova DA, et al. Efficacy and safety of chemotherapy regimens with bedaquiline in patients with respiratory tuberculosis: immediate and final results. *Tuberculosis and Lung Diseases.* 2019;97(5):28–42. (In Russ.) DOI: 10.21292/2075-1230-2019-97-5-28-40.
18. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: Module 3: diagnosis – rapid diagnostics for tuberculosis detection [Internet] 732. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33999549/> (accessed on Aug 28, 2023)
19. WHO. The Use of Bedaquiline in the Treatment of Multidrug-Resistant Tuberculosis: Interim Policy Guidance; WHO: Geneva, Switzerland, 2013; 57p.
20. Kudlay DA. Development and introduction into clinical practice of a new pharmacological substance from the class of diarylquinolines. *Exp. Clin. Pharmacol.* 2021; 84: 41–47. In Russian [Кудлай Д.А. Разработка и внедрение в клиническую практику нового фармакологического вещества из класса диарилхинолинов. *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2021; 84: 41–47]. DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-3-41-47.
21. Mitnick C, Khan U, Guglielmetti L, et al. SP01 Innovation to guide practice in MDR/RR-TB treatment: efficacy and safety results of the end TB trial. Presented at: Union World Conference on Lung Health. 2023 November 15. <https://theunion.floq.live/event/worldconf2023/symposia?objectClass=timeslot&objectId=64ef5819e-0400915b209e22f&type=detail>.
22. WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 5: management of tuberculosis in children and adolescents. Geneva: World Health Organization; 2022.
23. Borisov SE, Dheda K, Enwerem M, et al. Effectiveness and safety of bedaquiline-containing regimens in the treatment of MDR- and XDR-TB: A multicentre study. *Eur. Respir. J.* 2017; 49:5: 1700387. DOI: 10.1183/13993003.00387-2017.
24. Starshinova AA, Dovgalyuk IF, Osipov NN, et al. Bedaquiline Efficacy in the Russian Federation: Meta-Analysis with a Random Effects Model. *Tuberkulez i bolezni legkix=Tuberculosis and Lung Diseases.* 2023; 101:3: 52–61. In Russian [Старшинова А.А., Довгальчук И.Ф., Осипов Н.Н. и др. Эффективность бедыквилина в Российской Федерации: Мета-анализ с использованием модели случайных эффектов. *Туберкулез и болезни легких.* 2023; 101:3: 52–61].

И.Ф., Осипов Н.Н. и др. Эффективность применения бедаквилаина в Российской Федерации: метаанализ с использованием модели со случайными эффектами. *Туберкулез и болезни легких*. 2023; 101:3: 52–61]. DOI: 10.58838/2075-1230-2023-101-3-52-61.

25. Yablonsky PK, Starshinova AA, Nazarenko MM, et al. Efficiency of new chemotherapy regimens in patients with extensive drug resistance of the pathogen. *Bull. Mod. Clin. Med.* 2022; 15: 67–75. DOI: 10.20969/VSKM.2022.15(2).

26. Stavitskaya NV, Felker IG, Zhukova EM, et al. The multivariate analysis of results of bedaquiline use in the therapy of MDR/XDR pulmonary tuberculosis. *Tuberkulez i bolezni legkix=Tuberculosis and Lung Diseases*, 2020; 98:7: 56–62. In Russian [Ставицкая Н.В., Фелькер И.Г., Жукова Е.М. и др. Многофакторный анализ результатов применения бедаквилаина в терапии МЛУ/ШЛУ-туберкулеза легких. *Туберкулез и болезни легких*. 2020; 98:7: 56–62]. DOI: 10.21292/2075-1230-2020-98-7-56-62.

Authors information:

Anna A. Starshinova, DMedSci, MD, PhD. Head of the Research Department, the Almazov National Medical Research Centre; Chief Scientist, Saint Petersburg State University;

Ekaterina N. Belyaeva, PhD, head of the medical department, Republic TB healthcare dispensary, Petrozavodsk, Russia; Senior Researcher, Saint Petersburg State University;

Igor V. Kudryavtsev, PhD, Head of laboratory, laboratory of cellular immunology, Institute of Experimental Medicine;

Artem A. Rubinstein, Junior Researcher at the Laboratory of Cellular Immunology, Institute of Experimental Medicine;

Leonid P. Churilov, MD, PhD. (Medicine), Chairman of Pathology Dept., Deputy-Head of the Laboratory of the Mosaic of Autoimmunity and Laboratory of the Microangiopathic Mechanisms of Atherogenesis, Saint Petersburg State University; Associate Professor, Academician of the Academy of Medical Sciences of Moldova, Full Member of the International Academy of Sciences (Health and Ecology);

Hong Ling, PhD. MD, Department of Microbiology, Immunology, Harbin Medical University, Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Infection and Immunity, Key Laboratory of Pathogen Biology, Harbin, China;

Min Zhuang, PhD. MD, Department of Microbiology, Harbin Medical University, Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Infection and Immunity, Key Laboratory of Pathogen Biology, Harbin, China;

Dmitry A. Kudlay, DMedSci, MD, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Department of Pharmacology, Institute of Pharmacy, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov

University); Professor of the Department of Pharmacognosy and Industrial Pharmacy, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University; Leading Researcher, Laboratory of Personalized Medicine and Molecular Immunology, NRC Institute of Immunology FMBA of Russia.

Информация об авторах:

Старшинова Анна Андреевна, д.м.н., начальник Управления научными исследованиями, профессор кафедры факультетской терапии с клиникой ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; главный научный сотрудник лаборатории «Вероятностные методы в анализе» ФГБОУ ВО СПбГУ;

Беляева Екатерина Николаевна, к.м.н., главный врач Республиканского противотуберкулезного диспансера, г. Петрозаводск, Россия; старший научный сотрудник лаборатории «Вероятностные методы в анализе», ФГБОУ ВО СПбГУ;

Кудрявцев Игорь Владимирович, к.б.н., доцент, заведующий лабораторией клеточной иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;

Артем Аркадьевич Рубинштейн, младший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;

Чурилов Леонид Петрович, к.м.н., заведующий кафедрой патологии, заместитель заведующего лабораторией мозаики аутоиммунитета и лабораторией микроангиопатических механизмов атерогенеза ФГБОУ ВО СПбГУ; доцент, академик Академии медицинских наук Молдовы, действительный член Международной академии наук (Здоровье и экология);

Хун Лин, д.м.н., кафедра микробиологии и иммунологии, Харбинский медицинский университет; лаборатория инфекции и иммунитета провинции Хэйлунцзян; лаборатория биологии патогенов, Харбин (Китай);

Мин Чжуан, д.м.н., кафедра микробиологии, Харбинский медицинский университет; лаборатория инфекции и иммунитета провинции Хэйлунцзян; лаборатория биологии патогенов, Харбин (Китай);

Кудлай Дмитрий Анатольевич, член-корр. РАН, д.м.н., профессор кафедры фармакологии Института фармации ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет); профессор кафедры фармакогнозии и промышленной фармации факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова»; ведущий научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины и молекулярной иммунологии № 71, ФГБУ «ГНИЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *AREG* В КЛЕТКАХ КУМУЛЮСА ЧЕЛОВЕКА КАК МАРКЕР ПРОГНОЗИРОВАНИЯ КАЧЕСТВА ООЦИТОВ

Башенджиева Е. О.¹, Барашкова Е. А.², Татищева Ю. А.²,
Калугина А. С.^{2,3}, Енукашвили Н. И.¹

Контактная информация:
Енукашвили Натэлла Иосифовна,
ФГБУН «Институт цитологии» РАН,
Тихорецкий пр., 4, Санкт-Петербург,
Россия, 194064.
E-mail: n.enukashvily@incras.ru

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт цитологии» Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

² Общество с ограниченной ответственностью «Клиника репродукции «Скайферт», Санкт-Петербург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Статья поступила в редакцию 18.08.2024
и принята к печати 29.08.2024.

Резюме

Актуальность. Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) являются перспективными методами лечения бесплодия. Персонализированный подход позволяет повысить их эффективность. Одним из таких подходов является разработка методов оценки качества эмбриона для переноса. Качество эмбриона, во многом определяющее успешность процедуры переноса, в значительной мере зависит от качества гамет, участвовавших в оплодотворении. Поэтому разработка неинвазивных методов оценки качества ооцитов востребована для развития персонализированных ВРТ. Молекулярно-биологическая характеристика клеток кумулюса может быть использована для оценки качества ооцитов и прогнозирования успешности имплантации перенесенного эмбриона. **Цель исследования:** оценка уровня экспрессии потенциальных генов — маркеров качества ооцита (*AREG*, *STAR*, *PTGS2*, *HAS2* и *SCD5*) в кумулюсных клетках здоровых доноров и пациенток с первичным и вторичным типами бесплодия. **Материалы и методы.** В исследовании участвовало 9 здоровых доноров и 19 доноров из числа лиц, проходящих лечение бесплодия с применением методов ВРТ. Из клеток кумулюса, полученных при подготовке ооцитов к оплодотворению, выделяли РНК и синтезировали кДНК, которую использовали в качестве матрицы для ПЦР в режиме реального времени с праймерами к указанным выше генам интереса. **Результаты.** Обнаружены достоверные различия в уровне экспрессии гена *AREG* между клетками кумулюса ооцитов с успешным (процедура закончилась родами) и неудачным исходами ЭКО. Для генов *STAR*, *HAS2*, *PTGS2* и *SCD5* различия не выявлены. **Заключение.** Метод определения уровня экспрессии генов-маркеров с помощью ПЦР в режиме реального времени является перспективным для оценки качества ооцитов. Ген *AREG* является одним из возможных генов-маркеров.

Ключевые слова: амфирегулин, ооцит-кумулясный комплекс, созревание ооцита, экстракорпоральное оплодотворение.

Для цитирования: Башенджиева Е.О., Барашкова Е.А., Татищева Ю.А. и др. Экспрессия гена *AREG* в клетках кумулюса человека как маркер прогнозирования качества ооцитов. *Трансляционная медицина*. 2024; 11(5): 407-418. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-407-418. EDN: CTAD EW

AREG EXPRESSION IN CUMULUS CELLS AS A PROGNOSTIC MARKER OF OOCYTE QUALITY

Ekaterina O. Bashendjieva¹, Ekaterina A. Barashkova²,
Julia A. Tatishcheva², Alla S. Kalugina^{2,3}, Natella I. Erukashvily¹

¹ Institute of Cytology of the Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russia

² Skyfert Assisted Reproductive Technologies Clinic, Saint Petersburg, Russia

³ Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author:

Natella I. Erukashvily,
Institute of Cytology of the Russian Academy
of Science,
Tikhoretsky ave., 4, Saint Petersburg, Russia,
194064.

E-mail: n.erukashvily@incras.ru

Received 18 August 2024; accepted
29 August 2024.

Abstract

Background. Assisted reproductive technologies (ART) represent the most promising and successful methods of infertility treatment. A personalized approach may enhance its efficacy. One such approach is the development of reliable methods for assessing the quality and selection of embryos for transfer. The quality of the embryo is largely contingent upon the quality of the gametes involved in fertilization; thus, the development of non-invasive methods to assess oocyte quality represents a crucial step in the advancement of personalized ART. It is proposed that molecular and biological characterization of cumulus cells can be utilized to assess oocyte quality and predict the success of implantation of transferred embryos. **The aim of the study** was to evaluate the expression levels of potential oocyte quality marker genes (*AREG*, *STAR*, *PTGS2*, *HAS2* and *SCD5*) in cumulus cells from healthy donors and patients with primary and secondary infertility. **Materials and Methods.** Nine donors and 19 patients were enrolled in the study. RNA was isolated from cumulus cells obtained during oocyte preparation for fertilization, and cDNA was synthesized. The cDNA was used as a matrix for real-time PCR with primers for the above-mentioned genes of interest. **Results.** Significant difference in *AREG* gene expression was observed between patients with successful (i.e. ended with birth) outcome and with IVF failure. No difference was found for the *STAR*, *HAS2*, *PTGS2* and *SCD5* genes. **Conclusion.** The method of assessing the expression level of marker genes in cumulus cells by real-time PCR shows considerable promise for the assessment of oocyte quality. The *AREG* gene is a potential candidate for use as a marker of oocyte quality.

Key words: amphiregulin, in vitro fertilization, oocyte-cumulus complex, oocyte maturation.

For citation: Bashendjieva EO, Barashkova EA, Tatishcheva JA, et al. *AREG* expression in cumulus cells as a prognostic marker of oocyte quality. *Translational Medicine*. 2024; 11(5): 407-418. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-407-418. EDN: CTADWW

Список сокращений: ОКК — ооцит-кумулюсный комплекс, ПЦР — полимеразная цепная реакция, *AREG* — амфирегулин, *GREM1* — gremlin 1 (гремлин 1), *HAS2* — hyaluronan synthase 2 (гиалуронансинтаза 2), *PTGS2* — Prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (простагландин-эндопероксидсинтаза 2), *SCD1,5* — Stearoyl-CoA desaturase-1,5 (стеарилКоА десатураза-1,5), *YWHAZ* — 14-3-3 protein zeta/delta (белок 14-3-3 дзета/дельта).

Бесплодие представляет собой состояние, характеризующееся нарушением репродуктивной функции у мужчин или женщин и проявляющееся в невозможности достижения беременности при регулярной половой жизни без применения методов контрацепции в течение 12 месяцев [1]. Оно является результатом различных физиологических и патологических факторов. По последним данным Всемирной организации здравоохране-

ния, проблема бесплодия затрагивает около 17,5 % взрослого населения, то есть примерно каждый шестой человек в мире не может реализовать свою репродуктивную функцию [2].

Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ) являются самыми эффективными методами лечения бесплодия, к которым относятся экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), микроинъекция сперматозоида в яйцеклетку (ИКСИ) и др. Сегодня в мире родилось более 15 млн детей в результате применения этих программ. Основная задача преодоления бесплодия методами ВРТ — наступление беременности и рождение одного здорового ребенка. С целью оптимизации эффективности программ ВРТ требуются различные персонифицированные подходы. Одним из ключевых аспектов является отбор эмбриона лучшего качества для переноса в матку, то есть эмбриона с высоким потенциалом имплантации и дальнейшего развития. В клинической практике с целью снижения риска возникновения многоплодной беременности рекомендуется проводить селективный перенос только одного эмбриона согласно клиническим рекомендациям Министерства здравоохранения Российской Федерации [3] и приказу Минздрава России № 803н от 31.07.2020. Такое ограничение способствует контролю над процедурой ЭКО, уменьшая вероятность многоплодной беременности и связанных с ней осложнений как для матери, так и для развивающегося плода. Чем выше качество эмбриона, тем выше вероятность наступления беременности и рождения здорового ребенка. При выборе эмбриона для переноса используют как морфологические критерии (классификация бластоцист по Гарднеру) [4], так и дополнительные методы оценки (морфокинетика, преимплантационное генетическое тестирование на анеуплоидии) [5, 6]. Оценка качества ооцита, из которого получен эмбрион, представляется дополнительным высокоинформативным инструментом для выбора эмбриона с максимальным потенциалом к имплантации.

Известно, что качество эмбрионов во многом определяется качеством гамет, использованных для оплодотворения: ооцитов и сперматозоидов [6]. Поэтому возможность оценки ооцита, использованного для получения эмбриона, может стать дополнительным инструментом выбора для селективного переноса. Морфологическая оценка ооцитов проводится с целью определения их пригодности к использованию в программах ЭКО/криоконсервации и включает в себя: определение степени мейотической зрелости, а также выявление и фиксацию в протоколе морфологических

дисморфизмов различных структур ооцита, которые значимо влияют на клинические исходы (согласно методическим рекомендациям Российской Ассоциации репродукции человека (РАРЧ) от 15 ноября 2021 г.) [7].

Благодаря развитию технологий и научным исследованиям постоянно появляются новые подходы и методы, позволяющие более надежно определить качество ооцитов и повысить шансы на успешное проведение ВРТ и повысить частоту живорождений.

Для оценки качества ооцитов используют инвазивные и неинвазивные методы исследования. При неинвазивных методах сам ооцит не затрагивается, а оценка качества происходит либо на основе его морфологии, либо на основе анализа клеток и жидкостей, окружающих ооцит и имеющих непосредственное влияние на его рост и развитие [6]. К инвазивным методам можно также отнести оценку плоидности ооцита на основе анализа полярного тельца, поскольку биопсия полярного тельца проводится через разрез *zona pellucida* [8]. Поскольку ооциты представляют большую ценность, предпочтение отдается разработке именно неинвазивных методов, которые позволяют оценить их качество с минимальным нарушением условий культивирования, оплодотворения и развития эмбриона. К неинвазивным методам исследования относятся: транскриптомный анализ кумулюсных/гранулезных клеток, протеомный, транскриптомный и метаболомный анализ фолликулярной жидкости [6, 9].

В процессе роста ооцит получает необходимые ему вещества от окружающих его соматических клеток [10, 11]. Во время фолликуло- и оогенеза между клетками ооцит-кумуляного комплекса (ОКК) формируются тесные взаимодействия посредством щелевых контактов, благодаря чему происходит перенос питательных веществ и сигнальных молекул между ооцитом и кумулюсом, что обеспечивает взаимовлияние при созревании ооцита [12]. При естественном оплодотворении происходит взаимодействие кумулюсных клеток с рецепторами гиалуроновой кислоты, расположенными на головке сперматозоидов, что приводит к их разрушению и обеспечению доступа сперматозоида к блестящей оболочке ооцита.

Избыточные кумулюсные клетки, окружающие ооцит, часто удаляют непосредственно при получении ОКК, оставляя несколько слоев клеток вокруг ооцита для удобства дальнейших манипуляций. В настоящее время появляется все больше исследований, в которых кумулюсные клетки используются в роли дополнительного неинвазив-

ного источника маркеров качества яйцеклеток, поскольку есть возможность контролировать, от какого ооцита данные кумулюсные клетки были получены, а предлагаемые методы позволяют получить данные достаточно быстро. Все это в совокупности делает их удобным материалом для исследований, предположительно позволяющих быстро оценивать качество ооцита и полученного из него эмбриона.

Поскольку клетки кумулюса способствуют успешному эмбриональному развитию посредством тщательно настроенной и специфичной по времени программы экспрессии соответствующих генов [12–14], анализ характера их экспрессии и связанных с ними молекулярных функций может являться мощным инструментом для получения информации о процессах, связанных с компетентностью ооцита.

Последние научные исследования показывают, что уровни транскриптов определенных генов в клетках кумулюса и гранулезы связаны с созреванием ооцитов, жизнеспособностью эмбриона, беременностью и ее исходом [11, 13, 15–17].

Хорионический гонадотропин (ХГЧ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ) индуцируют быструю кратковременную экспрессию факторов, подобных эпидермальному фактору роста (*EGF*) — амфирегулина (*AREG*) и эпирегулина (*EREG*) — в пристеночных гранулезных и кумулюсных клетках. *AREG* и *EREG* индуцируют экспрессию простагландинсинтазы-2 (*PTGS2*, также называемой *COX2*) и *HAS2*, которые необходимы для синтеза и стабилизации внеклеточного матрикса кумулюсных клеток, экспансии кумулюса и последующей овуляции. Продукты этих генов были оценены как потенциальные биомаркеры в исследованиях с использованием qPCR для анализа транскриптома кумулюсных и гранулезных клеток [15, 17].

Исследован уровень экспрессии *HAS2*, *PTGS2*, и *GREM1* в 108 ооцитах и клетках кумулюса человека в зависимости от зрелости гамет, оплодотворения и качества эмбрионов. Экспрессия *PTGS2* и *HAS2* была в 6 раз выше, а у *GREM1* — в 15 раз выше в кумулюсных клетках, окружающих ооциты, из которых в дальнейшем развились эмбрионы высокого качества, по сравнению с кумулюсными клетками ооцитов, которые привели к образованию эмбрионов низкого качества [17]. В другом исследовании [13] авторы провели анализ транскрипции генов, активность которых повышается в кумулюсных клетках в ответ на преовуляторный всплеск ЛГ, который предшествует экспансии кумулюса: стероидогенный острый регуляторный

белок (*STAR*), *PTGS2*, *AREG*, две стеариол-коэнзим А-десатуразы (*SCD1* и *SCD5*). Уровни экспрессии всех исследованных генов повышались после возобновления мейоза. Таким образом, созревание ядра было связано с повышенной экспрессией *STAR*, *PTGS2*, *AREG*, *SCD1* и *SCD5* кумулюсными клетками. Основываясь на данных литературы, процитированных выше, гены *AREG*, *STAR*, *PTGS2*, *HAS2* и *SCD5* были нами отобраны для исследования.

Целью данной работы являлась оценка уровня экспрессии потенциальных генов — маркеров качества ооцита (*AREG*, *STAR*, *PTGS2*, *HAS2* и *SCD5*) в кумулюсных клетках здоровых доноров и пациенток с первичным и вторичным типами бесплодия. В ходе исследования показано, что экспрессия гена *AREG*, но не *STAR*, *SCD5*, *PTGS2* и *HAS2* в клетках кумулюса варьирует у пациенток с различным исходом процедуры ЭКО. Полученные данные позволяют рассматривать *AREG* в качестве одного из кандидатов для создания панели маркеров прогнозирования качества ооцита.

Материалы и методы

Этические принципы

Все образцы клеток кумулюса получены от здоровых доноров и пациенток с первичным и вторичным бесплодием, проходящих лечение с использованием методов ВРТ. Забор образцов осуществляли в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (Хельсинкская декларация: этические принципы медицинских исследований с участием человека, включая поправки, внесенные на 64-м заседании ВМА в Форталезе, Бразилия, октябрь 2013 г.) (WMA declaration of Helsinki — ethical principles for medical research involving human subjects, 1964). От каждого пациента, участвующего в исследовании, получено письменное информированное согласие. Также получено разрешение этического комитета (№ 11 от 22.12.2016) клиники ВРТ, в которой производили забор материала.

Пациенты

В исследовании в качестве материала использовались кумулюсные клетки, полученные из ОКК здоровых женщин, участвующих в программе донорства ооцитов, и пациенток, обращающихся в клинику за услугами ВРТ. Всего было включено 19 пациенток. В качестве доноров ($n = 9$), согласно Приказу Минздрава России № 803н от 31.07.2020, отбирали женщин в возрасте от 18 до 35 лет, подходящих по показателям здоровья. Возраст пациенток с различными формами бесплодия на мо-

мент исследования варьировал от 27 до 42 лет. В исследование включали только женщин с нормальным для своей возрастной группы уровнем антимюллерова гормона (АМГ). В дальнейшем их разделяли на две группы по типу бесплодия: первично бесплодные (женщина ни разу в жизни не была беременна, уровень АМГ $6,86 \pm 4,3$) и вторично бесплодные (ранее у женщины наступали беременности, но на данный момент забеременеть не может, уровень АМГ $3,7 \pm 3,2$). Значительный разброс в группах по уровню АМГ связан с возрастом пациенток.

Получение клеток кумулюса

У доноров и пациенток проводили контролируемую овариальную стимуляцию (КОС) с использованием стандартных схем и применением стартовых и курсовых доз гонадотропинов. Длительность КОС в среднем составила $8,6 \pm 1,9$ дня. В нашем исследовании стимуляцию овуляции осуществляли с помощью протоколов с антагонистами гонадотропин-рилизинг-гормонов (ант-ГнРГ). Для стимуляции фолликулогенеза начинали введение рекомбинантного фолликулостимулирующего гормона (р-ФСГ — фоллитропин альфа (Гонал-Ф, Merck Serono, Швейцария) или фоллитропин бета (Пурегон®, Нидерланды)) с 2–4 дня менструального цикла. Стартовая доза составила в среднем $198,6 \pm 55,3$ МЕ. Введение ант-ГнРГ (цетрореликс, «МедСинтез», Россия) в ежедневной дозе 0,25 мг подкожно начинали при достижении лидирующим фолликулом диаметра 13–14 мм и продолжали до введения триггера овуляции. Суммарная доза препаратов р-ФСГ составила в среднем 2034 ± 580 МЕ. Для контроля за ростом фолликулов и состоянием эндометрия использовали УЗ-мониторинг. При достижении фолликулами диаметра 17–18 мм назначали триггер овуляции — рекомбинантный хорионический гонадотропин — ХГ (хориогонадотропин альфа, Овитрель®, Merck Serono, Швейцария) в дозе 250 мкг/0,5 мл. Через 36 часов после введения овуляторной дозы р-ХГ проводили трансвагинальную пункцию под УЗ-контролем и аспирацию содержимого всех фолликулов более 13 мм. Антральные и преантральные фолликулы пунктировали иглой под контролем УЗИ. Фолликулярную жидкость собирали в пробирки, передавали эмбриологу, который просматривал ее, находил и отбирал из них ооцит-кумулюсные комплексы. Часть кумулюсных клеток отделяли с помощью препаровальных игл, полученные клетки помещали в культуральную среду Flushig Medium (Origio, США) и передавали для научных исследований. Сразу в день забора клет-

ки кумулюса транспортировались в питательной среде из клиники в лабораторию при температуре 37°C для дальнейших манипуляций.

Выделение РНК

Выделение РНК из клеток кумулюса проводили с помощью набора RNA Solo (Evrogen, Россия) согласно протоколу производителя. Далее выполняли количественный анализ для определения концентрации РНК в выделенной пробе с помощью спектрофотометра NanoDrop 3300 (Thermo Fisher Scientific Inc., США). По полученным данным рассчитывали необходимое количество РНК для последующей реакции ревертирования. Полученную РНК хранили при -80°C .

Получение кДНК

Для получения кДНК проводили реакцию обратной транскрипции с помощью набора MMLV RT kit (Evrogen, Россия). К РНК матрице добавляли олиго(dT)₁₆-праймеры и инкубировали в течение 2 мин. при 70°C для расплавления вторичных структур. Затем добавляли буфер и ревертазу MMLV и инкубировали в течение 60 мин. при 42°C . Реакцию останавливали нагреванием до 70°C в течение 10 мин. Полученную одонитевую кДНК затем использовали в ПЦР в реальном времени.

Олигонуклеотиды

В работе использованы следующие пары праймеров для определения кДНК: *STAR*, *AREG*, *SCD5* [13], *PTGS2*, *HAS2* (собственный дизайн):

1. *STAR*

F: 5'-GAGCAGAAGGGTGTTCATCAGG-3'

R: 5'-TAGAGGGACTTCCAGCCAACG-3'

Размер амплификата: 147 п. н. (пар нуклеотидов)

2. *AREG*

F: 5'-TGGACCTCAATGACACCTACTCTG-3'

R: 5'-GGGCTTAACCTGTTCAACTCTG-3'

Размер амплификата: 251 п. н.

3. *SCD5*

F: 5'-TGACCTGCTTGCTGATCCTGTG-3'

R: 5'-TGAGTGAGATGGTATAGCGGAGAATAG-3'

Размер амплификата: 167 п. н.

4. *PTGS2*

F: 5'-GAAAAGTCTCAACAACCGGAA-3'

R: 5'-GTGCACTGTGTTTGGAGTGG-3'

Размер амплификата: 211 п. н.

5. *HAS2*

F: 5'-GTTGGGGGAGATGTCCCAGATTT-3'

G: 5'-TGCACTGAACACACCCAAAA-3'

Размер амплификата: 151 п. н.

Экспрессию генов нормализовали к двум референсным генам:

6. GAPdH [18]

F: 5'-AGGTCGGAGTCAACGGATTT-3'

R: 5'-TTCCCGTTCTCAGCCTTGAC-3'

7. B2M [19]

F: 5'-CCACTGAAAAAGATGAGTATGCCT-3'

R: 5'-ССААТССАААТГСГГСАТСТТСА-3

При отладке методики оценивали возможность использования генов *YWHAZ* и *ACTB* в качестве референсных:

8. YWHAZ [20]

F: 5'-GGTCTGGCCCTTAACTTCTCTGTGTTCTA-3'

R: 5'-GCGTGCTGTCTTTGTATGATTCTTCACTT-3

9. ACTB [21]

F: 5'-CGTGACATTAAGGAGAAGCTGTGC-3'

R: 5'-CTCAGGAGGAGCAATGATCTTGAT-3

ПЦР

Для проведения ПЦР с целью подтверждения соответствия размеров амплификатов ожидаемым значениям использовали готовую смесь для ПЦР 5X ScreenMix (Evrogen, Россия). В качестве матрицы брали кДНК здоровых доноров. Для постановки реакции использовали амплификатор SimpliAmp (Thermo Fisher, США) и следующий протокол: 95 °C в течение 5 мин. (начальная денатурация), затем 35 циклов при 95 °C в течение 20 с. (денатурация), 56,1 °C в течение 30 с. (отжиг), 72 °C в течение 30 с. (элонгация) и 72 °C в течение 10 мин. (финальная элонгация). Для визуализации продуктов амплификации проводили горизонтальный электрофорез в 1 % агарозном геле с бромистым этидием.

ПЦР в реальном времени (qPCR)

ПЦР в реальном времени (qPCR) проводили с использованием системы CFX96 Real-Time System (Bio-Rad, США). В 5x реакционную смесь qPCRmix-HS SYBR (Evrogen, Россия) добавляли 5 нг кДНК, а также праймеры до конечной концентрации 2 мкм.

При амплификации использовали следующий протокол: 95°C в течение 3 мин., затем 39 циклов при 95 °C в течение 10 с., 58 °C в течение 35 с., детекцию флуоресцентного анализа проводили после стадии отжига (2-этапный протокол). Анализы кривых плавления выполняли в конце каждого анализа ПЦР для проверки специфичности продуктов ПЦР. Уровни экспрессии мРНК рассчитывали методом $2^{-\Delta\Delta Ct}$.

Экспрессию генов нормализовали к двум референсным генам *GAPdH* и *B2M*.

Все эксперименты проводили в трех технических и трех биологических повторностях. Эффективность ПЦР в режиме реального времени

оценивали методом серийных разведений. При 10-кратном разведении образца ΔCt между двумя разведениями должно составлять около 3,3, в условиях 100%-ной эффективности амплификации. Также оценивали значения коэффициента вариации (CV) и показателя стабильности генов (M-value) с помощью встроенных алгоритмов программы Bio-Rad CFX Manager 3.1 (3.1.1517.0823). Коэффициент вариации является мерой точности и равен величине стандартного отклонения, деленной на среднее количество групп повторов. Чем ниже значения CV, тем меньше отклонения относительно среднего значения. Значение CV для однородных групп образцов должно быть ниже 0,25. Для гетерогенных групп эти значения могут варьироваться от 0,25 до 0,5. Показатель стабильности генов (M-value) основан на попарных сравнениях между анализируемым эталонным геном-кандидатом и всеми другими генами в наборе данных. При значениях ниже 0,5 гены могут считаться стабильно экспрессируемыми. При значениях от 0,5 до 1 гены стабильно экспрессируемыми считаться не могут.

Для оценки линейности регрессии при оценке качества qPCR использовали параметр slope (угол наклона кривой). Этот параметр связан с эффективностью формулой (1):

$$\text{Efficiency} = 10^{(-1/\text{slope})} - 1 \quad (1)$$

Наклон стандартной кривой $-3,32$ указывает на реакцию ПЦР со 100%-ной эффективностью. Наклоны с более отрицательными значениями, чем $-3,32$ (например, $-3,9$), указывают на реакции, эффективность которых составляет менее 100 %. Наклоны с более положительными значениями, чем $-3,32$ (например, $-2,5$), могут указывать на качество пробы или проблемы с пипетированием.

Эффективность (E), коэффициент детерминации (R^2) и угол наклона кривой (slope) рассчитывались с помощью встроенных алгоритмов программы Bio-Rad CFX Manager 3.1 (3.1.1517.0823). Согласно принятым стандартам [22], эффективность qPCR должна колебаться в пределах 90–110 %, оптимальное значение коэффициента детерминации — > 98 , а наклона кривой — $-3,6 \geq \text{slope} \geq -3,3$.

Статистическая обработка

Эксперименты проводили в трех биологических и трех технических повторностях. Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение GraphPad Prism 8. Результаты представлены как среднее значение \pm

стандартное отклонение или как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего (результаты ПЦР в реальном времени). Сравнения между группами проводились с использованием t-критерия или критерия Краскела-Уоллиса, а также применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Для анализа результатов ПЦР в реальном времени использовали критерий Краскела-Уоллиса. Различия между группами считали достоверными при $p < 0,05$.

Также оценивали значения коэффициента вариации (CV) и показателя стабильности генов (M-value).

Результаты

Подбор референсных генов

Перед началом работы провели оценку пар праймеров генов, выбранных в качестве референсных: *GAPdH*, *B2M*, *ACTB* (β -Actin) и *YWHAZ*. Для этого использовали следующие методы: серийных разведений (для расчета эффективности qPCR), оценки значения коэффициента вариации (CV) и показателя стабильности генов (M-value) для каждой пары референсных генов, а также уровня экспрессии данных генов (табл. 1).

Таблица 1. Показатели эффективности (E), коэффициента детерминации (R^2) и угла наклона прямой (Slope) для подобранных пар праймеров референсных генов при проведении метода серийных разведений

Table 1. Primers efficiency (E), coefficient of determination (R^2), and slope in the serial dilution study (R^2)

Гены	E (%)	R^2	Slope
<i>GAPdH</i>	89,9	0,991	-3,591
<i>B2M</i>	90,1	0,998	-3,585
<i>ACTB</i>	84,4	0,981	-3,763
<i>YWHAZ</i>	68	0,97	-4,439

Таким образом, оптимальные показатели по всем трем параметрам наблюдались для генов *GAPdH* и *B2M*, в отличие от *ACTB* и *YWHAZ*, показатели которых были чуть хуже: эффективность (84,4 %) и наклон кривой (-3,763) гена *ACTB* были ниже относительно принятых стандартов, так же, как и для гена *YWHAZ*: эффективность (68,0 %), коэффициент детерминации (0,970), наклон кривой (-4,439).

Для выбора оптимальной пары референсных генов была проверена возможность сочетания

праймеров с помощью параметра M-value. Так как *GAPdH* является наиболее часто используемым в качестве референсного, то выбор второго гена производили из трех оставшихся. Для этого оценили значения коэффициента вариации (CV) и показателя стабильности генов (M-value) для каждой из трех пар референсных генов: *GAPdH* и *B2M*; *GAPdH* и *ACTB*; *GAPdH* и *YWHAZ* (табл. 2).

Таблица 2. Значения коэффициента вариации (CV) и показателя стабильности генов (M-value) для каждой из пар генов домашнего хозяйства

Table 2. Coefficient of variation (CV) and average expression stability (M-value) for each of the reference genes pairs used in the study

Референсные гены	Коэффициент вариации (CV)	Показатель стабильности (M-value)
<i>GAPdH</i>	0,1444	0,4391
<i>ACTB</i>	0,1605	0,4391

<i>GAPdH</i>	0,1361	0,4182
<i>B2M</i>	0,1405	0,4182

<i>GAPdH</i>	0,1401	0,4054
<i>YWHAZ</i>	0,1401	0,4054

Таким образом, каждая из трех подобранных пар соответствует данным критериям. Учитывая данные таблицы 1, для дальнейшей работы была выбрана пара *GAPdH* и *ACTB*.

Изменение кратности экспрессии генов интереса в кумулюсных клетках доноров и пациенток

На первом этапе было решено проанализировать уровень экспрессии генов интереса без учета исхода беременности (рис. 1).

Уровень экспрессии гена *AREG* в клетках кумулюса пациенток достоверно отличался от показателя здоровых доноров (рис. 1a). У двух пациенток из группы первично бесплодных с наиболее высоким уровнем экспрессии *AREG* в анамнезе присутствовал синдром поликистозных яичников (СПКЯ) — полиэндокринный синдром, сопровождающийся нарушениями функции яичников (отсутствием или нерегулярностью овуляции, повышенной секрецией андрогенов и эстрогенов), поджелудочной железы (гиперсекреция инсулина), коры надпочечников (гиперсекреция надпочечниковых андрогенов), гипоталамуса и гипофиза. Для гена *STAR* достоверно

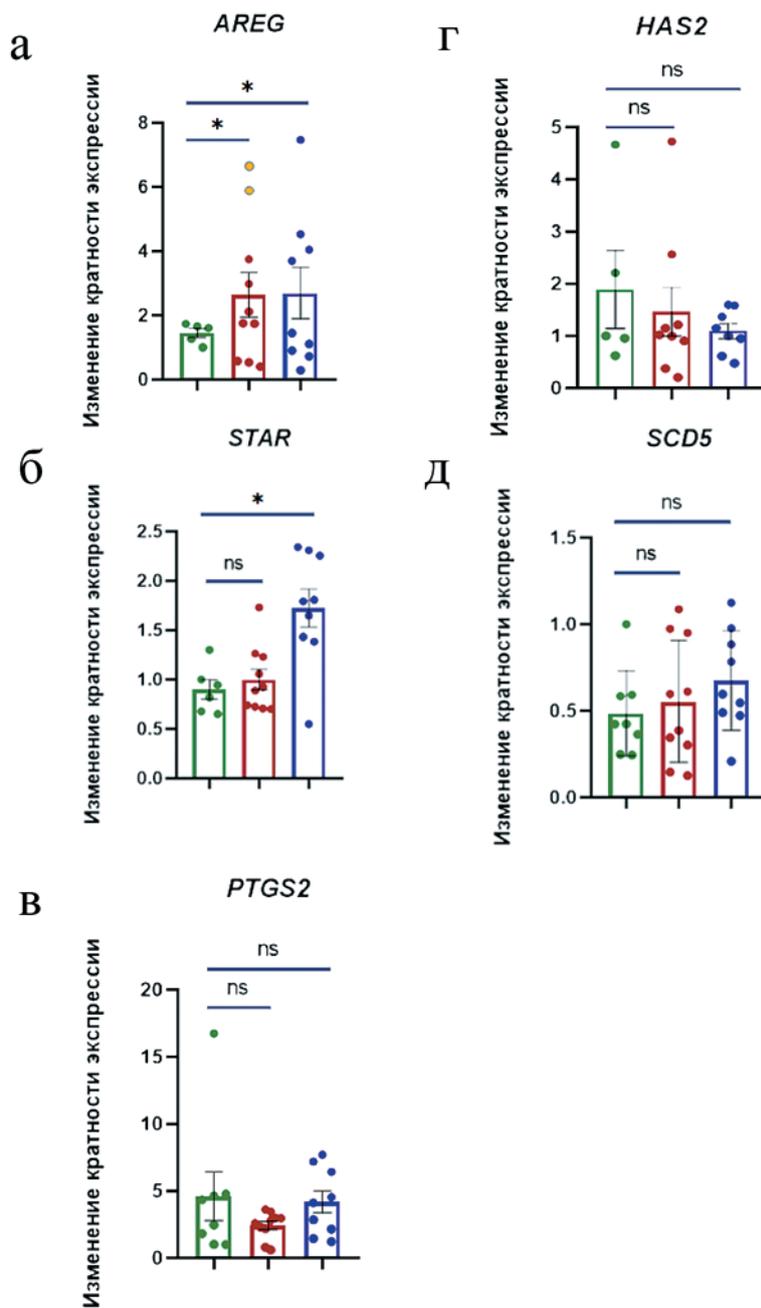


Рис. 1. Изменение кратности экспрессии генов *AREG*, *STAR*, *PTGS2*, *HAS2* и *SCD5* в кумулюсных клетках здоровых доноров и пациенток с первичным и вторичным типами бесплодия без учета исхода беременности (а, б, в, г, д).

Зеленый цвет — доноры, красный — первично бесплодные, синий — вторично бесплодные, ● — пациентки с СПКЯ. Ось Y — изменение кратности экспрессии гена. Ось X — группы женщин, участвующих в данном исследовании. Данные представлены в виде среднего и \pm стандартного отклонения. * — уровень значимости при $p < 0,05$; ns (non-significant) — отличия недостоверны, уровень значимости при $p > 0,05$; отрезки — попарное сравнение исследуемых групп.

Figure 1. *AREG*, *STAR*, *PTGS2*, *HAS2*, and *SCD5* mRNA levels in cumulus cells from healthy donors and patients with primary and secondary infertility regardless of pregnancy outcome (a-d).

Y-axis — fold-change values (internal laboratory reference value for healthy donors was set to 1). Green outline — donors, red outline — patients with primary infertility, blue outline — patients with secondary infertility, ● — infertile patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). Data are shown as mean \pm standard deviation. * — $p < 0.05$, ns — non-significant, $p > 0.05$.

ные различия в уровне экспрессии были выявлены только между донорами и вторично бесплодными пациентками. При анализе результатов по генам *HAS2*, *PTGS2* и *SCD5* достоверные различия в уровне экспрессии между донорами и пациентами в обеих группах выявлены не были (рис. 1, а-д).

При анализе экспрессии генов *AREG* и *STAR* наблюдали значительный разброс данных в группах. Поэтому пациентки внутри каждой группы (первично и вторично бесплодные) были далее сгруппированы в соответствии с исходом беременности. Данные об уровне экспрессии были сопоставлены

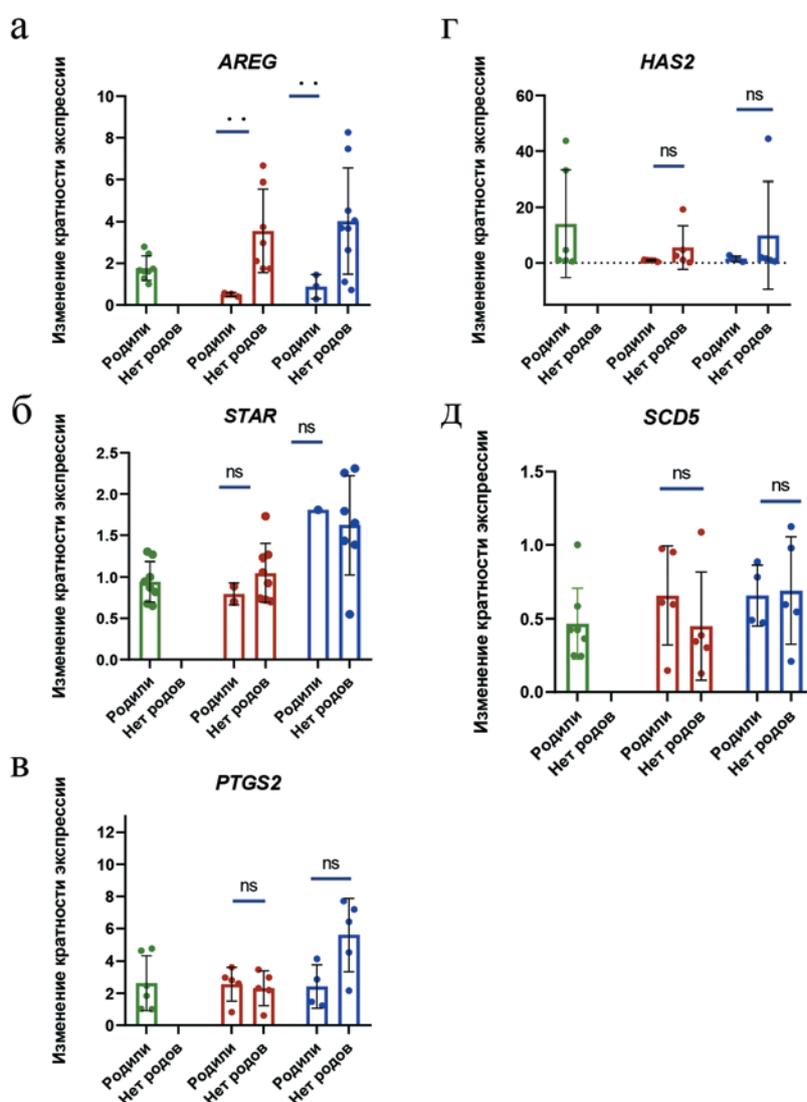


Рис. 2. Изменение кратности экспрессии генов *AREG*, *STAR*, *PTGS2*, *HAS2* и *SCD5* в кумулюсных клетках здоровых доноров и пациенток с первичным и вторичным типами бесплодия с учетом исхода беременности (а, б, в, г, д).

Зеленый цвет — доноры, красный — первично бесплодные, синий — вторично бесплодные. Ось Y — изменение кратности экспрессии гена. Ось X — группы женщин, участвующих в данном исследовании. Данные представлены в виде среднего и \pm стандартного отклонения. * — уровень значимости при $p < 0,05$; ns (non-significant) — отличия недостоверны, уровень значимости при $p > 0,05$; отрезки — попарное сравнение исследуемых групп.

Figure 2. *AREG*, *STAR*, *PTGS2*, *HAS2*, and *SCD5* mRNA levels in cumulus cells from healthy donors and patients with primary and secondary infertility with regard the pregnancy outcome (a-d).

Y-axis — fold-change values (internal laboratory reference value for healthy donors was set to 1). Green outline — donors, red outline — patients with primary infertility, blue outline — patients with secondary infertility.

Data are shown as mean \pm standard deviation. * — $p < 0.05$, ns — non-significant, $p > 0.05$.

с исходом переноса в этом цикле (закончился ли перенос эмбриона в матку наступлением беременности и успешными родами). Были обнаружены достоверные различия в уровне экспрессии гена *AREG* между пациентками с успешным исходом процедуры ЭКО (процедура закончилась родами) и с неудачей ЭКО (рис. 2, а-д). Для генов *STAR*, *HAS2*, *PTGS2* и *SCD5* подобные различия не выявлены.

Полученные данные позволяют рассматривать ген *AREG* как потенциальный кандидат для создания панели маркеров прогнозирования качества ооцита.

Обсуждение

Взаимодействие между ооцитом и окружающими соматическими фолликулярными клетками представляет собой ключевой аспект нормального развития женской половой клетки. При этом главную роль играют образующиеся в ходе фолликулогенеза кумулюсные клетки, создающие тесную взаимосвязь с ооцитом посредством щелевых контактов, благодаря чему происходит обмен большей частью питательных веществ и сигнальных молекул между ооцитом и клетками кумулюса. На основе этих представлений сейчас активно проводятся исследования транскриптома кумулюсных и гранулезных клеток в поиске маркеров, чей уровень экспрессии коррелировал бы с качеством ооцита и/или эмбриона [11, 21, 23–25].

В проведенных нами исследованиях только для гена *AREG* показано достоверное (по сравнению как с донорами, так и с успешно родившими пациентками) увеличение экспрессии у женщин с неудачным исходом ЭКО-беременности среди пациенток как с первичным, так и с вторичным типами бесплодия (рис. 1, 2). Различные исследования на животных показали, что всплеск ЛГ или ХГЧ вызывает быстрое увеличение экспрессии *AREG*, *EREG* и *BTC* в преовуляторных клетках гранулезы, и эти факторы действуют как ключевые посредники действия ЛГ в овуляторных фолликулах, необходимые для успешной овуляции. Известно, что белки *AREG*, *EREG* и *BTC* индуцируют экспрессию простагландинсинтазы-2 (*PTGS2*, также называемой *COX2*), белка, индуцируемого фактором некроза опухоли альфа (*TNFAIP6*), и *HAS2*, необходимых для синтеза и стабилизации внеклеточного матрикса клетками кумулюса [13]. По данным [26], в овулирующих фолликулах уровень *AREG* и *PTGS2* в клетках гранулезы и кумулюса нарастает через 12–18 часов после волны ХГЧ. Показано, что в кумулюсе и гранулезе ооцитов, успешно оплодотворенных и перенесенных пациентке, уровень *SCD4*, *GREM*, *PTGS2* был выше,

чем в кумулюсе и гранулезе ооцитов неудачных циклов переноса (беременность не наступила) [27]. Уровни транскриптов генов *AREG*, *STAR*, *SCD5*, *PTGS2* были ниже в кумулюсных клетках, ооцит которых достигал стадии бластоцисты на 5/6-й день, чем в кумулюсных клетках, чей ооцит был не способен развиваться дальше после оплодотворения [13]. Таким образом, ожидаемым результатом проведенного нами исследования являлось бы снижение уровней экспрессии генов *AREG*, *PTGS2*, *SCD5*, *GREM*, *HAS2* в ооцитах с низкой компетентностью. Однако в нашем исследовании уровень экспрессии гена *AREG* был ниже в клетках кумулюса родивших пациенток, чем у здоровых доноров. У неродивших пациенток, напротив, уровень экспрессии *AREG* был достоверно выше, чем в клетках кумулюса ооцитов здоровых доноров. При этом у неродивших пациенток не наблюдалось повышения экспрессии всех остальных исследованных генов, несмотря на то, что некоторые из них (например, *HAS2*, *PTGS2*) располагаются ниже *AREG* в регуляторных каскадах и активируются вслед за ним [13, 21, 26]. По-видимому, есть некие оптимальные значения количества амфирегулина (*AREG*) в клетках, превышение которых является неблагоприятным фактором. Возможно, повышенное количество амфирегулина в клетках пациенток с первичным и вторичным бесплодием с неудачей оплодотворения связано с нарушением систем обратных связей — отсутствие усиления экспрессии нижележащих в каскаде генов приводит к патологическому нарастанию экспрессии амфирегулина. Последний же, в свою очередь, не может вызвать усиление их экспрессии. Также необходимо учитывать, что некоторые из исследованных генов (*HAS2*, *PTGS2*) в клетках кумулюса находятся под контролем дифференцирующего фактора роста 9 (*GDF9*), экспрессируемого в ооцитах, а также многих других факторов [28]. Например, экспрессия *HAS2* усиливается больше под воздействием ФСГ, чем под воздействием *AREG* [29]. Следует также учитывать различия в дизайне экспериментов: в ряде проведенных работ (особенно выполненных на животных) сравнивали между собой по показателю «наступление беременности» только ооциты здоровых доноров, в исследованиях на ооцитах человека часто сравнивают только ооциты пациентов. В исследовании анализировали ооциты и эмбрионы, полученные в ходе процедуры ИКСИ (введение сперматозоида в ооцит с помощью микроинъекции). Поэтому состояние компетентности ооцита может отличаться от ооцитов как доноров, так и пациенток стандартной процедуры ЭКО. При этом критерии оценки результата могут

различаться в разных исследованиях. В одних работах успешным исходом считается имплантация эмбриона, в других — завершение беременности родами. В некоторых исследованиях уровень мРНК *AREG* сопоставляется только с качеством эмбриона по принятым критериям его оценки.

Таким образом, из проанализированных пяти генов только ген *AREG* является потенциальным кандидатом на использование в качестве маркера в составе панели для оценки качества ооцита по клеткам кумулюса методом qPCR. Мы планируем продолжить поиск маркерных последовательностей, в том числе среди некодирующих последовательностей генома.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Финансирование / Funding

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-24-00533). / This work was financially supported by the Russian Science Foundation (Grantee № 24-24-00533).

Список литературы / References

- Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, et al. The International Glossary on Infertility and Fertility Care, *Fertil Steril*. 2017;108:393–406. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2017.06.005.
- Njagi P, Groot W, Arsenijevic J, et al. Financial costs of assisted reproductive technology for patients in low- and middle-income countries: a systematic review. *Hum Reprod Open*. 2023; 2: hoad007. DOI: 10.1093/hropen/hoad007.
- Adamian LV, Serov VN, Korsak VS, et al. Clinical recommendations: Assisted reproductive technologies and insemination. 2019. In Russian [Адамян Л.В., Серов В.Н., Корсак В.С., editors. Клинические рекомендации: вспомогательные репродуктивные технологии и инсеминация. 2019].
- Gardner DK, Schoolcraft WB. Culture and transfer of human blastocysts. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1999; 11:3:307–11. DOI: 10.1097/00001703-199906000-00013.
- Lemseffer Y, Terret ME, Campillo C, et al. Methods for Assessing Oocyte Quality: A Review of Literature. *Biomedicines*. 2022; 10:9:4–11. DOI: 10.3390/biomedicines10092184.
- Sciorio R, Miranian D, Smith GD. Non-invasive oocyte quality assessment. *Biol Reprod*. 2022; 106:2:274–90. DOI: 10.1093/biolre/iaoc009.
- Shurygina OV, Bachurin AV, Bicheva NK, et al. Evaluation of oocytes and embryos in the ART laboratory. Methodological recommendations of the Russian Association of Human Reproduction. 2021. In Russian [Шурыгина О.В., Бачурин А.В., Бичева Н.К. и др. Оценка ооцитов и эмбрионов в лаборатории ВРТ. Методические рекомендации РАРЧ. 2021].
- Kokkali G, Coticchio G, Bronet F, et al. ESHRE PGT Consortium and SIG Embryology good practice recommendations for polar body and embryo biopsy for PGT. *Hum Reprod Open*. 2020; 3: hoaa020. DOI: 10.1093/hropen/hoaa020.
- Bromer JG, Seli E. Assessment of embryo viability in assisted reproductive technology: Shortcomings of current approaches and the emerging role of metabolomics. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2008; 20:3:234–41. DOI: 10.1097/GCO.0b013e3282fe723d.
- Brower PT, Schultz RM. Intercellular communication between granulosa cells and mouse oocytes: Existence and possible nutritional role during oocyte growth. *Dev Biol*. 1982; 90:1:144–53. DOI: 10.1016/0012-1606(82)90219-6.
- Uyar A, Torrealday S, Seli E. Cumulus and granulosa cell markers of oocyte and embryo quality. *Fertil Steril*. 2013; 99:4: 979–97. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.01.129.
- Tanghe S, Van Soom A, Nauwynck H, et al. Minireview: Functions of the cumulus oophorus during oocyte maturation, ovulation, and fertilization. *Mol Reprod Dev*. 2002;61:3:414–24. DOI: 10.1002/mrd.10102.
- Feuerstein P, Cadoret V, Dalbies-Tran R, et al. Gene expression in human cumulus cells: One approach to oocyte competence. *Hum Reprod*. 2007;22:3069–77. DOI: 10.1093/humrep/dem336.
- Fritzsche H, Michelmann HW, Siebzehnrübl, et al. Interactions between oocyte and surrounding cumulus cells influence the results of assisted reproduction. *J Fur Reproduktionsmedizin Und Endokrinol*. 2006; 3:373–8.
- Feuerstein P, Puard V, Chevalier C, et al. Genomic assessment of human cumulus cell marker genes as predictors of oocyte developmental competence: Impact of various experimental factors. *PLoS One*. 2012; 7: e40449. DOI: 10.1371/journal.pone.0040449.
- Ma Y, Jin J, Tong X, et al. ADAMTS1 and HSPG2 mRNA levels in cumulus cells are related to human oocyte quality and controlled ovarian hyperstimulation outcomes. *J Assist Reprod Genet*. 2020; 37:3: 657–67. DOI: 10.1007/s10815-019-01659-8.
- McKenzie LJ, Pangas SA, Carson SA, et al. Human cumulus granulosa cell gene expression: A predictor of fertilization and embryo selection in women undergoing IVF. *Hum Reprod*. 2004; 19:12:2869–74. DOI: 10.1093/humrep/deh535.
- Kotova AV, Lobov AA, Dombrovskaya JA, et al. Comparative analysis of dental pulp and periodontal stem cells: Differences in morphology, functionality, osteogenic differentiation and proteome. *Biomedicines*. 2021; 9:11:1–26. DOI: 10.3390/biomedicines9111606.

19. Ajith A, Portik-Dobos V, Nguyen-Lefebvre AT, et al. HLA-G dimer targets Granzyme B pathway to prolong human renal allograft survival. *FASEB J.* 2019; 33:4:5220–36. DOI: 10.1096/fj.201802017R.

20. Mamo S, Gal AB, Polgar Z, et al. Expression profiles of the pluripotency marker gene POU5F1 and validation of reference genes in rabbit oocytes and preimplantation stage embryos. *BMC Mol Biol.* 2008; 9:1–13. DOI: 10.1186/1471-2199-9-67.

21. Assidi M, Dufort I, Ali A, et al. Identification of potential markers of oocyte competence expressed in bovine cumulus cells matured with follicle-stimulating hormone and/or phorbol myristate acetate in vitro. *Biol Reprod.* 2008; 79:2:209–22. DOI: 10.1095/biolreprod.108.067686.

22. Rogers-Broadway KR, Karteris E. Amplification efficiency and thermal stability of qPCR instrumentation: Current landscape and future perspectives. *Exp Ther Med.* 2015; 10:4:1261–4. DOI: 10.3892/etm.2015.2712.

23. Safronova NA, Kalinina EA, Donnikov AE, et al. Association of cumulus cell gene expression with embryological indicators in assisted reproductive technology programs. *Akush Ginekol (Sofia) = Obstetrics and gynecology.* 2016; 7:60–66. In Russian [Сафронова Н.А., Калинина Е.А., Донников А.Е. и др. Ассоциация экспрессии генов в кумулюсных клетках с эмбриологическими показателями в программах вспомогательных репродуктивных технологий. *Акушерство и гинекология.* 2016; 7: 60–66]. DOI: 10.18565/aig.2016.7.60-66.

24. Sirait B, Wiweko B, Jusuf AA, et al. Oocyte Competence Biomarkers Associated With Oocyte Maturation: A Review. *Front Cell Dev Biol.* 2021; 9:710292. DOI: 10.3389/fcell.2021.710292.

25. Haug LM, Wilson RC, Gaustad AH, et al. Cumulus Cell and Oocyte Gene Expression in Prepubertal Gilts and Sows Identifies Cumulus Cells as a Prime Informative Parameter of Oocyte Quality. *Biology (Basel).* 2023; 12:12:1484. DOI: 10.3390/biology12121484.

26. Choi Y, Wilson K, Hannon PR, et al. Coordinated regulation among progesterone, prostaglandins, and egl-like factors in human ovulatory follicles. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017; 102:6: 1971–82. DOI: 10.1210/jc.2016-3153.

27. Wathlet S, Adriaenssens T, Segers I, et al. Cumulus cell gene expression predicts better cleavage-stage embryo or blastocyst development and pregnancy for ICSI patients. *Hum Reprod.* 2011; 26:5: 1035–51. DOI: 10.1093/humrep/der036.

28. Faizal AM, Elias MH, Jin NM, et al. Unravelling the role of HAS2, GREM1, and PTGS2 gene expression in cumulus cells: implications for human oocyte development competency — a systematic review and integrated bioinformatic analysis. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2024; 15: 1274376. DOI: 10.3389/fendo.2024.1274376.

29. Sugimura S, Ritter LJ, Sutton-McDowall ML, et al. Amphiregulin co-operates with bone morphogenetic protein

15 to increase bovine oocyte developmental competence: Effects on gap junction-mediated metabolite supply. *Mol Hum Reprod.* 2014; 20:6: 499–513. DOI: 10.1093/molehr/gau013.

Информация об авторах:

Башенджиева Екатерина Очировна, старший лаборант-исследователь лаборатории не кодирующей ДНК, ФГБУН «Институт цитологии» РАН;

Барашкова Екатерина Алексеевна, врач — акушер-гинеколог-репродуктолог, ООО «Клиника репродукции «Скайферт»;

Татищева Юлия Александровна, к.б.н., эмбриолог, заведующий эмбриологической лабораторией, ООО «Клиника репродукции «Скайферт»;

Калугина Алла Станиславовна, д.м.н., акушер-гинеколог-репродуктолог, профессор кафедры акушерства, гинекологии и неонатологии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Минздрава России, генеральный директор ООО «Клиника репродукции «Скайферт»;

Енукашвили Натэлла Иосифовна, к.б.н., заведующий лабораторией не кодирующей ДНК, ФГБУН «Институт цитологии» РАН.

The information about the authors:

Ekaterina O. Bashendjieva, senior research assistant, laboratory of the non-coding DNA study, Institute of Cytology RAS;

Ekaterina A. Barashkova, Obstetrician-gynecologist-reproductologist, Skyfert Assisted Reproductive Technologies Clinic;

Julia A. Tatishcheva, Ph.D., embryologist, head of the embryology laboratory at the Skyfert Assisted Reproductive Technologies Clinic;

Alla S. Kalugina, Doctor of Medical Sciences, obstetrician-gynecologist-reproductologist, Professor of the Department of Obstetrics, Gynecology and Neonatology of the Academician I. P. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, General Director of the Skyfert Assisted Reproductive Technologies Clinic;

Natella I. Erukashvily, PhD., Head of the Laboratory of the non-coding DNA study, Institute of Cytology RAS.

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА RS1800629 ГЕНА TNF α НА ПОКАЗАТЕЛИ ЦИТОКИНОВОГО ПРОФИЛЯ ПРИ ОСЛОЖНЕННОМ ТЕЧЕНИИ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА У ПОСТРАДАВШИХ С БОЕВОЙ ТРАВМОЙ

Кишеня М. С.¹, Соболев Д. В.¹, Анчикова Е. В.², Висягин А. В.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Донецк, Россия

² Общество с ограниченной ответственностью «МедВитро», Красногорск, Россия

Контактная информация:

Кишеня Мария Сергеевна,
ФГБОУ ВО «Донецкий государственный
медицинский университет им.
М. Горького» Минздрава России,
пр. Ильича, 16, Донецк, Россия, 283003.
E-mail: maria.kishenya@gmail.com

Статья поступила в редакцию 20.12.2023
и принята к печати 15.02.2024.

Резюме

Актуальность. При раневом процессе существует высокая вероятность развития осложнений в виде паратравматической экземы (ПТЭ), что определяет тяжесть раневой репарации. Генетические факторы, ответственные за синтез и регуляцию иммунорегуляторных цитокинов, играют ведущую роль в этиопатогенезе ПТЭ. **Цель исследования:** определить связь полиморфизма rs1800629 гена TNF α с развитием ПТЭ и цитокинами IL-1 β , TNF α и IL-6. **Материалы и методы.** В исследование были включены 162 пациента после оперативных вмешательств по поводу боевых ранений, которые составили 2 группы: I группа — 82 человека с осложнениями в виде ПТЭ и II — 80 человек без осложнений, в контрольную группу включены 30 практически здоровых человек. Исследование rs1800629 гена TNF α проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции. В плазме крови определяли содержание цитокинов TNF α , IL-1 β и IL-6 методом иммуноферментного анализа. **Результаты.** Установлена связь ПТЭ с вариантами генотипов и аллелей rs1800629 гена TNF α ($p = 0,033$ и $p = 0,005$). На увеличение шансов развития ПТЭ оказывали влияние генотипы GA (ОШ = 1,64; 95 % ДИ 0,83–3,24) и AA (ОШ = 2,94; 95 % ДИ 0,9–9,67), аллель A (ОШ = 2,13; 95 % ДИ 1,26–3,6) rs1800629. Во II группе показатели IL-1 β , TNF α и IL-6 значительно превышали контрольные значения ($p < 0,001$) с преобладанием у носителей AA генотипа rs1800629. **Выводы.** Полиморфизм rs1800629 гена TNF α ассоциирован с развитием ПТЭ. Увеличение содержания IL-1 β , TNF α и IL-6 было связано с наличием патогенетического фактора — генотипа AA rs1800629 гена TNF α в развитии осложнений.

Ключевые слова: паратравматическая экзема, цитокины, rs1800629, TNF α .

Для цитирования: Кишеня М.С., Соболев Д.В., Анчикова Е.В., Висягин А.В. Влияние полиморфизма rs1800629 гена TNF α на показатели цитокинового профиля при осложненном течении раневого процесса у пострадавших с боевой травмой. Трансляционная медицина. 2024; 11(5): 419-427. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-419-427. EDN: DIRGLY

THE EFFECT OF THE TNF α GENE RS1800629 POLYMORPHISM ON CYTOKINE PROFILE PARAMETERS IN THE COMPLICATED WOUND HEALING IN COMBAT TRAUMA VICTIMS

Maria S. Kishenya¹, Dmitrii V. Sobolev¹, Ekaterina V. Anchikova², Artur V. Visyagin¹

¹ Donetsk State Medical University named after M. Gorky, Donetsk, Russia

² MedVitro Limited Liability Company, Krasnogorsk, Russia

Corresponding author:

Maria S. Kishenya,
Donetsk State Medical University named
after M. Gorky,
Ilyich ave., 16, Donetsk, Russia, 283003.
E-mail: maria.kishenya@gmail.com

Received 20 December 2023; accepted
15 February 2024.

Abstract

Background. In the wound process, there is a high probability of complications in the form paratraumatic eczema (PTE), which determines the severity the course of wound repair. Genetic factors responsible for the regulation of cytokines a leading role in the etiopathogenesis of PTE. **Aim** — determine the relationship of TNF α gene rs1800629 with the development of PTE and IL-1 β , TNF α , IL-6. **Materials and methods.** The study included 162 patients after surgical interventions. Group I — 82 people with complications in the form PTE and II — 80 people without complications. The study rs1800629 TNF α gene was carried out by the polymerase chain reaction method. The levels TNF α , IL-1 β and IL-6 in the blood was determined by the enzyme immunoassay method. **Results.** A connection with PTE was established with of rs1800629 gene TNF α ($p = 0.033$ and $p = 0.005$). The genotypes GA (OR = 1.64; CI 0.83–3.24) and AA (OR = 2.94; CI 0.9–9.67), allele A (OR = 2.13; CI 1.26–3.6) rs1800629 influenced the increased chances of developing PTE. In group II the IL-1 β , TNF α , IL-6 indicators were increased ($p < 0.001$) in carriers of the AA genotype rs1800629. **Conclusion.** rs1800629 TNF α gene is associated with development of PTE. An increase in the levels IL-1 β , TNF α , IL-6 was associated with the presence of a pathogenetic factor — AA genotype rs1800629 TNF α gene in development of complications.

Key words: cytokines, paratraumatic eczema, rs1800629, TNF α .

For citation: Kishenya MS, Sobolev DV, Anchikova EV, Visyagin AV. The effect of the TNF α gene rs1800629 polymorphism on cytokine profile parameters in the complicated wound healing in combat trauma victims. Translational Medicine. 2024; 11(5): 419-427. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-419-427. EDN: DIRGLY

Список сокращений: ДИ — доверительный интервал, ОШ — отношение шансов, ПТЭ — паратравматическая экзема, ПЦР — полимеразная цепная реакция.

В статье рассмотрены вопросы влияния полиморфизма rs1800629 гена TNF α на показатели цитокинового профиля при развитии осложнений (паратравматической микробной экземы) при боевой травме. Результаты лечения раненых и постра-

давших были получены в гражданских учреждениях здравоохранения Донбасса за период 2015–2021 гг. (до начала СВО).

Паратравматическая, или околораневая экзема (ПТЭ) является разновидностью микробной экземы. На клиническую эффективность лечения раневого процесса существенно влияют характер течения, развитие осложнений и исход периода заживления ран. Одним из осложнений раневой репарации является развитие паратравматической

экземы (ПТЭ), вызванной дисфункцией кожи, иммунологическими нарушениями как системного, так и местного характера [1].

Среди этиопатогенетических факторов экземы большое значение отводится генетическим, таким как мутации в гене филаггрина, гене SPINK5, приводящие к нарушению механической прочности кожного барьера, повышению pH кожи и т. д. [2–4]. Многочисленные исследования патогенетически значимых иммунологических изменений при экземе посвящены иммунным медиаторам, таким как цитокины и хемокины. Синтез иммунорегуляторных цитокинов определяется полиморфным вариантом гена, ответственного за продукцию белка. Известно, что полиморфизм rs1800629 гена TNF α связан с изменением синтеза TNF α , главным образом, за счет влияния на транскрипционную активность, что определяет дифференциальную активность экспрессии гена [5, 6]. Данный полиморфизм связан с повышением экспрессии TNF α при условии замены гуанина (G) на аденин (A): TNF- α -308G/A; rs1800629. Носительство аллели А полиморфизма rs1800629 гена TNF α ассоциировано с более высоким уровнем экспрессии гена [7] и повышением плазменного уровня TNF α по сравнению с наличием аллели G [8]. Данное исследование направлено на определение роли полиморфизма rs1800629 гена TNF α как фактора предрасположенности к осложненному течению раневого процесса с развитием ПТЭ при боевом характере травмы.

Цель работы

Определить связь полиморфизма rs1800629 гена TNF α с развитием осложненного течения раневого процесса в виде паратравматической экземы после боевых травм, а также оценить влияние полиморфизма rs1800629 на показатели цитокинов TNF α , IL-1 β и IL-6.

Материалы и методы

Всего под наблюдением находились 162 пациента в возрасте от 18 до 48 лет (Me 31(27;38) лет) с оперативными вмешательствами по поводу боевой травмы, проходивших лечение в Институте неотложной и восстановительной хирургии г. Донецка в 2019–2022 гг. Женщин было 54 (33,33 %), мужчин — 108 (66,67 %). В зависимости от течения раневого процесса больные были разделены на 2 группы: в I (основную) группу включены 82 человека и во II группу (сравнения) — 80 человек. Представители I и II групп были сопоставимы по полу и возрасту ($p < 0,05$). У пациентов I группы в послеоперационном периоде регистрировали заживление ран вторичным натяжением с элемен-

тами воспаления: отеком, гиперемией и экссудацией. В течение месяца на фоне перираневого воспаления у данной группы лиц формировалась ПТЭ с появлением сыпи, «серозных колодцев», мокнутия, болезненности, зуда и т. д. У пациентов II группы (сравнения) при заживлении ран признаки перираневого воспаления и ПТЭ отсутствовали.

В плазме, полученной после центрифугирования крови, взятой у больных утром натощак из кубитальной вены в объеме 4 мл с помощью вакуумной системы типа Vacutainer, содержащей ЭДТА, исследовали содержание цитокинов TNF α , IL-1 β и IL-6 методом иммуноферментного анализа («Вектор-Бест», Россия) на фотометре Multiscan EX (Thermo Electron Corp., Финляндия). В контрольную группу были включены 30 практически здоровых человек без оперативных вмешательств и дерматологических заболеваний. Лица контрольной группы и пациенты, оперированные по поводу боевой травмы, были сопоставимы по полу и возрасту ($p < 0,05$).

Анализ полиморфизма rs1800629 гена TNF α проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с дальнейшей электрофоретической разгонкой продуктов амплификации в 3 % агарозном геле, приготовленном на TBE-буфере в горизонтальной камере при напряжении электрического поля 10 В/см от источника постоянного тока «Эльф-4» (ООО «ДНК-Технология», Россия). Детекцию фрагментов ДНК осуществляли после окрашивания 1 % раствором бромистого этидия в проходящем ультрафиолетовом свете при длине волны 312 нм в трансиллюминаторе «TFX-20 M» (Vilber Lourmat, Франция).

Выделение геномной ДНК из лейкоцитов цельной венозной крови проводили с использованием комплекта реактивов «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ «Литех», Россия). ПЦР осуществляли на амплификаторе «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия). С каждым образцом выделенной ДНК проводили амплификацию с двумя аллель-специфическими праймерами, соответственно контексту SNP (G308A). Каждая проба ДНК занимала в геле 2 лунки. В первую вводили амплифицированную реакционную смесь с праймерами, специфическими к G-аллели, в другую — к A-аллели. В результате анализа обнаруживали следующие варианты генотипов rs1800629: гомозиготы по предковой и минорной аллели GG и AA, соответственно, и гетерозиготу GA. В качестве набора реагентов для амплификации применяли «SNP-экспресс, TNF α (G308A)» (НПФ «Литех», Россия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью методов вариационной статистики

с использованием пакета компьютерных программ Statistica 10 (StatSoft, Inc., США). Частоты распределения генотипов в исследуемых выборках проверяли на отклонение от равновесия Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 Пирсона. Значимость различий в распределении частот генотипов и аллелей при сравнении групп «случай-контроль» оценивали с помощью таблиц сопряженности по критерию χ^2 . Степень ассоциации генотипов и аллелей с заболеванием определяли по величине отношения шансов (ОШ). Величина ОШ больше 1 указывала на повышение, а ниже 1 — на снижение риска, при условии попадания в 95 % доверительный интервал (95 % ДИ). Все различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для статистического описания результатов вычисляли медиану (Me) и межквартильный интервал (Q1;Q3). Сравнение результатов между независимыми выборками проводили с помощью непараметрических критериев Mann-Whitney (U) и Kruskal-Wallis (H), поскольку распределение полученных значений уровней цитокинов TNF α , IL-1 β и IL-6 отличалось от нормального. Значимость различий учитывали при значении $p < 0,05$.

Этика

Статья является фрагментом научно-исследовательской работы (НИР) кафедры комбустиологии и пластической хирургии ФИПО ФГБОУ ВО «Донецкий государственный университет им. М. Горького» Минздрава России: «Изучение ближайших и отдаленных результатов лечения больных с термическими поражениями, ранами, хроническими эрозивно-язвенными поражениями кожи, разра-

ботка и оптимизация методики ранней хирургической реабилитации пострадавших», шифр УН 19.03.09. Протокол заседания комиссии по биоэтике № 34/5-1 от 29.05.2019. НИР отвечает принципам Хельсинкской декларации, принятой Генеральной ассамблеей Всемирной медицинской ассоциации (1997–2000 гг.), Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине (1997 г.), соответствующим положениям ВОЗ, Международного совета медицинских научных обществ, Международного кодекса медицинской этики (1983 г.), правил Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных исследованиях и с другой целью [9], и полностью исключает ограничение интересов пациента и нанесение вреда его здоровью, соответствует всем этическим требованиям.

Результаты

В результате молекулярно-генетического исследования крови пациентов основной группы и группы сравнения были обнаружены три варианта генотипов rs1800629 гена TNF α : GG, GA и AA.

Тест Харди-Вайнберга для основной группы пациентов с ПТЭ (ПТЭ+) и группы сравнения без ПТЭ (ПТЭ-) соответствовал случайному характеру наследования генотипов (табл. 1).

При сравнении результатов распределения генотипов и аллелей с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3 (<https://www.internationalgenome.org/>) было продемонстрировано следующее: в европейской популяции генотипы GG, GA и AA определялись с частотой 0,744, 0,245 и 0,012, а в наших исследованиях — 0,70, 0,25 и 0,05, что

Таблица 1. Распределение генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF α в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга в группах пациентов с наличием и отсутствием ПТЭ

Table 1. Distribution of genotypes rs1800629 polymorphism TNF α gene in accordance with the Hardy-Weinberg equilibrium in groups of patients with and without PTE

Генотип	I группа (пациенты с ПТЭ+) n = 82	II группа (пациенты с ПТЭ-) n = 80
GG	42 (51,2 %)	56 (70,0 %)
GA	29 (35,4 %)	20 (25,0 %)
AA	11 (13,4 %)	4 (5,0 %)
	$\chi^2 = 2,5$; $p = 0,3$	$\chi^2 = 1,441$; $p = 0,51$

Примечание: χ^2 — критерий Пирсона; p — статистическая значимость различий между группами.

Note: χ^2 — Pearson's test; p — statistical significance of differences between groups.

являлось сопоставимым ($\chi^2 = 5,005$; $p = 0,082$) при сравнении с результатами II группы пациентов популяции Донбасского региона.

При сравнении распределения аллелей II группы с данными Программы 1000 Genomes Project Phase 3 в европейской популяции было установлено, что аллель G определялась с частотой 0,866, а в наших исследованиях — 0,825, минорная аллель A в европейской популяции выявлялась с частотой 0,134, в наших исследованиях — 0,175, что было сопоставимым ($\chi^2 = 1,494$; $p = 0,221$). Далее было выполнено статистическое сравнение данных распределения генотипов и аллелей у пациентов с ПТЭ+ с показателями группы лиц с ПТЭ- (рис. 1).

В группе пациентов с ПТЭ+ отмечалось значимое уменьшение частоты предковой гомозиготы GG в 1,37 раза ($p = 0,015$) по сравнению со II группой (ПТЭ-). Увеличение частот гетерозиготного GA и минорного гомозиготного AA генотипов (в 1,4 и 2,68 раза соответственно) в сравнении со II группой не являлось статистически значимым ($p = 0,15$ и $p = 0,65$ соответственно). В I группе пациентов с ПТЭ отмечено значимое снижение частоты предковой аллели G в 2 раза ($p = 0,044$) и увеличение в 1,4 раза ($p = 0,044$) частоты минорной аллели A по сравнению со II группой.

Далее было рассчитано влияние распределения частот генотипов и аллелей на развитие ПТЭ

и степень их ассоциации с заболеванием (табл. 2). Анализ влияния генотипов и аллелей полиморфизма rs1800629 гена TNF α по таблице сопряженности показал наличие связи с развитием ПТЭ: для генотипов ($\chi^2 = 6,9$; $p = 0,033$) и аллелей ($\chi^2 = 8,12$; $p = 0,005$).

При этом генотипами риска являлись гетерозиготный генотип GA, который в 1,64 раза увеличивал риск ПТЭ (ОШ = 1,64; 95 % ДИ 0,83–3,24), и минорный генотип AA, увеличивающий риск ПТЭ в 2,94 раза (ОШ = 1,64; 95 % ДИ 0,9–9,67). В свою очередь, предковый генотип GG снижал шансы развития ПТЭ (ОШ = 0,45; 95 % ДИ 0,24–0,86), что указывало на его протективное влияние. Сравнение частот аллелей показало, что минорная аллель A увеличивала шансы развития ПТЭ в 2,13 раза (ОШ = 2,13; 95 % ДИ 1,26–3,6), тогда как предковая аллель G уменьшала шансы формирования ПТЭ в 2,13 раза (ОШ = 0,47; 95 % ДИ 0,28–0,8), что позволяло считать ее протективным фактором патогенеза заболевания.

Далее у пациентов I и II групп было исследовано содержание цитокинов IL-1 β , TNF α и IL-6 в крови для определения роли ключевых патогенетически значимых реакций специфической и неспецифической защиты в развитии ПТЭ (табл. 3).

Сравнительный анализ уровней IL-1 β показал значимое увеличение цитокина в 10 и 2 раза в I, II

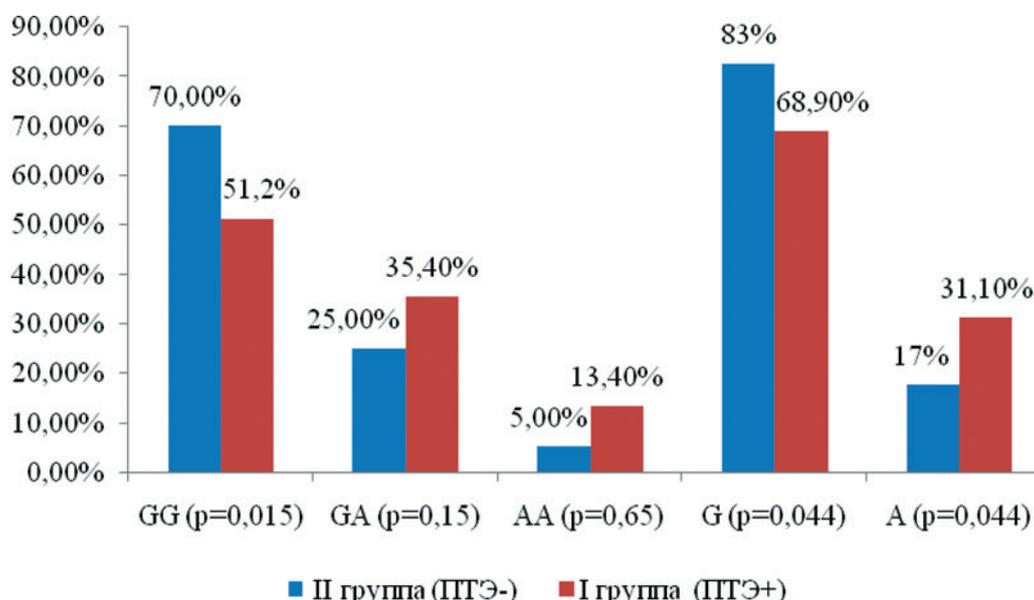


Рис. 1. Распределение частот и аллелей генотипов полиморфизма rs1800629 гена TNF α в группах пациентов с наличием и отсутствием ПТЭ

Примечание: p — статистическая значимость различий частот между группами.

Figure 2. Distribution of frequencies and alleles of genotypes of the rs1800629 polymorphism of the TNF α gene in groups of patients with and without PTE

Note: p — statistical significance of frequency differences between groups.

Таблица 2. Влияние распределения генотипов и аллелей rs1800629 гена TNF α на развитие паратравматической экземы и степень их ассоциации с заболеванием

Table 2. The influence of the distribution of genotypes and alleles of the rs1800629 TNF α gene on the development of paratraumatic eczema and the degree of their association with the disease

Генотипы/ Аллели	I группа (ПТЭ+) (n = 82), n (f)	II группа (ПТЭ-) (n = 80), n (f)	χ^2	p	ОШ	95 % ДИ
GG	42 (0,512)	56 (0,700)	6,896	0,033	0,450	0,236–0,858
GA	29 (0,354)	20 (0,250)			1,642	0,832–3,237
AA	11 (0,134)	4 (0,05)			2,944	0,896–9,669
G	113 (0,689)	132 (0,825)	8,122	0,005	0,470	0,278–0,795
A	51 (0,311)	28 (0,175)			2,128	1,259–3,597

Примечание: n — количество; f — частота; χ^2 — критерий Пирсона; p — статистическая значимость различий между группами; ОШ — отношение шансов; 95 % ДИ — 95 % доверительный интервал для ОШ.

Note: n — number; f — frequency; χ^2 — Pearson's test; p — statistical significance of differences between groups; OR — odds ratio; 95 % CI — 95 % confidence interval for OR.

Таблица 3. Уровень иммунорегуляторных цитокинов в крови пациентов с наличием и отсутствием паратравматической экземы

Table 3. Level of immunoregulatory cytokines in the blood of patients with and without paratraumatic eczema

Показатель	Группы сравнения			p(H)
	Контроль	I группа (ПТЭ+)	II группа (ПТЭ-)	
IL-1 β , пг/мл	4,05 (3,14; 4,88) min 2,15, max 5,78	41,95 (18,26; 58,59) min 5,42, max 96,18	8,46 (6,98; 10,09) min 2,83, max 15,36	H = 102,6; p < 0,001
	p(U) ^{K-I} < 0,001; p(U) ^{K-II} < 0,001; p(U) ^{I-II} < 0,001			
IL-6, пг/мл	6,52 (5,14; 8,18) min 3,72, max 9,35	44,79 (24,58; 57,97) min 8,12, max 94,74	15,3 (10,69; 17,18) min 3,89, max 21,58	H = 86,3; p < 0,001
	p(U) ^{K-I} < 0,001; p(U) ^{K-II} < 0,001; p(U) ^{I-II} < 0,001			
TNF α , пг/мл	7,32 (5,82; 8,24) min 4,24, max 9,24	64,96 (39,83; 78,24) min 9,18, max 149,57	10,26 (9,25; 10,91) min 4,27, max 16,51	H = 114,5; p < 0,001
	p(U) ^{K-I} < 0,001; p(U) ^{K-II} < 0,001; p(U) ^{I-II} < 0,001			

Примечание: H — критерий Kruskal-Wallis; U — критерий Mann-Whitney; p — статистическая значимость различий между группами: p(U)K-I — между контролем и I группой; p(U)K-II — между контролем и II группой; p(U)I-II — между I и II группами.

Note: H — Kruskal-Wallis test; U — Mann-Whitney test; p — statistical significance of differences between groups: p(U)K-I — between control and group I; p(U)K-II — between control and group II; p(U)I-II — between groups I and II.

группах пациентов в сравнении с группой контроля (p < 0,001, в обеих группах). Достоверное превышение содержания IL-1 β в 5 раз в I группе по сравнению со II группой (p < 0,001) свидетельствовало

о выраженных реакциях альтерации, участии моноцитарно-макрофагального звена и других клеток сосудисто-воспалительного звена при ПТЭ. Аналогичным образом проявилась реакция IL-6

Таблица 4. Влияние генотипов rs1800629 гена TNF α на содержание иммунорегуляторных цитокинов у пациентов с наличием ПТЭ**Table 4. The influence of rs1800629 genotypes of the TNF α gene on the content of immunoregulatory cytokines in patients with PTE**

Показатель	Генотипы			p (H)
	GG (n = 42)	GA (n = 29)	AA (n = 11)	
IL-1 β , пг/мл	26,74 (13,3; 39,9)	56,5 (51,5; 64,8)	88,8 (83,9; 92,5)	H = 37,7; p < 0,001
IL-6, пг/мл	31,8 (16,2; 44,2)	48,2 (44,9; 54,4)	83,7 (78,2; 85,8)	H = 29,8; p < 0,001
TNF α , пг/мл	41,8 (29,5; 63,9)	68,9 (64,2; 99,6)	136,3 (55,4; 141,5)	H = 23,7; p < 0,001

Примечание: H — критерий Kruskal-Wallis; p — статистическая значимость различий.

Note: H — Kruskal-Wallis test; p — statistical significance of differences.

при раневой репарации: значимо увеличивалась концентрация цитокина в 7 и 2,3 раза в I и II группах пациентов в сравнении с группой контроля (p < 0,001, в обеих группах) с существенным превышением в 3 раза (p < 0,001) IL-6 в I группе в сравнении со II группой. Для плейотропного цитокина TNF α также характерным явилось значимое превышение концентрации почти в 9 раз в I группе и в 1,4 раза во II группе (p < 0,001, в обеих группах). Высокая концентрация TNF α непосредственно связана с выраженностью его эффектов, а именно: с цитотоксической активностью, регуляторным влиянием на процессы пролиферации и дифференцировки T- и B-лимфоцитов, гранулоцитов, макрофагов и др.

Далее было рассмотрено влияние различных генотипов rs1800629 гена TNF α на содержание цитокинов IL-1 β , TNF α , и IL-6 в I группе пациентов с осложнением раневой репарации в виде ПТЭ (табл. 4).

Наиболее высокие значения концентрации цитокинов IL-1 β , TNF α и IL-6 были продемонстрированы у носителей минорного генотипа AA rs1800629 гена TNF α . Наличие генотипа AA сопровождалось значимым увеличением уровня IL-1 β в 1,57 раза при сравнении с гетерозиготным генотипом GA и в 3,3 раза — с предковым генотипом GG (p < 0,001). Максимальные значения IL-6 выявлены у пациентов с ПТЭ с генотипом AA, что превышало показатели цитокина при GG и GA генотипах в 2,6 и 1,7 раза (p < 0,001). Распределение показателей концентрации TNF α также значимо зависело от генотипов rs1800629 гена TNF α . Наибольший уровень TNF α обнаруживали у носителей генотипа риска AA, что в 3,3 раза и в 2 раза было выше, чем у лиц с GG и GA генотипами.

Обсуждение

Полученные результаты совпадают с данными [10], подтверждающими роль генотипов (GA и AA) rs1800629 гена TNF α , содержащих минорную аллель A и ответственных за увеличенную продукцию провоспалительного цитокина TNF α при дерматите. То есть данные генотипы обуславливают высокую экспрессию TNF α с последующей активацией иммунокомпетентных клеток и увеличением синтеза цитокинов IL-1 β , IL-6, индуцирующих воспалительный процесс в коже, что и было подтверждено в нашем исследовании.

В настоящее время литературные данные по изучению полиморфизма rs1800629 гена TNF α у пациентов с ПТЭ практически отсутствуют. Результаты исследований, посвященных роли полиморфизма rs1800629 гена TNF α в формировании дерматозов и воспалительных заболеваний кожи, имеют противоречивый характер и являются неоднозначными [10].

В исследовании [11] показано, что пациенты с аллелями A полиморфизма гена TNF α -308 имеют повышенный риск развития воспалительного контактного дерматита. Плейотропные эффекты провоспалительного цитокина TNF α приводят к увеличению хемотаксиса и клеточной пролиферации, экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости II класса, молекул клеточной адгезии, таких как ICAM-1 на кератиноцитах и эндотелиальных клетках, индукции медиаторов воспаления IL-1, IL-6, GM-CSF, IFN- γ и CXCL8 [12, 13].

У лиц узбекской национальности установлено статистически значимое различие в частоте встречаемости функционально неблагоприятного генотипа G/A rs1800629 гена TNF α , ассоциированного

с прогрессированием розацеа и увеличением риска развития розацеа более чем в 3 раза, по сравнению с носителями генотипа G/G (35,7 % против 15,9 %, $\chi^2=14,3$; $p < 0,05$; OR = 3,0; 95 % ДИ 1,677–5,179) [14].

Результаты данного исследования позволяют обосновать патогенетические закономерности ПТЭ с включением таких факторов, как генетическая предрасположенность с активацией иммунного ответа на травматическое повреждение кожи и реакции провоспалительных цитокинов. Гиперэкспрессия гена TNF α и чрезмерный синтез цитокина TNF α при носительстве минорного генотипа rs1800629 являются одним из ключевых звеньев патогенеза ПТЭ.

Выводы

Анализ влияния генотипов и аллелей полиморфизма rs1800629 гена TNF α показал наличие связи с развитием ПТЭ: для генотипов ($\chi^2 = 6,9$; $p = 0,033$) и аллелей ($\chi^2 = 8,12$; $p = 0,005$). При этом генотипами риска ПТЭ являлись гетерозиготный генотип GA (ОШ = 1,64; 95 % ДИ 0,83–3,24) и минорный генотип AA (ОШ = 1,64; 95 % ДИ 0,9–9,67). Минорная аллель A также увеличивала шансы развития ПТЭ (ОШ = 2,13; 95 % ДИ 1,26–3,6).

Доказано влияние полиморфизма rs1800629 гена TNF α на уровень цитокинов IL-1 β , TNF α и IL-6 при ПТЭ с максимальными значениями при наличии генотипа риска AA ($p < 0,001$).

Таким образом, патогенетическое влияние генотипа риска AA rs1800629 гена TNF α реализовывалось благодаря высокому содержанию в крови провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF α и IL-6, что приводило к повреждению кожи с развитием ПТЭ.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

- Schindler M, Drozdenko G, Kuhl AA, Worm M. Immunomodulation in patients with chronic hand eczema treated with oral alitretinoin. *Int Arch Allergy Immunol.* 2014;165:18–26. doi.org/10.1159/000365659.
- Heede NG, Thyssen JP, Thuesen BH, et al. Health-related quality of life in adult dermatitis patients stratified by filaggrin genotype. *Contact Dermatitis.* 2017;76(3):167–77. DOI: 10.1111/cod.12731.
- Lan CC, Tu HP, Wu C, et al. Distinct SPINK5 and IL-31 polymorphisms are associated with atopic eczema and non-atopic hand dermatitis in Taiwanese nursing population. *Exp Dermatol.* 2011;20(12):975–9. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2011.01374.x.

- Visser MJ, Landeck L, Campbell LE, et al. Impact of atopic dermatitis and loss of function mutations in the filaggrin gene on the development of occupational irritant contact dermatitis. *Br J Dermatol.* 2013;168(2):326–32. DOI: 10.1111/bjd.12083.

- Guzik TJ, Cosentino F. Epigenetics and Immunometabolism in Diabetes and Aging. *Antioxid Redox Signal.* 2017;11:72–99. DOI: 10.1089/ars.2017.7299.

- Kaiser J, Archana J, Javeed A. TNF-alpha -308G/A and -238G/A polymorphisms and its protein network associated with type 2 diabetes mellitus. *Saudi J Biol Sci.* 2017;24(6):1195–1203. DOI: 10.1016/j.sjbs.2016.05.012.

- Lampropoulou I-Th, Stangou M, Papagianni A. TNF- α and Microalbuminuria in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *J Diabetes Res.* 2014;2014:394206. DOI: 10.1155/2014/394206.

- Zhuang L, Ma W, Cai D, et al. Associations between tumor necrosis factor-alpha polymorphisms and risk of psoriasis: a meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8(12):e68827. doi.org/10.1371/journal.pone.0068827.

- European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe, Strasbourg. 1986:53.

- Landeck L. Impact of tumour necrosis factor- α polymorphisms on irritant contact dermatitis. *Contact Dermatitis.* 2012;66(4):221–7. DOI: 10.1111/j.1600-0536.2011.02045.x.

- Agodi A, Barchitta M, Valenti G, et al. Role of the TNF α -308G>A polymorphism in the genetic susceptibility to acne vulgaris in a sicilian population. *Ann Ig.* 2012;24(5):351–7.

- Lee HY, Stieger M, Yawalkar N, Kakeda M. Cytokines and chemokines in irritant contact dermatitis. *Mediators of inflammation.* 2013; 2013:916497. doi.org/10.1155/2013/916497.

- Davis JA, Visscher MO, Wickett RR, Hoath SB. Influence of tumour necrosis factor- α polymorphism-308 and atopy on irritant contact dermatitis in healthcare workers. *Contact Dermatitis.* 2010;63(6):320–32. DOI: 10.1111/j.1600-0536.2010.01778.x.

- Babadzhanov OA, Arifov SS. Rol' gena TNF- α v formirovanii rosacea. *Medicinskie novosti.* 2020;3:73–5. In Russian [Бабаджанов О.А., Арифов С.С. Роль гена TNF- α в формировании розацеа. Медицинские новости. 2020;3:73–75].

Информация об авторах:

Кишеня Мария Сергеевна, к.м.н., доцент, старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Минздрава России;

Соболев Дмитрий Васильевич, д.м.н., профессор, профессор кафедры комбустиологии и пластической

хирургии факультета интернатуры и последипломного образования ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Минздрава России;

Анчикова Екатерина Васильевна, врач-дерматовенеролог ООО «МедВитро»;

Висягин Артур Вячеславович, старший лаборант кафедры комбустиологии и пластической хирургии факультета интернатуры и последипломного образования ФГБОУ ВО «Донецкий государственный медицинский университет им. М. Горького» Минздрава России.

Authors information:

Maria S. Kishenya, MD, PhD, Associate Professor, Senior researcher at the Central Research Laboratory of the Donetsk State Medical University named after M. Gorky;

Dmitrii V. Sobolev, MD, PhD, Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Combustiology and Plastic Surgery of the Faculty of Internship and Postgraduate Education of the Donetsk State Medical University named after M. Gorky;

Ekaterina V. Anchikova, dermatovenerologist of the Limited Liability Company MedVitro;

Artur V. Visyagin, Senior laboratory assistant of the Department of Combustiology and Plastic Surgery of the Faculty of Internship and Postgraduate Education of the Donetsk State Medical University named after M. Gorky.

МР-ТОМОГРАФИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ
НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ РАКА МОЛОЧНОЙ
ЖЕЛЕЗЫ ПО ДАННЫМ ВЫЧИСЛИТЕЛЬНОГО
ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПОГЛОЩЕНИЯ
ОПУХОЛЮ ПАРАМАГНЕТИКОВ ПРИ ВНУТРИВЕННОМ
КОНТРАСТНОМ УСИЛЕНИИ

Усов В. Ю.¹, Минин С. М.¹, Никитин Н. А.¹, Ногина Е. Н.¹,
Косарев И. А.¹, Кобелев Е.¹, Башкиров Л. В.¹, Анашбаев Ж. Ж.¹,
Тарабановская Н. А.², Бабинов В. Ю.³, Денисова Н. В.^{4,5},
Чернышова А. Л.¹, Чернявский А. М.¹

Контактная информация:
Усов Владимир Юрьевич,
ФГБУ «НМИЦ им. ак. Е. Н. Мешалкина»
Минздрава России,
ул. Речкуновская, 15, Новосибирск,
Россия, 630055.
E-mail: ussov1962@yandex.ru,
usov_v@meshalkin.ru

*Статья поступила в редакцию 18.05.2024
и принята к печати 10.09.2024.*

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
академика Е. Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, Новосибирск, Россия

² Научно-исследовательский институт онкологии — филиал
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Томский Национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук», Томск, Россия

³ Научно-исследовательский институт фармакологии
и восстановительной медицины имени Е. Д. Гольдберга
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Томский Национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук», Томск, Россия

⁴ Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Национальный
исследовательский Новосибирский государственный университет»,
Новосибирск, Россия

⁵ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Институт теоретической и прикладной механики имени
С. А. Христиановича» Сибирского отделения Российской академии
наук, Новосибирск, Россия

Резюме

Актуальность. В клинической практике МРТ патофизиологические и фармакокинетические модели с расчетами показателей транспорта контрастов используются неприемлемо мало. **Цель.** Предложить фармакокинетическую методику количественной оценки первичной опухоли и метастазов, эффективности химиотерапии рака молочной железы (РМЖ) по данным динамической МРТ с контрастным усилением (ПМКУ). **Материалы и методы.** Включено 18 пациенток, которым по поводу РМЖ $T_{1-3}N_{0-1}M_0$ была проведена неoadьювантная химиотерапия (НАХТ) четырьмя циклами, с последующим радикальным хи-

рургическим удалением опухоли. По результатам трехлетнего наблюдения пациентки с безрецидивным течением ($n = 11$) составили группу 1, а семь пациенток с выявленными метастатическими поражениями (3 — в печени, 2 — в легких, 2 — в головном мозге) — группу 2. Для начальных 120–180 с. МРТ с ПМКУ после введения парамагнетика справедливо упрощение: $d\{C_{\text{опухоль}}(t)\} / dt = K_{\text{кр-он}} * C_{\text{кровь}}(t)$, из чего очевидно: $K_{\text{кр-он}} = (C_{\text{опухоль}}(T)) / (\int C_{\text{кровь}}(t) dt)$, что и было использовано во всех расчетах константы переноса контраста. Контрастирование гадобутролом 0,1М/10 кг веса тела, TR = 5,5–6 мс, TE = 2,5 мс. **Результаты.** Если после первого цикла НАХТ $K_{\text{кр-он}}$ первичной опухоли РМЖ < 0,22 мл/мин/г ткани, вероятность последующего безрецидивного течения = 0,78. Аналогично, снижение $K_{\text{кр-он}}$ сторожевого лимфоузла после первого цикла НАХТ < 0,08 мл/мин/г ткани с вероятностью 0,75 прогнозирует безрецидивное течение. **Заключение.** Предложенный метод расчета коэффициента переноса $K_{\text{кр-он}}$ позволяет получить дополнительную диагностическую и прогностическую информацию у пациенток с локальными и местно-распространенными формами РМЖ.

Ключевые слова: динамическая МРТ молочных желез с контрастным усилением, кинетика опухолевого накопления парамагнетиков, константа переноса парамагнетика из крови в опухоль $K_{\text{кр-он}}$, неoadъювантная химиотерапия, рак молочной железы.

Для цитирования: Усов В.Ю., Минин С.М., Никитин Н.А. и др. МР-томографическая оценка эффективности неoadъювантной химиотерапии рака молочной железы по данным вычислительного фармакокинетического анализа поглощения опухолью парамагнетиков при внутривенном контрастном усилении. Трансляционная медицина. 2024; 11(5): 428-444. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-428-444. EDN: ERFXXC

MR TOMOGRAPHIC EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF NEOADJUVANT CHEMOTHERAPY FOR BREAST CANCER BASED ON PHARMACOKINETIC NUMERICAL ANALYSIS OF TUMOR UPTAKE OF PARAMAGNETIC CONTRAST IN INTRAVENOUS CONTRAST ENHANCEMENT

Wladimir Yu. Ussov¹, Stanislav M. Minin¹, Nikita A. Nikitin¹,
Elena N. Nogina¹, Ilya A. Kosarev¹, Evgeny Kobelev¹,
Leonid V. Bashkirov¹, Zhanat Zh. Anashbaev¹,
Natalia A. Tarabanovskaya², Viktor Yu. Babikov³,
Natalia V. Denisova^{4,5}, Alyona L. Chernyshova¹,
Aleksandr M. Chernyavsky¹

Corresponding author:

Wladimir Yu. Ussov,
National Medical Research Center named
after Academician E. N. Meshalkin,
Rechkunovskaya str., 15, Novosibirsk,
Russia, 630055.
E-mail: ussov1962@yandex.ru,
usov_v@meshalkin.ru

Received 18 May 2024; accepted
10 September 2024.

¹ National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin, Novosibirsk, Russia

² Research Institute of Oncology of the Tomsk Scientific Research Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

³ Research Institute of Pharmacology and Restorative Medicine of the Tomsk Scientific Research Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia

⁴ National Research Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁵ Institute of Theoretical and Applied Mechanics named after Academician S. A. Khristianovich, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Abstract

Background. In clinical practice, MRI pathophysiological and pharmacokinetic models with calculations of contrast transport indicators are unacceptably little used.

Aim of the study. To propose a pharmacokinetic technique for the quantitative assessment of primary tumors and metastases, the effectiveness of breast cancer chemotherapy (BC), from dynamic contrast enhancement MRI. **Material and methods.** 18 patients were included who underwent neoadjuvant chemotherapy (NACHT) in four cycles for breast cancer T1-3N0-1M0, followed by radical surgical removal of the tumor. According to the results of a three — year follow-up, patients with a relapse — free course (n = 11) formed group 1, and seven patients with detected metastatic lesions (3 in the liver, 2 in the lungs, 2 in the brain) — group 2. For the initial 120–180 s of MRI with contrast after the injection of a paramagnetic, the simplification is valid for concentrations in tumor and blood and for transfer coefficient: $d\{C_{\text{ОПУХОЛЬ}}(t)\} / dt = K_{\text{Кр-Он}} * C_{\text{КРОВЬ}}(t)$, from which it is obvious: $K_{\text{Кр-Он}} = (C_{\text{ОПУХОЛЬ}}(T)) / (\int C_{\text{КРОВЬ}}(t) dt)$, which was used in all calculations of the contrast transfer constant. Gadobutrol contrast is 0.1M/10 kg of body weight, TR = 5.5–6 ms, TE = 2.5 ms. **Results.** If, after the first cycle of NACHT, the $K_{\text{Кр-Он}}$ of the primary breast cancer is < 0.22 ml/min/g of tissue, the probability of subsequent relapse-free course = 0.78. Similarly, a decrease in the KCr-Op $K_{\text{Кр-Он}}$ of the sentinel lymph node after the first cycle of NACHT < 0.08 ml/min/g of tissue with a probability of 0.75 predicts a relapse-free course. **Conclusion.** The proposed method for calculating the $K_{\text{Кр-Он}}$ transfer coefficient allows obtaining additional diagnostic and prognostic information in patients with local and locally advanced forms of breast cancer.

Key words: breast cancer, constant of contrast transfer from blood to tumor $K_{\text{Кр-Он}}$, dynamic breast MRI with contrast enhancement, kinetics of tumor accumulation of paramagnetic, neoadjuvant chemotherapy (NACHT).

For citation: Ussov WYu, Minin SM, Nikitin NA, et al. MR tomographic evaluation of the effectiveness of neoadjuvant chemotherapy for breast cancer based on pharmacokinetic numerical analysis of tumor uptake of paramagnetic contrast in intravenous contrast enhancement. Translational Medicine. 2024; 11(5): 428-444. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-428-444. EDN: ERFXXC

Список сокращений: КТ — рентгеновская компьютерная томография, МРТ — магнитно-резонансная томография, НАХТ — неoadъювантная химиотерапия, ОФЭКТ — однофотонная эмиссионная компьютерная томография, ПМКУ — парамагнитное контрастное усиление, ПЭТ — позитронная эмиссионная томография, РМЖ — рак молочной железы, 18F-ФДГ — 18F-фтордезоксиглюкоза.

Введение

Использование количественных методов оценки визуальной диагностической информации в современной лучевой диагностике является одним из важнейших направлений совершенствования ее клинического использования [1], поскольку позволяет улучшить качество изображения за счет методов его вычислительной обработки, а кроме того, позволяет внедрить в рутинную клинику патофизиологически обоснованные модели патологических процессов, численные характеристики которых, как правило, обладают самостоятельным диагностическим и прогностическим значением [2].

Это в первую очередь касается вычислительной оценки различных процессов транспорта и выведения контрастов-парамагнетиков опухолями различных локализаций. Показано [3, 4], что объем распределения парамагнетика и постоянные переноса контраста из крови в опухоль обладают высоким самостоятельным диагностическим и прогностическим значением. Однако их надежный расчет почти всегда заметно затруднен тем, что зависимости интенсивности T1- и T2-взвешенных изображений от концентрации контрастного препарата в той или иной среде нелинейны, основаны на достаточно сложном и в общем виде не линеаризируемом уравнении Соломона-Блумбергера, что почти всегда сводит поиск удовлетворительного решения к какой-либо эмпирической или полуэмпирической схеме, в отличие от радионуклидной и рентгеновской диагностики, где общетеоретические подходы намного ближе к повседневной рутине.

С другой стороны, практические клинические подходы к оценке состояния опухолевых процессов, как правило, не используют патофизиологические и фармакокинетические модели. Так, широко

распространенная методика оценки эффективности лечения и текущего состояния солидных опухолей по системе Recist 1.1 [5, 6] не предполагает расчета патофизиологических показателей кровотока опухоли, проницаемости ее гистогематического барьера или же метаболических показателей потребления глюкозы [7, 8], даже в случае таких распространенных социально значимых опухолевых заболеваний, как рак молочной железы (РМЖ) либо рак легкого.

Поэтому мы поставили **целью** настоящего исследования — создать фармакокинетически обоснованную и в то же время упрощенную, реализуемую простыми вычислительными средствами методику количественной оценки текущего состояния первичной опухоли и метастазов в лимфоузлы, а также эффективности неoadъювантной химиотерапии рака молочной железы, по данным динамической МРТ с парамагнитным контрастным усилением (ПМКУ).

Материалы и методы

Обследованные пациентки. Всего в исследование было включено 18 женщин, которым по поводу РМЖ стадий T₁₋₃N₀₋₁M₀ провели неoadъювантную химиотерапию с последующим радикальным хирургическим удалением опухолевого новообразования молочной железы. Всем пациенткам при поступлении была выполнена трепан-биопсия, при морфологическом иммуногистохимическом исследовании определен гистологический тип опухоли, степень злокачественности по Ellis-Elston, экспрессия рецепторов стероидных гормонов (ЭР и/или ПР), Ki67 и HER-2 статус. Затем женщины получали стандартную неoadъювантную терапию с использованием таксанов и антрациклинов, четыре цикла. У пяти больных с HER2-положительными новообразованиями также была использована терапия Транстузумабом.

По результатам последующего послеоперационного трехлетнего наблюдения пациенток разделили на две группы в зависимости от рецидивирования и выявления метастазов в этот период. Больные с безрецидивным течением (11 человек) составили группу 1, а семь пациенток с выявленными метастатическими поражениями (у троих — в печени, у двоих — в легких и еще у двоих — в головном мозге) — образовали группу 2, у четырех женщин в этой группе также были отмечены костные метастазы (от двух до пяти) в грудном и поясничном отделах позвоночника. Новообразования с выявленными антигенами HER2+ были обнаружены у пяти человек (у троих — из группы 1 и у двоих — из группы 2).

Теория метода МР-томографической количественной оценки транспорта парамагнетика из крови в опухоль. В основе принципа использования МРТ с ПМКУ при РМЖ лежит патофизиологический механизм повреждения и усиления проницаемости гистогематического барьера в ткани РМЖ, за счет пролиферации внутриопухолевых артериолярных и капиллярных сосудов [9, 10], с неполноценным эндотелием и повышенным проникновением в толщу опухолевой ткани контраста-парамагнетика, усиливающего МРТ-визуализацию новообразования, и других биологических макромолекул. Поглощение парамагнитных контрастов опухолевыми структурами хорошо подчиняется уравнениям линейной фармакокинетики [2], когда скорость перехода препарата в опухоль пропорциональна концентрации парамагнетика в притекающей крови, а обратное вымывание из опухоли в кровь — концентрации парамагнетика в ткани опухоли [3, 9].

Тогда, если обозначить:

$C_{\text{КРОВЬ}}(t)$ — содержание парамагнетика в крови в момент времени (t) после болюсного внутривенного введения;

$C_{\text{ОПУХОЛЬ}}(t)$ — содержание парамагнетика в ткани опухоли в момент времени (t);

$K_{\text{кр-оп}}$ — линейный коэффициент диффузии парамагнетика из крови в опухоль по градиенту концентрации, предполагается, что активный направленный транспорт как таковой отсутствует;

$K_{\text{он-кр}}$ — линейный коэффициент диффузии парамагнетика в обратном направлении, из опухоли в кровь, то очевидно, кинетика накопления контраста-парамагнетика в опухоли описывается простейшим уравнением:

$$\frac{d\{C_{\text{ОПУХОЛЬ}}(t)\}}{dt} = K_{\text{кр-оп}} * C_{\text{КРОВЬ}}(t) - K_{\text{он-кр}} * C_{\text{ОПУХОЛЬ}}(t) \quad (1)$$

Общим решением этого уравнения является очевидное:

$$C_{\text{ОПУХОЛЬ}}(T) = K_{\text{кр-оп}} * \int C_{\text{КРОВЬ}}(t) * e^{-K_{\text{он-кр}}*(T-t)} dt \quad (2)$$

Как было показано неоднократно, показатели скорости обратной диффузии препарата-парамагнетика из опухоли в кровь, как правило, меньше по сравнению со скоростными параметрами прямого проникновения парамагнетика из крови в ткань опухоли [3, 4], хотя могут быть и примерно им равны. Но в течение времени — меньше среднего времени транзита парамагнетика по опухолевой ткани — он может в любом случае счи-

таться удерживаемым опухолью, поскольку еще «не успевает» вернуться в кровоток (до 3–4 мин.). В течение этого начального периода обоснованно пренебречь обратной диффузией контраста-парамагнетика. Если для первых минут после введения контраста внутривенно вкладом обратной диффузии из опухоли в кровь можно пренебречь, то есть практически весь попавший в опухоль контраст-парамагнетик остается еще в ней, не успев продиффундировать назад, то тогда зависимость концентрации контраста в опухоли от времени приобретает крайне простой вид:

$$d\{C_{\text{опухоль}}(t)\} / dt = K_{\text{кр-он}} * C_{\text{кровь}}(t) \quad (3)$$

и не составляет труда рассчитать

$$K_{\text{кр-он}} = (C_{\text{опухоль}}(T)) / (\int C_{\text{кровь}}(t) dt) \quad (4)$$

Следует подчеркнуть, что концентрация препарата в опухоли здесь является величиной, усредненной для всего объема опухолевой ткани, без выделения компонентов межклеточного вещества опухоли и внутриклеточного пула парамагнетика, что, как правило, включается в описательную модель распределения контраста в более биофизически детализированных моделях [3, 10].

Такой подход может использоваться как при МРТ с ПМКУ, так и в радионуклидных ОФЭКТ-КТ исследованиях. При этом величины концентраций в крови и в опухоли для контрастного препарата-парамагнетика — в случае МРТ, и радиофармпрепарата — в случае ОФЭКТ, могут быть прямо оценены по интенсивности соответствующих локальных сигналов томографических изображений, как представлено на рисунках 1, 2. При этом для корректности модели существенно лишь, чтобы и для опухоли,

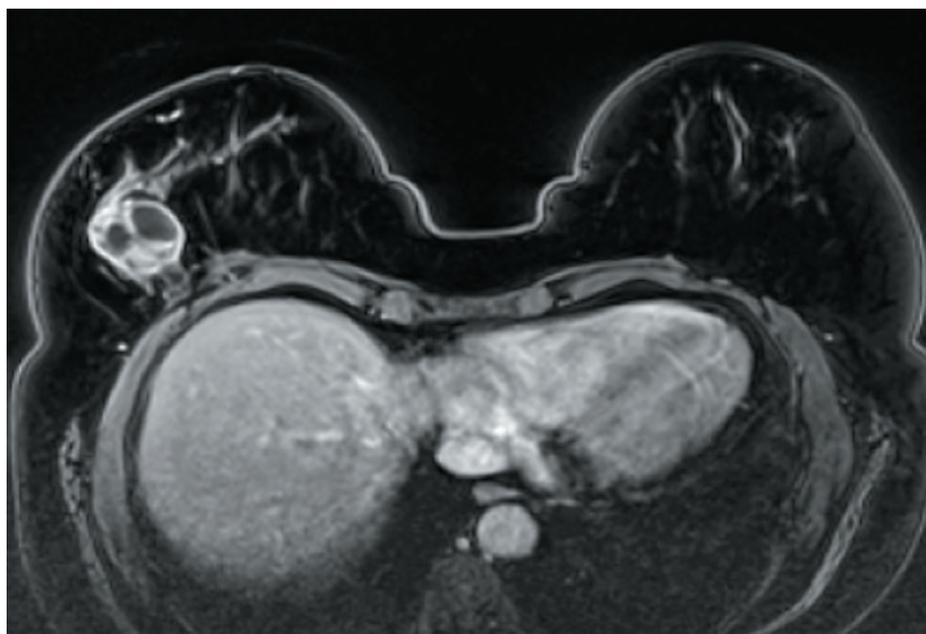


Рис. 1. Кадр динамического МРТ-исследования молочных желез с парамагнитным контрастным усилением, с максимумом интенсивности на данном кадре — наиболее яркой контрастной визуализации собственно опухоли правосторонней молочной железы и также и внутрисердечного пула, т. е. спустя 30–60 с. после внутривенного введения

По данным этого динамического исследования выполняется формирование кривых «Контрастное усиление — время» для опухолевых объемных образований, в первую очередь — первичной опухоли (рис. 2), а также пораженных метастазами лимфоузлов, с последующим расчетом по представленному здесь методу величины $K_{\text{кр-он}}$.

Figure 1. A frame of dynamic MRI examination of the mammary glands with paramagnetic contrast enhancement, with a maximum intensity on this frame — the most vivid contrast visualization of the tumor of the right-sided breast itself and also of the intracardiac pool, i.e. 30–60 seconds after intravenous administration

According to this dynamic study, the formation of “Contrast enhancement — time” curves is performed for tumor, primarily the primary tumor (Fig. 2), as well as lymph node metastases, followed by calculation $K_{\text{кр-он}}$ using the method presented here.

и для пула крови соотношение между концентрацией парамагнетика и интенсивностью Т1-ВИ было бы одинаковым и линейным. Тогда, учитывая, что формулы (1–4) представляют собой отношения, интенсивности Т1-ВИ можно полноценно и вычислительно строго использовать вместо абсолютных величин концентраций препаратов.

Для случая МР-томографии и использования контрастов-парамагнетиков следует иметь также в виду, что линейность зависимости интенсивности сигнала Т1-ВИ МРТ от концентрации сохраняется только для интервала низких, не превышающих 3 мМ/л, содержаний парамагнетиков в растворе [4]. В нашем случае мы использовали быструю Т1-ВИ последовательность, с параметрами TR = 5,5–6 мс, TE = 2,5 мс, длительность кадра 15–20 с., с помощью высокопольного МРТ-сканера Toshiba Titan Vantage с напряженностью поля 1,5 Т. Ранее эта же последовательность использовалась в динамических исследованиях состояния миокарда при его воспалительных и ишемических повреждениях, в частности при остром инфаркте и вирусном миокардите, и показала достоверные, согласующиеся с результатами ПЭТ [7] величины

показателя проницаемости — $K_{кр-Он}$, а также показателей кровенаполнения поврежденной ткани.

Поэтому мы здесь попытались модифицировать и практически реализовать такой подход у пациенток с диагнозом РМЖ, в частности при их обследовании в динамике контроля неoadъювантной химиотерапии (НАХТ).

Методика и протоколы МР-томографического исследования молочных желез с парамагнитным контрастным усилением. Динамическое МР-томографическое исследование молочных желез с последующим расчетом показателя $K_{кр-Он}$ по нашей методике осуществлялось при следующем положении тела. Пациентка, лежа на животе, опиралась грудной клеткой на специальную маммологическую радиочастотную катушку, при свободном (свешенном) расположении молочных желез в ее индивидуальных для каждой железы вырезах, с предварительно установленным внутривенным катетером 19G или 21G для болюсного введения контраста-парамагнетика.

Контраст-парамагнетик в дозировке 1 мл 1М раствора на 10 кг веса тела пациентки вводился

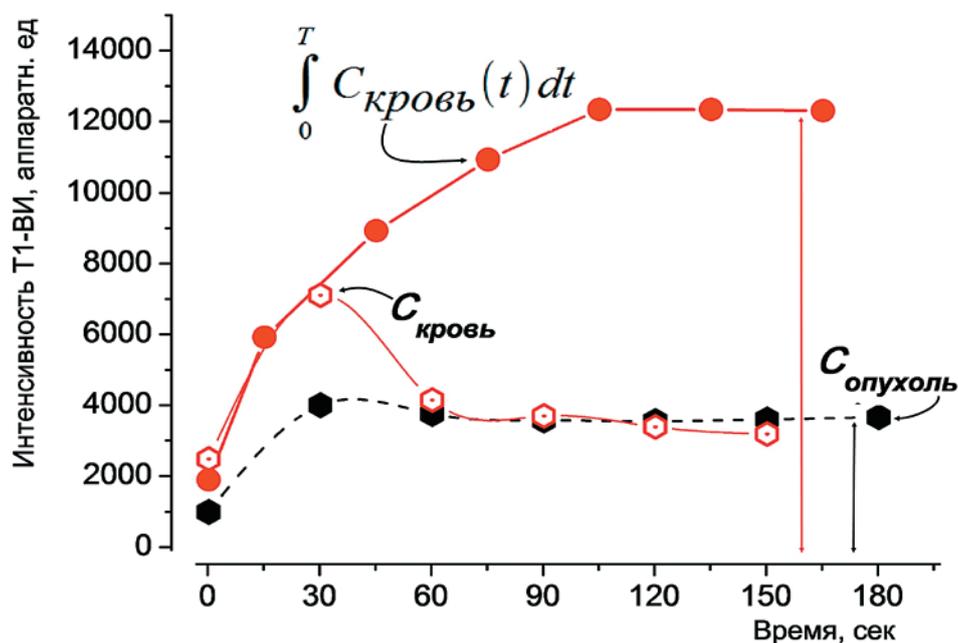


Рис. 2. Типичный вид кривых зависимости от времени содержания парамагнетика в опухоли ($C_{\text{опухоль}}$), в крови ($C_{\text{кровь}}$), и кривой интеграла по времени ($\int C_{\text{кровь}}(t) dt$)

В соответствии с представленной выше теорией $K_{кр-Он} = (C_{\text{опухоль}}) / (\int C_{\text{кровь}}(t) dt)$ — отношение соответствующих ординат, они представлены слева у края оси абсцисс.

Figure 2. A typical view of the curves depending on the time of the paramagnetic content in the tumor ($C_{\text{опухоль}}$), in the blood ($C_{\text{кровь}}$), and the curve of the time integral ($\int C_{\text{кровь}}(t) dt$)

In accordance with the theory presented above, $K_{кр-Он} = (C_{\text{опухоль}}) / (\int C_{\text{кровь}}(t) dt)$ is the ratio of the corresponding ordinates, they are represented on the left at the edge of the abscissa axis.

внутривенно болюсно. При этом запись велась как группа томографических срезов — быстрых Т1-ВИ турбо-спин-эхо, толщиной 1–2 мм, с охватом всей грудной клетки и, в частности, уровня подмышечных впадин и собственно молочных желез, длительность записи одной группы по 15–30 с., в матрицу 256 x 392 элемента изображения, при TR = 5,5–6 мс, TE = 2,5 мс, с помощью высокопольного МРТ-сканера Toshiba Titan Vantage с напряженностью поля 1,5 Т. Это позволяет затем без потерь пространственного разрешения осуществить реконструкцию изображений МРТ-исследования с ПМКУ в произвольных анатомических плоскостях, для областей левого желудочка сердца, первичной опухоли и метастатически вовлеченных лимфоузлов.

Затем показатель $K_{Кр-Он}$ рассчитывался для собственно опухоли и проксимального пораженного (сторожевого) лимфоузла как отношение уровней кривых $C_{опухоль}$ и интегральной кривой $\int C_{кровь}(t) dt$ — см. рис. 2.

Исследование проводилось у каждой пациентки трижды: до начала НАХТ, после первого цикла и по окончании четвертого цикла НАХТ, перед выполнением хирургического этапа лечения — радикальной мастэктомии.

Кроме того, у 7 пациенток (4 — из группы 1 и 3 — из группы 2) до и после проведения перво-

го цикла неoadъювантной химиотерапии выполнялось маммосцинтиграфическое исследование с ^{99m}Tc -Технетрилом по классической полипозиционной планарной методике [11].

Статистическая обработка кривых «Интенсивность — Время» и групповых численных результатов исследований проводилась с помощью пакета прикладных программ Origin 6.1.

Результаты

Как уже представлено выше, в целом включенные в исследование пациентки были разделены на две группы — у которых в течение трехлетнего наблюдения после НАХТ и последующего радикального удаления опухоли молочной железы не отмечалось рецидива или отдаленных метастазов (11 пациенток, группа 1, без рецидива и метастазирования), и тех (7 пациенток, группа 2, с метастазированием), у кого в эти сроки были выявлены отдаленные метастазы в печени (3 пациентки), головном мозге (2 пациентки) и легких (2 пациентки). У четырех из семи пациенток группы 2 также имели место метастазы в тела позвонков грудного и/или поясничного отделов позвоночника.

При благоприятном течении и эффективной НАХТ — в группе 1 — отмечалось визуально заметное снижение интенсивности накопления контраста-парамагнетика уже после первого цикла,

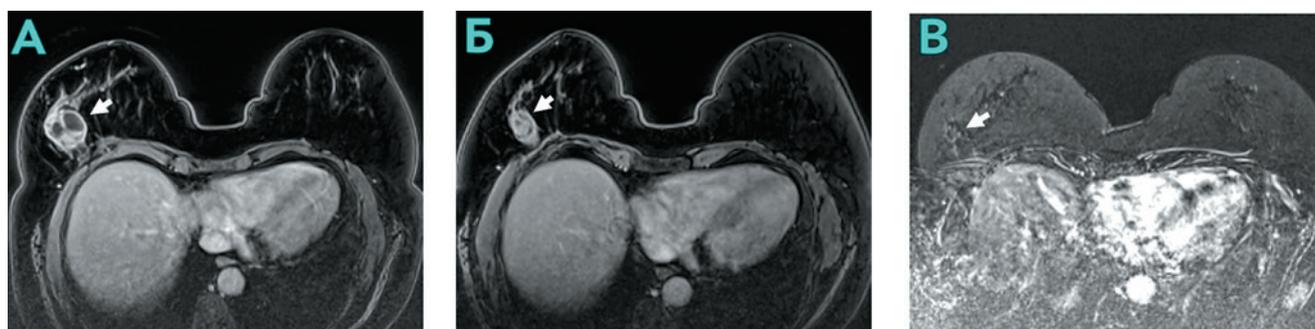


Рис. 3. Временная динамика изменений визуальной картины контрастирования опухоли молочной железы справа, в ходе комплексной химиотерапии

А — до начала, при поступлении; Б — после 1 цикла неoadъювантной химиотерапии; В — после 4 цикла неoadъювантной химиотерапии, перед выполнением радикального хирургического вмешательства. Очевидно прогрессивное снижение размеров опухоли и выраженное уменьшение интенсивности аккумуляции парамагнетика в самом начале лечения — см. рис. 3Б. После 4 курсов химиотерапии опухоль вообще визуализируется с трудом и практически не видна.

Figure 3. Temporal dynamics of changes in the visual contrast pattern of the breast tumor on the right, during complex chemotherapy

A — before the start, upon admission; B — after 1 cycle of neoadjuvant chemotherapy; C — after 4 cycles of neoadjuvant chemotherapy, before performing radical surgery. There is obviously a progressive decrease in tumor size and a marked decrease in the intensity of paramagnetic accumulation at the very beginning of treatment — see Figure 3B. After 4 courses of chemotherapy, the tumor is generally difficult to visualize and practically invisible.

как хорошо можно видеть на рисунках 3А, Б. Затем, к четвертому циклу, эта тенденция сохранялась и приводила к почти полному исчезновению контраст-усиленного изображения первичного узла РМЖ (рис. 3В).

Кривые «Интенсивность — время» также характеризовались прогрессивным снижением по достигаемому уровню плато, ко времени четвертого цикла НАХТ практически доходя до уровня фона (см. рис. 4). Кривая пула крови, получаемая с области левого желудочка, при этом имела неизменный вид и заметно по уровню и форме не менялась от исследования к исследованию, что в условиях примерно неизменного объема циркулирующей крови и постоянного объема вводимого контраста физиологически понятно и очевидно.

Маммосцинтиграфическая картина у пациенток группы 1, которая в деталях была хорошо изучена и классифицирована еще в начале 2000-х годов

[11, 12] и впоследствии подтверждена [13], клинически однозначно указывала на выраженную положительную динамику уже при первом цикле НАХТ (рис. 5), аналогично наблюдаемой при МР-томографии с парамагнитным контрастным усилением (рис. 3, 4).

Обращало на себя внимание типичное практически во всех случаях группы 1 и выраженное уменьшение в объеме и снижение по интенсивности аккумуляции контраста-парамагнетика не только и не столько даже в первичной опухоли рака молочной железы, сколько в сторожевом — проксимальном к опухоли — лимфатическом узле, как детально можно видеть на рисунках 6, 7. Детальная визуализация динамики аккумуляции контраста-парамагнетика одновременно в областях первичной опухоли и лимфоузла, как правило, требовала реконструкции в произвольной плоскости — см. рисунки 6, 7 — в связи с большой

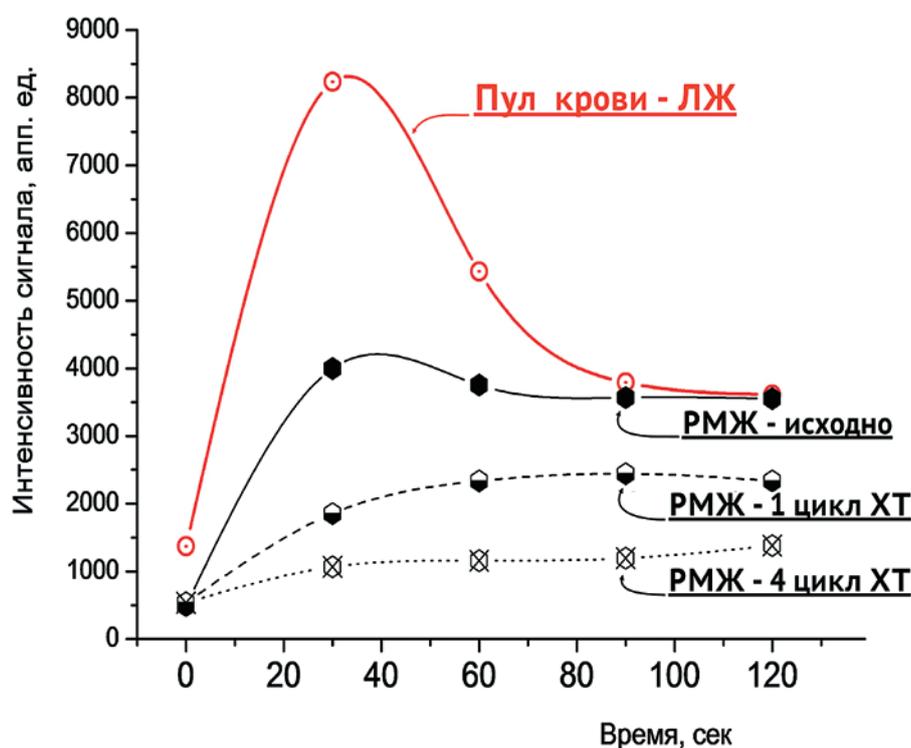


Рис. 4. Временная динамика изменений кривых «содержание парамагнетика — время», в зависимости от времени проведения цикла неoadъювантной противоопухолевой ХТ

Можно видеть достоверное снижение уже после первого цикла ХТ, с последующим прогредиентным снижением уровня кривой «содержание парамагнетика — время» РМЖ и фактическим выравниванием этих кривых, асимптотически приближаясь к оси абсцисс.

Figure 4. The temporal dynamics of changes in the curves “paramagnetic content — time”, depending on the time of the cycle of neoadjuvant anticancer CT

One can see a significant decrease after the first cycle of CT, followed by a progressive decrease in the level of the «paramagnetic content — time» curve of breast cancer and the actual alignment of these curves, asymptotically approaching the abscissa axis.

анатомической подвижностью и вариабельностью их расположения.

Групповые усредненные результаты по пациенткам групп 1 и 2 представлены в таблице 1.

Из таблицы можно видеть, что в группе 1 — безрецидивной и благоприятной, отмечалось более выраженное снижение показателя $K_{кр-Он}$ в первичной опухоли молочной железы, однако, не достигая статистической межгрупповой достоверности, и в особенности — в сторожевом лимфоузле. Визуальная картина снижения накопления контраста-парамагнетика после 1 цикла НАХТ в сторожевом лимфоузле наряду с снижением в первичной опухоли также была очевидна — см. рисунки 6, 7.

Индивидуальное представление величин показателей $K_{кр-Он}$ для опухоли и пораженного проксималь-

ного сторожевого лимфоузла — рисунки 8, 9 — дополнительно укрепляло этот вывод. В частности, по данным ROC-анализа оказывается, что, если в результате первого цикла НАХТ величина $K_{кр-Он}$ снижается менее 0,22 мл/мин/г ткани, вероятность последующего безрецидивного течения составляет 0,78.

Для сторожевого лимфоузла степень уменьшения $K_{кр-Он}$ в результате первого цикла НАХТ оказывается выраженной как минимум не в меньшей степени, чем для первичной опухоли. В частности, по данным ROC-анализа, снижение $K_{кр-Он}$ сторожевого лимфоузла в результате первого цикла НАХТ менее 0,08 мл/мин/1 г ткани с вероятностью 0,75 позволяет прогнозировать безрецидивное течение.

Таким образом, пациентки с худшим прогнозом течения заболевания продемонстрировали

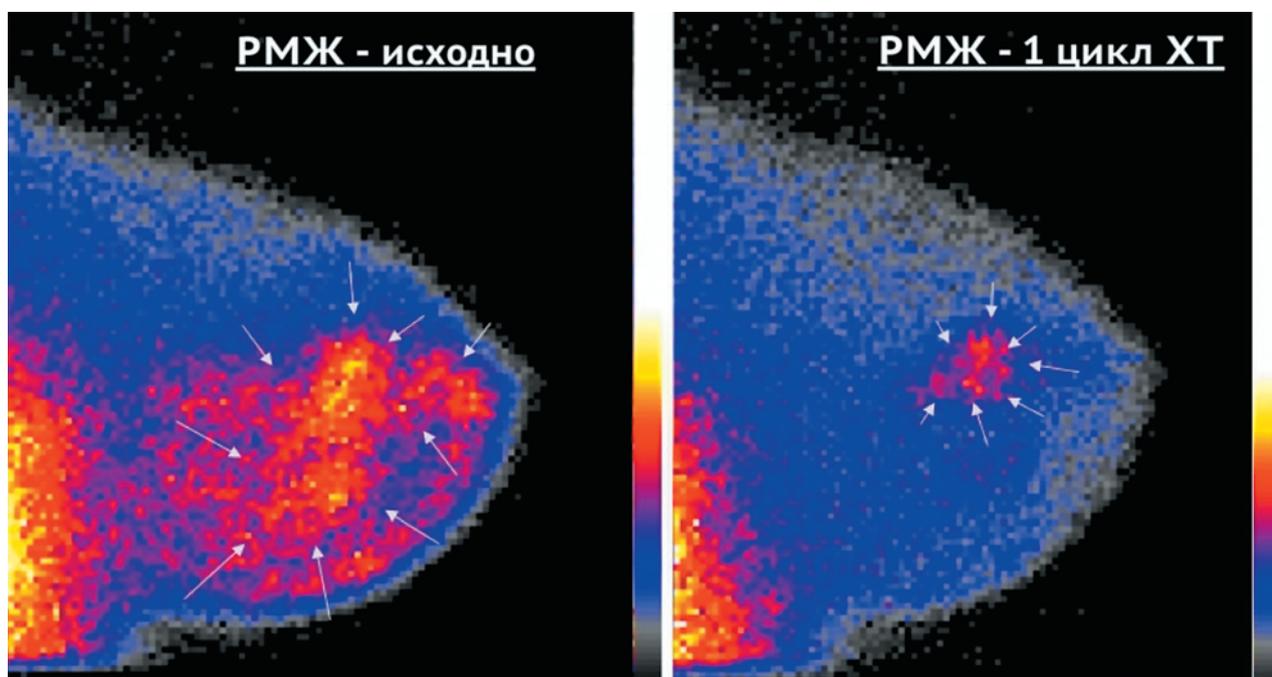


Рис. 5. Контроль эффективности неoadъювантной химиотерапии у той же пациентки средствами планарной маммосцинтиграфии с ^{99m}Tc -Технетрилом

Наружный боковой скан правой молочной железы. Картина распределения радиофармпрепарата в толще железы исходно (правый скан) может быть оценена как соответствующая РМЖ с множественными сливными участками опухолевого поглощения, отмеченными тонкими стрелками. После первого цикла химиотерапии (левый скан) резко выраженное уменьшение перфузируемой — поглощающей ^{99m}Tc -Технетрил ткани рака молочной железы, соответствующее отмеченному на рис. 3 и 4 уменьшению опухоли на изображениях и графиках МРТ с парамагнитным контрастным усилением.

Figure 5. Control of the effectiveness of neoadjuvant chemotherapy in the same patient by means of planar mammoscintigraphy with ^{99m}Tc -Technetrit

Right-sided lateral scan of the right breast, the picture of the distribution of radiopharmaceutical in the thickness of the gland initially (right scan) can be assessed as corresponding to the edematous infiltrative form of cancer. After the first cycle of chemotherapy (left scan), there was a pronounced decrease in perfused — absorbing ^{99m}Tc -Technetrit breast cancer tissue, corresponding to the tumor reduction noted in Figures 3 and 4 in MRI images and graphs with paramagnetic contrast enhancement.

худшие показатели коэффициента транспорта $K_{кр-оп}$ «кровь — опухоль» и «кровь — лимфоузел», нежели женщины с безрецидивным послеоперационным течением и прогнозом. Учитывая относительную простоту представленной нами методики определения коэффициента транспорта $K_{кр-оп}$, а также полное отсутствие радиационного воздействия при МРТ с контрастным усилением, оказывается возможным использовать эту несложную схему расчета для прогноза состояния опухоли при НАХТ, а стало быть — и для оптимизации медикаментозного лечения при ней.

Обсуждение

Традиционно, при патологии молочной железы и, в первую очередь, — при РМЖ, лучевые методы исследования играют ведущую роль в оценке детального состояния опухолевого поражения молочных желез и его регресса в результате комплексного предоперационного лечения, в частности неoadъювантной химиотерапии [5, 6].

Это доказано как для наиболее широко используемых методов ультразвуковой диагностики [14], так и для современных томографических технологий: ПЭТ-КТ, ОФЭКТ и ОФЭКТ-КТ [7, 11, 12], МРТ с контрастным усилением [15]. МРТ с кон-

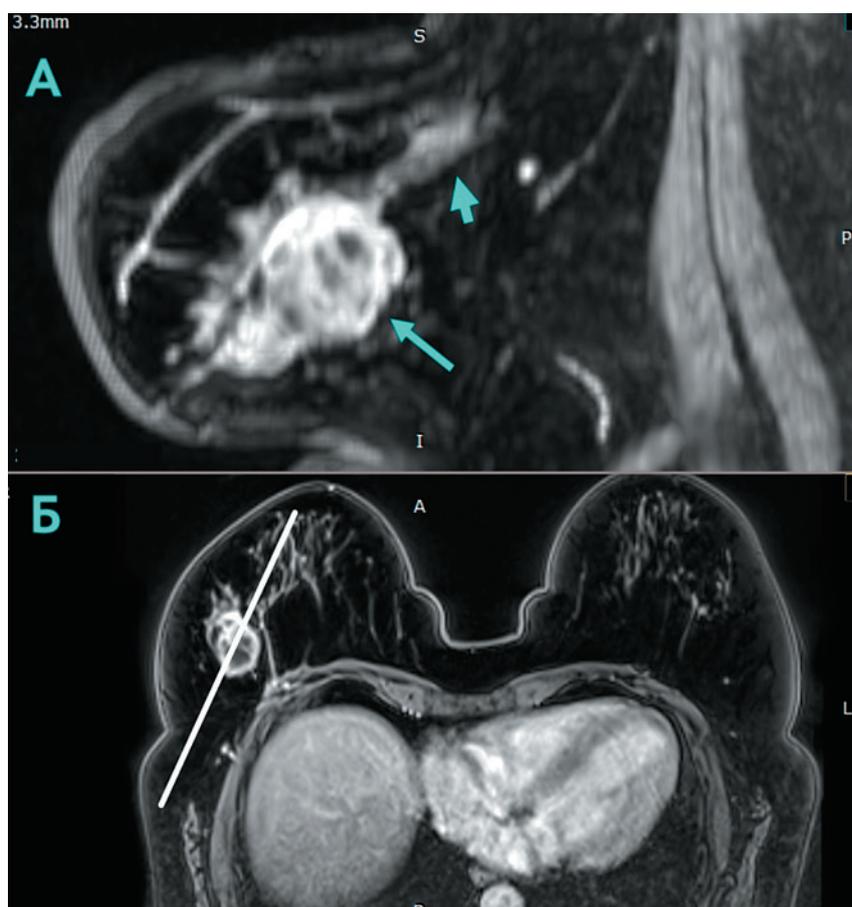


Рис. 6. Реконструкция в произвольной плоскости

Верхний скан (А) — произвольная реконструкция расположения и одновременное изображение первичной опухоли рака молочной железы справа (длинная толстая стрелка) и лимфатического оттока от нее с опухолевым вовлечением проксимального — сторожевого — лимфатического узла (короткая стрелка). На аксиальном срезе на нижнем изображении (Б) представлено расположение плоскости томосреза А, позволившее визуализировать таким образом весь объем ткани молочных желез, вовлеченный в опухолевый процесс. Также обращает внимание усиление васкуляризации — сосудистого рисунка в окружении опухоли (А).

Figure 6. Reconstruction in an arbitrary plane

Upper scan (A) is an arbitrary reconstruction of the location and simultaneous image of the primary breast cancer tumor on the right and lymphatic outflow from it with tumor involvement of the proximal sentinel lymph node. The axial section in the lower image (B) shows the location of the tomosectomy plane A, which made it possible to visualize in this way the entire volume of mammary gland tissue involved in the tumor process. Also attracts attention to the enhancement of vascularization — vascular pattern around the tumor (A).

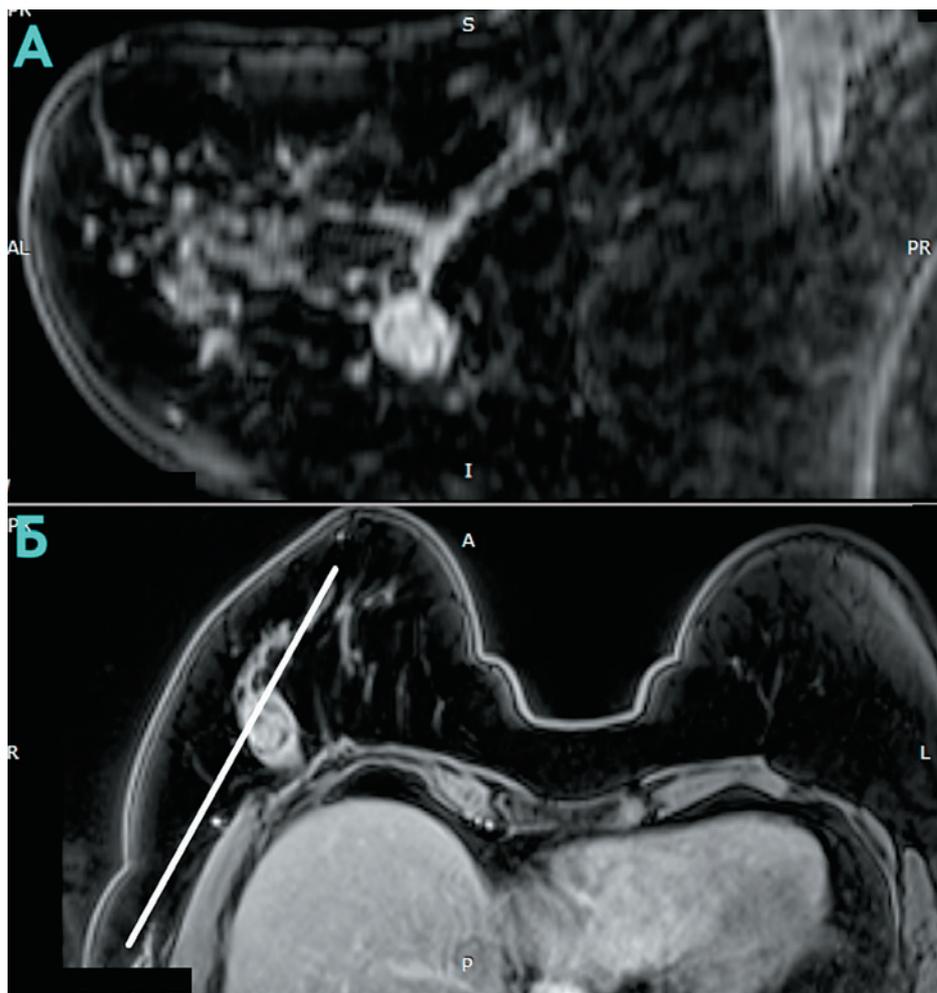


Рис. 7. После проведения первого цикла комплексной химиотерапии (данные той же пациентки, что и на рис. 6)

А — кососагиттальный реконструированный срез с охватом первичной опухоли и сторожевого аксиллярного лимфоузла. Б — расположение кососагиттальной плоскости реконструкции относительно аксиллярной плоскости. Очевидно выраженное снижение, по сравнению с рис. 6, контрастного усиления и анатомических размеров первичной опухоли. При этом в области сторожевого лимфоузла также выраженное уменьшение аккумуляции контрастного препарата по интенсивности, приближенное к фону, с одновременным уменьшением размеров лимфоузла, по сравнению с рис. 6.

На нижнем аксиальном скане Б представлено положение реконструируемого томосреза (верхний скан А), на котором отмечается накопление как в первичном опухолевом узле, так и по ходу лимфоузлов, в частности — в сторожевом. Таким образом, имеет место очевидный выраженный лечебный эффект уже с первого цикла неoadъювантной химиотерапии, и в частности — снижение накопления ПМКС не только в первичном узле опухоли молочной железы, но и в сторожевом лимфоузле, почти до фона.

Figure 7. After the first cycle of complex chemotherapy (data from the same patient as in Figure 6)

A is a oblique sagittal reconstructed section covering the primary tumor and the sentinel axillary lymph node. B is the location of the oblique-sagittal plane of reconstruction relative to the axillary plane. There is an obvious decrease in contrast to Figure 6 in the contrast enhancement and anatomical size of the primary tumor. At the same time, in the area of the sentinel lymph node, there is also a pronounced decrease in the accumulation of contrast agent in intensity, approaching the background, with a simultaneous decrease in the size of the lymph node as such.

The lower axial scan B shows the position of the reconstructed tomoslice (upper scan A), which shows accumulation both in the primary tumor node and along the lymph nodes, in particular, in the guard. Thus, there is an obvious pronounced therapeutic effect already from the first cycle of neoadjuvant chemotherapy, and in particular, a decrease in the accumulation of PMCS not only in the primary node of the breast tumor, but also in the sentinel lymph node.

Таблица 1. Показатели константы скорости поглощения контраста-парамагнетика первичной опухолью молочной железы и проксимальным — сторожевым лимфоузлом, в динамике 1–4 циклов НАХТ, в зависимости от последующего трехлетнего прогноза — отсутствия (группа 1) или наличия (группа 2) метастазов (величины представлены как «среднее ± среднее квадратичное отклонение»; достоверность различия p — по межгрупповому сравнению)

Table 1. Indicators of the constant rate of absorption of contrast paramagnetic by the primary breast tumor and the proximal sentinel lymph node, in the dynamics of 1–4 cycles of NACHT, depending on the subsequent three-year prognosis — the absence (group 1) or the presence (group 2) of metastases (the values are presented as “mean ± standard deviation”; the reliability of the difference p is based on an intergroup comparison)

Группа пациенток / Group of patients	Показатель / Index	Исходно при поступлении, до неoadъювантной химиотерапии / Initially upon admission, before neoadjuvant chemotherapy	После 1 цикла неoadъювантной химиотерапии / After 1 cycle of neoadjuvant chemotherapy	Перед выполнением хирургического этапа (после 4 цикла) / Before performing the surgical stage (after 4 cycles)
Группа 1, без рецидива и метастазирования / Group 1, without recurrence and metastasis. (n = 11)	$K_{кр-оп}$, мл/мин/100 г первичная опухоль РМЖ / ml/min/100 g primary breast cancer tumor	0,380 ± 0,14	0,173 ± 0,083	0,082 ± 0,040
	$K_{кр-оп}$, мл/мин/100 г сторожевой лимфоузел / ml/min/100 g sentinel lymph node	0,151 ± 0,037	0,075 ± 0,0355	0,036 ± 0,021
Группа 2, с метастазированием в срок до 3 лет / Group 2, with metastasis for up to 3 years (n = 7)	$K_{кр-оп}$, мл/мин/100 г первичная опухоль РМЖ / ml/min/100 g primary breast cancer tumor	0,307 ± 0,1 ($p_{1-2} < 0,05$)	0,192 ± 0,075 ($p_{1-2} > 0,05$)	0,101 ± 0,032 ($p_{1-2} > 0,05$)
	$K_{кр-оп}$, мл/мин/100 г, сторожевой лимфоузел / ml/min/100 g sentinel lymph node	0,153 ± 0,070 ($p_{1-2} > 0,05$)	0,102 ± 0,040 ($p_{1-2} < 0,05$)	0,060 ± 0,027 ($p_{1-2} < 0,05$)

трастным усилением при этом, с одной стороны, является наиболее визуально ярким и поэтому диагностически информативным методом зрительного представления текущего состояния молочных желез [6], а с другой — существенно реже использует различные физиологические и биофизические показатели, такие как тканевой кровоток в опухоли при ОФЭКТ-КТ с ^{99m}Tc -Технетрилом [11] или скорость поглощения глюкозы при ПЭТ с ^{18}F -ФДГ [6]. В первую очередь это вызвано тем, что в МР-томографии линейный характер какой бы то ни было зависимости является исключением, и большинство функциональных зависимостей биофизических показателей от концентрации

парамагнетика носят сложный экспоненциальный характер [4]. Однако в принципе мнение о конечной необходимости использовать биофизические, фармакокинетические и патофизиологические модели, а не индексы отношений типа «опухоль/фон» является общепринятым [4].

Детальный анализ фармакокинетических параметров накопления контраста-парамагнетика в различных опухолях при динамической контрастированной МР-томографии доказанно обладает прогностическим значением как в отношении вероятности рецидивирования первичной опухоли РМЖ [3], так и в отношении эффективности противоопухолевой неoadъювантной терапии

[15]. При этом используется целый ряд фармакокинетических показателей, получаемых на основе модельной оценки динамики накопления контрастного препарата-парамагнетика в опухоли, в частности — модели Kety-Schmidt и Toft [4]. В первую очередь это константа скорости переноса «кровь — опухоль», а также показатели внеклеточного и общего объема ткани, их соотношение в опухоли [2, 4]. Для всех этих моделей одной из вновь и вновь возникающих трудностей является индивидуальная идентификация их параметров, а также определение так называемой входной функции — зависимости концентрации контраста-парамагнетика в артериальной притекающей крови от времени, для которой вместо реальных значений у конкретного пациента используют популяционно-усредненные статистические значения [3].

Различные модели, в частности — так называемая модель скорости записывания, или «фотоаппарат» (shutter-speed — дословно это «выдержка при фотографии») [3, 15], дополнительно принимают во внимание скоростные параметры обмена воды между внутриклеточной и внеклеточной составляющими системы. Быстрый режим обмена внутриклеточной воды позволяет точнее оценить

показатели константы скорости переноса из крови (плазмы) в опухоль K_{trans} , объем внесосудистой и внеклеточной жидкостных фракций и среднее время внутриклеточного нахождения воды [16, 17]. Последний параметр был введен специально для характеристики кинетики движения воды через клеточную стенку. На практике при использовании методов динамической МРТ не меньшие усилия прилагаются для полуэмпирического подбора протоколов и методик с такими условиями, чтобы линейность расчетов сохранялась, а результаты исследований были бы воспроизводимы [9, 17, 18].

Поэтому мы также попытались найти возможности для линейзации сигнала на основе использования наиболее физиологически очевидного показателя транспорта $K_{кр-оп}$, аналога K_{trans} , но рассчитываемого не по методу Рутланда-Патлака, а как отношение суммарного количества накопленного в опухоли парамагнетика к интегралу зависимости концентрации парамагнетика в плазме от времени, по времени (формула (4) выше, в разделе «Материалы и методы»). Биофизическая суть используемого нами показателя $K_{кр-оп}$ состоит в том, что он характеризует усредненную скорость поступления контраста-парамагнетика из крови в собственно ткани новообразования,

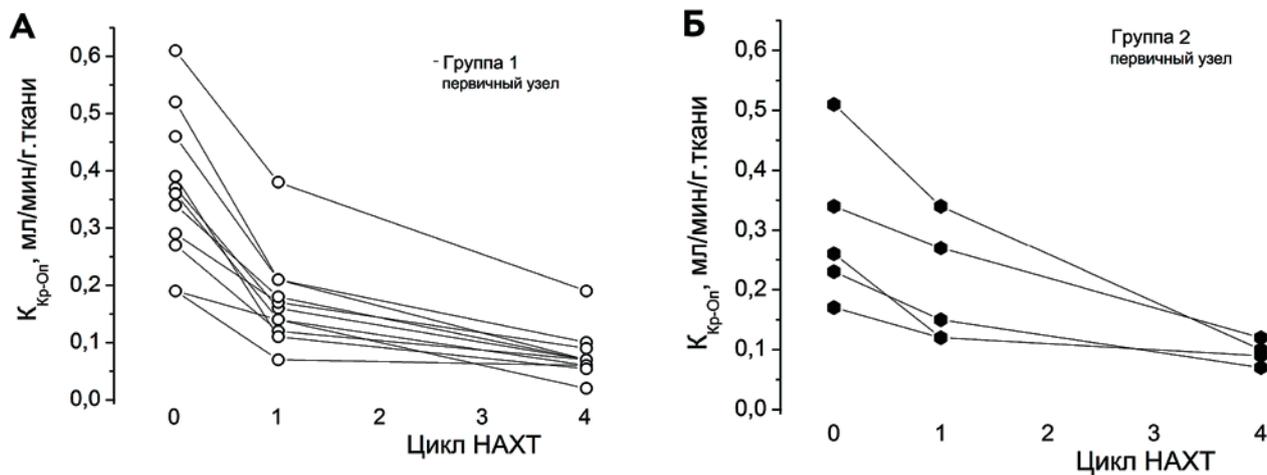


Рис. 8. Индивидуальная временная динамика показателя коэффициента транспорта контраста-парамагнетика $K_{кр-оп}$ в первичном узле рака молочной железы для групп с благоприятным безрецидивным прогнозом (группа 1, А) и с рецидивом и метастазированием в течение 3 лет после операции (группа 2, Б)

При снижении показателя $K_{кр-оп}$ для первичного опухолевого узла менее 0,22 мл/мин/г ткани после первого цикла НАХТ прогнозируется с вероятностью 0,78 последующее безрецидивное течение (принадлежность к группе 1).

Figure 8. Individual temporal dynamics of the coefficient of contrast-paramagnetic K_{cr-op} transport in the primary node of breast cancer for groups with a favorable relapse-free prognosis (group 1, A) and with recurrence and metastasis within 3 years after surgery (group 2, B)

With a decrease in the $K_{кр-оп}$ index for the primary tumor node of less than 0.22 ml/min/g of tissue after the first cycle of NACT, a subsequent relapse-free course (belonging to group 1) is predicted with a probability of 0.78.

то есть произведение фракции экстракции контрастного препарата опухолью и ее же удельной величины опухолевого кровотока.

Сравнение с ограниченными по количеству, но яркими изменениями маммосцинтиграфической картины у этих пациентов (рис. 5) позволяет предполагать, что такое снижение $K_{кр-Он}$ в результате уже первого цикла НАХТ отражает именно снижение кровотока, то есть поражение клеточного массива опухоли. Это вероятно тем более, что при использовании маммосцинтиграфии или ОФЭКТ с ^{99m}Tc -Технетрилом раннее, после первого цикла НАХТ, снижение локального поглощения радиофармпрепарата также обладает достоверным положительным прогностическим значением [11]. Однако для подтверждения этого предположения потребуется дополнительное, большее по численности исследование, к тому же предпочтительно в режиме ОФЭКТ-КТ, а не планарной маммосцинтиграфии.

Но уже представленный нами подход оказался практически эффективным в нашем случае проспективного наблюдения НАХТ и позволил получить достоверные различия между группами с различным прогнозом, в зависимости от динамики опухолевого процесса — формирования метастазов.

Очевидным недостатком нашего метода является то, что при его использовании пока невозможен расчет показателя объема распределения контраста-парамагнетика в ткани опухоли, который, хотя и менее информативен, чем $K_{кр-Он}$, но также патофизиологически весьма важен [9, 18]. Частично это искупается простотой реализации нашей методики, причем не только на высокопольных, но и на средне-, и низкопольных открытых МР-томографических сканерах.

Кроме того, в перспективе использование других парамагнитных контрастов со специфическими свойствами и с высокой фракцией экстракции, то есть высокой тропности к определенным органам, например миокарду, или опухолевой ткани, позволит применять данную методику для расчета тканевого кровотока в норме и при патологии.

Заключение

Использование упрощенного фармакокинетического метода расчета коэффициента переноса парамагнетика из крови в опухоль $K_{кр-Он}$ у пациентов с локальными и местно-распространенными формами РМЖ, при проведении у них динамической МРТ с парамагнитным контрастным усилением, в ходе НАХТ, позволяет получить су-

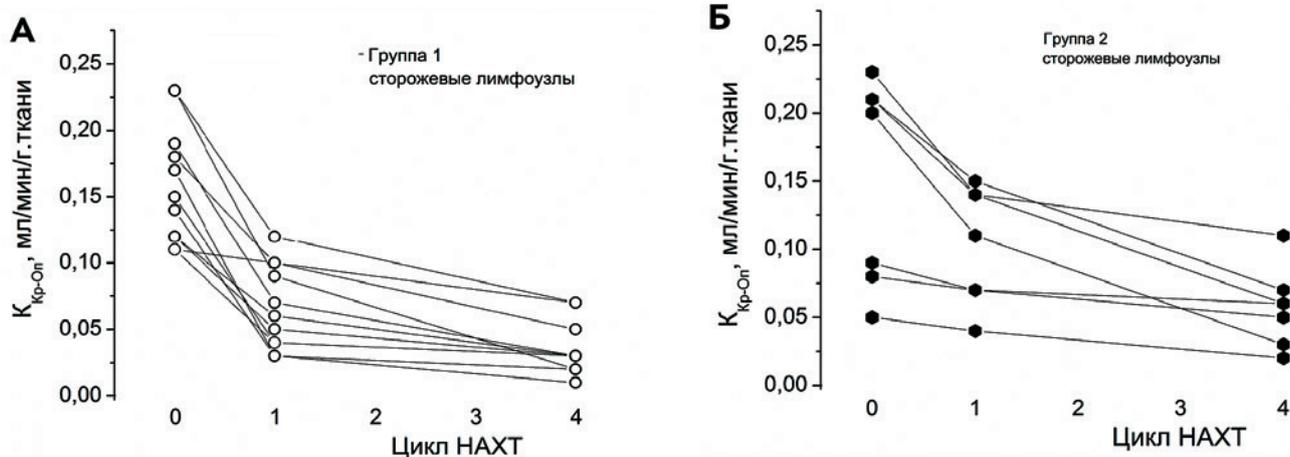


Рис. 9. Индивидуальная временная динамика показателя коэффициента транспорта контраста-парамагнетика $K_{кр-Он}$ в пораженном сторожевом лимфоузле при раке молочной железы для групп с благоприятным безрецидивным прогнозом (группа 1, А) и с рецидивом и метастазированием в течение 3 лет после операции (группа 2, Б)

При сравнении А и Б можно видеть, что снижение показателя $K_{кр-Он}$ менее 0,08 мл/мин/1 г ткани с чувствительностью (вероятностью) 0,75 позволяет прогнозировать принадлежность к группе 1, т. е. безрецидивное течение.

Figure 9. Individual time dynamics of the coefficient of contrast-paramagnetic $K_{кр-Он}$ transport in the affected sentinel lymph node in breast cancer for groups with a favorable relapse-free prognosis (group 1, А) and with recurrence and metastasis within 3 years after surgery (group 2, Б)

When comparing A and B, it can be seen that a decrease in the $K_{кр-Он}$ index of less than 0.08 ml/min / 1 g of tissue with a sensitivity (probability) of 0.75 makes it possible to predict belonging to group 1, i.e., a relapse-free course.

шественную дополнительную диагностическую и прогностическую информацию об опухолевом процессе и эффективности терапии.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Финансирование / Funding

Исследование выполнено в соответствии с Государственным заданием № 123030900018-1. / The study was carried out in accordance with the a Government assignment №123030900018-1.

Список литературы / References

- Shirshin AV, Boikov IV, Malakhovsky VN, et al. Application of digital processing methods for automated segmentation of the heart according to computed tomography data // Proceedings of the Russian Military Medical Academy. 2022; 41:1:49–54. In Russian [Ширшин А.В., Бойков И.В., Малаховский В.Н. и др. Применение методов цифровой обработки для автоматизированной сегментации сердца по данным компьютерной томографии // Известия Российской военно-медицинской академии. 2022; 41:1:49–54]. DOI 10.17816/rmmar104344.
- Varfolomeev SD, Gurevich KG. Biokinetics. A practical course. Moscow. FAIR PRESS. 1999; 720. In Russian [Варфоломеев С.Д., Гуревич К.Г. Биокинетика. Практический курс. М.: ФАИР-ПРЕСС, 1999; 720].
- Wang W, Lv S, Xun J, et al. Comparison of diffusion kurtosis imaging and dynamic contrast enhanced MRI in prediction of prognostic factors and molecular subtypes in patients with breast cancer. *Eur J Radiol.* 2022; 154:110392. DOI: 10.1016/j.ejrad.2022.110392.
- Li X, Rooney WD, Springer CS. A unified magnetic resonance imaging pharmacokinetic theory: intravascular and extracellular contrast reagents. *Magn Reson Med.* 2005; 54:6: 1351–9. DOI: 10.1002/mrm.20684.
- Seymour L, Bogaerts J, Perrone A, et al. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. *Lancet Oncol.* 2017; 18:3: e143–e152. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30074-8.
- Serebryakova SV, Shumakova TA, Safronova OB, et al. Magnetic resonance mammography in the diagnosis of intraductal cancer in situ (DCIS) // Radiology — practice. 2021; 3:87:41–61. In Russian [Серебрякова С.В., Шумакова Т.А., Сафронова О.Б. и др. Магнитно-резонансная маммография в диагностике внутрипротокового рака in situ (DCIS) // Радиология — практика. 2021; 3:87:41–61]. DOI 10.52560/2713-0118-2021-3-41-61.
- Chipiga LA, Vodovatov AV, Kataeva GV, et al. Proposals of quality assurance in positron emission tomography in Russia. *Medical Physics.* 2019; 2:82:78–92. In Russian [Чипига Л.А., Водоватов А.В., Катаева Г.В. и др. Современные подходы к обеспечению качества диагностики в позитронно-эмиссионной томографии. *Медицинская физика.* 2019; 2:82:78–92].
- Nenakhova YuN. Radiological early predictors of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. // Diagnostic and interventional radiology. 2017; 11:1:67–73. In Russian [Ненахова Ю.Н. Лучевые методы диагностики в оценке эффективности неoadъювантной химиотерапии у пациенток раком молочной железы (обзор литературы) // Диагностическая и интервенционная радиология. 2017; 11:1:67–73]. DOI: 10.25512/DIR.2017.11.1.09.
- Ioannidis GS, Maris TG, Nikiforaki K, et al. Investigating the Correlation of K_{trans} With Semi-Quantitative MRI Parameters Towards More Robust and Reproducible Perfusion Imaging Biomarkers in Three Cancer Types. *IEEE J Biomed Health Inform.* 2019; 23:5:1855–1862. DOI: 10.1109/JBHI.2018.2888979.
- Thawani R, Gao L, Mohinani A, et al. Quantitative DCE-MRI prediction of breast cancer recurrence following neoadjuvant chemotherapy: a preliminary study. *BMC Med Imaging.* 2022; 22:1:182. DOI: 10.1186/s12880-022-00908-0.
- Ussov WYu, Ryannel YuE, Popadich S, et al. The possibilities of single-photon emission computed tomography with ^{99m}Tc -Technetrit in the diagnosis and assessment of anatomic extent of breast cancer. *Medical vizualisation.* 2001; 4(3):74–86. In Russian [Усов В.Ю., Ряннель Ю.Э., Попадич С. и др. Возможности однофотонной эмиссионной компьютерной томографии с ^{99m}Tc -Технетрилом в диагностике и оценке распространенности рака молочной железы. *Медицинская визуализация.* 2001; 4(3):74–86].
- Ussov WYu, Ryannel YuE, Medvedeva AA, et al. Mammoscintigraphy with ^{99m}Tc -Technetrit in assessing the state of a primary tumor in breast cancer chemotherapy // Medical vizualisation. 2002; 5:2:86–94. In Russian [Усов В.Ю., Ряннель Ю.Э., Медведева А.А. и др. Маммосцинтиграфия с ^{99m}Tc -Технетрилом в оценке состояния первичной опухоли при химиотерапии рака молочной железы. *Медицинская визуализация.* 2002; 5:2: 86–94].
- Krzhivitsky PI, Novikov SN, Kanaev SV, et al. SPECT-CT diagnosis od metastatic lymph nodes in breast cancer patients. *Problems in oncology.* 2017; 63:2:261–266. In Russian [Крживицкий П.И., Новиков С.Н., Канаев С.В. и др. ОФЭКТ-КТ в диагностике метастатического поражения лимфатических узлов у больных раком молочной железы. *Вопросы онкологии.* 2017; 63:2:261–266].
- Semiglazov VF, Gorbunova VA, Tyulyandin SA. Chemotherapy of breast cancer: a modern view of the problem. *Medical Council.* 2017; 6:56–60. In Russian [Семиглазов В.Ф., Горбунова В.А., Тюляндин С.А. Химиотерапия рака молочной железы: современный взгляд

на проблему. Медицинский совет. 2017; 6:56–60]. DOI 10.21518/2079-701X-2017-6-56-60.

15. Tudorica A, Oh KY, Chui SY-C, et al. Early Prediction and Evaluation of Breast Cancer Response to Neoadjuvant Chemotherapy Using Quantitative DCE-MRI. *Transl Oncol.* 2016; 9:1:8–17. DOI: 10.1016/j.tranon.2015.11.016.

16. Liang X, Chen X, Yang Z, et al. Early prediction of pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy combining DCE-MRI and apparent diffusion coefficient values in breast Cancer. *BMC Cancer.* 2022; 22:1:1250. DOI: 10.1186/s12885-022-10315-x.

17. Wang TC, Huang YH, Huang CS, et al. Computer-aided diagnosis of breast DCE-MRI using pharmacokinetic model and 3-D morphology analysis. *Magn Reson Imaging.* 2014; 32:3:197–205. DOI: 10.1016/j.mri.2013.12.002.

18. MRI with dynamic contrast enhancement in the assessment of axillary lymph nodes in breast cancer after neoadjuvant chemotherapy. P. Y. Grishko, A. S. Petrova, A. V. Komyakhov, A. V. Mishchenko. Collection of scientific papers of the III St. Petersburg International Oncological Forum “White Nights 2017”, St. Petersburg, June 22–24, 2017. Federal State Budgetary Institution “N. N. Petrov Research Institute of Oncology” of the Ministry of Health of the Russian Federation. St. Petersburg: “Problems of Oncology”. 2017. In Russian [МРТ с динамическим контрастным усилением в оценке подмышечных лимфатических узлов при раке молочной железы после неoadjuvantной химиотерапии. П. Ю. Гришко, А. С. Петрова, А. В. Комяхов, А. В. Мищенко. Сборник научных работ III Петербургского Международного онкологического форума «Белые ночи 2017», Санкт-Петербург, 22–24 июня 2017 года. ФГБУ «НИИ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России. СПб: АННОМО «Вопросы онкологии». 2017; 123–124].

Информация об авторах:

Усов Владимир Юрьевич, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник научно-исследовательского отделения лучевых и инструментальных методов исследования ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Минин Станислав Михайлович, к.м.н., научный сотрудник научно-исследовательского отдела онкологии и радиотерапии Института онкологии и нейрохирургии, ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Никитин Никита Александрович, заведующий рентгеновским отделением ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Ногина Елена Николаевна, заведующий отделением лекарственной и противоопухолевой терапии Института онкологии и нейрохирургии, ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Косарев Илья Александрович, врач — онколог-маммолог Института онкологии и нейрохирургии, ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Кобелев Евгений, к.м.н., младший научный сотрудник научно-исследовательского отделения лучевых и инструментальных методов исследования ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Башкиров Леонид Владимирович, младший научный сотрудник научно-исследовательского отделения лучевых и инструментальных методов исследования ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Анашбаев Жанат Жуманалиевич, врач-радиолог отделения радиотерапии, ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Тарабановская Наталья Анатольевна, к.м.н., научный сотрудник, врач-хирург высшей категории отделения общей онкологии НИИ онкологии — филиала ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН»;

Бабилов Виктор Юрьевич, аспирант НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е. Д. Гольдберга ФГБНУ «Томский НИМЦ РАН»;

Денисова Наталья Васильевна, д.ф.-м.н., профессор, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Институт теоретической и прикладной механики им. С. А. Христиановича» СО РАН;

Чернышова Алена Леонидовна, д.м.н., профессор РАН, директор Института онкологии и нейрохирургии, ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России;

Чернявский Александр Михайлович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ им. акад. Е. Н. Мешалкина» Минздрава России.

Authors information:

Wladimir Yu. Ussov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Researcher of the Department of Radiation and Functional Research Methods of the National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin;

Stanislav M. Minin, Candidate of Medical Sciences, Researcher of the Research Department of Oncology and Radiotherapy of the Institute of Oncology and Neurosurgery, National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin;

Nikita A. Nikitin, head of the X-ray department of the National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin;

Elena N. Nogina, Head of the Department of Drug and Antitumor Therapy at the Institute of Oncology and Neurosurgery, National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin;

Ilya A. Kosarev, oncologist-mammologist at the Institute of Oncology and Neurosurgery, National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin;

Evgeny Kobelev, Candidate of Medical Sciences, Junior Researcher at the Scientific Research Department of Radiation and Instrumental Research Methods of the National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin;

Leonid V. Bashkirov, is a junior researcher at the Scientific Research Department of Radiation and Instrumental Research Methods of the National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin;

Zhanat Zh. Anashbaev, radiologist of the Radiotherapy Department, National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin;

Natalia A. Tarabanovskaya, Candidate of Medical Sciences, Researcher, surgeon of the highest category of the Department of General Oncology of the Research Institute of Oncology of the Tomsk Scientific Research Center of the Russian Academy of Sciences;

Viktor Yu. Babikov, is a postgraduate student at the E. D. Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine of the Tomsk Scientific Research Center of the Russian Academy of Sciences;

Natalia V. Denisova, Doctor of Physical and Mathematical Sciences, Professor, leading researcher at the Institute of Theoretical and Applied Mechanics named after Academician S. A. Khristianovich Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences;

Alyona L. Chernyshova, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Director of the Institute of Oncology and Neurosurgery, National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin;

Aleksandr M. Cherniavskii, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, General Director of the National Medical Research Center named after Academician E. N. Meshalkin.

НОВЫЙ ОТЕЧЕСТВЕННЫЙ САМОРАСШИРЯЮЩИЙСЯ НИТИНОЛОВЫЙ СТЕНТ: ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ *IN VIVO*

Верховская Е. В.¹, Ванюркин А. Г.¹, Пантелеева Ю. К.¹,
Поплавский Е. О.¹, Цветкова Е. В.¹, Самуйловская С. А.¹,
Когай С. В.¹, Евдокимов А. С.², Евдокимов С. В.²,
Чернявский М. А.¹

Контактная информация:
Ванюркин Алмаз Гафурович,
ФГБУ «НМИЦ им. Алмазова» Минздрава
России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail:almaz.vanyurkin@mail.ru

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр имени
В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской
Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Закрытое акционерное общество «Научно-производственное
предприятие «МедИнж», Пенза, Россия

Статья поступила в редакцию 31.08.2024
и принята к печати 10.10.2024.

Резюме

Цель. Оценить результаты имплантации нового отечественного саморасширяющегося нитинолового стента у животных в эксперименте. **Материалы и методы.** Осуществлена экспериментальная имплантация отечественного саморасширяющегося нитинолового стента трем свиньям породы вьетнамские вислобрюхие в общую подвздошную артерию. В послеоперационном периоде все животные находились под наблюдением, получали двойную дезагрегантную терапию в течение 3 месяцев. На протяжении всего периода наблюдения у них также оценивались показатели жизненно важных функций. Через 3 месяца животным выполнялись контрольные ангиография и ультразвуковое исследование (УЗИ) подвздошно-бедренного сегмента с последующим выводом из эксперимента путем эвтаназии. Следующим этапом проводился макроскопический и гистологический анализ стентированных участков сосудов. **Результаты.** Период наблюдения за животными составил 3 месяца. На протяжении всего периода наблюдения показатели жизненно важных функций у всех животных сохранялись в пределах нормальных значений. Результаты контрольных ангиографических исследований и УЗИ через 3 месяца продемонстрировали проходимость, а также отсутствие значимых стенозов внутри стентов у двух свиней. У одного животного были обнаружены признаки рестеноза внутри стента. Результаты макроскопического и гистологического анализа показали признаки повреждения субэндотелиального слоя, а также миоинтимальную гиперплазию. Данные изменения были особенно выражены у животного с рестенозом. Проведенный нами анализ показал, что представленные результаты были обусловлены чрезмерным оверсайзингом имплантированного стента (25–30 %). **Заключение.** Разработанный саморасширяющийся нитиноловый стент показал удовлетворительные результаты в проведенном *in vivo* эксперименте. Тем не менее, необходимо учитывать, что чрезмерный оверсайзинг стента способен вызывать избыточную пролиферацию неоинтимы, что, в свою очередь, будет приводить к развитию рестеноза в послеоперационном периоде. В связи с этим необходима дополнительная серия имплантации разработанного стента опытным животным с меньшим оверсайзингом для определения его оптимальных значений для данной конкретной модели стента.

Ключевые слова: заболевание периферических артерий, исследование *in vivo*, общая подвздошная артерия свиньи, подвздошно-бедренный сегмент, саморасширяющийся нитиноловый стент.

Для цитирования: Верховская Е.В., Ванюркин А.Г., Пантелеева Ю.К. и др. Новый отечественный саморасширяющийся нитиновый стент: доклиническое исследование *in vivo*. Трансляционная медицина. 2024; 11(5): 445-455. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-445-455. EDN: FCFQGU

A NEW DOMESTIC SELF-EXPANDING NITINOL STENT: IN VIVO PRECLINICAL STUDY

Ekaterina V. Verkhovskaya¹, Almaz G. Vanyurkin¹,
Yulia K. Panteleeva¹, Evgeny O. Poplavsky¹, Elena V. Tsvetkova¹,
Sofia A. Samuylovskaya¹, Sergey V. Kogay¹,
Alexander S. Evdokimov², Sergey V. Evdokimov²,
Mikhail A. Chernyavsky¹

Corresponding author:

Almaz G. Vanyurkin,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: almaz.vanyurkin@mail.ru

Received 31 August 2024; accepted 10
October 2024.

¹ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

² Closed Joint Stock Company Scientific and Production Enterprise
“MedInj”, Penza, Russia

Abstract

Objective. To evaluate the results of implantation of a new domestic self-expanding nitinol stent in experimental animals. **Materials and methods.** Experimental implantations of a self-expanding nitinol stent were performed in the common iliac artery of three Vietnamese Pot-bellied pigs. In the postoperative period, all animals received dual antiplatelet therapy for 3 months. Vital signs were also assessed throughout the observation period. After 3 months, the animals underwent control angiography and ultrasound examination of the iliofemoral segment, followed by withdrawal from the experiment by euthanasia. The next step was a macroscopic and histological analysis of the stented areas of the vessels. **Results.** The observation period of the animals was 3 months. Throughout the entire observation period, vital signs in all animals remained within normal values. The results of control angiography and ultrasound examination after 3 months demonstrated patency, as well as the absence of significant in-stent stenoses in two pigs. One animal showed signs of in-stent restenosis. The results of macroscopic and histological analysis showed signs of damage to the subendothelial layer, as well as myointimal hyperplasia. These changes were especially pronounced in the animal with restenosis. Our analysis showed that the presented results were due to excessive oversizing of the implanted stents (20–30 %). **Conclusion.** Our proposed self-expanding nitinol stent, in general, showed satisfactory results in the *in vivo* experiment. Nevertheless, it should be borne in mind that severe stent oversizing can cause excessive neointimal proliferation, which, in turn, will lead to the development of restenosis in the long-term postoperative period. In this regard, it is necessary to carry out an additional series of implantation of the presented stent to the experimental animals with less oversizing in order to determine its optimal values for this particular stent model.

Key words: iliofemoral segment, *in vivo* study, peripheral arterial disease, porcine common iliac artery, self-expanding nitinol stent.

For citation: Verkhovskaya EV, Vanyurkin AG, Panteleeva YK, et al. A new domestic self-expanding nitinol stent: *in vivo* preclinical study. *Translational Medicine*. 2024; 11(5): 445-455. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-445-455. EDN: FCFQGU

Список сокращений: ЗПА — заболевания периферических артерий, ОПА — общая подвздошная артерия, РФ — Российская Федерация, УЗИ — ультразвуковое исследование.

Введение

Заболевания сердечно-сосудистой системы являются основными причинами инвалидизации и смертности населения во всем мире. Заболевания периферических артерий (ЗПА) составляют почти 20 % от всего числа сердечно-сосудистых патологий [1]. В основе поражения артериального русла лежит прогрессирующее сужение просвета артериальных сосудов, приводящее к артериальной недостаточности с развитием ишемии органов и тканей. Главной причиной ЗПА — атеросклероз, на долю которого приходится более 80 % случаев. Неспецифический аортоартериит и диабетическая ангиопатия являются причиной 9 % и 6 % от общего числа ЗПА соответственно. К другим причинам поражения сосудов относятся болезнь Рейно, облитерирующий тромбангиит и прочие заболевания. ЗПА является социально значимым заболеванием, связанным с высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений и смертельных исходов, и ведет к существенному ограничению физической активности и трудоспособности людей. Количество больных, страдающих ЗПА, в среднем достигает 600–800 человек на 1 млн жителей. По данным сводной аналитики, в Российской Федерации (РФ) частота госпитализаций по поводу ЗПА — примерно 140–160 случаев на 100 000 в год. Долгое время золотым стандартом лечения атеросклеротического поражения периферических артерий считалась открытая хирургия (эндартерэктомия, шунтирующие операции) [2]. Однако данные вмешательства сопряжены с высоким риском периоперационных осложнений и летальности, что ограничивает их применение у больных с тяжелым коморбидным фоном [3]. По данным Алекяна Б. Г., за последние 10 лет в РФ сохраняется отчетливая положительная динамика роста количества эндоваскулярных и гибридных операций при патологии артерий нижних конечностей ввиду их малоинвазивности. Тем не менее, процент выполнения данных вмешательств в нашей стране является относительно низким (30–35 %) по сравнению с западными странами (80 %).

Основной принцип лечения пациентов с атеросклерозом периферических артерий заключается в восстановлении просвета сосуда. Эндоваскулярное стентирование артерий позволяет восстановить истинный просвет артерий без открытых травматичных операций. В настоящее время в РФ

сохраняется отчетливая динамика роста количества рентгенэндоваскулярных операций, выполняемых при патологии аорты и периферических артерий. Общее количество данных вмешательств у больных с патологией артерий нижних конечностей в РФ за 2023 год составило 40 987 (Алекян Б. Г. и соавт., 2024). Одной из главных причин, ограничивающих рост эндоваскулярных технологий в РФ, является отсутствие качественного конкурентоспособного расходного материала, а именно внутрисосудистых стентов для периферических артерий. Стенты импортного производства имеют высокую стоимость, что ограничивает их широкое применение в клинической практике. Таким образом, можно говорить о недостаточных количественных показателях оказываемой хирургической помощи пациентам с ЗПА в РФ.

Эффективным глобальным механизмом, влияющим на снижение инвалидизации и смертности, а также улучшающим прогноз пациентов с ЗПА в популяционном масштабе, представляется увеличение количества и доступности процедур эндоваскулярной ангиопластики и стентирования артерий нижних конечностей. Таким образом, актуальность проблемы была основополагающим фактором в разработке отечественного конкурентоспособного самораскрывающегося нитинолового стента для лечения атеросклеротического поражения периферических артерий. В настоящей публикации представлена разработанная конструкция внутрисосудистого стента для лечения ЗПА, а также результаты имплантации внутрисосудистого стента в эксперименте *in vivo*.

Цель исследования — оценить результаты имплантации нового отечественного самораскрывающегося нитинолового стента у животных в эксперименте.

Материалы и методы

На основании проведенной опытно-конструкторской работы по запатентованной методике (заявка на патент РФ № 2024123119 от 12.08.2024) ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России предложена модель внутрисосудистого голометаллического стента с качественно новой структурой ячейки для лечения заболеваний периферических артерий («Внутрисосудистый стент для лечения заболеваний периферических артерий», производитель — фирма «МедИнж», г. Пенза). Данное устройство представляет собой конструкцию, изготовленную в форме цилиндрического каркаса из нитинола, обладающего эффектом памяти формы, с переменной шириной

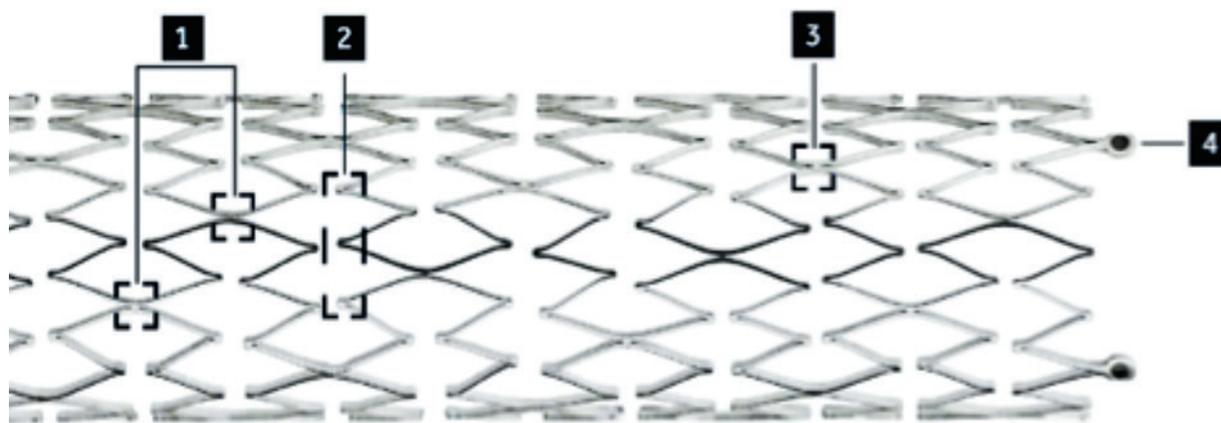


Рис. 1. Схематическое изображение конструкции стента

1 — спиральный рисунок соединения ячеек; 2 — полузакрытая конструкция ячеек для создания силы расширения и увеличения гибкости стента; 3 — узлы пикового соединения помогают равномерно распределить усилия по всей площади стента; 4 — танталовые рентгеноконтрастные метки.

Figure 1. Schematic representation of the stent structure

1 — spiral pattern of cell connection; 2 — semi-closed cell design to create an expansion force and increase the flexibility of the stent; 3 — peak connection nodes help evenly distribute forces over the entire area of the stent; 4 — tantalum radiopaque marks.

гофрирования ячеек (рис. 1), что обеспечивает меньший риск развития рестенозов внутри стента за счет исключения отрицательного воздействия биомеханических факторов. Стент сжат в системе доставки 5–6 F (максимально допустимый наружный диаметр 2,1 мм).



Рис. 2. Подготовка операционной к предстоящей операции в Центре доклинических и трансляционных исследований ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России

Figure 2. The preparation of the operating room for the upcoming procedure at the Preclinical Translational Research Centre of Almazov National Medical Research Centre

Представленное в данной работе исследование проводилось на базе Центра доклинических и трансляционных исследований ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России (рис. 2).

Экспериментальные имплантации саморасширяющегося нитинолового стента были проведены трем свиньям породы вьетнамские вислобрюхие, весом 50–60 кг. После поступления в питомник животные проходили однемесячный карантин. За 3 дня до оперативного вмешательства и на протяжении всего периода наблюдения всем свиньям вводилась нагрузочная доза препарата Коплавикс (Клопидогрел + Ацетилсалициловая кислота 75+100) для создания нужной концентрации препарата в крови и снижения риска тромбоза стентированного участка в послеоперационном периоде.

Имплантация стентов производилась под общей анестезией (интубационный наркоз) в общую подвздошную артерию (ОПА) в условиях рентген-операционной с внутривенным введением йодсодержащего контрастного препарата. Доступ к артерии осуществлялся пункционным способом (общая бедренная артерия) под ультразвуковым контролем (рис. 3).

После обработки операционного поля в общую бедренную артерию устанавливался интродьюсер 6 F, через который заводился проводник Radiofocus. Затем по проводнику заводился диагностический катетер с последующим выполнением диагностической ангиографии. По проводнику произ-

водилась имплантация стента в ОПА (каждому животному осуществлялась имплантация одного стента). По окончании хирургического вмешательства всем свиньям выполнялась контрольная ангиография с оценкой проходимости прооперированного сегмента (рис. 4). Инструменты удалялись из сосудистого русла с последующим мануальным гемостазом и пробуждением животного.



Рис. 3. Пункция общей бедренной артерии под ультразвуковым контролем

Figure 3. Puncture of the common femoral artery under ultrasound control



Рис. 4. Контрольная ангиография после имплантации стента в общую подвздошную артерию

Figure 4. Control angiography after the implantation of the stent in the common iliac artery

Интубационный наркоз проводился с помощью изофлюрана 2–3 %. Также применялись следующие препараты: золетил 20 мг/кг внутримышечно, ксилазин 3 мг/кг внутримышечно и атропин 0,1 мг/кг подкожно. Предоперационная подготовка выполнялась на операционном столе. Затем производилась интубация трахеи с началом искусственной вентиляции легких. Параметры вентиляции: дыхательный объем 25–30 мл/кг/мин, частота дыхательных движений 20–25 в мин., 65 % кислорода в дыхательной смеси.

За сутки до операции, а также на протяжении всего периода наблюдения 1 раз в сутки у всех животных оценивались показатели жизненно важных функций: ректальная температура, частота сердечных сокращений, артериальное давление, сатурация.

По истечении трехмесячного периода наблюдения под общей анестезией животным выполнялись контрольная ангиография пункционным способом, а также ультразвуковое исследование (УЗИ) с оценкой пиковой систолической скорости кровотока в стентированном участке с последующим выводом из эксперимента путем эвтаназии. Основным методом эвтаназии животным проводился посредством передозировки изофлюрана с дальнейшим внутривенным введением калия хлорида и лидокаина 10 %. Следующим этапом выполнялся макроскопический и гистологический анализ стентированных участков сосудов.

С целью гистологического исследования были забраны участки стентированных сосудов вместе со стентом на 3 см проксимальнее и дистальнее имплантированного устройства. Материал фиксировался в 10 % забуференном формалине («Биовитрум», Россия) в течение 24 часов, далее проводилась вырезка материала и криопротекция в 30 % растворе сахарозы ЧДА («Ленреактив», Россия) в фосфатном буфере (Sigma-Aldrich, США) в течение 48 часов. Фрагменты монтировались в среду для криотомии OCT Compound (Sakura Finetek, США), замораживались и были нарезаны с толщиной среза 12 мкм на криостате Sakura Tissue-Tek Cryo3 (Япония). Далее срезы были подвергнуты окраске гематоксилином Майера и эозином («Биовитрум», Россия). Визуализация осуществлялась на микроскопе Nikon Eclipse (Япония). Общий дизайн исследования представлен на рисунке 5.

Результаты

Период наблюдения за животными составил 3 месяца. На протяжении всего периода наблюдения показатели жизненно важных функций (ректальная температура, частота сердечных сокращений, арте-

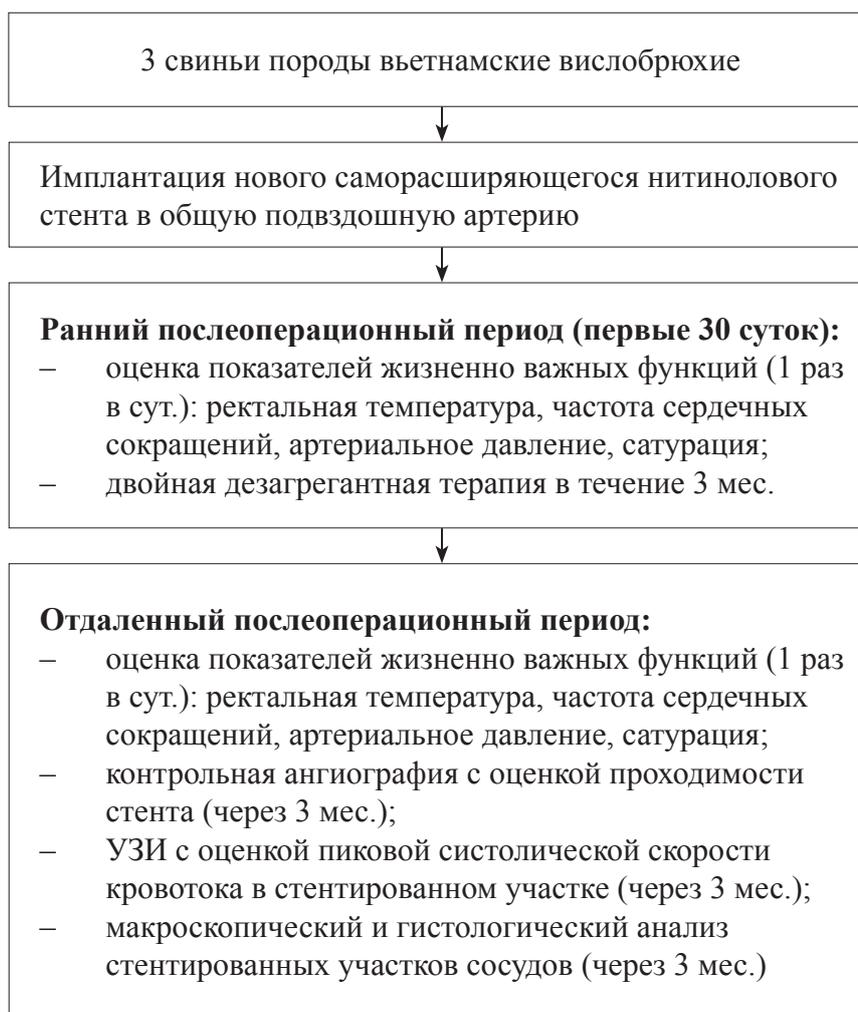


Рис. 5. Общий дизайн исследования

Figure 5. Overall study design

риальное давление, сатурация) у всех животных сохранялись в пределах нормальных значений.

Результаты контрольных ангиографических исследований через 3 месяца подтвердили проходимость, а также отсутствие значимых стенозов внутри стентов у двух свиней (рис. 6). По данным УЗИ, пиковая систолическая скорость кровотока в стентированном участке у этих животных не превышала 120 см/с.

У одного животного были обнаружены признаки рестеноза внутри стента по данным ангиографии (рис. 7А), УЗИ (рис. 7Б) и гистологического исследования. На УЗИ было выявлено увеличение пиковой систолической скорости кровотока в области максимального участка стенозирования до 200 см/с с монофазным постстенотическим спектром в дистальном сегменте артерии.

При макроскопическом исследовании через 3 месяца после имплантации стента на эндотелии ОПА

у всех животных отмечались четкие следы от сдавливания ячейками стента с участками субэндотелиальных кровоизлияний (рис. 8). Данные признаки были наиболее выражены у животного с рестенозом, у которого отмечалось значительное сужение просвета артерии в дистальной части имплантированного стента.

В ходе гистологического исследования полученного аутопсийного материала в двух случаях было выявлено оптимальное нарастание неоинтимы по внутренней поверхности стента, а также отсутствие гемодинамически значимого стенозирования внутри имплантированного устройства. Также были обнаружены общие изменения, характерные для всех исследуемых образцов. В области имплантации стентов наблюдалась смешанная инфильтрация стенок мононуклеарными фагоцитами, гигантскими клетками инородных тел и эозинофилами (рис. 9). В области краев стентов отмечалось умеренное отложение фибрина.

У свиньи с рестенозом внутри стента просвет ОПА был заполнен неоинтимой, в адвентициальной оболочке были выявлены кровоизлияния и отложения фибрина (рис. 10).

Признаки гнойного воспаления отсутствовали у всех животных.

С учетом представленных в данной работе результатов гистологического исследования были выявлены признаки гипертрофии мышечного слоя сосудистой стенки с неравномерным нарастанием внутреннего интимального слоя, признаками повреждения субэндотелиального слоя и замещени-

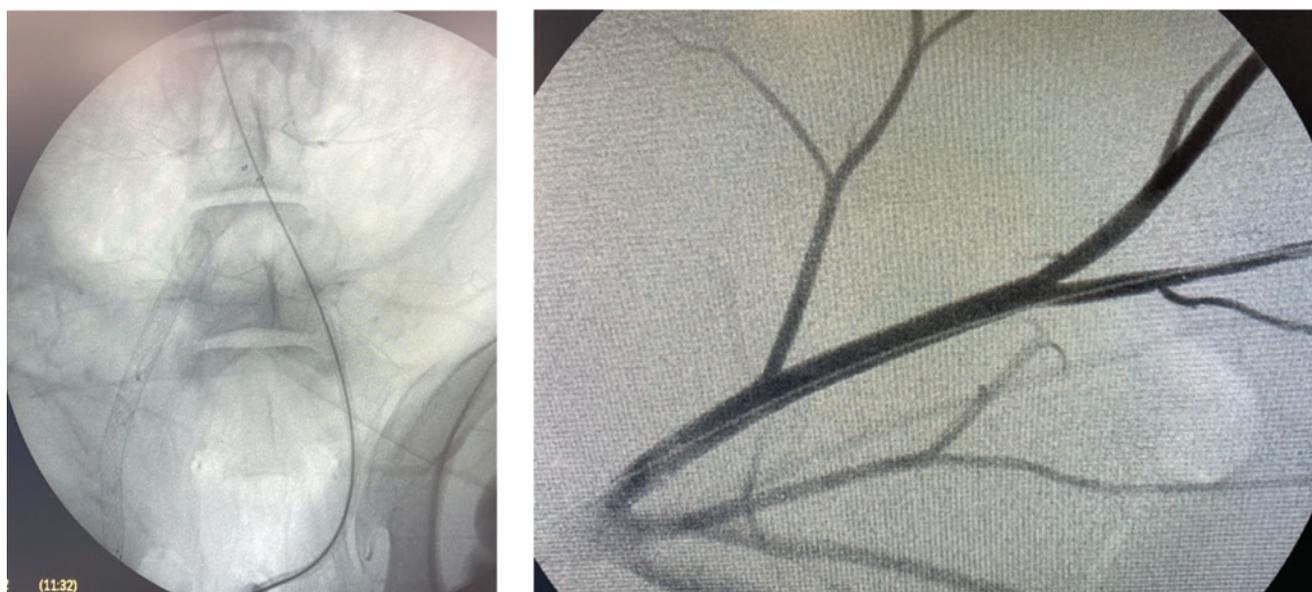


Рис. 6. Контрольная ангиография после трехмесячного наблюдения без признаков стенозирования внутри стента

Figure 6. Control angiography after three months of follow-up without signs of in-stent stenosis



Рис. 7. Контрольная ангиография после трехмесячного наблюдения с наличием признаков рестеноза внутри стента (указаны стрелками) (А). УЗИ с измерением спектральных показателей кровотока у животного с рестенозом внутри стента (Б)

Figure 7. Control angiography after three months of follow-up with the signs of in-stent restenosis (arrows) (A). Ultrasound examination with the measurement of spectral parameters in the animal with in-stent restenosis (B)

ем эластических волокон на коллагеновые. Изменения, указывавшие на отрицательное воздействие на сосудистую стенку со стороны имплантируемого устройства, вероятнее всего, были обусловлены излишней радиальной жесткостью стента.

Обсуждение

Саморасширяющиеся стенты из нитинола в настоящее время являются золотым стандартом для эндоваскулярного лечения заболеваний периферических артерий, поскольку их сверхэластичность и гибкая конструкция позволяют им выдерживать большие деформации под воздействием внешних сил [4]. В ходе математического моделирования

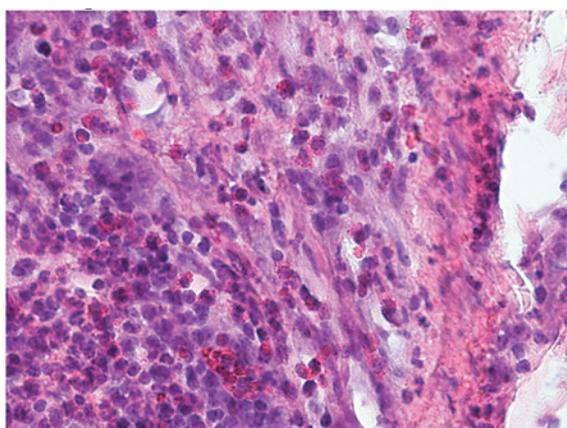
была продемонстрирована зависимость между структурой ячеек нитинолового стента и распределением на его поверхности радиальной жесткости. При закрытом и полузакрытом дизайне ячеек нитиноловый стент приобретает радиальную жесткость и пластичность, достаточную для выполнения своей функции [5, 6].

В ходе анализа нами было обнаружено, что исходно при имплантации диаметр стентов превышал размеры целевой артерии в пределах 25–30 %. Ряд производителей рекомендуют, чтобы диаметр периферического стента превышал диаметр артерии на 1–2 мм, что колеблется в пределах 5–20 %. Однако во многих случаях выбор подходящего диаметра

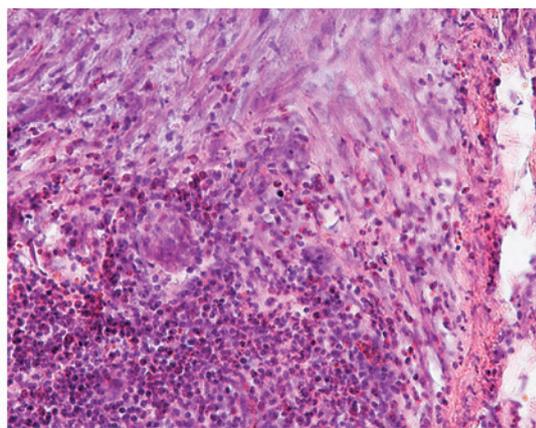


Рис. 8. Макропрепараты участка общей подвздошной артерии со стентом

Figure 8. Macropreparations of a section of the common iliac artery with a stent



А



Б

Рис. 9. Участок артериальной стенки в области имплантированного стента: обильная инфильтрация стенки ОПА эозинофилами (А); инфильтрация стенки ОПА мононуклеарными клетками, гигантскими многоядерными клетками и эозинофилами (Б)

Figure 9. The section of the arterial wall in the area of the implanted stent: abundant infiltration of the common iliac artery wall with eosinophils (A); infiltration of the common iliac artery wall with mononuclear cells, giant multinucleated cells and eosinophils (B)

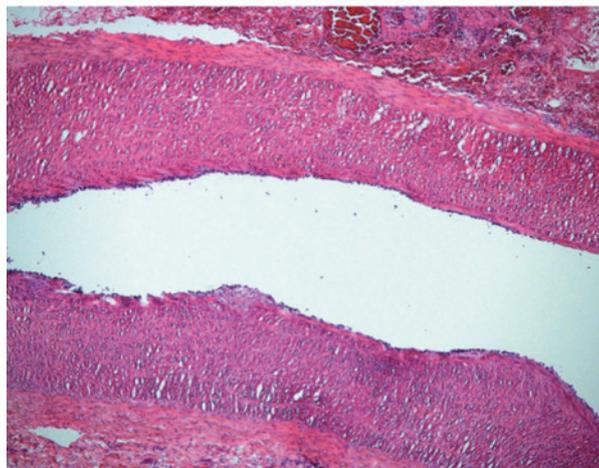


Рис. 10. Стенка общей подвздошной артерии в области рестеноза: обильное отложение фибрина в адвентициальной оболочке и наличие кровоизлияний

Figure 10. The wall of the common iliac artery in the area of restenosis: abundant fibrin deposition in the adventitial membrane and the presence of hemorrhages

стента остается за оперирующим хирургом, учитывая отсутствие регламентирующих документов.

Оверсайзинг представляет собой показатель, определяющий превышение диаметра стента по сравнению с диаметром истинной артерии. При эндоваскулярных вмешательствах на периферических артериях обычно используются саморасширяющиеся стенты большего диаметра по отношению к целевой артерии, что обусловлено необходимостью добиться оптимальной аппозиции стента, а также предотвратить его миграцию. Тем не менее, данные проведенных исследований [7] свидетельствуют о значимой положительной корреляции между величиной оверсайзинга стента и риском развития рестеноза в стенке, обусловленного миоинтимальной гиперплазией. Zhao и соавторы [8] имплантировали пары перекрывающихся саморасширяющихся нитиноловых стентов в артерии подвздошно-бедренного сегмента 14 свиньям. Соотношения стент-артерия варьировали от 1,2:1 до 1,9:1. Непосредственно после имплантации на контрольной ангиографии было отмечено увеличение диаметра стентов до 4,7–7,1 мм, что соответствовало диаметру целевой артерии реципиента. Через 6 месяцев было отмечено увеличение диаметра стентов до их номинального размера (8 мм). Гистологическое исследование продемонстрировало признаки повреждения внутренней стенки сосуда со стенозированием его просвета. Таким образом, был сделан вывод о том, что чрезмерный оверсайзинг (соотношение стент-артерия > 1,4:1) вызывает избыточную

пролиферацию неоинтимы и, следовательно, последующее развитие рестеноза. Saguner и коллеги [9] и Yamaguchi и соавторы [10] в своих исследованиях на свиньях также продемонстрировали значимую положительную корреляцию между величиной оверсайзинга стента и частотой выявления рестеноза в целевом сегменте на контрольной ангиографии и при гистоморфометрии. В первом случае стенты имплантировались в артерии подвздошно-бедренного сегмента, во втором — в яремную и подвздошную вены. Отрицательное влияние чрезмерного оверсайзинга саморасширяющегося нитинолового стента на проходимость целевого сегмента также было показано у пациентов со стентированием поверхностной бедренной артерии [11, 12].

Данная работа показала, в целом, благоприятный характер ответной реакции организма животного на имплантацию предлагаемого нами саморасширяющегося нитинолового стента. Однако необходимо учитывать, что выраженность проявлений со стороны сосудистой стенки напрямую зависит от механического влияния стента на подлежащие ткани и в большей степени определяется дизайном изделия.

Заключение

Таким образом, предлагаемый нами саморасширяющийся нитиноловый стент показал удовлетворительные результаты на первых трех животных. Тем не менее, необходимо учитывать, что чрезмерный оверсайзинг стента способен вы-

зывать избыточную пролиферацию неоинтимы, что, в свою очередь, будет приводить к развитию рестеноза в отдаленном послеоперационном периоде. В связи с этим, необходимо проведение дополнительной серии имплантации саморасширяющегося нитинолового стента опытным животным с меньшим оверсайзингом для определения его оптимальных значений для данной конкретной модели стента.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Writing Committee Members; Gornik HL, Aronow HD, Goodney PP, et al. 2024 ACC/AHA/AACVPR/APMA/ABC/SCAI/SVM/SVN/SVS/SIR/VESS Guideline for the Management of Lower Extremity Peripheral Artery Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Joint Committee on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2024; 83:24:2497–2604. DOI: 10.1016/j.jacc.2024.02.013.
2. Gavrilenko AV, Egorov AA, Kotov AE, et al. Surgical treatment of patients with atherosclerotic occlusion of the aortoiliac segment combined with distal-bed lesions. *Angiol Sosud Khir.* 2012; 18:3:101–5. In Russian [Гавриленко А.В., Егоров А.А., Котов А.Е. и др. Хирургическое лечение больных с атеросклеротической окклюзией аорто-подвздошного сегмента в сочетании с поражением дистального русла. *Ангиология и сосудистая хирургия.* 2012; 18:3:101–5].
3. Tang QH, Chen J, Hu CF, et al. Comparison Between Endovascular and Open Surgery for the Treatment of Peripheral Artery Diseases: A Meta-Analysis. *Ann Vasc Surg.* 2020; 62:484–495. DOI: 10.1016/j.avsg.2019.06.039.
4. Duda SH, Bosiers M, Lammer J, et al. Drug-eluting and bare nitinol stents for the treatment of atherosclerotic lesions in the superficial femoral artery: long-term results from the SIROCCO trial. *J Endovasc Ther.* 2006; 13:6:701–10. DOI: 10.1583/05-1704.1.
5. Maleckis K, Deegan P, Poulson W, et al. Comparison of femoropopliteal artery stents under axial and radial compression, axial tension, bending, and torsion deformations. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2017; 75:160–168. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2017.07.017.
6. Maleckis K, Anttila E, Aylward P, et al. Nitinol Stents in the Femoropopliteal Artery: A Mechanical Perspective on Material, Design, and Performance. *Ann Biomed Eng.* 2018; 46:5:684–704. DOI: 10.1007/s10439-018-1990-1.
7. Jeshari S, Die Loucou J, Leboffe M, et al. Preoperative Sizing to Lower In-Stent Restenosis in

Peripheral Arterial Occlusive Disease. *Ann Vasc Surg.* 2024; 106:37–50. DOI: 10.1016/j.avsg.2024.02.017.

8. Zhao HQ, Nikanorov A, Virmani R, et al. Late stent expansion and neointimal proliferation of oversized Nitinol stents in peripheral arteries. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2009; 32:4:720–6. DOI: 10.1007/s00270-009-9601-z.

9. Saguner AM, Traupe T, Räber L, et al. Oversizing and restenosis with self-expanding stents in iliofemoral arteries. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2012; 35:4:906–13. DOI: 10.1007/s00270-011-0275-y.

10. Yamaguchi M, Sugimoto K, Zamora CA, et al. Placement of self-expanding stents with different diameters in the porcine venous system: an experimental study. *J Vasc Interv Radiol.* 2006; 17:1:113–9. DOI: 10.1097/01.RVI.0000186951.22050.3D.

11. Bernini M, Colombo M, Dunlop C, et al. Oversizing of self-expanding Nitinol vascular stents - A biomechanical investigation in the superficial femoral artery. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2022; 132:105259. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2022.105259.

12. Li H, Rha SW, Choi BG, et al. Impact of chronic outward force on arterial responses of proximal and distal of long superficial femoral artery stent. *BMC Cardiovasc Disord.* 2021;21(1):323. DOI: 10.1186/s12872-021-02141-z.

Информация об авторах:

Верховская Екатерина Вадимовна, ординатор 1 года по специальности «Сердечно-сосудистая хирургия», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Ванюркин Алмаз Гафурович, младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела сосудистой и интервенционной хирургии, врач — сердечно-сосудистый хирург отделения сердечно-сосудистой хирургии № 2, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Пантелеева Юлия Константиновна, младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела сосудистой и интервенционной хирургии, врач — сердечно-сосудистый хирург отделения сердечно-сосудистой хирургии № 2, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Поплавский Евгений Олегович, ординатор 3 года по специальности «Сердечно-сосудистая хирургия», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Цветкова Елена Васильевна, научный сотрудник научно-исследовательского отдела сосудистой и интервенционной хирургии, врач-эндокринолог отделения сердечно-сосудистой хирургии № 2, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Самуйловская Софья Александровна, лаборант-исследователь научно-исследовательского отдела сосудистой и интервенционной хирургии, врач-кардиолог отделения сердечно-сосудистой хирургии № 2, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Когай Сергей Валериевич, врач-кардиолог отделения сердечно-сосудистой хирургии № 2, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Евдокимов Александр Сергеевич, генеральный директор ЗАО «Научно-производственное предприятие «МедИнж»;

Евдокимов Сергей Васильевич, управляющий ЗАО «Научно-производственное предприятие «МедИнж»;

Чернявский Михаил Александрович, д.м.н., заведующий научно-исследовательским отделом сосудистой и интервенционной хирургии, главный научный сотрудник, врач — сердечно-сосудистый хирург отделения сердечно-сосудистой хирургии № 2, доцент кафедры факультетской хирургии с клиникой, ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Authors information:

Ekaterina V. Verkhovskaya, resident, Department of Cardiovascular Surgery, Almazov National Medical Research Centre;

Almaz G. Vanyurkin, junior researcher, Research Institute of Vascular and Interventional Surgery, cardiovascular surgeon, Department of Cardiovascular Surgery No. 2, Almazov National Medical Research Centre;

Yulia K. Panteleeva, junior researcher, Research Institute of Vascular and Interventional Surgery, cardiovascular surgeon, Department of Cardiovascular Surgery No. 2, Almazov National Medical Research Centre;

Evgeny O. Poplavsky, resident, Department of Cardiovascular Surgery, Almazov National Medical Research Centre;

Elena V. Tsvetkova, researcher, Research Institute of Vascular and Interventional Surgery, endocrinologist of the Almazov National Medical Research Centre;

Sofia A. Samuylovskaya, laboratory research assistant, Research Institute of Vascular and Interventional Surgery, cardiologist, Almazov National Medical Research Centre;

Sergey V. Kogay, cardiologist, Department of Cardiovascular Surgery No. 2, Almazov National Medical Research Centre;

Alexander S. Evdokimov, General Director of MedInj Scientific and Production Enterprise, Closed Joint Stock Company Scientific and Production Enterprise “MedInj”;

Sergey V. Evdokimov, Managing Director of MedInj Scientific and Production Enterprise, Closed Joint Stock Company Scientific and Production Enterprise “MedInj”;

Mikhail A. Chernyavsky, D.M.Sc., Head of the Research Institute of Vascular and Interventional Surgery, Almazov National Medical Research Centre.

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ФОСФОДИЭСТЕРАЗЫ-5 НА ФОРМИРОВАНИЕ ЛЕГКИХ ПРИ ЛОЖНОЙ ДИАФРАГМАЛЬНОЙ ГРЫЖЕ ПЛОДОВ КРЫС

Косовцова Н. В.^{1,2,3}, Бируля Н. И.^{1,2}, Овсянников Ф. А.³,
Хацко С. Л.¹, Зеленина Е. В.¹, Федоренко А. В.¹

¹ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина», Екатеринбург, Россия

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Екатеринбург, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Овсянников Филипп Андреевич,
ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова»
Минздрава России,
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
E-mail: sivers1@yandex.ru

Статья поступила в редакцию 25.04.2024
и принята к печати 29.08.2024.

Резюме

Актуальность. Гипоплазия легких и персистирующая легочная гипертензия при ложной диафрагмальной грыже являются причиной неблагоприятных перинатальных исходов. Неудовлетворенность исходами внутриутробной хирургической коррекции врожденной диафрагмальной грыжи (ВДГ) определяет поиск альтернативных нехирургических пренатальных методов лечения легочной гипоплазии при ВДГ. **Цель.** Изучить влияние обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа (тадалафила) на развитие легких плодов крыс в модели врожденной диафрагмальной грыжи. **Материалы и методы.** Проведено экспериментальное исследование возможности коррекции гипоплазии легких у плодов крыс при моделировании ложной диафрагмальной грыжи нитрофеном (100 мг перорально, однократно на 9-й день беременности). **Результаты.** Врожденная диафрагмальная грыжа была зафиксирована у 12,5 % потомства. Подкожное введение обратного селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа (ОСИ ФДЭ-5) беременным крысам (0,83 мг/кг тадалафила с расчетом на массу тела и коэффициент пересчета на вид лабораторного животного, в течение 10 дней, с 9-го дня беременности) увеличило количество альвеол в легких плодов (на 22 % при $p \leq 0,05$), увеличило площадь сосудов микроциркуляторного русла и объем паренхимы легких (на 1,25 % и на 1,13 % больше соответственно, при $p \leq 0,05$). **Заключение.** Полученные результаты проведенного впервые в Российской Федерации эксперимента по изучению влияния тадалафила на легкие при врожденной диафрагмальной грыже плода сопоставимы с данными авторов, использовавших силденафил, однако применение тадалафила представляется более оптимальным ввиду удобства его введения при потенциальном применении на практике.

Ключевые слова: беременность, гипоплазия легких, крысы, ложная диафрагмальная грыжа, нитрофен, тадалафил.

Для цитирования: Косовцова Н.В., Бируля Н.И., Овсянников Ф.А. и др. Влияние селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы-5 на формирование легких при ложной диафрагмальной грыже плодов крыс. *Трансляционная медицина*. 2024; 11(5): 456-464. DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-456-464. EDN: FOVBQY

EFFECT OF TADALAFIL ON PULMONARY HYPOPLASIA IN CONGENITAL DIAPHRAGMATIC HERNIA OF RAT FETUSES

Natalia V. Kosovtsova^{1,2,3}, Natalia I. Birulya^{1,2},
Filipp A. Ovsyannikov³, Sergey L. Khatsko¹, Ekaterina V. Zelenina¹,
Anastasia V. Fedorenko¹

Corresponding author:

Filipp A. Ovsyannikov,
Almazov National Medical Research Centre,
Akkuratova str., 2, Saint Petersburg, Russia,
197341.
E-mail: siversl@yandex.ru

¹ Ural Federal University named after the first President of Russia
B. N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russia

² Research Institute for Maternal and Child Health, Yekaterinburg,
Russia

³ Almazov National Medical Research Centre, Saint Petersburg, Russia

Received 25 April 2024, accepted 29 August
2024.

Abstract

Background. Pulmonary hypoplasia and persistent pulmonary hypertension in congenital diaphragmatic hernia are the cause of adverse perinatal outcomes. Dissatisfaction with the outcomes of intrauterine surgical correction of CDH determines the search for alternative non-surgical prenatal methods of treating pulmonary hypoplasia in CDH. **Objective.** To study the effect of a reversible selective inhibitor of specific phosphodiesterase type 5 (tadalafil) on the development of fetal lungs in rats in a model of congenital diaphragmatic hernia. **Design and methods.** An experimental study was conducted on the possibility of correcting fetal lung hypoplasia in rats when modeling a diaphragmatic hernia with nitrophen (100 mg orally, once on the 9th day of pregnancy). **Results.** Congenital diaphragmatic hernia was recorded in 12.5 % of offspring. Subcutaneous administration of tadalafil to pregnant rats (0,83 mg/kg, for 10 days, from the 9th day of pregnancy) in the lungs of fetuses increases the number of alveoli (by 22 % at $p \leq 0.05$), the area of microvasculature vessels and the volume of lung parenchyma increases (by 1.25 % and 1.13 % more (at $p \leq 0.05$)). **Conclusion.** The results obtained from the first experiment conducted in the Russian Federation to study the effect of tadalafil on the lungs in congenital diaphragmatic hernia of the fetus are comparable with the data of the authors who used sildenafil, however, the use of tadalafil seems more optimal due to the ease of its administration for potential practical use.

Key words: congenital diaphragmatic hernia, nitrophen, pregnancy, pulmonary hypoplasia, rats, tadalafil.

For citation: Kosovtsova NV, Birulya NI, Ovsyannikov FA, et al. Effect of tadalafil on pulmonary hypoplasia in congenital diaphragmatic hernia of rat fetuses. *Translational Medicine*. 2024; 11(5): 456-464. (In Rus.) DOI: 10.18705/2311-4495-2024-11-5-456-464. EDN: FOVBQY

Список сокращений: ВДГ — врожденная диафрагмальная грыжа, ОСИ ФДЭ-5 — таблетки, покрытые пленочной оболочкой, действующее вещество — тадалафил, ФДЕ-5 — фосфодиэстераза-5, eNOS — эндотелиальная синтаза оксида азота (endothelial nitric oxide synthase), FETO — фетоскопическая эндолюминальная баллонная окклюзия трахеи (fetoscopic endoluminal tracheal occlusion), VEGF — фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor).

Введение

Врожденная диафрагмальная грыжа (ВДГ) является дефектом, встречающимся с частотой от 0,5 до 5,0 на 10 000 новорожденных и характеризующимся неполным формированием диафрагмы на ранних сроках беременности, что вызывает перемещение органов брюшной полости в грудную клетку и создает конкуренцию за пространство в грудной полости, что приводит к гипоплазии легких с выраженной легочной гипертензией с последующими неблагоприятными исходами [1]. На сегодняшний день проблема внутриутробной коррекции гипоплазии легких при ВДГ остается нерешенной, предпочтительным методом является фетоскопическая эндолюминальная баллонная окклюзия трахеи (FETO) с использованием чрескожного доступа, но выживаемость плодов с применением данного метода увеличивается лишь на 13–15 % [2]. Многоцентровое рандомизированное исследование фетальной хирургии диафрагмальной грыжи показало, что FETO может иметь серьезные последствия как при выполнении операции, так и в послеоперационном периоде: трудности окклюзии, приводящие к смерти плода или повреждению трахеи, значительное возрастание риска родового разрыва плодных оболочек и преждевременных родов [2]. Неудовлетворенность исходами внутриутробной хирургической коррекции определяет поиск альтернативных нехирургических пренатальных методов лечения легочной гипоплазии при ВДГ.

Исследования внутриутробной медикаментозной коррекции гипоплазии легких при помощи селективных ингибиторов фосфодиэстеразы-5 представляют интерес, поскольку в клинической практике их применение у пациентов с легочной гипертензией, в том числе у беременных [3], оказывает антиремоделирующий и вазодилатирующий эффекты. У крыс с нитрофен-индуцированной ВДГ пренатальное лечение силденафилом, назначенное беременной самке, привело к значительному росту легких и улучшению морфологии дыхательных путей и сосудов легких, увеличило экспрессию фак-

тора роста эндотелия сосудов (VEGF) и эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), что позволило обеспечить надлежащий органогенез легких [4]. При этом пренатальное ингибирование ФДЭ-5 не влияет на развитие других органов, экспрессирующих ФДЭ-5 [5–7]. Последующие исследования на нитрофен-индуцированной модели ВДГ у крыс, а также на хирургических моделях кроликов и овец показали, что пренатальное лечение силденафилом эффективно ингибирует фосфодиэстеразу-5 плода, улучшает рост и развитие легочных сосудов, уменьшает ремоделирование гладкой мускулатуры сосудов и улучшает ее реактивность. Данные исследования показывают, что пренатальное лечение ингибиторами ФДЭ-5 может улучшать многие из ключевых морфологических и физиологических механизмов легочной гипертензии, связанных с ВДГ [4]. Также в экспериментах на животных используется другой фармакологический препарат из группы ингибиторов ФДЭ-5 — тадалафил. Тадалафил является более селективным ингибитором ФДЭ-5 с более длительным периодом полувыведения, что позволяет длительно поддерживать стабильную концентрацию вещества и сократить количество введений [5]. По данным литературы, проводились клинические исследования безопасности обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа при лечении преэклампсии и синдрома задержки роста плода [6, 7], в которых была показана его эффективность и отсутствие побочных эффектов в сравнении со стандартной терапией. Мы предположили, что тадалафил будет эффективно профилактировать гипоплазию легких при ложной диафрагмальной грыже.

При дальнейшем изучении антенатальное ингибирование ФДЭ-5 может стать неинвазивным внутриутробным методом лечения ВДГ.

Цель исследования — изучить влияние обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа (тадалафила) на развитие легких плодов крыс в модели врожденной диафрагмальной грыжи.

Методика

Все процедуры и протоколы были одобрены комиссией по биоэтике Института естественных наук и математики ФГАОУ ВО «УрФУ им. первого Президента России Б. Н. Ельцина». В исследовании использовали 20 нерожавших самок крыс линии Wistar (4–6 мес., 150–200 г), животные разведения анатомо-физиологической экспериментальной лаборатории УрФУ. Предварительно все животные были промаркированы нанесением

ушной метки. Крыс размещали в группах по две-три самки в клетке с самцом, корм и вода были в свободном доступе. Самки содержались в стандартных лабораторных условиях при постоянной температуре (21° С) и 12-часовом цикле дня и ночи. Через 8 дней после спаривания самки получили эфирный наркоз в эксикаторе, их шерсть на участке передней брюшной стенки размерами 3,0 x 3,0 см была депилирована восковыми полосками («Просто шугаринг», Россия). На 9-й день крысам при дополнительной фиксации на депилированную кожу брюха наносили гель и проводили ультразвуковое исследование брюшной полости (ультразвуковой аппарат Mindray DC-40) линейным датчиком (частота 3–15 МГц) для определения наличия беременности и ее срока. В случае неподтвержденной беременности УЗИ проводили ежедневно, до того момента, пока размеры плодов не будут соответствовать 9-му дню беременности.

Крысы со сроком беременности 9 дней были разделены на четыре группы: *первая группа* (контрольная группа) не подвергалась введению нитрофена и ОСИ ФДЭ-5; *вторая группа* получала только нитрофен (100 мг) на 9-й день — согласно крысиной модели ВДГ [8]; *третья группа* получала только ОСИ ФДЭ-5 (0,83 мг/кг тадалафила с расчетом на массу тела и коэффициент пересчета на вид лабораторного животного [9]) ежедневно, начиная с 9-го дня беременности в течение 10 дней; *четвертая группа* получала нитрофен (100 мг) на 9-й день и ОСИ ФДЭ-5 (0,83 мг/кг тадалафила с расчетом на массу тела и коэффициент пересчета на вид лабораторного животного) ежедневно, в течение 10 дней, начиная с 9-го дня беременности (рис. 1, 2).

В эксперименте использовали нитрофен (2,4-дихлорфенил-4-нитрофениловый эфир, «ЭКУМ», Россия), концентрация которого равна $41 \pm 3 \%$ (100мг нитрофена = 0,25 мл раствора).

0,25 мл раствора нитрофена смешивали с 1 мл оливкового масла и вводили крысам второй и четвертой группы однократно перорально на 9-й день беременности инсулиновым шприцем без иглы. После этой процедуры не было никаких признаков рефлюкса или регургитации, и все животные перенесли ее без осложнений [10].

ОСИ ФДЭ-5 (таблетки, покрытые пленочной оболочкой, действующее вещество: тадалафил, 5 мг, 10 шт., «Северная звезда НАО», Россия) измельчали в керамической ступке, 1 таблетку смешивали с 10 мл раствора натрия хлорида (раствор для инъекций 0,9 %), после чего выполняли подкожную инъекцию суспензии крысам третьей и четвертой групп (0,83 мг/кг тадалафила с расчетом на массу тела и коэффициент пересчета на вид лабораторного животного) в асептических условиях. Далее проводили ультразвуковое исследование ежедневно для оценки развития плодов и целостности их диафрагмы, при обнаружении КТР 18 мм (что соответствует 20-му дню беременности) осуществляли эвтаназию путем передозировки ингаляционного наркоза (диэтиловый эфир и хлороформ) в эксикаторе.

После прекращения сердечной деятельности крысе-самке производили кесарево сечение и извлекали плоды. Проводили торакотомию и лапаротомию последних для осмотра диафрагмы, выявления диафрагмальной грыжи.

От животных контрольной (первой) группы было получено 40 плодов, второй группы (получавшей нитрофен) — 35 плодов, третьей группы (получавшей ОСИ ФДЭ-5) — 35 плодов, четвертой группы (получавшей ОСИ ФДЭ-5 и нитрофен) — 32 плода (рис. 1).

Извлеченные плоды были зафиксированы в 10 % нейтральном забуференном растворе формалина, после 24-часовой фиксации проводили макроскопическое исследование плодов крыс (рис.



Рис. 1. Дизайн эксперимента

Figure 1. Experimental design

3). Затем проводили гистологическую проводку материалов по стандартному протоколу, заливку образцов парафином (при температуре не более 60 °С) на заливочной станции (HistoStar, Thermo FS) в парафиновые блоки. На полуавтоматическом санном микротоме (Thermo) получены гистологические срезы толщиной 4 ± 1 мкм, которые впоследствии были монтированы на предметные стекла («Минимед», СП-7105), осушены и окрашены гистологическими красителями гематок-

силином и эозином (Biovitrum). Светооптическое исследование выполнено на микроскопе Olympus (Olympus CX22) с камерой (Микромед TourCam). Исследование сосудов микроциркуляторного русла осуществлено методом компьютерной морфометрии с фотографированием при использовании программного пакета ImageJ со свободной лицензией. Была изучена площадь сосудов микроциркуляторного русла при увеличении $\times 400$ на одно поле зрения (в процентах), в пяти полях зрения каждого

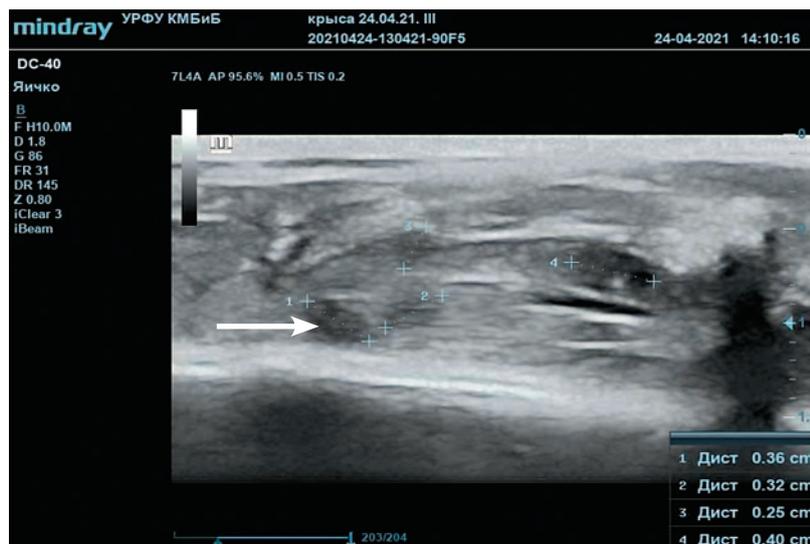


Рис. 2. УЗ-изображение, правый рог матки, плоды 1, 2, 3, 4

Figure 2. Ultrasound image, right horn of the uterus, fetuses 1, 2, 3, 4



а



б

Рис. 3. Вскрытые плоды: а — с визуализируемой диафрагмой, б — с обширным дефектом диафрагмы

Figure 3. Opened fetuses: a — with a visualized diaphragm, b — with an extensive diaphragm defect

гистологического препарата. Р-уровень значимости был рассчитан с помощью онлайн-калькулятора через t-критерий Стьюдента при сравнении средних величин.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования было получено 142 плода крыс. При микроскопическом изучении легкие плодов крыс всех исследованных групп находились на сакулярной стадии развития, что соответствовало 20–21-му дню внутриутробного развития.

У 35 плодов из третьей группы (получавших только тадалафил) и 40 плодов из первой (контрольной) группы диафрагмальная грыжа и гипоплазия легких не обнаружены. Среди 35 крысят, получавших нитрофен, диафрагмальная грыжа была выявлена у 7 (20 %). Среди 32 крысят, родившихся от самок, подвергавшихся воздействию нитрофена и тадалафила во время беременности, у 4 была выявлена диафрагмальная грыжа (12,5 %), при этом макроскопические медианные размеры легких у плодов первой группы составили 1,2 x 0,5 x 0,45 см, у плодов второй группы, получавших нитрофен, — 1,0 x 0,5 x 0,5 см, у плодов третьей группы, получавших тадалафил, — 1,2 x 0,6 x 0,5 см, у плодов четвертой группы, получавших тадалафил и нитрофен, — 1,3 x 0,6 x 0,5 см (табл. 1). Были выявлены достоверные различия между объемами легких у плодов крыс первой и третьей, второй и четвертой групп, получавших тадалафил, и контрольной группой; также между четвертой группой, получавшей тадалафил и нитрофен, и второй группой, получавшей нитрофен (табл. 1).

Линейные размеры легких плодов крыс из третьей и четвертой групп оказались больше в сравнении с образцами из контрольной и второй групп. Кроме того, при приеме тадалафила на фоне врожденной диафрагмальной грыжи (четвертая

группа) наблюдается увеличение макроскопических размеров легкого относительно плодов, получавших только нитрофен. Однако статистически значимой разницы между линейными размерами легких плодов крыс не обнаружено. Выявлены достоверные различия по объему легких между группой плодов, получавших тадалафил, и контрольной группой; также между четвертой группой, получавшей тадалафил и нитрофен, и второй группой, получавшей нитрофен.

Клеточный состав эпителиальной выстилки в легких плодов всех четырех групп представлен однослойным кубическим эпителием с монморфными округлыми ядрами, цитоплазма светлая, количество митозов эпителиального компонента: в контрольной и во второй группах — от 1 до 2 в одном поле зрения при увеличении x400, в третьей и четвертой группах — от 5 до 8 в одном поле зрения при увеличении x400. Строма легких плодов всех четырех групп представлена веретенновидными клетками с палочковидными вытянутыми ядрами и светлой цитоплазмой, при этом количество митозов в контрольной и второй группах — от 0 до 1 в поле зрения при увеличении x400, в третьей и четвертой группах — от 2 до 5 в одном поле зрения при увеличении x400.

При исследовании сосудов микроциркуляторного русла в легких плодов крыс из контрольной группы сосуды микроциркуляторного русла составляли в среднем 2,27 % от общей площади поля зрения, из второй группы (плоды с ВДГ) — 1,56 %.

При исследовании легких плодов крыс из третьей группы, получавших тадалафил, отмечается значительное увеличение площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла, — среднее значение 3,52 % — по сравнению с контрольной группой: на 1,25 %, а при приеме животными тадалафила на фоне нитрофен-индуцированной

Таблица 1. Макроскопические параметры легких плодов крыс

Table 1. Macroscopic parameters of rat fetal lungs

	Контрольная группа	Вторая группа (нитрофен)	Третья группа (тадалафил)	Четвертая группа (нитрофен, тадалафил)
Медианные размеры	1,2 x 0,5 x 0,45	1,0 x 0,5 x 0,5	1,2 x 0,6 x 0,5	1,3 x 0,6 x 0,5
Объем, см ³	0,2728 ± 0,0643	0,2319 ± 0,0314	0,3331 ± 0,1169 ^a	0,3637 ± 0,1339 ^b

Примечание: а — $p < 0,05$ по сравнению с контролем; b — $p < 0,05$ по сравнению со второй группой (получавшей нитрофен).

Note: a — $p < 0,05$ compared to the control; b — $p < 0,05$ compared with the second group (receiving nitrofen).

Таблица 2. Микроскопические показатели легких плодов крыс

Table 2. Microscopic indices of rat fetal lungs

	Плоды контрольной группы	Плоды второй группы (нитрофен)	Плоды третьей группы (тадалафил)	Плоды четвертой группы (тадалафил и нитрофен)
Процент площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла, в легких плодов крыс на одно поле зрения, при увеличении $\times 400$, %	$2,269 \pm 0,4811$	$1,562 \pm 0,5237$	$3,7019 \pm 1,0809^a$	$2,564 \pm 0,6214^b$
Количество альвеол в одном поле зрения при увеличении $\times 400$, n	$19,4 \pm 2,7568$	$12,9 \pm 1,8681$	$14,7 \pm 2,1933^a$	$21,883 \pm 1,3425^b$

Примечание: а — $p < 0,05$ по сравнению с контролем, b — $p < 0,05$ по сравнению со второй группой (получавшей нитрофен).

Note: a — $p < 0,05$ compared to the control, b — $p < 0,05$ compared with the second group (receiving nitrofen).

врожденной диафрагмальной грыжи (третья группа) у плодов наблюдается увеличение процента площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла, на 1,0 % в сравнении со второй группой (нитрофен) и составляет 2,56 %. При этом, при исследовании легких плодов крыс с диафрагмальной грыжей (вторая группа), процент площади, занимаемой сосудами микроциркуляторного русла, достоверно меньше показателей контрольной группы в 1,4 раза и составляет 1,56 % (табл. 2).

Количество альвеол в контрольной группе составляет 19,4 на одно поле зрения; у плодов с ВДГ данный показатель в среднем меньше на 6,5 (табл. 2). При этом количество альвеол в поле зрения у плодов четвертой группы на 2,5 больше — в сравнении с контрольной группой, и на 8,99 больше, чем у плодов с ВДГ (табл. 2).

При исследовании внутренних органов плодов крыс — они соответствовали сроку гестации, не было обнаружено существенных гистологических изменений.

Таким образом, нами доказано положительное влияние обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа — тадалафила на легкие плодов крыс с ложной диафрагмальной грыжей.

За рубежом проводились многочисленные исследования по влиянию силденафила на плоды с ВДГ различных видов животных [13, 14].

У крыс с нитрофен-индуцированной ВДГ пренатальное применение силденафила, назначенное

беременной самке, привело к значительному росту легких и улучшению морфологии дыхательных путей и сосудов легких, увеличило экспрессию VEGF и эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), а также усилило постнатальный ответ на донор оксида азота, что позволило обеспечить надлежащий органогенез легких [11, 12].

Важно отметить, что пренатальное ингибирование ФДЭ-5 не влияет на развитие других органов, экспрессирующих ФДЭ-5 [11, 12].

Последующие исследования на нитрофен-индуцированной крысиной модели ВДГ, а также на хирургических моделях кроликов и овец показали, что пренатальное лечение силденафилом эффективно ингибирует фосфодиэстеразу-5 плода, улучшает рост и развитие легочных сосудов, уменьшает ремоделирование гладкой мускулатуры сосудов и улучшает реактивность гладкой мускулатуры. Результаты исследований показывают, что пренатальное лечение ингибиторами ФДЭ-5 может улучшать многие из ключевых морфологических и физиологических механизмов легочной гипертензии, связанных с ВДГ [11, 12].

Это определяет дальнейшее изучение антенатального ингибирования ФДЭ-5 для формирования/создания жизнеспособной стратегии лечения для человека.

Мы использовали в эксперименте другой фармакологический препарат из группы ингибиторов ФДЭ-5 — тадалафил. В сравнении с силденафилом это более сильный селективный ингибитор

ФДЭ-5 с более длительным периодом полувыведения (17,5 часа и 3–5 часов соответственно), что позволяет с течением времени поддерживать стабильную концентрацию вещества. Силденафил в десятки раз чаще, чем тадалафил, ингибирует ФДЭ-1, что потенциально может вызвать гипотензию, которая, в свою очередь, может стать причиной маточно-плацентарной недостаточности, однако экспериментальные подтверждения к настоящему моменту отсутствуют. Другое преимущество тадалафила состоит в возможности использования меньшей суточной дозы для достижения терапевтического эффекта, так как он является более сильным ингибитором фосфодиэстеразы-5: ингибирующая концентрация тадалафила 0,94–6,4 нмоль/л, в то время как силденафила — 3,5–8,5 нмоль/л [13].

Перспективность применения ингибиторов фосфодиэстеразы, а именно препарата тадалафил, состоит в том, что, по имеющимся данным, они безопасны для матери и плода [14].

В нашем исследовании мы применили нитрофеновую модель, которая использовалась в течение последних трех десятилетий для изучения аномалий при ВДГ. Первоначально нитрофен (2,4-дихлорфенил-п-нитрофениловый эфир) использовался в качестве гербицида. В ходе токсикологических исследований на взрослых крысах не было обнаружено никаких явных проблем, хотя введение нитрофена в середине беременности вызвало аномалии развития сердца, легких, диафрагмы и скелета эмбрионов [15]. Основываясь на последних результатах, нитрофен был исследован на предмет его эффективности для моделирования аномалий ВДГ у грызунов: он вызывал диафрагмальные грыжи, которые были подобны ВДГ у человека. Конкретное расположение и степень диафрагмальных дефектов и аномалии, связанные с ВДГ, включая ЛГ и стойкую легочную гипертензию, а также сердечно-сосудистые и скелетные дефекты схожи с человеческими [16]. При введении нитрофена беременным крысам на 9-й день беременности, когда нормальное развитие легких (11-й день беременности) и диафрагмы (13-й день беременности) только начинается, приблизительно у 70 % потомства вызывает развитие ВДГ и у 100 % — ЛГ. Но в нашем исследовании при использовании промышленного нитрофена (2,4-дихлорфенил-4-нитрофениловый эфир, изготовитель «ЭКУМ»), с концентрацией $41 \pm 3 \%$, более доступного для приобретения, мы получили более низкий процент диафрагмальной грыжи и легочной гипертензии у плодов (20 %), что требует увеличения выборки животных при продолжении эксперимента.

Продemonстрированные нашим экспериментом результаты показали, что при использовании нитрофеновой модели диафрагмальной грыжи у плодов крыс подкожное введение тадалафила привело к значительному росту легких: за счет как паренхиматозного компонента — увеличение количества альвеол, так и стромального — увеличение количества сосудов микроциркуляторного русла.

Заключение

Результаты проведенного впервые в Российской Федерации эксперимента по изучению влияния тадалафила на легкие при врожденной диафрагмальной грыже сопоставимы с данными авторов, использовавших силденафил, однако применение тадалафила представляется более оптимальным ввиду удобства его введения при потенциальном применении на практике. Введение обратимого селективного ингибитора специфической фосфодиэстеразы 5 типа — тадалафила вызывает увеличение количества альвеол на 22 %, $p \leq 0,05$, усиливает ангиогенез в легких плодов крыс, улучшает структуру легких, что проявляется в увеличении объема паренхимы на 1,13 %, $p \leq 0,05$, и не оказывает влияния на органогенез, что требует дальнейшего изучения на больших группах экспериментальных животных и в клинической практике.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Chandrasekharan PK, Rawat M, Madappa R, et al. Congenital Diaphragmatic hernia — a review. *Maternal health, neonatology and perinatology*. 2017; 11:3:6. DOI:10.1186/s40748-017-0045-1.
2. Deprest JA, Benachi A, Gratacos E, et al. Randomized Trial of Fetal Surgery for Moderate Left Diaphragmatic Hernia. *PLJ N Engl J Med*. 2021; 385:2: 119–129. DOI: 10.1056/NEJMoa2026983.
3. De Bie FR, Basurto D, Kumar S, et al. Sildenafil during the 2nd and 3rd Trimester of Pregnancy: Trials and Tribulations. *International journal of environmental research and public health*. 2022; 19:18: 11207. DOI:10.3390/ijerph191811207.
4. Okolo F, Zhang G, Rhodes J, et al. Intra-Amniotic Sildenafil Treatment Promotes Lung Growth and Attenuates Vascular Remodeling in an Experimental Model of Congenital Diaphragmatic Hernia. *Fetal diagnosis and therapy*. 2020; 47:11: 787–799. DOI:10.1159/000508986.
5. Montalva L, Antounians L, Zani A. Pulmonary hypertension secondary to congenital diaphragmatic

hernia: factors and pathways involved in pulmonary vascular remodeling. *Pediatr Res.* 2019; 85: 754–768. DOI: 10.1038/s41390-019-0345-4.

6. Magawa S, Nii M, Tanaka H, et al. Phase-1 clinical study of tadalafil administered for selective fetal growth restriction in twin pregnancy. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine.* 2021; 34:7: 1075–1082. DOI:10.1080/14767058.2019.1624717.

7. Furuhashi F, Tanaka H, Maki S, et al. Tadalafil treatment for preeclampsia (medication in preeclampsia; MIE): a multicenter phase II clinical trial. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine.* 2021; 34:22: 3709–3715. DOI:10.1080/14767058.2019.1690447.

8. enbrinck R, Tibboel D, Gaillard JL, et al. Experimentally induced congenital diaphragmatic hernia in rats. *Journal of pediatric surgery.* 1999; 25:4: 426–429. DOI: 10.1016/0022-3468(90)90386-n.

9. Kubo M, Tanaka H, Maki S, et al. Safety and dose-finding trial of tadalafil administered for fetal growth restriction: A phase-1 clinical study. *The journal of obstetrics and gynaecology research.* 2017; 43:7: 1159–1168. DOI:10.1111/jog.13345.

10. Kluth D, Kangah R, Reich P, et al. Nitrofen-induced diaphragmatic hernias in rats: an animal model. *J Pediatr Surg.* 1990; 25:8: 850–854. DOI: 10.1016/0022-3468(90)90190-k.

11. Lemus-Varela M de L, Soliz A, et al. Antenatal use of bosentan and/or sildenafil attenuates pulmonary features in rats with congenital diaphragmatic hernia. *World journal of pediatrics: WJP.* 2014; 10:4: 354–359. DOI: 10.1007/s12519-014-0512-y.

12. Kardon G, Ackerman KG, McCulley DJ, et al. Congenital diaphragmatic hernias: from genes to mechanisms to therapies. *Disease models & mechanisms.* 2017; 10:8: 955–970. DOI: 10.1242/dmm.028365.

13. Samangaya RA, Mires G, Shennan A, et al. A randomised, double-blinded, placebo-controlled study of the phosphodiesterase type 5 inhibitor sildenafil for the treatment of preeclampsia. *Hypertension in pregnancy.* 2009; 28:4: 369–382. DOI: 10.3109/10641950802601278.

14. Costlow RD, Manson JM. The heart and diaphragm: target organs in the neonatal death induced by nitrofen (2,4-dichlorophenyl-p-nitrophenyl ether). *Toxicology.* 1981; 20:2–3: 209–227. DOI: 10.1016/0300-483x(81)90052-4.

15. Migliazza L, Otten C, Xia H, et al. Cardiovascular malformations in congenital diaphragmatic hernia: Human and experimental studies. *Journal of pediatric surgery.* 1999; 34:9: 1352–1358. DOI: 10.1016/s0022-3468(99)90010-6.

Информация об авторах:

Косовцова Наталья Владимировна, д.м.н., заведующий отделом биофизических и лучевых методов исследований ФГБУ «НИИ охраны материнства

и младенчества» Минздрава России; профессор кафедры медицинской биохимии и биофизики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина» и кафедры акушерства и гинекологии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Бируля Наталья Ильинична, ассистент кафедры медицинской биохимии и биофизики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина»;

Овсянников Филипп Андреевич, к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии с клиникой лечебного факультета ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Хацко Сергей Леонидович, к.м.н., заведующий анатомо-физиологической экспериментальной лабораторией ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина»;

Зеленина Екатерина Владимировна, студент медицинского факультета ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина»;

Федоренко Анастасия Викторовна, студент медицинского факультета факультета ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина».

Authors information:

Natalia V. Kosovtsova, Doctor of Medical Sciences, Head of the Department of Biophysical and Radiation Research Methods of the Research Institute for Maternal and Child Health; Professor of the Department of Medical Biochemistry and Biophysics of the Ural Federal University and the Department of Obstetrics and Gynecology of the Institute of Medical Education of the Almazov National Medical Research Centre;

Natalia I. Birulya, assistant of the Department of Medical Biochemistry and Biophysics of the Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin;

Filipp A. Ovsyannikov, PhD, Associate Professor of the Department of Obstetrics and Gynecology with a Clinic of the Faculty of Almazov National Medical Research Centre;

Sergey L. Khatsko, PhD, Head of the Anatomical and Physiological Experimental Laboratory of the Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin;

Ekaterina V. Zelenina, student of the medical faculty of the Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin;

Anastasia V. Fedorenko, student of the medical faculty of the Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin.