

# ВЕСТНИК РГМУ

ИЮЛЬ-АВГУСТ 2016 (4) ISSN 2070-7320

VESTNIKRGMU.RU

## ВИЗУАЛИЗАЦИЯ В МЕДИЦИНЕ **ОБЗОР**

**МЕТОД** Онкология 21

Мультимодальная ОКТ позволяет оценить эффективность противораковой терапии

**СТАТЬЯ** Ишемия нижних конечностей 69

Результаты комбинированной терапии силденафилом и церебролизинном

# ВЕСТНИК РОССИЙСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

Научный медицинский журнал Российского национального  
исследовательского медицинского университета  
имени Н. И. Пирогова

BULLETIN OF RUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

Scientific Medical Journal of Pirogov Russian National  
Research Medical University

## Главный редактор

Editor-in-chief

**Денис Ребриков, д. б. н.**

Denis Rebrikov, DSc

## Заместитель главного редактора

Deputy editor-in-chief

**Александр Эттингер, д. м. н.**

Alexander Oettinger, DSc

## Руководитель редакции

Editorial manager

**Елена Куликова**

Elena Kulikova

## Редакторы

Editors

**Лилия Егорова**

Liliya Egorova

**Айарпи Ездогьян**

Ayarpi Ezdoglyan

## Корректор

Proof-reader

**Ольга Комар**

Olga Komar

## Переводчики

Translators

**Екатерина Третьякова**

Ekaterina Tretyakova

**Энтони Нвохири, к. т. н.**

Anthony Nwohiri, PhD

## Дизайн и верстка

Design and layout

**Марина Доронина**

Marina Doronina

Журнал входит в Перечень ведущих научных  
журналов и изданий ВАК.

Журнал доступен в Google Scholar.

ИФ РИНЦ 2014: 0,139.

Номер подписан в печать 30.08.2016

Адрес редакции: 117997, г. Москва,  
ул. Островитянова, д. 1.

Для подачи публикаций: editor@vestnikrgmu.ru

По вопросам сотрудничества: manager@vestnikrgmu.ru

## Редакционная коллегия

Editorial board

**Г. П. Арутюнов, д. м. н.**

G. P. Arutyunov, DSc

**Ю. В. Бальякин, д. м. н.**

Yu. V. Balyakin, DSc

**М. Р. Богомильский\*, д. м. н.**

M. R. Bogomilskiy, DSc

**Л. В. Ганковская, д. м. н.**

L. V. Gankovskaya, DSc

**Ю. Э. Доброхотова, д. м. н.**

Yu. E. Dobrokhotova, DSc

**Л. И. Ильенко, д. м. н.**

L. I. Ilyenko, DSc

**О. А. Кисляк, д. м. н.**

O. A. Kislyak, DSc

**В. И. Лапочкин, д. м. н.**

V. I. Lapochkin, DSc

**А. В. Матюшкин, д. м. н.**

A. V. Matyushkin, DSc

**А. Г. Пашинян, д. м. н.**

A. G. Pashinyan, DSc

\* член-корреспондент РАН

corresponding member of RAS

## Редакционный совет

Editorial council

**Е. И. Гусев, академик РАН, д. м. н.**

E. I. Gusev, member of RAS, DSc

**И. И. Затевахин, академик РАН, д. м. н.**

I. I. Zatevakhin, member of RAS, DSc

**Ю. Ф. Исаков, академик РАН, д. м. н.**

Yu. F. Isakov, member of RAS, DSc

**Ю. М. Лопухин, академик РАН, д. м. н.**

Yu. M. Lopukhin, member of RAS, DSc

**С. Б. Петерсон, д. м. н.**

S. B. Peterson, DSc

**Н. В. Полунина\*, д. м. н.**

N. V. Polunina, DSc

**Б. А. Поляев, д. м. н.**

B. A. Polyayev, DSc

**Г. В. Порядин\*, д. м. н.**

G. V. Poryadin, DSc

**Н. Г. Потешкина, д. м. н.**

N. G. Poteshkina, DSc

**С. В. Свиридов, д. м. н.**

S. V. Sviridov, DSc

**А. В. Скорогладов, д. м. н.**

A. V. Skoroglyadov, DSc

**В. А. Стаханов, д. м. н.**

V. A. Stakhanov, DSc

**Е. В. Старых, д. м. н.**

E. V. Starykh, DSc

**И. З. Шишков, д. ф. н.**

I. Z. Shishkov, DSc

**Г. М. Савельева, академик РАН, д. м. н.**

G. M. Savelyeva, member of RAS, DSc

**Ю. К. Скрипкин, академик РАН, д. м. н.**

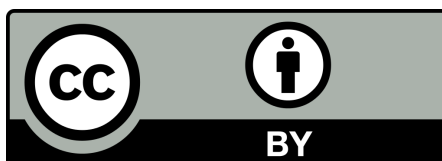
Yu. K. Skripkin, member of RAS, DSc

**В. И. Стародубов, академик РАН, д. м. н.**

V. I. Starodubov, member of RAS, DSc

**А. И. Федин, д. м. н.**

A. I. Fedin, DSc



### СОДЕРЖАНИЕ

#### CONTENTS

|               |  |           |
|---------------|--|-----------|
| <b>ОБЗОР</b>  | <b>Заглянуть в человека: визуализация в медицине</b><br>Л. В. Осипов, М. Б. Долгушин, А. И. Михайлов, Б. Эпель, К. А. Румянцев, К. К. Туроверов, В. В. Верхуша, Е. Ю. Куликова<br><b>Looking inside man: medical imaging</b><br>Osipov LV <sup>1</sup> , Dolgushin MB, Mikhaylov AI, Epel B, Rummyantsev KA, Turoverov KK, Verkhusha VV, Kulikova EYu  | <b>4</b>  |
| <b>СТАТЬЯ</b> | <b>Флуоресцентная визуализация изменений актинового цитоскелета в опухолевых клетках под воздействием химиотерапевтических агентов</b><br>Н. В. Клементьева, О. Е. Фурман, А. С. Мишин, К. А. Лукьянов, Е. В. Загайнова<br><b>Fluorescence imaging of actin cytoskeleton changes in cancer cells upon chemotherapy</b><br>Klementieva NV, Furman OE, Mishin AS, Lukyanov KA, Zagaynova EV  | <b>15</b> |
| <b>МЕТОД</b>  | <b>Применение мультимодальной оптической когерентной томографии в оценке эффективности терапии рака</b><br>М. А. Сироткина, Е. Б. Киселева, Е. В. Губарькова, Н. Л. Буянова, В. В. Елагин, В. Ю. Зайцев, Л. А. Матвеев, А. Л. Матвеев, М. Ю. Кириллин, Г. В. Геликонов, В. М. Геликонов, С. С. Кузнецов, Е. В. Загайнова, Н. Д. Гладкова<br><b>Multimodal optical coherence tomography in the assessment of cancer treatment efficacy</b><br>Sirotkina MA, Kiseleva EB, Gubarkova EV, Buyanova NL, Elagin VV, Zaitsev VYu, Matveev LA, Matveev AL, Kirillin MYu, Gelikonov GV, Gelikonov VM, Kuznetsov SS, Zagaynova EV, Gladkova ND | <b>21</b> |
| <b>МЕТОД</b>  | <b>Возможности динамической МРТ с контрастным усилением в определении гистологического типа рака шейки матки</b><br>Е. В. Тарачкова, М. А. Шориков, В. О. Панов, В. В. Кузнецов, И. Е. Тюрин, Н. Л. Шимановский<br><b>Dynamic contrast-enhanced MRI in determining histological type of cervical cancer</b><br>Tarachkova EV, Shorikov MA, Panov VO, Kuznetsov VV, Tyurin IE, Shimanovsky NL   | <b>29</b> |
| <b>СТАТЬЯ</b> | <b>МРТ-визуализация опухолей с контрастным усилением гадопентетовой кислотой, соединенной с циклодекстрином сложноэфирной связью</b><br>В. Н. Кулаков, А. А. Липенгольц, Е. Ю. Григорьева, А. В. Семейкин, М. А. Абакумов, Э. А. Караханов, А. Б. Максимов, Н. Л. Шимановский<br><b>Contrast enhanced MRI of tumors using gadopentetic acid linked to cyclodextrin by an ester bond</b><br>Kulakov VN, Lipengolts AA, Grigorieva EYu, Semeikin AV, Abakumov MA, Karakhanov EA, Maximov AB, Shimanovsky NL  | <b>36</b> |
| <b>МНЕНИЕ</b> | <b>Возможности ядерной медицины в диагностике деменций</b><br>А. К. Кондаков, И. А. Знаменский, Д. Ю. Мосин, А. В. Гречко<br><b>Nuclear medicine imaging in dementia</b><br>Kondakov AK, Znamensky IA, Mosin DYU, Grechko AV   | <b>43</b> |
| <b>СТАТЬЯ</b> | <b>Посмертная МРТ для диагностики врожденной пневмонии</b><br>У. Н. Туманова, В. М. Ляпин, В. Г. Быченко, А. И. Щеголев, Г. Т. Сухих<br><b>Postmortem magnetic resonance imaging in the diagnosis of congenital pneumonia</b><br>Tumanova UN, Lyapin VM, Bychenko VG, Schegolev AI, Sukhikh GT   | <b>48</b> |
| <b>СТАТЬЯ</b> | <b>Влияние метода анестезии на возникновение послеоперационной когнитивной дисфункции у пациентов пожилого возраста при операциях в гинекологии</b><br>Е. А. Красенкова, А. Ю. Овечкин, А. В. Пырегов<br><b>Influence of anesthetic techniques on occurrence of postoperative cognitive dysfunction in elderly patients undergoing gynecological surgery</b><br>Krasenkova EA, Ovechkin AYU, Pyregov AV  | <b>56</b> |

**СТАТЬЯ**

Опыт использования различных вариантов пластики твердой мозговой оболочки в лечении больных с аномалией (мальформацией) Киари I типа

Р. А. Каххаров, А. Н. Флегонтов, Н. В. Мохов

**Using different duraplasty variants in the treatment of patients with Chiari Malformation Type I**

Kakhkharov RA, Flegontov AN, Mokhov NV

**62****СТАТЬЯ**

Трофические изменения скелетной мускулатуры крыс после фармакотерапии силденафилом и церебролизином при моделировании ишемии нижних конечностей

А. С. Белоус, Ю. К. Бирюкова, М. А. Затолокина, К. И. Лавриненко, Е. А. Лойко, Г. С. Маль, А. Б. Шевелев, Е. В. Трубникова

**Trophic changes in the skeletal muscles of rats after therapy with sildenafil and cerebrolysin in the lower limb ischemia model**

Belous AS, Biryukova YuK, Zatolokina MA, Lavrinenko KI, Loyko EA, Mal GS, Shevelev AB, Trubnikova EV

**69**

## ЗАГЛЯНУТЬ В ЧЕЛОВЕКА: ВИЗУАЛИЗАЦИЯ В МЕДИЦИНЕ

Л. В. Осипов<sup>1,a</sup>, М. Б. Долгушин<sup>2,b</sup>, А. И. Михайлов<sup>2,b</sup>, Б. Эпель<sup>3,c</sup>, К. А. Румянцев<sup>4,5,d</sup>, К. К. Туроверов<sup>4,d</sup>, В. В. Верхуша<sup>5,d</sup>, Е. Ю. Куликова<sup>6</sup>✉

<sup>1</sup> ООО «ИзоМед», Москва

<sup>2</sup> Отделение позитронной эмиссионной томографии,  
Российский онкологический научный центр имени Н. Н. Блохина, Москва

<sup>3</sup> Отделение радиологии и клеточной онкологии,  
Университет Чикаго, Чикаго, США

<sup>4</sup> Лаборатория структурной динамики, стабильности и фолдинга белков,  
Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург

<sup>5</sup> Отдел анатомии и структурной биологии,  
Колледж медицины имени Альберта Эйнштейна, Нью-Йорк, США

<sup>6</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

<sup>a</sup> раздел по ультразвуковым технологиям; <sup>b</sup> раздел по томографическим технологиям; <sup>c</sup> раздел по оксиметрии; <sup>d</sup> раздел по флуоресцентной визуализации

Медицина развивается стремительно: разрабатываются новые более эффективные препараты, предлагаются все менее травматичные способы оперативных вмешательств, а для замещения тканей и органов используются искусственные материалы и управляемые протезы. Однако по-прежнему успех лечения во многом определяется своевременным и точным диагностированием заболевания, а также адекватным мониторингом эффективности терапии. Эти задачи решают с применением различных технологий визуализации. Многие ассоциируют их с представлением анатомических структур тела, но в действительности гораздо чаще они позволяют определить функциональное состояние тканей и органов. Разнообразие технологий визуализации велико, и описать их все в одной работе не представляется возможным, поэтому для настоящего обзора были выбраны наиболее распространенные и интересные из них: ультразвуковые и томографические технологии, прижизненная оксиметрия и флуоресцентная визуализация.

**Ключевые слова:** ультразвуковая визуализация, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, позитронно-эмиссионная томография, оксиметрия *in vivo*, флуоресцентная визуализация *in vivo*

✉ Для корреспонденции: Куликова Елена Юрьевна  
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1; elena.yu.kulikova@gmail.com

Статья поступила: 15.08.2016 Статья принята к печати: 20.08.2016

## LOOKING INSIDE MAN: MEDICAL IMAGING

Osipov LV<sup>1,a</sup>, Dolgushin MB<sup>2,b</sup>, Mikhaylov AI<sup>2,b</sup>, Epel B<sup>3,c</sup>, Rumyantsev KA<sup>4,5,d</sup>, Turoverov KK<sup>4,d</sup>, Verkhusha VV<sup>5,d</sup>, Kulikova EYu<sup>6</sup>✉

<sup>1</sup> IzoMed Ltd., Moscow, Russia

<sup>2</sup> Department of Positron Emission Tomography,  
N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Department of Radiation and Cellular Oncology,  
University of Chicago, Chicago, USA

<sup>4</sup> Laboratory of the Structural Dynamics, Stability and Folding of Proteins,  
Institute of Cytology of Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia

<sup>5</sup> Department of Anatomy and Structural Biology,  
Albert Einstein College of Medicine, New York, USA

<sup>6</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>a</sup> ultrasound technologies; <sup>b</sup> tomographic technologies; <sup>c</sup> oximetry; <sup>d</sup> fluorescence imaging

The rapid progress of medical sciences has brought about novel effective medications, new techniques that make surgery less traumatic, artificial materials that serve to replace tissues and organs, and robotic prostheses. Still, treatment success is largely a question of timely and accurate diagnosis and proper patient monitoring. Here, various imaging techniques come in handy. Those are often thought of as tools for anatomy visualization, but in fact, they are often highly effective for the assessment of the functional state of organs and tissues. Imaging techniques are so diverse that it is impossible to cover them all in one review. Therefore, we have decided to touch upon the most common and interesting ones, such as ultrasound imaging, tomography, oximetry and fluorescence imaging.

**Keywords:** ultrasound imaging, computed tomography, magnetic resonance imaging, positron emission tomography, oximetry *in vivo*, fluorescence imaging *in vivo*

✉ Correspondence should be addressed: Elena Kulikova  
ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997; elena.yu.kulikova@gmail.com

Received: 15.08.2016 Accepted: 20.08.2016

## Ультразвуковая диагностика

Одним из наиболее востребованных методов медицинской визуализации является ультразвуковое исследование (УЗИ). Основные режимы работы УЗ-приборов — двумерный В-режим получения серошкальных изображений и доплеровские методы, в том числе спектральный режим для количественной оценки кровотока в сечении сосуда и цветное двумерное картирование динамики кровотока в сосудах и сердце, а также движения структур сердца (прежде всего, левого желудочка) с помощью тканевого доплера. Если УЗИ в В-режиме может уступать другим методам визуализации в некоторых областях применения, то доплеровские методы имеют преимущество за счет получения информации в режиме реального времени.

Названные основные режимы УЗИ непрерывно совершенствуются. Для повышения качества визуализации злокачественных опухолей и других патологических образований в клиническую практику внедряется технология эластографии при исследовании в В-режиме. Она основана на выявлении различий в жесткости исследуемых структур относительно окружающих тканей. Существует два подхода к оценке жесткости структур: компрессионный, при котором сравнивают изображения, полученные до и после сжатия исследуемой области, например молочной железы или простаты, и метод измерения скорости сдвиговых волн, которые возникают в результате надавливания на ткань или в результате воздействия акустического импульса в узком направлении [1, 2]. Каждый из подходов имеет свои достоинства, и в приборах экспертного класса поддерживаются оба метода.

Доплеровские технологии имеют недостаток — зависимость от величины доплеровского угла, что иногда приводит к появлению на изображениях артефактов, а также затрудняет интерпретацию результатов визуализации движения крови и структур сердца. Методы, позволяющие преодолеть это ограничение, активно разрабатываются. Например, с помощью сложных методов алгоритмической обработки результатов доплеровского анализа потока крови и движения стенок левого желудочка удалось получить векторное отображение кровотока в сердце.

Развиваются и недоплеровские технологии: В-flow для визуализации кровотока и обнаружения бляшек в сосудах и спекл-трекинг в эхокардиографии для анализа движения выделенных сегментов тканей сердца [1].

### Датчики для УЗИ-аппаратов

В ультразвуковой диагностике высокое качество изображения чрезвычайно важно, особенно при исследовании глубоко расположенных структур и при работе с «трудными» пациентами. Опросы специалистов УЗИ в Европе показывают, что большинство из них не удовлетворены качеством изображений, формируемых их приборами [3]. Одно из направлений решения проблемы связано с разработкой новых датчиков для УЗИ-аппаратов.

Все большее распространение получают матричные датчики. В отличие от традиционных датчиков на основе одномерной решетки с числом пьезоэлементов  $n$  (где  $n$  может быть равно 64–256), в матричных датчиках используется двумерная решетка с числом элементов  $n \times m$ . Они обеспечивают управляемую фокусировку на передачу и непрерывную фокусировку на прием не только в плоскости сканирования, но и в перпендикулярной ей плоскости, формируя узкую диаграмму на излучение и прием во всем

диапазоне исследуемых глубин и улучшая контрастное разрешение. Важнейшая характеристика полноразмерных матричных датчиков — высокий темп 3D-сканирования и реализация режима 4D (3D в реальном времени) за счет формирования сразу нескольких сканирующих лучей [1]. Получаемые при этом объемные изображения широко применяются в кардиологии, гинекологии, акушерстве и хирургии.

Еще одна перспективная технология — монокристаллические датчики, в которых вместо пьезокерамики используются искусственно выращенные монокристаллы с более высокими характеристиками, обеспечивающими большую глубину исследования и более высокую разрешающую способность.

Принципиально иной подход к изготовлению датчиков основан на технологиях MEMS (micro-electro-mechanical systems). Одна из них, pMUT (piezoelectric micromachined ultrasound transducer), предполагает создание решетки из элементов настолько малого размера, что позволяет реализовать миниатюрные матричные решетки для транспищеводных датчиков для наблюдения сердца с близкого расстояния и катетерных высокочастотных датчиков, позволяющих исследовать внутренние области сердца с получением объемных изображений. Другая технология, cMUT (capacitive micro-fabricated ultrasound transducers) основана на применении емкостных элементов с подвижной мембраной, повышающих чувствительность и разрешающую способность датчиков [4].

### Устройства передачи и приема

Одно из ключевых требований к современным УЗИ-приборам — широкая полоса частот приемо-передающих каналов, которая дает возможность применять короткие импульсы с более высокой разрешающей способностью как в В-режиме, так и в цветовых доплеровских режимах. Однако с возрастанием частоты увеличивается затухание сигнала в тканях и уменьшается глубина исследования. Преодолеть это ограничение можно было бы путем повышения энергии сигнала, но это небезопасно. Справиться с этим ограничением можно, используя особый вид сигналов — «сложные сигналы», в частности, кодированные последовательности импульсов: вследствие большей длительности они увеличивают глубину исследования для высокочастотных датчиков и при этом за счет алгоритма «сжатия» помогают сохранить высокую разрешающую способность.

В системах высокого класса все чаще находит применение многокурсное сканирование. Эта технология предусматривает многократный осмотр нужной области — каждый раз при различной угловой ориентации лучей. Затем полученные изображения суммируются, что обеспечивает улучшенное контрастное разрешение и дифференциацию тканей, более четкое отображение границ органов. Очевидная плата за эту технологию — снижение частоты кадров во столько раз, сколько ракурсов используется.

### Адаптивные режимы и автоматизация измерений

Ультразвуковое исследование является «чемпионом» по числу режимов и настроек среди всех методов визуализации. Врачи заинтересованы в упрощении работы на УЗИ-аппаратах, особенно врачи скорой помощи и терапевты, использующие приборы возле постели больного

(point-of-care applications). Производители предусматривают режимы предустановки (presetting), которые позволяют автоматически выбирать настройки в зависимости от диагностической задачи и исследуемых органов. Автоматизированы непрерывная фокусировка на прием, выбор частоты в зависимости от глубины исследования, обеспечение постоянного среднего уровня отображаемых сигналов во всем диапазоне глубин, оценка важных диагностических характеристик (выделение огибающих доплеровского спектра скоростей и вычисление на их основе количественных диагностических индексов, оценка толщины комплекса интима-медиа и т. д.).

Хорошим примером адаптивного режима является технология автоматической оценки скорости звука в исследуемой области и ее учет при формировании изображения, что заметно улучшает его качество. К методам адаптации можно также отнести и непрерывную фокусировку на передачу по глубине. Фокусировку на передачу при обычном сканировании нельзя сделать такой же непрерывной, как на прием. Успешно реализован способ, основанный на технологии синтезированной апертуры (synthetic aperture), которая формирует изображение в результате постпроцессорной обработки [1]. Непрерывная фокусировка на передачу позволяет улучшить качество изображения без снижения частоты кадров.

Автоматические измерения и вычисления упрощают работу специалиста по ультразвуковой диагностике и уже используются в кардиологии, ангиологии, акушерстве, урологии и других областях, но предъявляют дополнительные требования к качеству изображений. Чаще всего для хороших автоматических измерений необходима высокая контрастная разрешающая способность и четкие контуры структур. Так, для точного измерения изменения диаметра артерий с целью оценки эластичности сосудов и измерения толщины интима-медиа (intima-media thickness), что важно для определения степени развития атеросклероза, применяют специальные радиочастотные методы.

### Томографическая диагностика

Открытое в 1895 г. рентгеновское излучение долгие годы являлось основой всех методов лучевой диагностики и до сих пор реализуется в самостоятельных методиках для получения плоскостных изображений (рентгенография, маммография, флюороскопия). Следующим шагом в развитии технологии стало получение томографических изображений (последовательных изображений внутренней структуры объекта) путем взаимного смещения рентгеновской трубки и пластины (детектора). Качество таких изображений оставалось низким до изобретения в 1969–1971 гг. Годфри Хаунсфилдом и Алланом Кормаком компьютерной томографии. Соединение компьютерных технологий и рентгеновского излучения позволило отойти от плоскостных изображений.

#### Компьютерная томография

Компьютерная томография (КТ) — метод неинвазивного послойного исследования, основанный на измерении и сложной компьютерной (математической) обработке разности ослабления рентгеновского излучения различными по плотности тканями. В настоящее время КТ является наиболее распространенным томографическим методом исследования человека.

Развитие компьютерной томографии связано с увеличением числа детекторов и числа одновременно собираемых проекций, за счет чего растет скорость исследования и расширяется зона одномоментного сканирования. Первые томографы обеспечивали пошаговое сканирование: один оборот рентгеновской трубки на каждый слой и одна рентгеновская трубка, направленная на один (в приборах первого поколения; время обработки слоя — 4 мин) или несколько (в приборах второго поколения; время обработки слоя — 20 с) детекторов [1]. Затем появилось понятие спиральной компьютерной томографии (СКТ; приборы третьего поколения): трубка и детекторы за один шаг стола синхронно осуществляли полное вращение по часовой стрелке, что значительно уменьшило время исследования, а дальнейшее увеличение числа детекторов и некоторое наложение слоев позволило значительно сократить время обработки изображений и заметно повысить качество реконструкций [5].

Приборы четвертого поколения (мультиспиральная компьютерная томография, МСКТ) имеют несколько слоев датчиков, расположенных по всему кольцу (гентри). С высокой скоростью (до 0,33 с на оборот) вращается лишь рентгеновская трубка с модифицированной формой пучка излучения, что позволяет задействовать параллельно до 320 рядов детекторов (среди аппаратов экспертного класса наиболее распространены сканеры с 64 или 128 рядами детекторов, рутинные томографы оснащены 16–32 рядами детекторов). Дальнейшее развитие МСКТ связано с совершенствованием методов компьютерной реконструкции изображений — «гонку» по числу детекторов производители приостановили. Основным преимуществом МСКТ в сравнении с СКТ является возможность получения изотропного изображения при сканировании с субмиллиметровой толщиной среза (0,5 мм) без потери качества при последующей реконструкции в любых плоскостях и коррекции плотностных характеристик. Благодаря этому развились методы виртуальной эндоскопии, в частности, виртуальной колонографии и бронхоскопии, позволяющие с большой точностью реконструировать эндоскопическую картину, а с совершенствованием методов постобработки — даже проводить виртуальную интраваскулярную эндоскопию [6].

Увеличение скорости сканирования обеспечило возможность оценивать динамику накопления рентгеноконтрастных веществ с высоким пространственным разрешением. Так, КТ-ангиография по характеристикам почти не уступает прямому ангиографическому исследованию, но при этом неинвазивна. Сегодня это рутинная методика, позволяющая оценивать не только любые дефекты кровотока (стеноз, аневризмы, полная окклюзия), но и состояние сосудистых стенок (наличие атеросклеротических бляшек), что при прямой ангиографии невозможно. С помощью современных методов реконструкции можно получать качественные изображения с крайне низкой лучевой нагрузкой [7].

КТ-перфузия — метод, основанный на вычислении изменения плотностных характеристик исследуемой области при внутривенном введении рентгеноконтрастного препарата. Математический анализ получаемых данных позволяет рассчитать ряд показателей кровотока, основными среди которых являются скорость, объем и время. Существует несколько методов анализа временных зависимостей концентрации контрастного вещества для получения количественных оценок тканевой гемодинамики. На основе большого числа гемодинамических характеристик

можно проводить дифференциальную диагностику между доброкачественными и злокачественными опухолями, ятрогенными изменениями, оценивать степень злокачественности опухоли и определять зоны поражения различных органов при нарушениях кровообращения [8].

Особый интерес вызывает двухэнергетическая КТ, названная так за использование сканеров с двумя источниками рентгеновского излучения. Например, при исследованиях сердца (постоянно движущийся объект) требуется очень короткий период сканирования, синхронизированный с ритмом сердечных сокращений. При МСКТ минимальный промежуток времени, требуемый для регистрации неподвижного среза (при времени обращения трубки, равном 0,33 с), составляет 173 мс, т. е. время полуоборота трубки обеспечивает временное разрешение, достаточное для нормальной частоты сердечных сокращений (65–80 уд./мин). Однако чаще всего у пациентов с кардиопатологией частота сердечных сокращений выше и наблюдается аритмия. Использование двух рентгеновских трубок, расположенных под углом 90°, дает временное разрешение, равное четверти периода обращения трубки (83 мс), и это позволяет получать высококачественные изображения сердца даже при высокой частоте сокращений [9].

Двухэнергетические сканеры имеют еще одно значительное преимущество: каждая трубка может работать с различными значениями напряжения и тока. В комплексе со сложными вычислительными методами это обеспечивает лучшую дифференцировку близких по плотности тканей, уменьшение числа артефактов от близко расположенных объектов различной плотности (повышение качества ангиографии и перфузии сосудов и новообразований, расположенных близко к костям или металлоконструкциям), создание виртуальных нативных изображений при использовании контрастного вещества. Указанный эффект основан на различном поглощении излучения тканями при изменении его параметров в присутствии йодсодержащего контрастного вещества, в то время как параметры поглощения излучения в гидроксипатитах (основа кости) или металлах не меняются [10].

Существуют также методы компьютерной обработки данных, позволяющие определять содержание различных солей по изменению параметров поглощения ими излучения различной энергии, что в клинической практике нашло применение в диагностике подагры (оценка содержания урата натрия) [11].

#### *Магнитно-резонансная томография*

Магнитно-резонансная томография (МРТ) — способ исследования внутренних органов и тканей с использованием явления ядерного магнитного резонанса. В основу метода положено измерение электромагнитного отклика атомных ядер (чаще всего ядер атомов водорода) при возбуждении их различными сочетаниями электромагнитных волн в постоянном магнитном поле (0,5–3,0 Тесла) [12, 13].

Поначалу МРТ использовали для исследований головного мозга (и она до сих пор является «золотым стандартом» в нейровизуализации), затем с ее помощью стали визуализировать различные области тела. Развитие технологии единого виртуального поля обзора с использованием отдельных элементов поверхностных катушек позволили сканировать в автоматическом режиме и одновременно большие анатомические области и даже тело целиком.

В случае с МРТ всего тела подвижный стол для укладки пациента и интегрированные приемные катушки исключают поэтапную ручную репозицию пациента [13].

МРТ отличается от КТ полным отсутствием лучевой нагрузки и более высоким разрешением при исследовании мягких тканей, в том числе за счет возможности подавлять сигнал от тканей определенных типов. Наличие органоспецифичных магнитно-резонансных контрастных препаратов (гадоксетовой кислоты — для печени, наночастиц суперпарамагнетического оксида железа — для лимфоузлов) определяет выход магнитно-резонансной томографии на один «молекулярный» уровень с позитронно-эмиссионной томографией (ПЭТ) [12, 13].

Диффузионно-взвешенная томография (ДВТ) — метод МРТ, основанный на регистрации скорости перемещения (покрываемой движением площади) меченных радиоимпульсами протонов. Он позволяет полуколичественно оценить броуновское движение (температурную миграцию) молекул воды в организме. Таким способом можно характеризовать сохранность мембран клеток и состояние межклеточных пространств. Диффузионно-взвешенная томография нашла применение в диагностике острых нарушений мозгового кровообращения при ишемическому типу — с ее помощью распознают инсульт в острой и острейшей стадиях (это невозможно при КТ). ДВТ также активно используют для дифференциальной диагностики внутримозговых образований и демиелинизирующих заболеваний, а ДВТ всего тела — это высокоэффективный и чувствительный метод стадирования онкопатологий и скрининговый метод для лиц с повышенным риском развития онкозаболевания или его рецидива (в комплексе с ПЭТ-КТ позволяет снизить лучевую нагрузку) [14].

Одно из приложений ДВТ — трактография. Измерив тензор диффузии, можно рассчитать ее направление, а затем, получив информацию о геометрическом строении тканей, определить направление крупных пучков нервных или мышечных волокон. Такие данные важны при планировании хирургического лечения опухолей головного и спинного мозга и прогнозирования возможного неврологического дефицита [15].

Магнитная резонансная спектроскопия (МРС) — метод, позволяющий по концентрации определенных метаболитов определить биохимический состав тканей. В МРС используют ядра любых атомов с нечетным числом протонов, но наилучший сигнал формируют ядра водорода. Метод был предложен еще в 1970-х гг., но долгое время его развитие сдерживалось отсутствием должного аппаратного обеспечения [16]. Из-за высоких требований к однородности поля и чувствительности к подвижности органов МРС используют в основном для исследования головного мозга и простаты. Известно, что нарушения метаболизма в тканях возникают до клинических проявлений заболевания, поэтому на основе данных МРС можно диагностировать заболевания на более ранних стадиях [17]. Благодаря совершенствованию алгоритмов обработки данных стало возможным преобразовывать обычные спектроскопические данные в метаболические карты больших областей мозга [18].

Магнитно-резонансная ангиография (МРА) позволяет оценивать как анатомическое строение сосудов, так и функциональные особенности кровотока. Метод основан различии сигналов от перемещающихся протонов (крови) и окружающих неподвижных тканей. Так можно получать изображения сосудов без использования контрастных средств [19].



Относительно новым методом оценки гемодинамических, перфузионных характеристик мозгового вещества является перфузионная МРТ. Ее преимущества перед КТ-перфузией — отсутствие рентген-излучения и необходимости вводить контрастное вещество, что крайне важно при исследованиях у детей [8, 20].

Функциональная МРТ (фМРТ) — метод картирования коры головного мозга, позволяющий определить индивидуальное местоположение и особенности областей мозга, отвечающих за движение, речь, зрение, память и другие высшие корковые функции. Суть метода заключается в фиксации повышенного кровотока в активированных отделах коры головного мозга [21].

Возможности современных МР-томографов решили проблему анатомической визуализации структур головного мозга, включая сосудистую и ликворную системы, а также позволяют в определенной мере оценивать функциональное состояние головного мозга.

*Позитронно-эмиссионная томография*

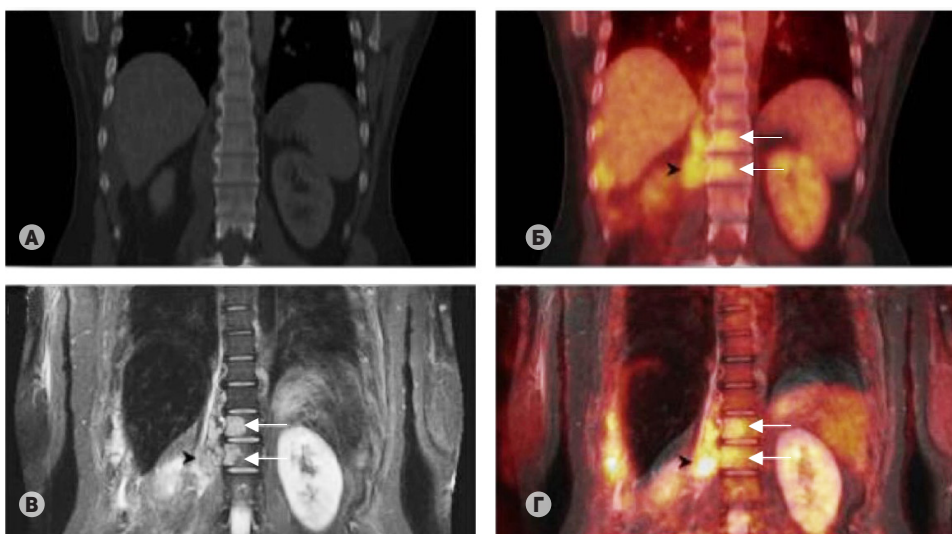
Клиническое применение ПЭТ началось более 30 лет назад, преимущественно в неврологии и кардиологии. С 2000-х гг. ПЭТ особенно востребована в онкологии: более 90 % всех исследований с помощью этого метода выполняется у онкологических больных [22].

Физический принцип метода — регистрация излучения от радиофармацевтического препарата (РФП), накапливающегося в тканях организма. Нормальные и пораженные ткани по-разному накапливают РФП, в том числе в зависимости от их функционального состояния. Самым распространенным РФП является <sup>18</sup>F-фтордезоксиглюкоза (<sup>18</sup>F-ФДГ) [22]. Совмещение радионуклидных и томографических технологий (ПЭТ-КТ, ПЭТ-МРТ) повышает качество анатомической пространственной визуализации, позволяя получать большой объем дополнительной информации о метаболизме в опухолях и решать ряд клинических задач: устанавливать распространенность опухолевого процесса, рано выявлять его прогрессирование, определять степень ответа на терапию, проводить дифференциальную диагностику злокачественных и доброкачественных

новообразований и неопухолевых заболеваний [23]. На рис. 1 приведен пример использования нескольких методов для диагностики одного и того же заболевания [24].

Доказана высокая диагностическая эффективность ПЭТ с <sup>18</sup>F-ФДГ при раке легкого, пищевода, колоректальном раке, опухолях головы и шеи. ПЭТ-КТ с <sup>18</sup>F-ФДГ — «золотой стандарт» при меланоме, лимфомах, поиске невыявленного первичного очага при метастазах. Нет однозначного показания к выполнению ПЭТ с <sup>18</sup>F-ФДГ при высокодифференцированном раке молочной железы (РМЖ), щитовидной железы, поджелудочной железы, яичников, яичка, при саркомах [20]. При раке почки, предстательной железы, мочевого пузыря, при гепатоцеллюлярном раке, нейроэндокринных опухолях, опухолях головного мозга ПЭТ с <sup>18</sup>F-ФДГ недостаточно информативна, что компенсируется применением других РФП. Ниже мы проиллюстрируем это на нескольких примерах.

При опухолях головного мозга чаще всего используют радиофармпрепараты, отражающие особенности метаболизма аминокислот, с относительно слабым накоплением в неизменном мозговом веществе. Наибольшее распространение получил <sup>11</sup>C-метионин, специфичность которого в диагностике внутримозговых опухолей достигает 90 %. Препаратом следующего поколения является <sup>18</sup>F-фторэтилтирозин, имеющий более длительный период полураспада, что позволяет расширить сферу его применения. <sup>18</sup>F-тимидин характеризует интенсивность процесса сборки цепей ДНК и позволяет оценить снижение пролиферативной активности опухолевой ткани на фоне лечения, прежде всего — лекарственного. Большой интерес вызывает <sup>11</sup>C-бутират натрия — жирная аминокислота, обладающая уникальными свойствами, позволяющими определить не только гемодинамические свойства (степень васкуляризации) опухоли, но и уровень ее метаболизма [25]. Холин-содержащие препараты, меченные <sup>11</sup>C или <sup>18</sup>F, при исследовании головного мозга позволяют оценить формирование мембранных комплексов (фосфолипидов) и ацетилхолиновых рецепторов. Как известно, активно растущие злокачественные опухоли требуют быстрого обновления и производства клеточных мембран, что находит свое отражение в накоплении РФП [26].



**Рис. 1.** Неходжкинская лимфома с поражением костного мозга. Компьютерная томография в костном окне (А) позволяет определить паравerteбральные опухолевые массы, но не инфильтрацию позвонков, в то время как магнитно-резонансная томография (В) позволяет выявить эти поражения (указаны стрелками), подтверждаемые также с помощью гибридных технологий — ПЭТ-КТ (Б) и ПЭТ-МРТ (Г) с <sup>18</sup>F-фтордезоксиглюкозой. Таким образом, МРТ более чувствительна в диагностике поражений костного мозга и выявляет первые признаки инфильтрации плазматическими клетками до гиперстимуляции остеокластов и деструкцию кости (Buchbender и соавт., [24])

Назначение ПЭТ при обследовании больных раком молочной железы — не первичная диагностика, а оценка биологической активности первичной опухоли, диагностика наличия регионарных и отдаленных метастазов, оценка эффективности терапии и выявление местных рецидивов, и для этих целей обычно применяют  $^{18}\text{F}$ -ФДГ [27]. Но некоторые типы РМЖ эффективнее выявляются с помощью  $^{18}\text{F}$ -фторэстрадиола, специфичного к эстрогеновым рецепторам. Другой РФП,  $^{18}\text{F}$ -Galacto-RGD, помогает визуализировать инвазивные протоковые карциномы и используется в планировании лечения препаратами, блокирующими неоангиогенез [28].

В диагностике рака предстательной железы ПЭТ-КТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ имеет ограниченную эффективность вследствие накопления  $^{18}\text{F}$ -ФДГ в ткани доброкачественной гиперплазии железы. В последние годы широко используется  $^{18}\text{F}$ -Холин и  $^{11}\text{C}$ -холин. Назначение ПЭТ-КТ с препаратами на основе холина — выявление рецидивов рака после лучевой терапии, брахитерапии и простатэктомии (при «биохимическом» рецидиве), т. к. после этих методов лечения МРТ-диагностика крайне затруднена [29]. Этот же метод эффективен при уточняющей диагностике местнораспространенного рака простаты и выявления метастазов в регионарных лимфатических узлах. Для выявления отдаленных метастазов (в особенности костных) обычно требуются МРТ всего тела, остеосцинтиграфия, УЗИ печени и другие исследования, но все их заменяет ПЭТ-КТ [30]. Кроме препаратов на основе холина, используют другие РФП для диагностики рака простаты, например  $^{18}\text{F}$ -фтордигидротестостерон (FDHT) — один из инновационных препаратов для ПЭТ. Исследования с его использованием базируются на повышенной экспрессии рецепторов андрогенов, что может быть свойственно как опухолевым, так и здоровым клеткам предстательной железы [31], поэтому FDHT больше подходит для мониторинга терапии, а не для диагностики первичного рака простаты. Ga-68-PSMA — препарат на основе простатического специфического мембранного антигена. Он не только обладает высокой специфичностью, но и позволяет планировать лечение радиоактивными  $^{90}\text{Y}$ - или  $^{177}\text{Lu}$ -PSMA [32].

Чувствительность ПЭТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ слишком низкая для диагностики нейроэндокринных опухолей различной локализации, и в этой области нашли широкое применение другие РФП:  $^{18}\text{F}$ -фтор-L-дигидроксифенилаланин,  $^{11}\text{C}$ -гидрокси-L-триптофан и лиганды соматостатиновых рецепторов, меченные  $^{68}\text{Ga}$  ( $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-NOC,  $^{68}\text{Ga}$ -DOTA-TATE) [33]. Сравнительные исследования эффективности сцинтиграфии и ПЭТ со сходными пептидами демонстрируют более высокую чувствительность и специфичность последней, а возможность совмещения данных ПЭТ и КТ повышает информативность исследования [34].

При подозрении на наличие костных метастазов для ПЭТ-КТ помимо  $^{18}\text{F}$ -ФДГ используют  $^{18}\text{F}$ -NaF (фторид натрия). Его диагностическая ценность схожа с таковой у эксаметазима для ОФЭКТ. Важные преимущества ПЭТ-КТ с  $^{18}\text{F}$ -NaF в отношении остеосцинтиграфии — низкая лучевая нагрузка и более высокое пространственное разрешение, благодаря чему удается выявлять мельчайшие метастазы в костной системе [35].

#### Оксиметрия методом ЭПР-спектроскопии *in vivo*

Метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) с пространственным разрешением (ЭПР-томография) —

быстро развивающийся метод визуализации распределения в пространстве парамагнитных центров, ПЦ (молекул, имеющих неспаренные электроны, спиновых меток и спиновых зондов, СЗ), и исследования их кинетических свойств, спектральных параметров и релаксационных характеристик. ЭПР-томография схожа с томографией, основанной на ядерном магнитном резонансе, однако есть и особенности [36]. Так, ЭПР-томография требует в 658 раз меньших магнитных полей, что позволяет отказаться от дорогих сверхпроводящих магнитов. Для получения пространственного распределения ПЦ используется линейный градиент магнитного поля  $G$ , который накладывается на постоянное магнитное поле  $B_0$ . Дополнительное магнитное поле, действующее на парамагнитную частицу, позволяет определить ее положение.

В природе, особенно в живых организмах, редко встречаются ПЦ в высокой концентрации. Поэтому для получения изображений в ЭПР-томографии используют различные спиновые зонды. В зависимости от задачи могут быть синтезированы СЗ, чувствительные к различным физическим и химическим параметрам — вязкости, температуре, рН, окислительно-восстановительному потенциалу клеток и парциальному давлению кислорода  $p\text{O}_2$ . СЗ вводят в организм внутривенно или внутриартериально, а в некоторых случаях, например при мониторинге раковых опухолей, — прямой инъекцией в интересующую область. Зонды легко проникают в межклеточное пространство и выводятся из организма в течение 10–50 минут [37].

Оксиметрия — одно из основных применений современной ЭПР-томографии. Молекулярный кислород — один из важнейших компонентов клеточного баланса. Для нормального функционирования тканей необходимо их адекватное снабжение кислородом, а по уровню содержания  $\text{O}_2$  можно диагностировать различные патологические состояния. В онкологии также необходимо знать пространственное распределение кислорода в раковых опухолях, поскольку уровень  $p\text{O}_2$  в значительной степени определяет чувствительность злокачественного новообразования к воздействию радио- или химиотерапии [38, 39]. Разработка более точных методов визуализации уровня  $p\text{O}_2$  в тканях имеет широкие перспективы практического применения в биологии и медицине [40].

Успехи оксиметрии методом ЭПР-спектроскопии связаны с применением в качестве спиновых зондов триарилметилловых радикалов, которые имеют узкие линии ЭПР, что положительно влияет на пространственное разрешение метода (0,5–1,0 мм) [41]. Скорости продольной (спин-решеточной) и поперечной релаксации этих радикалов линейно зависят от уровня  $p\text{O}_2$  и позволяют определять его с точностью до 1 мм рт. ст. Главный недостаток метода — необходимость использования СЗ, которые пока не сертифицированы для клинического применения.

В качестве примера практического применения оксиметрии методом ЭПР-томографии приведем результаты исследования Erel и соавт. [42]. Речь идет о доклинических испытаниях метода пространственно-модулированной радиотерапии на основе распределения кислорода в опухолевой ткани. В качестве моделей использовались мыши с искусственно выращенной фибросаркомой. Идея заключалась в следующем: смертельная доза радиации для хорошо оксигенированных раковых тканей в 3 раза ниже, чем для тканей с  $p\text{O}_2$  менее 10 мм рт. ст., поэтому есть возможность дифференцировать дозы для разных участков опухоли. Протокол облучения включал две стадии. На первой стадии на опухоль воздействовали

облучением на уровне 30 % дозы, необходимой для уничтожения опухоли (tumor control dose, TCD<sub>30</sub>). Этого достаточно для разрушения 99 % клеток хорошо оксигенированных участков опухоли. На второй стадии дополнительно облучали участки опухоли с низким содержанием кислорода и потому устойчивые к действию излучения. Кумулятивная доза облучения для этих областей была сравнима с TCD<sub>98</sub>. На второй стадии требовалась субмиллиметровая точность доставки излучения. В исследовании использовали новую систему радиотерапии животных — XRAD225Cx micro-CT/radiation therapy delivery system — и протокол, состоящий из пяти лучей под различными углами. Поток излучения формировали с помощью напечатанных на 3D-принтере блоков из пластика с добавлением вольфрама. На рис. 2 показаны стадии изготовления таких блоков по данным ЭПР-томографии. Расчет геометрии лучей и создание блоков занимают всего около 30 мин с момента проведения ЭПР-измерений. Это важно, поскольку длительность интервала между ЭПР-измерениями и началом радиотерапии критически важна вследствие потенциальных изменений содержания кислорода в тканях. В доклинических испытаниях описанный метод показывает достаточно высокую эффективность.

В прошлом году Национальные институты здоровья США (National Institutes of Health) спонсировали первые клинические испытания, в которых используется оксиметрия методом ЭПР-спектроскопии для предсказания эффективности радиотерапии. Успех этой программы и положительные результаты наших исследований позволят перейти к внедрению метода в практику. ЭПР-томограф прост в устройстве и может быть встроены в существующие облучатели для успешного лечения раковых опухолей.

### Флуоресцентная визуализация

Флуоресцентная визуализация является универсальным методом анализа различных биологических систем — от единичных молекул до целых организмов. За последние два десятилетия использование GFP-подобных флуоресцентных белков (fluorescent protein, FP) позволило не только визуализировать динамические процессы, происходящие в клетках, но также стимулировало развитие новых методов микроскопии. В настоящее время усилия ученых направлены на создание генетически кодируемых оптических биомаркеров, имеющих спектры поглощения и излучения света в так называемом ближне-инфракрасном (near-infrared, NIR) «окне прозрачности» биологических тканей (650–900 нм), где излучение уже не поглощают гемоглобин эритроцитов и меланин кожи и еще не поглощают молекулы воды. Это требуется для того, чтобы неинвазивно визуализировать динамические процессы, происходящие в глуболежащих тканях млекопитающих. Новые флуоресцентные биомаркеры могут быть востребованы как при проведении фундаментальных исследований в биологии, так и в медицине, поскольку их использование сможет в ряде случаев заменить рентген. Однако получить GFP-подобные FP, удовлетворяющие описанным спектральным требованиям, не удалось.

Решением проблемы стало использование в качестве флуоресцентных биомаркеров комплексов бактериального фитохрома с биливердином (biliverdin, BV) — хромофором, который является продуктом распада гема и присутствует в тканях животных и человека. За последние годы на основе бактериальных фитохромов были получены

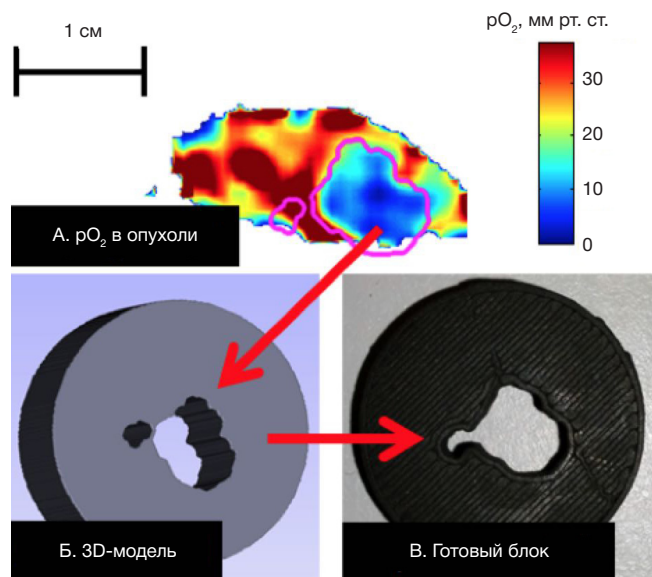
NIR FP, постоянно флуоресцирующие, фотоактивируемые и образующие сплит-системы [43–48].

В частности, использование NIR FP белков семейства iRFP позволило визуализировать небольшие опухоли на ранних стадиях развития, а также исследовать их рост и метастазирование в организмах модельных животных [43, 49]. Белок iRFP713 был успешно использован для наблюдения за опухолями глубоко залегающих органов, таких как печень, простата и мозг, а также внутрикостных опухолей [50]. Использование флуоресцентной визуализации в сочетании с компьютерной томографией позволило проследить за развитием воспалительного рака молочной железы и его метастазирования в лимфатические узлы [51]; обнаружить пути миграции клеток меланомы [50].

NIR FP обладают большим потенциалом в качестве биомаркеров для доклинических испытаний противораковых препаратов, поскольку способны визуализировать регрессию и рецидив опухоли при ее лечении [52].

Возможность визуализации меченых клеток в целом организме животного делает NIR FP перспективными биомаркерами для исследования стволовых клеток. Мечение клеток-предшественников кардиомиоцитов белком iRFP713 позволило визуализировать процесс восстановления миокарда в модели ишемии у мышей [53]. Была показана способность пересаженных клеток костного мозга, меченых iRFP713, восстанавливать гемопоэз у облученных рентгеном мышей [54].

Отсутствие у белков семейства iRFP цитотоксичности обеспечивает возможность их применения не только для мечения клеточных линий или органов, но и организмов целиком. Недавно была получена линия трансгенных мышей с высоким уровнем экспрессии белка iRFP713 во всех тканях и органах, включая мозг, сердце, легкие, печень, почки, селезенку, поджелудочную железу, тимус и костную и жировую ткани [54]. Экспрессия iRFP713 в первичной культуре нейронов гиппокампа и в нейронах сетчатки



**Рис. 2.** Схема изготовления блоков для проведения прицельного облучения злокачественной опухоли на основе распределения кислорода в ткани. (А) Срез 3D-изображения уровней  $pO_2$  в разных участках фибросаркомы мыши; малиновым контуром показана проекция поля облучения опухоли. (Б) Компьютерная модель блока облучения. (В) Блок облучения, напечатанный на 3D-принтере (Epel и соавт., [42])

глаза мыши позволила визуализировать нейроны и охарактеризовать происходящие в них процессы метаболизма [55].

Способность NIR FP эффективно связывать эндогенный BV в клетках простейших позволяет тестировать новые лекарства для доклинических исследований паразитарных заболеваний *ex vivo* и *in vivo*. Клетки нескольких видов рода *Leishmania*, экспрессирующих белок iRFP713, успешно использовали для отбора перспективных антипаразитарных лекарств, а также для наблюдения за развитием инфекции у мышей на протяжении нескольких недель [56].

Наличие спектрально различных NIR FP позволяет производить одновременное наблюдение за несколькими тканями и органами модельных животных. Использование пары биомаркеров семейства iRFP (iRFP670 и iRFP720) позволило визуализировать одновременно две близко расположенные опухоли, меченные разными биомаркерами, в живой мыши [43]. На рис. 3 приведен пример визуализации такого рода. Применение математических алгоритмов для обработки изображений, встраиваемых в современные микроскопы и системы биоимиджинга, позволяет одновременно использовать до пяти спектрально различных NIR FP [43].

Преимуществом фотоактивируемых NIR FP (PAiRFP) является возможность биоимиджинга с высокой чувствительностью в условиях высокой фоновой автофлуоресценции тканей. Для получения изображения с высокой контрастностью используется дифференциальный метод, в котором фоновый сигнал вычитается путем получения изображений объекта до и после фотоактивации PAiRFP в клетках ткани. Благодаря способности к фотоактивации PAiRFP также могут использоваться для селективного фотомечения и краткосрочного наблюдения за динамикой групп клеток *in vivo* [46].

Для изучения взаимодействий пар белков в клеточных культурах и на организменном уровне был разработан NIR-сенсор iSplit, флуоресценция которого возникает при взаимодействии комплементарных составляющих, что приводит к сборке функционального NIR FP. Несмотря на необратимость процесса комплементации, iSplit способен отражать динамику редких повторяющихся событий взаимодействия белков за счет относительно быстрой деградации комплексов восстановленного NIR FP [47]. Преимуществом другого NIR-сплит-сенсора взаимодействия белков, IFP PCA, является обратимость процесса комплементации. Его использование позволило оценить взаимодействие нескольких пар белков в клетках дрожжей и животных [57]. Однако яркость IFP PCA в животных клетках на порядок ниже, чем у iSplit, что требует добавления к клеткам или инъекции дополнительного количества биливердина.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Технологии визуализации в медицине крайне разнообразны. Разнообразны и области применения одной и той же технологии. Однако общим для них является стремление визуализировать в первую очередь функциональное состояние ткани или органа, что позволяет подобрать наиболее эффективную терапию или оценить ее действенность.

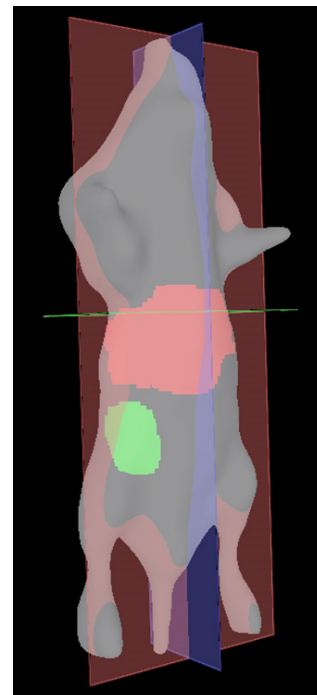
Для ультразвуковых исследований крайне важно высокое качество изображения, и во многом именно в этом направлении совершенствуют современные приборы. Объемные изображения (3D и 4D) пока не нашли массово-

го применения в клинической практике, что объясняется сразу несколькими причинами: недоказанной эффективностью или различными ограничениями их использования в некоторых областях медицины, неумением врачей их интерпретировать и отсутствием аппаратуры нового поколения во многих учреждениях. Тем не менее, некоторые специалисты полагают, что будущее именно за объемными изображениями [58]. Другая тенденция в сфере УЗ-технологий — более широкое распространение портативных УЗИ-аппаратов [58].

Развитие КТ идет по пути создания более эффективных методов компьютерной реконструкции изображений. Регулярно испытываются новые радиофармацевтические препараты для МРТ и ПЭТ. Возможно, в ближайшие годы следует ожидать большого числа исследований в области ПЭТ-МРТ: совмещение модальностей стало возможным за счет разработки новых датчиков в 2010 г. Эта технология обеспечивает более высокую точность исследований и меньшую лучевую нагрузку на пациента [59]. ПЭТ-МРТ может дать особенно интересные результаты при оценке функций головного мозга при сочетанном применении нескольких различных радиофармацевтических препаратов со специализированными протоколами МРТ [60].

Оксиметрия *in vivo* применяется в различных областях медицины, но, пожалуй, наиболее перспективно определение содержания кислорода в злокачественных опухолях для планирования радиотерапии. Ожидается, что в ближайшие несколько лет будет подтверждена клиническая эффективность метода.

Результаты работ, выполненных с использованием NIR FP, созданных на основе бактериальных фитохромов, свидетельствуют о большом потенциале этих оптических биомаркеров для неинвазивного биоимиджинга *in vivo* и возможности их использования в доклинических исследованиях [57, 61, 62].



**Рис. 3.** Прижизненное изображение мыши с трансплантированной опухолью и инфицированной аденовирусом печенью, полученное методом диффузионной флуоресцентной томографии. Клетки опухоли экспрессируют белок iRFP670, а клетки печени — белок iRFP713. Окраска опухоли и печени представлена в зеленом и красном псевдоцветах соответственно (Shcherbakova, Verkhusha, [43])

## Литература

- Осипов Л. В. Ультразвуковые диагностические приборы: режимы, методы и технологии. М.: Изомед; 2011. 316 с.
- Осипов Л. В. Технологии эластографии в ультразвуковой диагностике. Обзор. Медицинский алфавит: Диагностическая радиология и онкотерапия. 2013; 3–4: 5–22.
- Medimaging International staff writers. Poll's Findings Reveal Adaptable Imaging Systems to Transform Ultrasound Imaging. MedImaging.net. 2013 Sep 30.
- Tai A. XDclear Transducer Technology [Интернет]. GE Healthcare; c2016– [дата обращения: август 2016 г.]. Доступно по ссылке: <http://www3.gehealthcare.com/en>.
- Seeram E. Computed tomography: physical principles, clinical applications, and quality control. 4th ed. Saunders; 2015. 576 p.
- Sun Z. Coronary Virtual Intravascular Endoscopy. In: Tintoiu IC, Underwood MJ, Cook SP, Kitabata H, Abbas A, editors. Coronary Graft Failure. Springer International Publishing; 2016. p. 555–70.
- Schuhbaeck A, Achenbach S, Layritz C, Eisentopf J, Hecker F, Pflederer T, et al. Image quality of ultra-low radiation exposure coronary CT angiography with an effective dose <0.1 mSv using high-pitch spiral acquisition and raw data-based iterative reconstruction. Eur Radiol. 2013; 23 (3): 597–606.
- Bammer R. MR and CT Perfusion and Pharmacokinetic Imaging: Clinical Applications and Theory. Lippincott Williams and Wilkins; 2016. 1296 p.
- Carrascosa PM, Garcia MJ, Cury RC, Leipsic JA. Dual-Energy CT. In: Carrascosa PM, Cury RC, Garcia MJ, Leipsic JA, editors. Dual-Energy CT in Cardiovascular Imaging. Springer International Publishing; 2015. p. 3–9.
- Patino M, Prochowski A, Agrawal MD, Simeone FJ, Gupta R, Hahn PF, et al. Material Separation Using Dual-Energy CT: Current and Emerging Applications. Radiographics. 2016; 36 (4): 1087–105.
- Fritz J, Henes JC, Fuld MK, Fishman EK, Horger MS. Dual-Energy Computed Tomography of the Knee, Ankle, and Foot: Noninvasive Diagnosis of Gout and Quantification of Monosodium Urate in Tendons and Ligaments. Semin Musculoskelet Radiol. 2016; 20 (1): 130–6.
- Hashemi RH, Bradley WG, Lisanti CJ. MRI: The Basics. 3d ed. Lippincott Williams and Wilkins; 2012. 400 p.
- Westbrook C, Roth CK, Talbot J. MRI in Practice. 4th ed. John Wiley and Sons; 2011. 456 p.
- Taouli B, Beer AJ, Chenevert T, Collins D, Lehman C, Matos C, et al. Diffusion-weighted imaging outside the brain: Consensus statement from an ISMRM-sponsored workshop. J Magn Reson Imaging. 2016; 44 (3): 521–40.
- Leote J, Nunes R, Cerqueira L, Ferreira HA. Corticospinal MRI tractography in space-occupying brain lesions by diffusion tensor and kurtosis imaging methods. EJNMMI phys. 2015; 2 (Suppl 1): A82.
- Pinker K, Stadlbauer A, Bogner W, Gruber S, Helbich TH. Molecular imaging of cancer: MR spectroscopy and beyond. Eur J Radiol. 2012; 81 (3): 566–77.
- Rosen Y, Lenkinski RE. Recent advances in magnetic resonance neurospectroscopy. Neurotherapeutics. 2007; 4 (3): 330–45.
- Mabray MC, Barajas RF Jr, Cha S. Modern Brain Tumor Imaging. Brain Tumor Res Treat. 2015; 3 (1): 8–23.
- Schulz J, Boyacioglu R, Norris DG. Multiband multislab 3D time-of-flight magnetic resonance angiography for reduced acquisition time and improved sensitivity. Magn Reson Med. 2016; 75 (4): 1662–8.
- Griffith B, Jain R. Perfusion imaging in neuro-oncology: basic techniques and clinical applications. Radiol Clin North Am. 2015; 53 (3): 497–511.
- Uludağ K, Uğurbil K, Berliner L, editors. FMRI: From Nuclear Spins to Brain Functions. Springer US; 2015. 929 p.
- Weissleder R. Molecular imaging in cancer. Science. 2006; 312 (5777): 1168–71.
- Part 4: FDA-Approved PET/CT Tracers. In: Savir-Baruch B, Barron BJ. RadTool Nuclear Medicine Flash Facts. Springer International Publishing; 2016. 181–92.
- Buchbender C, Heusner TA, Lauenstein TC, Bokisch A, Antoch G. Oncologic PET/MRI, part 2: bone tumors, soft-tissue tumors, melanoma, and lymphoma. J Nucl Med. 2012; 53 (8): 1244–52.
- Tripathi RP. Recent trends in Molecular Imaging: PET/CT in Neurology. Ann Natl Acad Med Sci (India). 2014; 50 (1–2): 34–44.
- Долгушин М. Б., Оджарова А. А., Тулин П. Е., Вихрова Н. Б., Невзоров Д. И., Меньков М. А. и др. ПЭТ с <sup>18</sup>F-фторхолином при исследовании глиальных опухолей головного мозга. Медицинская визуализация. 2014; 3: 73–83.
- Lebron L, Greenspan D, Pandit-Taskar N. PET imaging of breast cancer: role in patient management. PET clin. 2015; Apr; 10 (2): 159–95.
- Kurihara H, Shimizu C, Miyakita Y, Yoshida M, Hamada A, Kanayama Y, et al. Molecular imaging using PET for breast cancer. Breast Cancer. 2016; 23 (1): 24–32.
- Михайлов А. И., Тулин П. Е. Двухэтапная ПЭТ/КТ с <sup>18</sup>F-фторхолином при биохимических рецидивах рака предстательной железы. Евразийский онкологический журнал. 2016; 2 (4): 388.
- Долгушин М. Б., Оджарова А. А., Михайлов А. И., Ширяев С. В., Тулин П. Е., Невзоров Д. И. и др. ПЭТ/КТ с <sup>18</sup>F-фторхолином в режиме двухэтапного сканирования при биохимических рецидивах рака предстательной железы. Онкоурология. 2015; 11 (2): 46–54.
- Prosper A, Jadvar H. A Guided Tour of PET in Prostate Cancer. J Nucl Med. 2016; 57 (Suppl 2): 1319.
- Barwick T. PET/CT imaging in prostate cancer. Cancer Imaging. 2015; 15 (Suppl 1): O15.
- Ambrosini V, et al. PET/CT in Neuroendocrine Tumours. In: Ambrosini V, Fanti S, editors. PET/CT in Neuroendocrine Tumors. Springer International Publishing; 2016. p. 45–53.
- Долгушин М. Б., Ширяев С. В., Оджарова А. А., Тулин П. Е., Невзоров Д. И. ПЭТ-диагностика в онкологии. Вестник Московского онкологического общества. 2015; 12 (603 Приложение): 63–74.
- Jambor I, Kuisma A, Ramadan S, Huovinen R, Sandell M, Kajander S, et al. Prospective evaluation of planar bone scintigraphy, SPECT, SPECT/CT, <sup>18</sup>F-NaF PET/CT and whole body <sup>1.5</sup> T MRI, including DWI, for the detection of bone metastases in high risk breast and prostate cancer patients: SKELETA clinical trial. Acta Oncol. 2016; 55 (1): 59–67.
- Epel B, Halpern H. Electron paramagnetic resonance oxygen imaging in vivo. In: Gilbert BC, Murphy DM, Chechik V, editors. Electron Paramagnetic Resonance. Vol. 23. RSC Publishing; 2013. p. 180–208.
- Matsumoto K, English S, Yoo J, Yamada K, Devasahayam N, Cook JA, et al. Pharmacokinetics of a triaryl-methyl-type paramagnetic spin probe used in EPR oximetry. Magnet Reson Med. 2004; 52 (4): 885–92.
- Elas M, Bell R, Hleihel D, Barth ED, McFaul C, Haney CR, et al. Electron paramagnetic resonance oxygen image hypoxic fraction plus radiation dose strongly correlates with tumor cure in FSA fibrosarcomas. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008; 71 (2): 542–9.
- Elas M, Magwood JM, Butler B, Li C, Wardak R, Barth ED, et al. EPR Oxygen Images Predict Tumor Control by a 50 % Tumor Control Radiation Dose. Cancer Res. 2013; 73 (17): 5328–35.
- Tatum JL, Kelloff GJ, Gillies RJ, Arbeit JM, Brown JM, Chao KS, et al. Hypoxia: Importance in tumor biology, noninvasive measurement by imaging, and value of its measurement in the management of cancer therapy. Int J Radiat Biol. 2006; 82 (10): 699–757.
- Ardenkjaer-Larsen JH, Laursen I, Leunbach I, Ehnholm G, Wistrand LG, Petersson JS, et al. EPR and DNP properties of certain novel single electron contrast agents intended for oximetric imaging. J Magn Reson 1998; 133 (1): 1–12.
- Epel B, Maggio C, Pelizzari C, Halpern HJ. Tumor oxygen-guided radiation therapy optimization. In: Oxygen Transport to Tissue XXXIX. Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer. [In prep.].

43. Shcherbakova DM, Verkhusha VV. Near-infrared fluorescent proteins for multicolor in vivo imaging. *Nat Methods*. 2013; 10 (8): 751–4.
44. Shcherbakova DM, Baloban M, Pletnev S, Malashkevich VN, Xiao H, Dauter Z, et al. Molecular Basis of Spectral Diversity in Near-Infrared Phytochrome-Based Fluorescent Proteins. *Chem Biol*. 2015; 22 (11): 1540–51.
45. Rummyantsev KA, Shcherbakova DM, Zakharova NI, Emelyanov AV, Turoverov KK, Verkhusha VV. Minimal domain of bacterial phytochrome required for chromophore binding and fluorescence. *Sci Rep*. 2015; 5: 18348.
46. Piatkevich KD, Subach FV, Verkhusha VV. Far-red light photoactivatable near-infrared fluorescent proteins engineered from a bacterial phytochrome. *Nat Commun*. 2013; 4: 2153.
47. Filonov GS, Verkhusha VV. A near-infrared BiFC reporter for in vivo imaging of protein-protein interactions. *Chem Biol*. 2013; 20 (8): 1078–86.
48. Tchekanda E, Sivanesan D, Michnick SW. An infrared reporter to detect spatiotemporal dynamics of protein-protein interactions. *Nat Methods*. 2014; 11 (6): 641–4.
49. Lu Y, Darne CD, Tan IC, Wu G, Wilganowski N, Robinson H, et al. In vivo imaging of orthotopic prostate cancer with far-red gene reporter fluorescence tomography and in vivo and ex vivo validation. *J Biomed Opt*. 2013; 18 (10): 101305.
50. Jiguet-Jiglaire C, Cayol M, Mathieu S, Jeanneau C, Bouvier-Labit C, Ouafik L, et al. Noninvasive near-infrared fluorescent protein-based imaging of tumor progression and metastases in deep organs and intrasosseous tissues. *J Biomed Opt*. 2014, 19 (1): 16019.
51. Agollah GD, Wu G, Sevic-Muraca EM, Kwon S. In vivo lymphatic imaging of a human inflammatory breast cancer model. *J Cancer*. 2014; 5 (9): 774–83.
52. Condeelis J, Weissleder R. In vivo imaging in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010 Dec; 2 (12): a003848.
53. Wang Y, Zhou M, Wang X, Qin G, Weintraub NL, Tang Y. Assessing in vitro stem-cell function and tracking engraftment of stem cells in ischaemic hearts by using novel iRFP gene labelling. *J Cell Mol Med*. 2014; 18 (9): 1889–94.
54. Tran MT, Tanaka J, Hamada M, Sugiyama Y, Sakaguchi S, Nakamura M, et al. In vivo image analysis using iRFP transgenic mice. *Exp Anim*. 2014; 63 (3): 311–9.
55. Fyk-Kolodziej B, Hellmer CB, Ichinose T. Marking cells with infrared fluorescent proteins to preserve photoresponsiveness in the retina. *Biotechniques*. 2014; 57 (5): 245–53.
56. Calvo-Alvarez, E.; Stamatakis, K.; Punzon, C.; Alvarez-Velilla, R.; Tejeria, A.; Escudero-Martinez, J. M.; Perez-Pertejo, Y.; Fresno, M.; Balana-Fouce, R.; Reguera, R. M. Infrared fluorescent imaging as a potent tool for in vitro, ex vivo and in vivo models of visceral leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015; 9 (3): e0003666.
57. Yao J, Kaberniuk AA, Li L, Shcherbakova DM, Zhang R, Wang L, et al. Multiscale photoacoustic tomography using reversibly switchable bacterial phytochrome as a near-infrared photochromic probe. *Nat Methods*. 2016, 13 (1): 67–73.
58. Zagoudis J, Fornell D. The Latest in Ultrasound Technology. *Diagnostic and Interventional Cardiology [Интернет]*. 12 февраля 2016 г. Доступно по ссылке: <http://www.dicardiology.com/article/latest-ultrasound-technology>.
59. Kwon HW, Becker AK, Goo JM, Cheon GJ. FDG Whole-Body PET/MRI in Oncology: A Systematic Review. *Nucl Med Mol Imaging*. Epub 2016 Apr 7.
60. Vandenberghe S, Marsden PK. PET-MRI: a review of challenges and solutions in the development of integrated multimodality imaging. *Phys Med Biol*. 2015; 60 (4): R115–54.
61. Deliolanis NC, Ale A, Morscher S, Burton NC, Schaefer K, Radrich K, et al. Deep-tissue reporter-gene imaging with fluorescence and photoacoustic tomography: a performance overview. *Mol Imaging Biol*. 2014; 16 (5): 652–60.
62. Krumholz A, Shcherbakova DM, Xia J, Wang LV, Verkhusha VV. Multicontrast photoacoustic in vivo imaging using near-infrared fluorescent proteins. *Sci Rep*. 2014; 4: 3939.

References

1. Osipov LV. Ul'trazvukovye diagnosticheskie pribory: rezhimy, metody i tekhnologii. Moscow: Izomed; 2011. 316 p. Russian.
2. Osipov LV. Tekhnologii elastografii v ul'trazvukovoy diagnostike. *Obzor. Meditsinskiy afavit: Diagnosticheskaya radiologiya i onkoterapiya*. 2013; 3–4: 5–22. Russian.
3. Medimaging International staff writers. Poll's Findings Reveal Adaptable Imaging Systems to Transform Ultrasound Imaging. *Medimaging.net*. 2013 Sep 30.
4. Tai A. XDclear Transducer Technology [Internet]. GE Healthcare; c2016– [cited: 2016 Aug]. Available from: <http://www3.gehealthcare.com/en>.
5. Seeram E. Computed tomography: physical principles, clinical applications, and quality control. 4th ed. Saunders; 2015. 576 p.
6. Sun Z. Coronary Virtual Intravascular Endoscopy. In: Tintoiu IC, Underwood MJ, Cook SP, Kitabata H, Abbas A, editors. *Coronary Graft Failure*. Springer International Publishing; 2016. p. 55–70.
7. Schuhbaeck A, Achenbach S, Layritz C, Eisentopf J, Hecker F, Pflederer T, et al. Image quality of ultra-low radiation exposure coronary CT angiography with an effective dose <0.1 mSv using high-pitch spiral acquisition and raw data-based iterative reconstruction. *Eur Radiol*. 2013; 23 (3): 597–606.
8. Bammer R. MR and CT Perfusion and Pharmacokinetic Imaging: Clinical Applications and Theory. Lippincott Williams and Wilkins; 2016. 1296 p.
9. Carrascosa PM, Garcia MJ, Cury RC, Leipsic JA. Dual-Energy CT. In: Carrascosa PM, Cury RC, Garcia MJ, Leipsic JA, editors. *Dual-Energy CT in Cardiovascular Imaging*. Springer International Publishing; 2015. p. 3–9.
10. Patino M, Prochowski A, Agrawal MD, Simeone FJ, Gupta R, Hahn PF, et al. Material Separation Using Dual-Energy CT: Current and Emerging Applications. *Radiographics*. 2016; 36 (4): 1087–105.
11. Fritz J, Henes JC, Fuld MK, Fishman EK, Horger MS. Dual-Energy Computed Tomography of the Knee, Ankle, and Foot: Noninvasive Diagnosis of Gout and Quantification of Monosodium Urate in Tendons and Ligaments. *Semin Musculoskelet Radiol*. 2016; 20 (1): 130–6.
12. Hashemi RH, Bradley WG, Lisanti CJ. MRI: The Basics. 3d ed. Lippincott Williams and Wilkins; 2012. 400 p.
13. Westbrook C, Roth CK, Talbot J. MRI in Practice. 4th ed. John Wiley and Sons; 2011. 456 p.
14. Taouli B, Beer AJ, Chenevert T, Collins D, Lehman C, Matos C, et al. Diffusion-weighted imaging outside the brain: Consensus statement from an ISMRM-sponsored workshop. *J Magn Reson Imaging*. 2016; 44 (3): 521–40.
15. Leote J, Nunes R, Cerqueira L, Ferreira HA. Corticospinal MRI tractography in space-occupying brain lesions by diffusion tensor and kurtosis imaging methods. *EJNMMI phys*. 2015; 2 (Suppl 1): A82.
16. Pinker K, Stadlbauer A, Bogner W, Gruber S, Helbich TH. Molecular imaging of cancer: MR spectroscopy and beyond. *Eur J Radiol*. 2012; 81 (3): 566–77.
17. Rosen Y, Lenkinski RE. Recent advances in magnetic resonance neurospectroscopy. *Neurotherapeutics*. 2007; 4 (3): 330–45.
18. Mabray MC, Barajas RF Jr, Cha S. Modern Brain Tumor Imaging. *Brain Tumor Res Treat*. 2015; 3 (1): 8–23.
19. Schulz J, Boyacioglu R, Norris DG. Multiband multislab 3D time-of-flight magnetic resonance angiography for reduced acquisition time and improved sensitivity. *Magn Reson Med*. 2016; 75 (4): 1662–8.
20. Griffith B, Jain R. Perfusion imaging in neuro-oncology: basic techniques and clinical applications. *Radiol Clin North Am*. 2015; 53 (3): 497–511.
21. Uludağ K, Uğurbil K, Berliner L, editors. *fMRI: From Nuclear Spins to Brain Functions*. Springer US; 2015. 929 p.
22. Weissleder R. Molecular imaging in cancer. *Science*. 2006; 312 (5777): 1168–71.
23. Part 4: FDA-Approved PET/CT Tracers. In: Savir-Baruch B,

- Barron BJ. RadTool Nuclear Medicine Flash Facts. Springer International Publishing; 2016. 181–92.
24. Buchbender C, Heusner TA, Lauenstein TC, Bokisch A, Antoch G. Oncologic PET/MRI, part 2: bone tumors, soft-tissue tumors, melanoma, and lymphoma. *J Nucl Med.* 2012; 53 (8): 1244–52.
  25. Tripathi RP. Recent trends in Molecular Imaging: PET/CT in Neurology. *Ann Natl Acad Med Sci (India).* 2014; 50 (1–2): 34–44.
  26. Dolgushin MB, Odzharova AA, Tulin PE, Vikhrova NB, Nevzorov DI, Menkov MA, et al. [Use of <sup>18</sup>F-choline PET in Cerebral Gliomas]. *Medical Visualization.* 2014; 3: 73–83. Russian.
  27. Lebron L, Greenspan D, Pandit-Taskar N. PET imaging of breast cancer: role in patient management. *PET clin.* 2015; Apr; 10 (2): 159–95.
  28. Kurihara H, Shimizu C, Miyakita Y, Yoshida M, Hamada A, Kanayama Y, et al. Molecular imaging using PET for breast cancer. *Breast Cancer.* 2016; 23 (1): 24–32.
  29. Mikhaylov AI, Tulin PE. Dvukhetapnaya PET/KT s <sup>18</sup>F-ftorkholinom pri biokhimiicheskikh retsidivakh raka predstatel'noy zhelezy. *Evrzyskiy onkologicheskiy zhurnal.* 2016; 2 (4): 388. Russian.
  30. Dolgushin MB, Odzharova AA, Mikhaylov AI, Shiryaev SV, Tulin PE, Nevzorov DI, et al. [Dual-stage <sup>18</sup>F-fluorocholine PET/CT scanning for biochemical recurrences of prostate cancer]. *Cancer Urology.* 2015; 11 (2): 46–54. Russian.
  31. Prosper A, Jadvar H. A Guided Tour of PET in Prostate Cancer. *J Nucl Med.* 2016; 57 (Suppl 2): 1319.
  32. Barwick T. PET/CT imaging in prostate cancer. *Cancer Imaging.* 2015; 15 (Suppl 1): O15.
  33. Ambrosini V, et al. PET/CT in Neuroendocrine Tumours. In: Ambrosini V, Fanti S, editors. *PET/CT in Neuroendocrine Tumours.* Springer International Publishing; 2016. p. 45–53.
  34. Dolgushin MB, Shiryaev SV, Odzharova AA, Mikhaylov AI, Tulin PE, Nevzorov DI. PET-diagnostika v onkologii. *Vestnik Moskovskogo onkologicheskogo obshchestva.* 2015; 12 (603 Suppl): 63–74. Russian.
  35. Jambor I, Kuisma A, Ramadan S, Huovinen R, Sandell M, Kajander S, et al. Prospective evaluation of planar bone scintigraphy, SPECT, SPECT/CT, <sup>18</sup>F-NaF PET/CT and whole body 1.5 T MRI, including DWI, for the detection of bone metastases in high risk breast and prostate cancer patients: SKLETA clinical trial. *Acta Oncol.* 2016; 55 (1): 59–67.
  36. Epel B, Halpern H. Electron paramagnetic resonance oxygen imaging in vivo. In: Gilbert BC, Murphy DM, Chechik V, editors. *Electron Paramagnetic Resonance.* Vol. 23. RSC Publishing; 2013. p. 180–208.
  37. Matsumoto K, English S, Yoo J, Yamada K, Devasaharyam N, Cook JA, et al. Pharmacokinetics of a triarylmethyl-type paramagnetic spin probe used in EPR oximetry. *Magnet Reson Med.* 2004; 52 (4): 885–92.
  38. Elas M, Bell R, Hleihel D, Barth ED, McFaul C, Haney CR, et al. Electron paramagnetic resonance oxygen image hypoxic fraction plus radiation dose strongly correlates with tumor cure in FSA fibrosarcomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008; 71 (2): 542–9.
  39. Elas M, Magwood JM, Butler B, Li C, Wardak R, Barth ED, et al. EPR Oxygen Images Predict Tumor Control by a 50 % Tumor Control Radiation Dose. *Cancer Res.* 2013; 73 (17): 5328–35.
  40. Tatum JL, Kelloff GJ, Gillies RJ, Arbeit JM, Brown JM, Chao KS, et al. Hypoxia: Importance in tumor biology, noninvasive measurement by imaging, and value of its measurement in the management of cancer therapy. *Int J Radiat Biol.* 2006; 82 (10): 699–757.
  41. Ardenkjaer-Larsen JH, Laursen I, Leunbach I, Ehnholm G, Wistrand LG, Petersson JS, et al. EPR and DNP properties of certain novel single electron contrast agents intended for oximetric imaging. *J Magn Reson* 1998; 133 (1): 1–12.
  42. Epel B, Maggio C, Pelizzari C, Halpern HJ. Tumor oxygen-guided radiation therapy optimization. In: *Oxygen Transport to Tissue XXXIX.* Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer. [In prep.].
  43. Shcherbakova DM, Verkhusha VV. Near-infrared fluorescent proteins for multicolor in vivo imaging. *Nat Methods.* 2013; 10 (8): 751–4.
  44. Shcherbakova DM, Balaban M, Pletnev S, Malashkevich VN, Xiao H, Dauter Z, et al. Molecular Basis of Spectral Diversity in Near-Infrared Phytochrome-Based Fluorescent Proteins. *Chem Biol.* 2015; 22 (11): 1540–51.
  45. Rumyantsev KA, Shcherbakova DM, Zakharova NI, Emelyanov AV, Turoverov KK, Verkhusha VV. Minimal domain of bacterial phytochrome required for chromophore binding and fluorescence. *Sci Rep.* 2015; 5: 18348.
  46. Piatkevich KD, Subach FV, Verkhusha VV. Far-red light photoactivatable near-infrared fluorescent proteins engineered from a bacterial phytochrome. *Nat Commun.* 2013; 4: 2153.
  47. Filonov GS, Verkhusha VV. A near-infrared BiFC reporter for in vivo imaging of protein-protein interactions. *Chem Biol.* 2013; 20 (8): 1078–86.
  48. Tchekanda E, Sivanesan D, Michnick SW. An infrared reporter to detect spatiotemporal dynamics of protein-protein interactions. *Nat Methods.* 2014; 11 (6): 641–4.
  49. Lu Y, Darne CD, Tan IC, Wu G, Wilganowski N, Robinson H, et al. In vivo imaging of orthotopic prostate cancer with far-red gene reporter fluorescence tomography and in vivo and ex vivo validation. *J Biomed Opt.* 2013; 18 (10): 101305.
  50. Jiguet-Jiglaire C, Cayol M, Mathieu S, Jeanneau C, Bouvier-Labit C, Ouafik L, et al. Noninvasive near-infrared fluorescent protein-based imaging of tumor progression and metastases in deep organs and intraosseous tissues. *J Biomed Opt.* 2014; 19 (1): 16019.
  51. Agollah GD, Wu G, Sevic-Muraca EM, Kwon S. In vivo lymphatic imaging of a human inflammatory breast cancer model. *J Cancer.* 2014; 5 (9): 774–83.
  52. Condeelis J, Weissleder R. In vivo imaging in cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2010 Dec; 2 (12): a003848.
  53. Wang Y, Zhou M, Wang X, Qin G, Weintraub NL, Tang Y. Assessing in vitro stem-cell function and tracking engraftment of stem cells in ischaemic hearts by using novel iRFP gene labelling. *J Cell Mol Med.* 2014; 18 (9): 1889–94.
  54. Tran MT, Tanaka J, Hamada M, Sugiyama Y, Sakaguchi S, Nakamura M, et al. In vivo image analysis using iRFP transgenic mice. *Exp Anim.* 2014; 63 (3): 311–9.
  55. Fyk-Kolodziej B, Hellmer CB, Ichinose T. Marking cells with infrared fluorescent proteins to preserve photoresponsiveness in the retina. *Biotechniques.* 2014; 57 (5): 245–53.
  56. Calvo-Alvarez, E.; Stamatakis, K.; Punzon, C.; Alvarez-Velilla, R.; Tejeria, A.; Escudero-Martinez, J. M.; Perez-Pertejo, Y.; Fresno, M.; Balana-Fouce, R.; Reguera, R. M. Infrared fluorescent imaging as a potent tool for in vitro, ex vivo and in vivo models of visceral leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015; 9 (3): e0003666.
  57. Yao J, Kaberniuk AA, Li L, Shcherbakova DM, Zhang R, Wang L, et al. Multiscale photoacoustic tomography using reversibly switchable bacterial phytochrome as a near-infrared photochromic probe. *Nat Methods.* 2016, 13 (1): 67–73.
  58. Zagoudis J, Fornell D. The Latest in Ultrasound Technology. *Diagnostic and Interventional Cardiology* [Internet]. 2016 Feb 12. Available from: <http://www.dicardiology.com/article/latest-ultrasound-technology>.
  59. Kwon HW, Becker AK, Goo JM, Cheon GJ. FDG Whole-Body PET/MRI in Oncology: A Systematic Review. *Nucl Med Mol Imaging.* Epub 2016 Apr 7.
  60. Vandenberghe S, Marsden PK. PET-MRI: a review of challenges and solutions in the development of integrated multimodality imaging. *Phys Med Biol.* 2015; 60 (4): R115–54.
  61. Deliolanis NC, Ale A, Morscher S, Burton NC, Schaefer K, Radrich K, et al. Deep-tissue reporter-gene imaging with fluorescence and photoacoustic tomography: a performance overview. *Mol Imaging Biol.* 2014; 16 (5): 652–60.
  62. Krumholz A, Shcherbakova DM, Xia J, Wang LV, Verkhusha VV. Multicontrast photoacoustic in vivo imaging using near-infrared fluorescent proteins. *Sci Rep.* 2014; 4: 3939.

## ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ИЗМЕНЕНИЙ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТКАХ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ

Н. В. Клементьева<sup>1✉</sup>, О. Е. Фурман<sup>1,2</sup>, А. С. Мишин<sup>1,3</sup>, К. А. Лукьянов<sup>1,3</sup>, Е. В. Загайнова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт биомедицинских технологий, Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

<sup>2</sup> Нижегородский национальный исследовательский государственный университет имени Н. И. Лобачевского, Нижний Новгород

<sup>3</sup> Лаборатория биофотоники, отдел геномики и постгеномных технологий, Институт биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

Структурные особенности организации актина и актин-связывающих белков могут служить критериями оценки агрессивности различных популяций клеток злокачественных солидных опухолей. В настоящей работе мы изучили воздействие химиотерапевтических препаратов паклитаксел и цисплатин на структуру актина и альфа-актинина клеток рака шейки матки человека HeLa Kyoto с помощью флуоресцентной микроскопии полного внутреннего отражения и микроскопии сверхвысокого разрешения с детекцией одиночных молекул. Было показано, что паклитаксел вызывает существенные нарушения структуры актинового цитоскелета опухолевых клеток, затрагивающие как актин, так и альфа-актинин: исчезновение стресс-фибрилл, сосредоточение филаментов в кортикальном слое клеток, изменения морфологии фокальных контактов. Для цисплатина удалось детектировать сниженное содержание тонких волокон актина и более компактное расположение альфа-актинина. Полученные данные позволяют рассматривать актиновый цитоскелет как дополнительную мишень противоопухолевой химиотерапии.

**Ключевые слова:** актин, альфа-актинин, микрофиламенты, культура клеток рака шейки матки, паклитаксел, цисплатин, флуоресцентная визуализация

**Финансирование:** работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-25-00129).

**Благодарности:** авторы благодарят Центр коллективного пользования ИБХ РАН за предоставленное оборудование.

✉ **Для корреспонденции:** Клементьева Наталия Владимировна  
603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1; nvklementieva@gmail.com

**Статья поступила:** 15.08.2016 **Статья принята к печати:** 25.08.2016

## FLUORESCENCE IMAGING OF ACTIN CYTOSKELETON CHANGES IN CANCER CELLS UPON CHEMOTHERAPY

Klementieva NV<sup>1✉</sup>, Furman OE<sup>1,2</sup>, Mishin AS<sup>1,3</sup>, Lukyanov KA<sup>1,3</sup>, Zagaynova EV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Biomedical Technologies, Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup> Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod – National Research University, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>3</sup> Laboratory of Biophotonics, Department of Genetics and Postgenomic Technologies, M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Structural organization of actin and actin-binding proteins can be a hallmark of aggressiveness among various populations of solid tumor cells. Here, we studied the impact of chemotherapeutic drugs (paclitaxel and cisplatin) on actin and alpha-actinin structural patterns in human cervical adenocarcinoma cell culture HeLa Kyoto using total internal reflection fluorescence microscopy and single-molecule localization super-resolution microscopy. It was shown that paclitaxel causes disruption of actin cytoskeleton in cancer cells, both for actin and alpha-actinin. We observed disappearance of stress fibers, accumulation of filaments in the cell cortex and morphological changes in focal contacts. With cisplatin, we detected a lower number of thin actin bundles and more dense arrangement of alpha-actinin. Our results suggest that the actin cytoskeleton is a potential target for antitumor chemotherapy.

**Keywords:** actin, alpha-actinin, microfilaments, cervical carcinoma cell culture, paclitaxel, cisplatin, fluorescence imaging

**Funding:** this work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 14-25-00129).

**Acknowledgement:** authors thank the IBCH Core Facility for the equipment.

✉ **Correspondence should be addressed:** Natalia Klementieva  
pl. Minina i Pozharskogo, d. 10/1, Nizhny Novgorod, Russia, 603005; nvklementieva@gmail.com

**Received:** 15.08.2016 **Accepted:** 25.08.2016



Актин и актин-связывающие белки являются компонентами цитоскелета клетки, формирующими систему микрофиламентов. Они вовлечены во множество процессов, такие как рост, подвижность, деление клетки, регуляция транскрипции, клеточно-матриксные и межклеточные взаимодействия. Актиновый цитоскелет также участвует в сигнальных каскадах, во внутриклеточном транспорте белков и органелл [1]. В клетках постоянно идут энергозависимые процессы полимеризации и деполимеризации актина, а сборка его новых нитей (микрофиламентов) сопровождается формированием специализированных структур, таких как стресс-фибриллы, филоподии, ламеллоподии и др. Перестройки актина и актин-связывающих белков могут указывать на нарушения в работе клетки и быть признаком ее злокачественной трансформации [2]. Раковые клетки используют различные механизмы для выживания и роста опухоли, в том числе изменение адгезивных и механических свойств. Структура актинового цитоскелета может определять такие характеристики опухолевых клеток, как ригидность, подвижность и инвазивность [3].

Исследование структуры актинового цитоскелета важно для понимания механизма действия того или иного противоопухолевого препарата. Так, посредством визуализации изменений в системе актиновых волокон был продемонстрирован эффект воздействия малых интерферирующих РНК, применяемых для ингибирования пролиферации раковых клеток [4]. Характер организации актина послужил также одним из критериев восприимчивости клеток рака легкого к химиопрепаратам [5]. Кроме того, актин как потенциальный регулятор развития опухолей и метастазов может сам выступать мишенью для химиотерапии [6, 7]. Однако доступные на сегодня соединения, специфически нарушающие организацию микрофиламентов, высокотоксичны и пока не нашли применения в клинической практике.

Перспективным представляется исследование особенностей реакции актиновой сети на терапию противоопухолевыми препаратами, адаптированными для лечения онкологических больных. Злокачественные опухоли, как правило, гетерогенны, и для их успешной элиминации необходимо уничтожение самых агрессивных клеточных популяций. Показано, что в клетках, способных к формированию метастазов, наблюдаются наиболее выраженные перестройки актинового цитоскелета [8, 9]. Определение характера реорганизации актина в ответ на стандартную химиотерапию важно для обнаружения потенциально метастазирующих клеток опухоли.

Целью нашего исследования являлось изучение структурных перестроек в системе актинового цитоскелета в опухолевых клетках при воздействии противоопухолевых препаратов паклитаксела и цисплатина, используемых в клинической практике.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на клеточной линии HeLa Kyoto (рак шейки матки человека). Клетки культивировали в среде DMEM («ПанЭко», Россия) с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки (10 %) (HyClone, GE Healthcare Life Sciences, США), глутамина (2 mM) («ПанЭко»), стрептомицина (50 мкг/мл) («ПанЭко») и пенициллина (50 ед./мл) («ПанЭко») в условиях содержания в воздухе 5 % CO<sub>2</sub> и при температуре 37 °C.

Применяли препараты паклитаксел («Таксол», Bristol-Myers Squibb, США) и цисплатин («Цисплатин-Тева», Teva Pharmachemie, Нидерланды). В качестве контрольного соединения использовали цитохалазин D (Enzo Life Sciences, США) — ингибитор полимеризации актина. Для вычисления полулетальных концентраций препаратов использовали МТТ-тест [10], время инкубации клеток с препаратом — 24 ч. Показания оптической плотности красителя считывали на планшетном фотометре Synergy Mx (BioTek, США) на длинах волн 570 и 630 нм.

Клетки высевали на чашки со стеклянным дном диаметром 35 мм FluoroDish (WPI, США) в количестве 200 тыс. На следующие сутки в опытных чашках производили замену питательной среды на среду с препаратом в полулетальной концентрации и инкубировали культуру в течение 24 ч в стандартных условиях. Контролем служили клетки без добавления препарата. После этого клетки единожды промывали раствором DPBS («ПанЭко»), добавляли 1 мл среды FluoroBrite DMEM (Thermo Fisher Scientific, США) и окрашивали.

Для мечения актина использовали краситель SiR-actin (Spirochrome, Швейцария) в концентрации 0,5 мкМ, для мечения ядер — краситель Hoechst 33342 (Thermo Fisher Scientific) в концентрации 5 мкг/мл. Окрашивали в течение 30 мин, после чего проводили флуоресцентную визуализацию. SiR-actin [11] обеспечивал мечение эндогенного актина в живых клетках без фиксации и отмывок образца после окрашивания. Эксперимент включал микросъемку контрольного образца и образцов (по одному) с паклитакселом, цисплатином и цитохалазином D. Каждый образец оценивали в 10 полях зрения.

Для мечения альфа-актина использовали плазмидный вектор rTagRFP-actinin («Евроген», Россия). Клетки были временно трансфицированы им с помощью реагента X-tremeGene 9 (Roche, США) по методике производителя. Спустя сутки после трансфекции клетки инкубировали с препаратом в полулетальной концентрации в течение 24 ч. Перед проведением флуоресцентной микроскопии клетки промывали раствором DPBS и добавляли 1 мл среды MEM (Sigma-Aldrich, США). Исследовали контрольный образец и опытные образцы (по одному) с паклитакселом, цисплатином и цитохалазином D. Каждый образец оценивали в 5–6 полях зрения.

Флуоресцентный имиджинг осуществляли на инвертированном микроскопе Nikon Eclipse Ti (Nikon, Япония), оснащенном объективом со стократным увеличением, масляной иммерсией Apo TIRF/1.49 (Nikon) и EM-CCD-камерой iXon3 DU-897 (Andor, Великобритания). Для детекции сигнала флуоресценции красителя SiR-actin использовали широкополосный фильтр C-NSTORM QUAD (Nikon) и лазер с длиной волны 640 нм (плотность мощности — 7,8 Вт/см<sup>2</sup>). Для красителя Hoechst 33342 использовали флуоресцентную лампу Nikon Intensilight и фильтр флуоресценции BV-2A. Актиновый цитоскелет визуализировали с помощью микроскопии полного внутреннего отражения (Total Internal Reflection Fluorescence microscopy, TIRF). Выбор TIRF-режима был обусловлен тем, что он позволяет наблюдать примембранный слой клетки толщиной не более 200 нм, обеспечивая наилучшее соотношение сигнал/шум, и оптимален при проведении локализационной микроскопии сверхвысокого разрешения с детекцией одиночных молекул. Обработку данных осуществляли с помощью программного обеспечения Fiji [12]. Микроскопию сверхвысокого разрешения на основе TagRFP проводили по методике, описанной нами ранее [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе исследования мы определили концентрации препаратов, необходимые для проведения химиотерапии выбранной культуры клеток. По результатам МТТ-теста были построены кривые зависимости жизнеспособности клеток HeLa Kyoto от концентрации препаратов, по которым мы рассчитали их полулетальные концентрации: для паклитаксела — 45 нМ для цисплатина — 7 мкМ, для цитохалазина D — 12,5 мкМ.

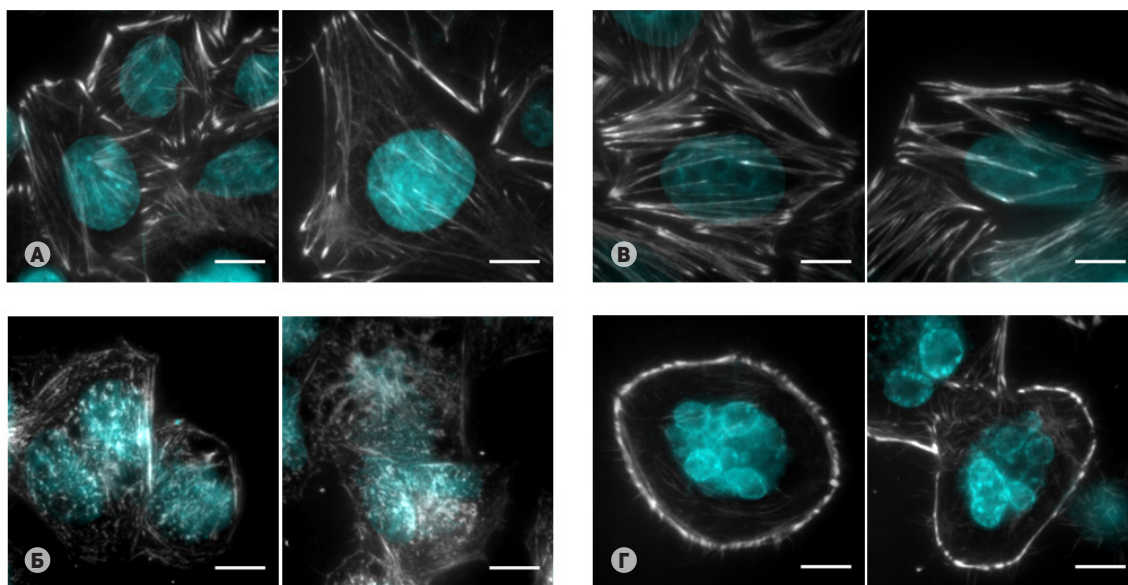
Затем мы оценили эффекты воздействия препаратов на структуру актинового цитоскелета в опухолевых клетках с помощью флуоресцентной микроскопии. На рис. 1А показаны типичные клетки HeLa Kyoto в контрольном образце, окрашенные SiR-actin. Актиновый скелет в них характеризуется наличием богатой сети из протяженных стресс-фибрилл, пронизывающих цитоплазму в разных направлениях, имеются выпячивания на ведущем крае клетки с высокой плотностью актина в кортикальном слое, а также детектируется паутинообразная сеть из тонких микрофиламентов, заполняющих всю цитоплазму. В образце с цитохалазином D типичные стресс-фибриллы в клетках не наблюдаются. Для их сборки требуется формирование филаментов актина из мономерного белка, а в присутствии цитохалазина D этот процесс затруднен. Характерно наличие равномерно рассредоточенных по цитоплазме коротких филаментов и точечных структур актина. Только во внешнем примембранном слое наблюдаются редкие остатки стресс-фибрилл. Клетки имеют более округлую форму и лишены выступов на ведущем крае (рис. 2Б). В образце с цисплатином значительные нарушения в организации микрофиламентов не обнаруживаются. Отмечается типичная для клеток HeLa Kyoto неправильная форма с множеством стресс-фибрилл, свойственных распластанным клеткам. Вместе с тем, в отличие от контрольного образца, после воздействия цисплатина отсутствуют сеть из тонких микрофиламентов и скопления актина в кортикальном слое клеток (рис. 1В). В образце с паклитакселом детектируются более сильные перестройки актинового

цитоскелета, чем в образце с цисплатином. Так, клетки практически лишены выпячиваний цитоплазмы и демонстрируют тенденцию к ошариванию. Актин сосредоточен в основном в кортикальном слое. В клетках выявляются редкие волокна микрофиламентов при полном отсутствии стресс-фибрилл (рис. 1Г). Следует отметить, что большинство клеток имеет многоядерный фенотип.

Более тонкую оценку изменений в системе микрофиламентов провели с помощью флуоресцентной микроскопии сверхвысокого разрешения, основанной на локализации одиночных молекул флуорофора. Визуализировали ультраструктуру актин-связывающего белка альфа-актинина. В клетках контрольного образца наблюдается обычное распределение альфа-актинина, в норме расположенного вдоль актиновых пучков. Филаменты актин-связывающего белка заполняют всю цитоплазму, формируя небольшие утолщения в области фокальных контактов (рис. 2А). Под воздействием цитохалазина D наблюдается полная разборка волокон альфа-актинина, что согласуется с характером агрегации актина и утратой протяженных стресс-фибрилл. Детектируются точечные (диаметром 200–250 нм) структуры альфа-актинина, равномерно распределенные по клетке (рис. 2Б). После воздействия паклитаксела клетки приобретают округлую форму, теряют выпячивания и стресс-фибриллы. Альфа-актинин концентрируется в кортикальном слое клеток. На субдифракционном изображении видно существенное утолщение фибрилл в области фокальных контактов и их сближение между собой (рис. 2В). Наименее выраженные изменения отмечаются после химиотерапии цисплатином. Клетки неправильной формы имеют характерную исчерченность цитоскелета (рис. 2Г). Среди структурных изменений можно отметить более плотную упаковку волокон альфа-актинина.

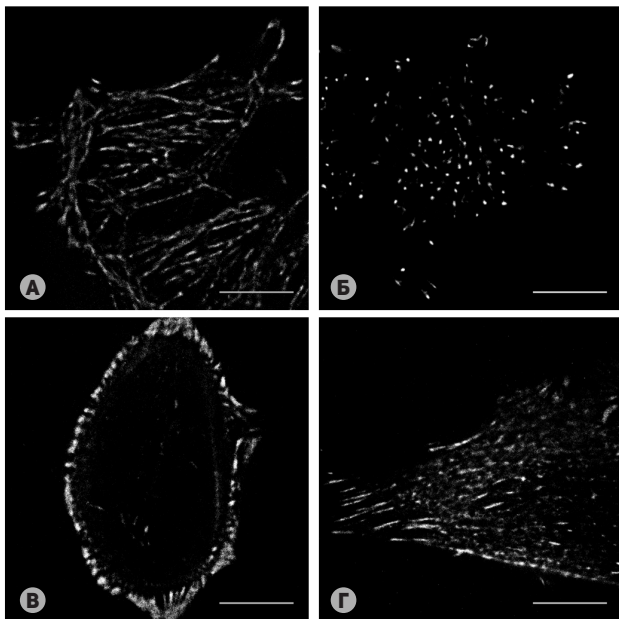
ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В работе был исследован эффект воздействия химиотерапевтических препаратов паклитаксела и цисплатина на структуру актинового цитоскелета.



**Рис. 1.** Эффекты воздействия химиотерапевтических агентов в полулетальных концентрациях на структуру актина в культуре клеток рака шейки матки HeLa Kyoto. (А) Клетки контрольного образца. (Б) Клетки после инкубации с цитохалазином D. (В) Клетки после инкубации с цисплатином. (Г) Клетки после инкубации с паклитакселом

Флуоресцентная TIRF-микроскопия, окраска красителями SiR-actin (Spirochrome, Швейцария) и Hoechst 33342 (Thermo Fisher Scientific, США). Актиновый цитоскелет и ядра показаны серым и голубым соответственно. Масштабная линейка — 10 мкм.



**Рис. 2.** Флуоресцентная микроскопия сверхвысокого разрешения с детекцией одиночных молекул альфа-актина, меченного флуоресцентным белком TagRFP, в культуре клеток рака шейки матки HeLa Kyoto. **(А)** Клетки контрольного образца. **(Б)** Клетки после инкубации с цитохалазином D. **(В)** Клетки после инкубации с паклитакселом. **(Г)** Клетки после инкубации с цисплатином.

Все химиотерапевтические агенты добавляли в полулетальных концентрациях. Масштабная линейка — 10 мкм.

Механизм действия паклитаксела, относящегося к классу таксанов, связывают с блокированием работы тубулинового аппарата клетки: стабилизация процесса сборки мономеров бета-тубулина приводит к остановке пролиферации клеток. В работе Murakami и соавт. [14] показано, что терапия соединениями таксанового ряда способствует снижению содержания альфа-актина в стромальных клетках опухоли молочной железы. Наши данные свидетельствуют о том, что, помимо микротрубочек, в реакции клеток рака шейки матки на лечение паклитакселом активно задействована система микрофиламентов. Обнаруженная нами значительная реорганизация актина (разреженные тонкие изогнутые филаменты в отсутствие стресс-фибрилл) согласуется с результатами, полученными на линии клеток рака молочной железы MCF7 при воздействии таксанов [15].

Интересно, что в большинстве клеток после инкубации культуры с паклитакселом мы наблюдали многоядерность. Показано, что связывание химиопрепарата с бета-тубулином ведет к аккумуляции клеток в фазе G2/M, полиплоидии и апоптозу [16, 17]. Перестройки в актиновом цитоскелете, которые мы детектировали в клеточной культуре HeLa Kyoto, также косвенно могут быть связаны с многоядерностью. Известно, что в нормальных многоядерных клетках, например в остеокластах, актин претерпевает значительные изменения и представлен в основном точечными структурами, формирующими подосомы [18]. Пока-

зано, что в культуре клеток-производных HeLa наблюдаются гигантские многоядерные клетки, в которых актиновый цитоскелет сосредоточен в микрошипиках на периферии клетки и точечных структурах, подобных подосомам [19].

Что касается цисплатина, то пока не установлено прямой связи его терапевтического эффекта с влиянием на актиновые волокна. Механизм действия цисплатина объясняют способностью ионов платины в его составе образовывать сшивки с пуриновыми основаниями ДНК. Это препятствует репарации ДНК, вызывая ее повреждение, которые индуцируют апоптоз в раковых клетках [20]. Тем не менее, существует ряд работ по проблеме развития устойчивости опухолевых клеток к данному препарату и роли актина в этом процессе. Так, у цисплатин-резистентных клеток отмечается изменение уровня экспрессии различных белков цитоскелета, в том числе актина, проявляющееся в нарушениях свойственной опухолевым клеткам динамики актин-филаминной системы [21, 22]. Sharma и соавт. сообщили, что в клетках рака яичника OVCAR5, резистентных к цисплатину, наблюдаются значительные отличия в организации и механических свойствах актиновых волокон по сравнению с обычной культурой [23]. В этой работе для визуализации актина применили микроскопию сверхвысокого разрешения, что позволило выявить различия на уровне субдифракционных структур, таких как индивидуальные пучки и уплотнения межклеточных контактов. Согласно полученным нами результатам, цисплатин имеет менее выраженное по сравнению с паклитакселом воздействие на актиновый скелет клеток HeLa Kyoto. Вместе с тем данные микроскопии сверхвысокого разрешения указывают на изменение плотности упаковки микрофиламентов, что потенциально может приводить к затруднению функционирования опухолевой клетки.

## ВЫВОДЫ

В данной работе с помощью флуоресцентной микроскопии мы изучили влияние двух химиопрепаратов — паклитаксела и цисплатина — на актиновый цитоскелет клеток рака шейки матки HeLa Kyoto. Было обнаружено, что паклитаксел вызывает сильную перестройку актинового цитоскелета, выражающуюся в разборке стресс-фибрилл, сосредоточении актина в кортикальном слое клеток, утолщении и сближении фокальных контактов. Цисплатин вызывал меньшие изменения: некоторое снижение количества тонких пучков микрофиламентов и более плотную упаковку альфа-актина. Обнаруженные нами структурные изменения актинового цитоскелета под действием препаратов, не имеющих против него специфической направленности, могут указывать на наличие дополнительной клеточной мишени в борьбе с опухолью. Возможно, такая реорганизация системы микрофиламентов влияет на инвазивные и метастатические свойства клеток солидной опухоли *in vivo*. Мы планируем продолжить исследование влияния химиотерапии на структуру актинового цитоскелета на мышиных опухолевых моделях.

## Литература

1. Bezanilla M, Gladfelter AS, Kovar DR, Wei-Lih L. Cytoskeletal dynamics: A view from the membrane. *J Cell Biol.* 2015; May 11; 209 (3): 329–37.
2. Шутова М. С., Александрова А. Ю. Сравнительное исследование

распластывания нормальных и трансформированных фибробластов. Роль полимеризации микрофиламентов и актин-миозинового сокращения. *Цитология.* 2010; 52 (1): 41–51.

3. Stevenson RP, Veltman D, Machesky LM. Actin-bundling proteins in cancer progression at a glance. *J Cell Sci.* 2012; 125 (Pt 5): 1073–9.
4. Groth-Pedersen L, Aits S, Corcelle-Termeau E, Petersen NHT, Nylandsted J, Jäättelä M. Identification of Cytoskeleton-Associated Proteins Essential for Lysosomal Stability and Survival of Human Cancer Cells. *PLoS One.* 2012; 7 (10): e45381.
5. Chen QY, Xu LQ, Jiao DM, Yao QH, Wang YY, Hu HZ, et al. Silencing of Rac1 modifies lung cancer cell migration, invasion and actin cytoskeleton rearrangements and enhances chemosensitivity to antitumor drugs. *Int J Mol Med.* 2011 Nov; 28 (5): 769–76.
6. Bonello TT, Stehn JR, Gunning PW. New approaches to targeting the actin cytoskeleton for chemotherapy. *Future Med Chem.* 2009 Oct; 1 (7): 1311–31.
7. Brayford S, Schevzov G, Vos J, Gunning P. The Role of the Actin Cytoskeleton in Cancer and Its Potential Use as a Therapeutic Target. В книге: Schatten H, editor. *The Cytoskeleton in Health and Disease.* Luxemburg: Springer Science + Business Media; 2015. p. 373–91.
8. Gross SR. Actin binding proteins: their ups and downs in metastatic life. *Cell Adh Migr.* 2013 Mar–Apr; 7 (2): 199–213.
9. Nürnberg A, Kitzing T, Grosse R. Nucleating actin for invasion. *Nat Rev Cancer.* 2011; 11 (3): 177–87.
10. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983 Dec 16; 65 (1–2): 55–63.
11. Lukinavičius G, Reymond L, D'Este E, Masharina A, Göttfert F, Ta H, et al. Fluorogenic probes for live-cell imaging of the cytoskeleton. *Nat Methods.* 2014 Jul; 11 (7): 731–3.
12. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods.* 2012 Jun; 9 (7): 676–82.
13. Klementieva NV, Bozhanova NG, Mishina NM, Zagaynova EV, Lukyanov KA, Mishin AS. Common fluorescent proteins for single-molecule localization microscopy. *Proc SPIE.* 2015 Jul; 9536 (953609): [6 p.] Доступно по ссылке: <http://dx.doi.org/10.1117/12.2184924>.
14. Murakami M, Ernsting MJ, Undzys E, Holwell N, Foltz WD, Li SD. Docetaxel conjugate nanoparticles that target  $\alpha$ -smooth muscle actin-expressing stromal cells suppress breast cancer metastasis. *Cancer Res.* 2013 Aug 1; 73 (15): 4862–71.
15. Rosenblum MD, Shivers RR. "Rings" of F-actin form around the nucleus in cultured human MCF7 adenocarcinoma cells upon exposure to both taxol and taxotere. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol.* 2000; 125 (1): 121–31.
16. Bottone MG, Soldani C, Tognon G, Gorrini C, Lazzè MC, Brison O, et al. Multiple effects of paclitaxel are modulated by a high c-myc amplification level. *Exp Cell Res.* 2003 Oct 15; 290 (1): 49–59.
17. Torres K, Horwitz SB. Mechanisms of Taxol-induced cell death are concentration dependent. *Cancer Res.* 1998 Aug 15; 58 (16): 3620–6.
18. Takito J, Otsuka H, Yanagisawa N, Arai H, Shiga M, Inoue M, et al. Regulation of Osteoclast Multinucleation by the Actin Cytoskeleton Signaling Network. *J Cell Physiol.* 2015 Feb; 230 (2): 395–405.
19. Dutartre H, Davoust J, Gorvel JP, Chavrier P. Cytokinesis arrest and redistribution of actin-cytoskeleton regulatory components in cells expressing the Rho GTPase CDC42Hs. *J Cell Sci.* 1996 Feb; 109 (Pt 2): 367–77.
20. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014; 740: 364–78.
21. Shen DW, Liang XJ, Gawinowicz MA, Gottesman MM. Identification of cytoskeletal [14C]carboplatin-binding proteins reveals reduced expression and disorganization of actin and filamin in cisplatin-resistant cell lines. *Mol Pharmacol.* 2004 Oct; 66 (4): 789–93.
22. Shen DW, Pouliot LM, Hall MD, Gottesman MM. Cisplatin resistance: a cellular self-defense mechanism resulting from multiple epigenetic and genetic changes. *Pharmacol Rev.* 2012 Jul; 64 (3): 706–21.
23. Sharma S, Santiskulvong C, Bentolilla LA, Rao J, Dorigo O, Gimzewski JK. Correlative nanomechanical profiling with super-resolution F-actin imaging reveals novel insights into mechanisms of cisplatin resistance in ovarian cancer cells. *Nanomedicine.* 2012 Jul; 8 (5): 757–66.

## References

1. Bezanilla M, Gladfelter AS, Kovar DR, Wei-Lih L. Cytoskeletal dynamics: A view from the membrane. *J Cell Biol.* 2015; May 11; 209 (3): 329–37.
2. Shutova MS, Alexandrova AY. [Comparative research of normal and transformed fibroblast spreading. The role of microfilament polymerization and actin-myosin contractility]. *Tsitologiya.* 2010; 52 (1): 41–51. Russian.
3. Stevenson RP, Veltman D, Machesky LM. Actin-bundling proteins in cancer progression at a glance. *J Cell Sci.* 2012; 125 (Pt 5): 1073–9.
4. Groth-Pedersen L, Aits S, Corcelle-Termeau E, Petersen NHT, Nylandsted J, Jäättelä M. Identification of Cytoskeleton-Associated Proteins Essential for Lysosomal Stability and Survival of Human Cancer Cells. *PLoS One.* 2012; 7 (10): e45381.
5. Chen QY, Xu LQ, Jiao DM, Yao QH, Wang YY, Hu HZ, et al. Silencing of Rac1 modifies lung cancer cell migration, invasion and actin cytoskeleton rearrangements and enhances chemosensitivity to antitumor drugs. *Int J Mol Med.* 2011 Nov; 28 (5): 769–76.
6. Bonello TT, Stehn JR, Gunning PW. New approaches to targeting the actin cytoskeleton for chemotherapy. *Future Med Chem.* 2009 Oct; 1 (7): 1311–31.
7. Brayford S, Schevzov G, Vos J, Gunning P. The Role of the Actin Cytoskeleton in Cancer and Its Potential Use as a Therapeutic Target. In: Schatten H, editor. *The Cytoskeleton in Health and Disease.* Luxemburg: Springer Science + Business Media; 2015. p. 373–91.
8. Gross SR. Actin binding proteins: their ups and downs in metastatic life. *Cell Adh Migr.* 2013 Mar–Apr; 7 (2): 199–213.
9. Nürnberg A, Kitzing T, Grosse R. Nucleating actin for invasion. *Nat Rev Cancer.* 2011; 11 (3): 177–87.
10. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods.* 1983 Dec 16; 65 (1–2): 55–63.
11. Lukinavičius G, Reymond L, D'Este E, Masharina A, Göttfert F, Ta H, et al. Fluorogenic probes for live-cell imaging of the cytoskeleton. *Nat Methods.* 2014 Jul; 11 (7): 731–3.
12. Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods.* 2012 Jun; 9 (7): 676–82.
13. Klementieva NV, Bozhanova NG, Mishina NM, Zagaynova EV, Lukyanov KA, Mishin AS. Common fluorescent proteins for single-molecule localization microscopy. *Proc SPIE.* 2015 Jul; 9536 (953609): [6 p.] Available from: <http://dx.doi.org/10.1117/12.2184924>.
14. Murakami M, Ernsting MJ, Undzys E, Holwell N, Foltz WD, Li SD. Docetaxel conjugate nanoparticles that target  $\alpha$ -smooth muscle actin-expressing stromal cells suppress breast cancer metastasis. *Cancer Res.* 2013 Aug 1; 73 (15): 4862–71.
15. Rosenblum MD, Shivers RR. "Rings" of F-actin form around the nucleus in cultured human MCF7 adenocarcinoma cells upon exposure to both taxol and taxotere. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol.* 2000; 125 (1): 121–31.
16. Bottone MG, Soldani C, Tognon G, Gorrini C, Lazzè MC, Brison O, et al. Multiple effects of paclitaxel are modulated by a high c-myc amplification level. *Exp Cell Res.* 2003 Oct 15; 290 (1): 49–59.

17. Torres K, Horwitz SB. Mechanisms of Taxol-induced cell death are concentration dependent. *Cancer Res.* 1998 Aug 15; 58 (16): 3620–6.
18. Takito J, Otsuka H, Yanagisawa N, Arai H, Shiga M, Inoue M, et al. Regulation of Osteoclast Multinucleation by the Actin Cytoskeleton Signaling Network. *J Cell Physiol.* 2015 Feb; 230 (2): 395–405.
19. Dutartre H, Davoust J, Gorvel JP, Chavier P. Cytokinesis arrest and redistribution of actin-cytoskeleton regulatory components in cells expressing the Rho GTPase CDC42Hs. *J Cell Sci.* 1996 Feb; 109 (Pt 2): 367–77.
20. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014; 740: 364–78.
21. Shen DW, Liang XJ, Gawinowicz MA, Gottesman MM. Identification of cytoskeletal [14C]carboplatin-binding proteins reveals reduced expression and disorganization of actin and filamin in cisplatin-resistant cell lines. *Mol Pharmacol.* 2004 Oct; 66 (4): 789–93.
22. Shen DW, Pouliot LM, Hall MD, Gottesman MM. Cisplatin resistance: a cellular self-defense mechanism resulting from multiple epigenetic and genetic changes. *Pharmacol Rev.* 2012 Jul; 64 (3): 706–21.
23. Sharma S, Santiskulvong C, Bentolila LA, Rao J, Dorigo O, Gimzewski JK. Correlative nanomechanical profiling with super-resolution F-actin imaging reveals novel insights into mechanisms of cisplatin resistance in ovarian cancer cells. *Nanomedicine.* 2012 Jul; 8 (5): 757–66.

## ПРИМЕНЕНИЕ МУЛЬТИМОДАЛЬНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ КОГЕРЕНТНОЙ ТОМОГРАФИИ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ РАКА

М. А. Сироткина<sup>1</sup>✉, Е. Б. Киселева<sup>1</sup>, Е. В. Губарькова<sup>1</sup>, Н. Л. Буянова<sup>1</sup>, В. В. Елагин<sup>1</sup>, В. Ю. Зайцев<sup>1,2</sup>, Л. А. Матвеев<sup>1,2</sup>, А. Л. Матвеев<sup>1,2</sup>, М. Ю. Кириллин<sup>2</sup>, Г. В. Геликонов<sup>1,2</sup>, В. М. Геликонов<sup>1,2</sup>, С. С. Кузнецов<sup>1</sup>, Е. В. Загайнова<sup>1</sup>, Н. Д. Гладкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Нижегородская государственная медицинская академия, Нижний Новгород

<sup>2</sup> Институт прикладной физики РАН, Нижний Новгород

Поиск новых способов прижизненной функциональной визуализации биологических тканей, которые позволяют выявлять ранний ответ опухоли на выбранную терапию с целью коррекции курса лечения, — актуальная задача современной медицины. В качестве такого способа в работе предложена мультимодальная оптическая когерентная томография (ММ ОКТ), которая сочетает в себе кросс-поляризационную ОКТ (КП ОКТ) для визуализации структуры ткани и оценки состояния соединительнотканного компонента, ОКТ-микроангиографию (ОКТ МА) для визуализации сосудистого русла и ОКТ-эластографию для изучения жесткости ткани. Эффективность метода проверяли на примере действия фотодинамической терапии (ФДТ), поскольку основными мишенями ФДТ являются клеточный и сосудистый компоненты опухоли. В качестве объекта исследования была выбрана карцинома кишечника мыши СТ26, локализованная на ухе мыши. Показано, что с помощью ММ ОКТ можно оценить эффективность ФДТ, а именно: по КП ОКТ — отличить опухоль с некрозом от интактной опухоли, по ОКТ МА — выявить расстройства кровообращения, приводящие к замедлению или остановке кровотока и дальнейшей гибели опухоли, а по ОКТ-эластографии — определить жесткость нормальной и патологической ткани.

**Ключевые слова:** мультимодальная оптическая когерентная томография, кросс-рассеяние, микроангиография, эластография, фотодинамическая терапия, карцинома кишечника СТ26, экспериментальная опухоль

**Финансирование:** работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства образования и науки РФ (договор № 14.В25.31.0015); числовая обработка КП ОКТ-изображений поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-32-20250); модификация алгоритма и разработка программно-аппаратного ОКТ-комплекса для картирования микроциркуляторных и эластографических изображений поддержана грантом Президента РФ для молодых ученых № МК-6504.2016.2 и грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 16-02-00642-а.

**Благодарности:** авторы благодарят профессора Алекса Виткина из Университета Торонто (Торонто, Канада) — ведущего ученого мегагранта, в рамках которого выполнена работа.

✉ **Для корреспонденции:** Сироткина Марина Александровна  
603950, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1; sirotkina\_m@mail.ru

**Статья получена:** 15.08.2016 **Статья принята в печать:** 25.08.2016

## MULTIMODAL OPTICAL COHERENCE TOMOGRAPHY IN THE ASSESSMENT OF CANCER TREATMENT EFFICACY

Sirotkina MA<sup>1</sup>✉, Kiseleva EB<sup>1</sup>, Gubarkova EV<sup>1</sup>, Buyanova NL<sup>1</sup>, Elagin VV<sup>1</sup>, Zaitsev VYu<sup>1,2</sup>, Matveev LA<sup>1,2</sup>, Matveev AL<sup>1,2</sup>, Kirillin MYu<sup>2</sup>, Gelikonov GV<sup>1,2</sup>, Gelikonov VM<sup>1,2</sup>, Kuznetsov SS<sup>1</sup>, Zagaynova EV<sup>1</sup>, Gladkova ND<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod, Russia

<sup>2</sup> Institute of Applied Physics, Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russia

One of the challenges faced by modern medicine is finding new methods of functional imaging of biological tissues in patients that allow detection of early tumor response to treatment. One of such methods proposed in this work is multimodal optical coherence tomography (MM OCT). It combines cross-polarization OCT (CP OCT) for visualization of tissue structure and assessment of connective tissue health, OCT-based microangiography (OCT MA) for visualization of the vasculature, and OCT-based elastography for measuring tissue stiffness. The efficacy of this method was tested during the course of photodynamic therapy (PDT), as major PDT targets are cellular and vascular components of a tumor. The experiments were carried out on the CT26 colon carcinoma transplanted into the mouse ear. It was shown that the efficacy of PDT can be assessed using MM OCT. For example, CP OCT can help differentiate between necrotic and intact tumors; OCT MA detects blood circulation defects that lead to slower blood circulation or circulatory stagnation followed by tumor death. OCT-based elastography is helpful in assessing stiffness of normal and pathological tissues.

**Keywords:** multimodal optical coherence tomography, cross-scattering, microangiography, elastography, photodynamic therapy, CT26 colon carcinoma, experimental tumor

**Funding:** this work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (grant no. 14.B25.31.0015), numerical processing of CP OCT images was supported by grant no. 15-32-20250 of the Russian Foundation for Basic Research, algorithm modification and development of software/hardware OCT-system for mapping microcirculation and elastography images was supported by the grant of the President of the Russian Federation for young scientists (no. MK-6504.2016.2) and the grant of the Russian Foundation for Basic Research (no. 16-02-00642-a).

**Acknowledgements:** authors thank professor Alex Vitkin of University of Toronto (Toronto, Canada), the leading scientist of the Russian Federation Government Mega-grant 14.B25.31.0015.

✉ **Correspondence should be addressed:** Marina Sirotkina  
pl. Minina i Pozharskogo, d. 10/1, Nizhny Novgorod, Russia, 603950; sirotkina\_m@mail.ru

**Received:** 15.08.2016 **Accepted:** 25.08.2016

Несмотря на успехи в диагностике и лечении онкологических заболеваний, смертность от рака остается по-прежнему высокой. Важной проблемой, влияющей на эффективность лечения, является гетерогенность опухолевых популяций [1]. Опухоли одних и тех же типов у разных людей по-разному отвечают на одну и ту же терапию. Поэтому актуальной задачей является определение раннего ответа опухоли на лечение, чтобы своевременно скорректировать его. В литературе встречаются работы, направленные на поиск критериев оценки эффективности противоопухолевой терапии [2], но достаточно надежные критерии пока не предложены.

Оптическая когерентная томография (ОКТ) — прижизненный неинвазивный метод диагностики, предназначенный для «видения в мутных средах». ОКТ обеспечивает формирование двух- и трехмерных изображений внутренней структуры биологических тканей путем регистрации обратного рассеяния в режиме реального времени на глубине до 1–2 мм. Технология основана на низкокогерентной интерферометрии с широкополосным светом в ближнем инфракрасном диапазоне длин волн (в «терапевтическом окне прозрачности» 0,7–1,3 мкм) [3–5]. ОКТ не оказывает повреждающего воздействия на организм, т. к. мощность излучения составляет всего около 3–5 мВт, а, кроме того, отличается более высоким по сравнению с ядерной магнитной томографией и высокочастотным ультразвуковым исследованием пространственным разрешением (до 15 мкм), относительной простотой и дешевизной. В клинических исследованиях метод применяется для ранней диагностики неоплазии, определения границ опухолевого роста при планировании резекции и динамического наблюдения за пациентами с онкологической патологией для своевременного выявления рецидивов [6].

Возможности метода могут быть существенно расширены за пределы стандартной визуализации тканевой структуры, в том числе для получения информации о кровотоке и структуре сосудистой сети. Эта дополнительная функциональная возможность имеет важное приложение в биологии и медицине, поскольку позволяет получать *in vivo* и в динамике информацию о функционировании ткани, необходимую, например, для лечения онкологических заболеваний, т. к. ряд методов включает воздействие на сосудистую структуру опухолей [7]. Ввиду этого развития ОКТ-методов прижизненной визуализации микрососудов занимаются во многих исследовательских лабораториях. Значительным потенциалом выявления, визуализации и количественной характеристики и мониторинга микроциркуляции в тканях обладают методы, основанные на временной изменчивости спеклов [8].

Механические свойства тканей связаны с их структурой и функцией, которые изменяются при развитии патологии и в ходе лечения. Внимание к решению проблемы определения жесткости тканей (эластографического картирования) методами ОКТ возрастает на протяжении последних 15 лет. ОКТ-эластография была продемонстрирована *in vivo* [9] и предложена для обнаружения опухолей в мягких тканях [10], был показан потенциал метода для обеспечения контраста между злокачественными и нормальными тканями молочной железы [11–13]. Недавние исследования показали, что хотя различия в жесткости ткани не проявляются на отдельных ОКТ-изображениях, они могут быть визуализированы на основе анализа серии ОКТ-изображений деформируемой ткани [14, 15]. Пока на рынке нет ни одного ОКТ-прибора с режимом эластографического обследования. В России развитием

ОКТ-методов занимаются в нескольких научных организациях в Нижнем Новгороде, Саратове, Санкт-Петербурге, но с ОКТ-эластографией работает только группа исследователей из Института прикладной физики РАН (Нижний Новгород) и Нижегородской государственной медицинской академии (НижГМА) [16].

Сочетание описанных подходов, т. е. мультимодальная ОКТ, может быть эффективным средством мониторинга ответа опухоли на противоопухолевую терапию, может позволить получить новые знания и сделать шаг вперед в направлении индивидуализации лечения. Целью данной работы являлась апробация трех модальностей ОКТ для оценки ответа опухоли на лечение.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### *Животные и опухолевая модель*

Исследование было выполнено на экспериментальной модели карциномы кишечника мыши СТ26. Опухоль прививали 8-недельным самкам мышей линии BALB/c массой 20–22 г внутривенно в наружную часть ушной раковины. Прививку осуществляли суспензией опухолевых клеток: 200 тыс. клеток в 20 мкл фосфатного буфера. Опухолевая модель на ухе характеризуется поверхностным ростом, относительно небольшим размером узла (несколько миллиметров в диаметре), доступностью проведения как визуального осмотра, так и оптического биоимиджинга. Эксперимент был одобрен Этическим комитетом НижГМА (протокол № 14 от 10 декабря 2013 г.).

### *Фотодинамическая терапия*

В качестве метода противоопухолевой терапии была выбрана фотодинамическая терапия (ФДТ), которая воздействует как на сосудистый компонент опухоли, так и на клетки, в течение непродолжительного периода — от нескольких часов до нескольких дней. ФДТ проводили через 10–14 дней с момента прививки опухоли, когда опухолевый узел достигал размера 3,5–4,0 мм, а сосудистая сеть была хорошо развита. Животным вводили внутривенно «Фотодитазин» («Вета-Гранд», Россия) в дозе 5 мг/кг. Через 1 ч после введения фотосенсибилизатора опухоль облучали диодным лазером с длиной волны 659 нм в дозе 75 Дж/см<sup>2</sup> (100 мВт/см<sup>2</sup>). В опытной группе было 10 животных, в контрольной — 5.

### *Мультимодальная оптическая когерентная томография*

Мониторинг ответа опухоли на ФДТ проводили методом ММ ОКТ на приборе, разработанном в Институте прикладной физики РАН. Технические характеристики прибора: рабочая длина волны — 1,3 мкм, мощность на выходе — 15 мВт, поперечное пространственное разрешение — 25 мкм, пространственное разрешение по глубине — 15 мкм, глубина сканирования — до 1,7 мм. Зондирующее излучение имеет круговую поляризацию, скорость сканирования — 20 000 А-сканов/с.

ММ ОКТ-исследование осуществляли бесконтактным способом путем поднесения к исследуемой поверхности оптического зонда на рабочее расстояние в 1,5 см.

В режиме кросс-поляризованной ОКТ (КП ОКТ) получали двумерные изображения (В-сканы) размером 4 × 4 мм, состоявшие из двух изображений в псевдо-

цветной палитре: верхнего — ко-поляризационного, где уровень сигнала показывал степень обратно рассеянных на объекте волн, сохранивших исходную поляризацию, и нижнего — кросс-поляризационного, где уровень сигнала показывал степень обратно рассеянных на объекте волн, изменивших исходную поляризацию на ортогональную. В большинстве случаев кросс-рассеяние наблюдается от высокоорганизованных анизотропных структур — коллагеновых и эластических волокон [17]. Режим КП ОКТ позволяет также производить запись 3D-изображений в ко- и кросс-поляризации, каждое из которых объемом  $4 \times 4 \times 2$  мм (планарные размеры  $\times$  глубина).

Количественная обработка КП ОКТ-изображений заключалась в вычислении по выделенной области интереса интегрального фактора деполяризации (ИФД). Область интереса выделяли вручную, основываясь на гистологических данных и качественных характеристиках КП ОКТ-изображения. Алгоритм вычисления ИФД был разработан нами ранее [18] и применен для оценки состояния коллагеновых волокон различных тканей (слизистой оболочки мочевого пузыря и полости рта; аорты и коронарных сосудов). В основе вычисления ИФД лежит усредненное по области интереса отношение яркостей ОКТ-сигнала в кросс- и ко-поляризации.

Информацию о жесткости ткани получали с помощью ОКТ-эластографии. Для обработки информации, содержащейся в ОКТ-сигнале, использовали новый улучшенный (гибридный) вариант фазового подхода к отслеживанию изменений положений рассеивателей [16]. Для этого зонд немного прижимали к исследуемой поверхности (компрессионный способ получения информации) и определяли деформации, возникавшие вблизи зонда. В основе построения эластографических карт лежит анализ пространственной неоднородности изменения фазы ОКТ-сигнала сравниваемых изображений ткани в процессе ее деформирования. В итоге получают изображение в псевдо-цветной палитре, на котором более жесткие (слабо деформируемые) участки обозначены синим цветом, более мягкие (сильно деформируемые) — красным.

Исследование микроциркуляторного русла проводили методом ОКТ-микроангиографии (ОКТ МА). Физический принцип выделения сосудистой сетки основан на определении временной изменчивости амплитуды и фазы ОКТ-сигнала на серии пикселизованных ОКТ-изображений одной и той же области ткани: в тех местах, где сигнал быстро меняется от скана к скану, находится текущая жидкость (кровь); там, где амплитуды и фазы пикселей изображения стабильны, движения жидкости нет. Следовательно, методом ОКТ МА можно визуализировать как наличие кровотока, так и остановку крови, например, в случае тромбоза в результате действия ФДТ. ОКТ МА-изображения получали с области  $2 \times 2$  мм<sup>3</sup>. Паттерн был высокочувствительным и позволял визуализировать мелкие сосуды. ОКТ МА-изображения после постобработки представляли собой проекцию максимальной интенсивности сигнала — вид сосудистой сетки сверху со всей глубины визуализации [19].

*Флуоресцентная микроскопия*

Данные о структуре сосудистой сетки, полученные методом ОКТ МА, верифицировали методом флуоресцентной микроскопии с помощью флуоресцентного стереомикроскопа Axio Zoom.V16 (Zeiss, Германия) с применением флуорофора FITC, конъюгированного с декстраном

(Sigma-Aldrich, США). Флуорофор вводили внутривенно в хвостовую вену в дозе 50 мг/кг. Изображения получали в течение 10 мин после введения флуорофора.

*Гистология*

Верификацию гибели опухолевых клеток и расстройства кровообращения выполняли методом световой микроскопии через 2 дня после ФДТ. Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Приготовленные с помощью микротомы Leica SM 2000 R (Leica Biosystems, Германия) гистологические срезы толщиной 7 мкм после депарафинизации окрашивали гематоксилином и эозином для определения общего морфологического состояния опухолевой ткани.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*ММ ОКТ-визуализация тканей уха мыши*

*КП ОКТ*

Ткань уха представляет собой слоистую структуру, состоящую из эпидермиса, дермы с придатками кожи и хряща (рис. 1А). КП ОКТ-изображение нормальной ткани уха в ко-поляризации представляет собой слоистую структуру, где посередине ушной раковины расположен хрящ в виде узкой полосы с низким уровнем сигнала, по обе стороны от которого — слои дермы с высоким уровнем сигнала. Эпидермис визуализируется над слоем дермы в виде очень тонкой полосы с низким уровнем сигнала (рис. 1Б). В кросс-поляризации изображение также слоистое, но уровень сигнала каждого из описанных для ко-поляризации слоев на порядок ниже, поскольку на этом изображении виден сигнал только от оптически анизотропных структур, таких как коллагеновые и эластические волокна дермы и хрящ. С развитием опухолевого узла в толще дермы постепенно увеличивается общий объем ткани над хрящом, и на КП ОКТ-изображении слоистость ткани

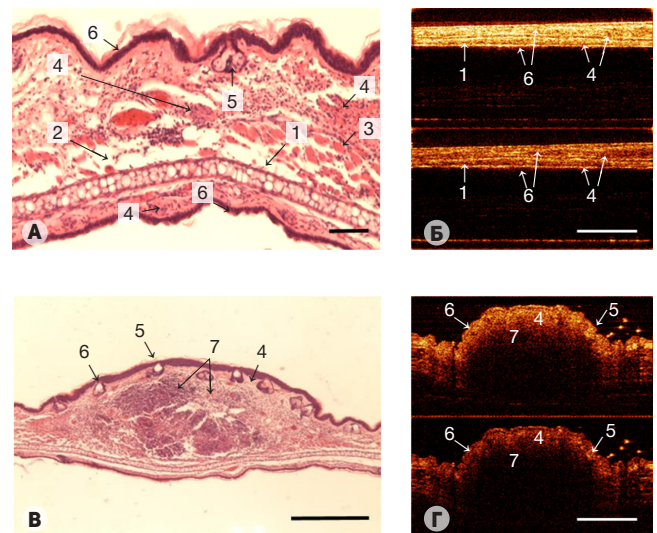


Рис. 1. Пример визуализации здоровой (А, Б) и опухолевой ткани — карциномы кишечника СТ26, локализованной на ухе мыши (В, Г)

(А) и (Б) — снимки гистологических препаратов (размер бара — 100 и 500 мкм соответственно), (В) и (Г) — изображения, полученные методом кросс-поляризационной оптической когерентной томографии (размер бара — 1 мм). Цифрами на рисунках обозначены: 1 — хрящ; 2 — слой адипоцитов; 3 — поперечнополосатая мышца; 4 — дерма; 5 — волосяные луковицы; 6 — эпидермис; 7 — опухолевая ткань.



нарушается. Бесконтактный способ сканирования ткани позволяет видеть на изображении характерный бугорок (выпуклость) в месте развития опухоли (рис. 1Г). Плотно расположенные клетки опухоли практически не рассеивают зондирующее излучение в ко-поляризацию, кросс-рассеяние также не наблюдается. Вокруг опухолевого узла заметно снижение уровня сигнала за счет дезорганизации коллагеновых волокон дермы (рис. 1Г).

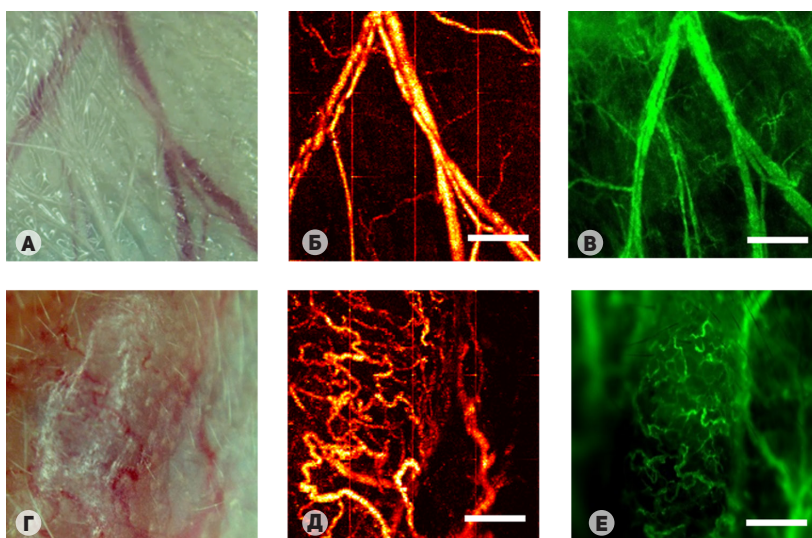
**ОКТ МА**

С помощью ОКТ МА визуализировали структуру сосудистой сети участка нормального уха (рис. 2Б) и участка уха с опухолью СТ26 (рис. 2Г). В нормальной ткани видны преимущественно крупные сосуды — артериолы и венулы. При развитии патологического процесса визуализируются мелкие сосуды, которые образуют густую переплетенную сеть. Это связано, по-видимому, как с образованием новых опухолевых сосудов, так и с ростом скорости кровотока в уже существующих сосудах — мы продолжаем изучение этого вопроса. Архитектоника сосудистой сети в норме и при патологии, визуализируемая на ОКТ МА-изображениях, идентична архитектонике сосудистой сети, визуализируемой на флуоресцентных изображениях

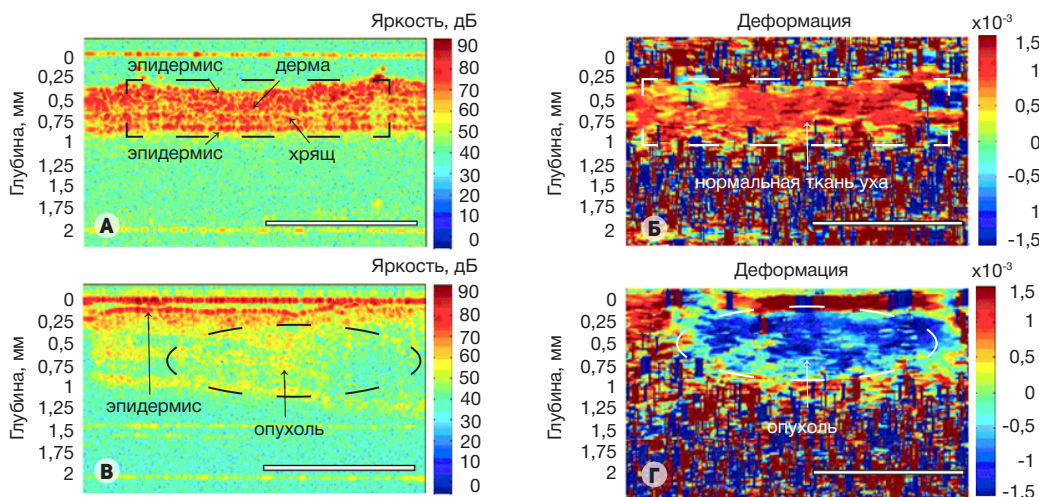
(рис. 2В, 2Е), что свидетельствует о корректности получаемых с помощью ОКТ МА данных и возможности отличать нормальную ткань от ткани с патологией, используя этот метод.

**ОКТ-эластография**

Пример использования разработанного нами метода построения карт деформации с помощью ручного оперирования зондом. При обследовании лабораторных животных *in vivo* показан на рис. 3. На рис. 3А и 3Б приведены структурное и эластографическое изображения ткани уха здорового животного. На структурном изображении (рис. 3А) видно, что ткань по всему размеру кадра морфологически однородна и характеризуется равномерным уровнем рассеяния ОКТ-сигнала, в результате чего на эластографической карте распределение деформации также ожидаемо однородно (рис. 3Б). На структурном изображении ткани уха с привитой опухолью (рис. 3В) эта же область выглядит утолщенной в 2,0–2,5 раза и характеризуется пониженным уровнем рассеяния зондирующего сигнала. На эластографической карте (рис. 3Г) область опухоли отчетливо проявляется в виде контрастной по уровню деформаций зоны по отношению к окружающей ткани.



**Рис. 2.** Пример визуализации сосудистой сети здоровой (А–В) и опухолевой ткани — карциномы кишечника СТ26, локализованной на ухе мыши (Г–Е) (А) и (Б) — микрофотографии, (В) и (Г) — изображения, полученные методом ОКТ-микроангиографии, (Д) и (Е) — флуоресцентные изображения. Размер бара — 0,5 мм.



**Рис. 3.** Примеры структурных ОКТ-изображений (А, В) и эластографических карт деформации (Б, Г) при обследовании здоровой ткани уха мыши (А, Б) и карциномы кишечника СТ26, локализованной на ухе мыши (В, Г), *in vivo* (размер бара — 1 мм)

**Изучение естественного роста опухоли СТ26 на ухе мыши**

Развитие опухоли СТ26 на ухе исследовали с помощью КП ОКТ и ОКТ МА. Показано, что с развитием опухоли на КП ОКТ-изображениях сигнал резко падает и достигает минимальных значений на 14-й день после прививки опухоли, при этом также снижается глубина проникновения сигнала (рис. 4, верхний ряд). На ОКТ МА-изображениях видно, что по мере увеличения размеров опухоли заметно увеличивается и количество сосудов (рис. 4, нижний ряд).

**Ответ опухоли на фотодинамическую терапию**

*Анализ гистологических препаратов*

В результате ФДТ происходит как повреждение клеточного компонента опухоли, так и расстройство ее кровообращения. На второй день после проведения терапии выявляются очаги некроза, занимающие порядка 60 % площади всей опухоли. Наряду с некрозом ткани отмечено расстройство кровообращения: стаз и сладж-синдром, тромбозы и кровоизлияния.

*Анализ КП ОКТ-изображений*

Предполагается, что повреждающее действие ФДТ как на опухолевые клетки, так и на сосудистый компонент опухоли должно отражаться на оптических свойствах опухоли. На рис. 5 продемонстрированы карты фактора деполяризации для опытной (ФДТ) и контрольной групп животных. Так, в контрольной группе опухоль характеризуется низ-

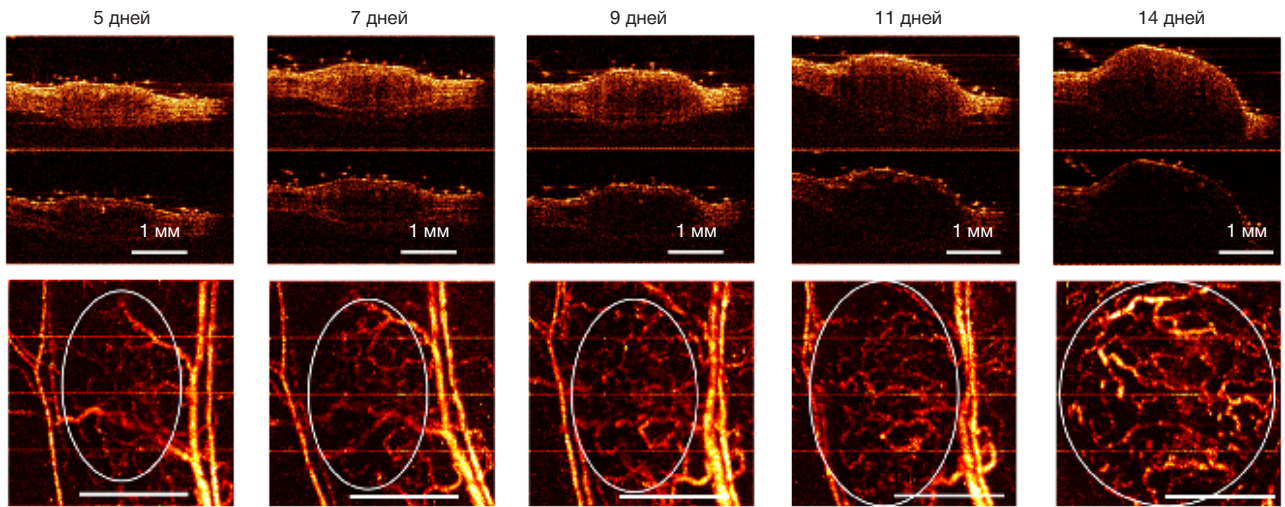
кими значениями фактора деполяризации (рис. 5А), что говорит о низкой способности ткани к кросс-рассеянию. В опухолях после ФДТ на картах ИФД видно увеличение кросс-рассеяния (рис. 5Б): значения ИФД возрастают с  $0,020 \pm 0,007$  до  $0,036 \pm 0,013$ . Можно предположить, что преобладание в общей массе опухоли участков некроза, морфологически представляющих собой скопления клеток воспаления и разрушенных коллагеновых волокон и опухолевых клеток, приводит к увеличению центров кросс-рассеяния и увеличению значения ИФД.

*Анализ ОКТ МА-изображений*

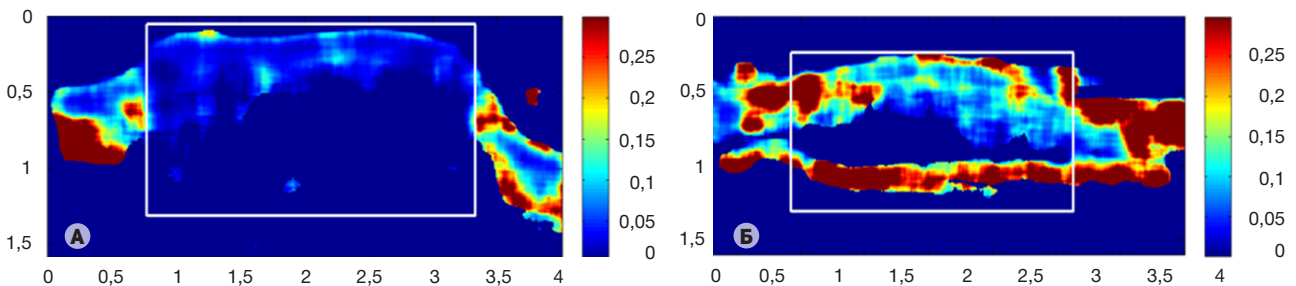
ОКТ МА-мониторинг состояния сосудистой сети в опухоли в первые часы после ФДТ выявляет мгновенную реакцию сосудистого компонента на облучение: подавляющее большинство сосудов не визуализируется методом ОКТ МА (рис. 6Б). Через 24 ч после ФДТ сосуды в опухоли практически не визуализируются (рис. 6В). Полученный результат свидетельствует о том, что при расстройствах кровообращения, приводящих к существенному замедлению или остановке кровотока, сосуды на ОКТ МА-изображениях не видны. На флуоресцентных изображениях сосудистая сеть также не визуализируется (рис. 6Д).

**ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

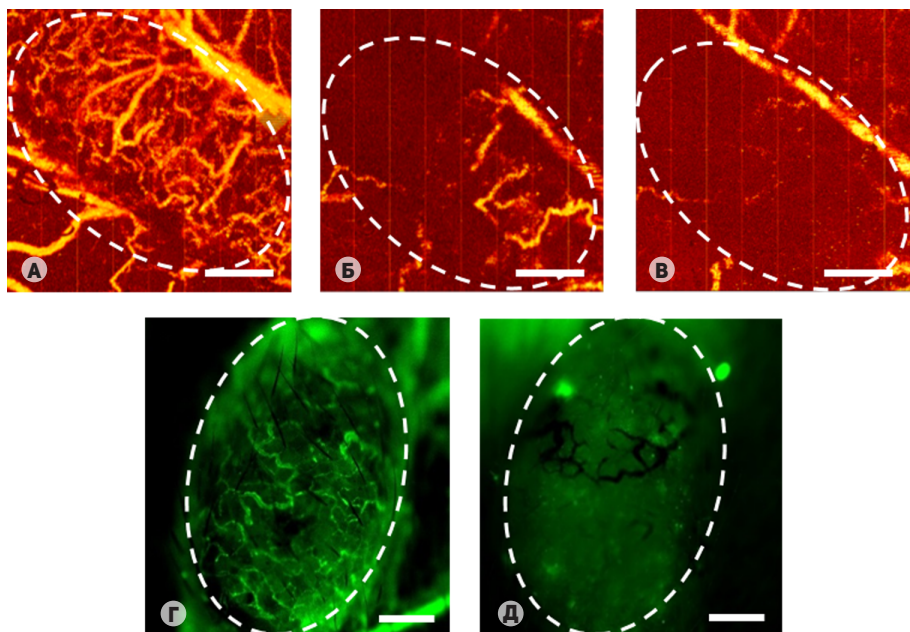
В данной работе представлено первое комплексное исследование нормальной и патологически измененной ткани методом мультимодальной ОКТ: были получены и проанализированы как структурные ОКТ-изображения, так и ОКТ-изображения сосудистой сети и карты



**Рис. 4.** ММ ОКТ-мониторинг развития карциномы кишечника СТ26, локализованной на ухе мыши. Верхний ряд — КП ОКТ-изображения, нижний ряд — ОКТ МА-изображения. Кругом обведена область опухоли.



**Рис. 5.** Примеры карт фактора деполяризации, построенные по В-сканам. (А) — карты для контрольной группы мышей, (Б) — карты для группы мышей, получивших фотодинамическую терапию



**Рис. 6.** Пример визуализации реакции сосудов карциномы кишечника СТ26, локализованной на ухе мыши, на фотодинамическую терапию методом ОКТ МА (А–В) и методом флуоресцентной микроскопии (Г, Д). (А) и (Г) — опухоль до терапии, (Б) — опухоль сразу после терапии, (В) и (Д) — опухоль через 24 ч после терапии. Размер бара — 0,5 мм. Область опухоли обведена пунктирным кружком

распределения жесткости — эластографические ОКТ-изображения. Показана принципиальная возможность применения ММ ОКТ для оценки эффективности противоопухолевой терапии. Другие группы исследователей изучают отдельные направления ОКТ. Например, ОКТ-эластографией занимаются во многих научных центрах США с начала 2000-х гг., обосновывая ее применение в офтальмологии [14, 15, 20, 21]. Ведущей в этой области является группа профессора D. Sampson в Австралии [12, 22]. Лидирующие позиции в области визуализации кровотока в тканях, в первую очередь сети капиллярных сосудов, методами ОКТ занимают научные группы под руководством M. Leahy [23], R. Wang [24], A. Vitkin [25]. Также с помощью ОКТ изучали сосудистую реакцию в ответ на ФДТ [26, 27].

К настоящему моменту показано применение метода ОКТ для визуальной оценки структурных изменений опухоли кожи после ФДТ и определения границ опухоли в течение нескольких месяцев после лечения [28, 29]. Тем не менее, некоторые изменения клеточного состава опухолей не могут быть обнаружены невооруженным глазом на ОКТ-изображениях, и количественная оценка ОКТ-изображений обеспечивает более надежный результат. Ранее этот подход позволил значительно повысить точность диагностики для ряда задач [18]. Вычисление ИФД для оценки ответа опухоли на ФДТ помогает не только объективно оценить изображения, но и понять механизм гибели клеточного и стромального компонентов опухоли и роли в этом клеток воспаления.

ММ ОКТ-мониторинг роста опухолевого узла выявил постепенное развитие сосудистой сети. Очевидно, что степень васкуляризации опухоли может повлиять на выбор и качество противоопухолевой терапии: в хорошо васкуляризованных опухолях фотосенсибилизатор накопится в большей концентрации и для таких опухолей можно с успехом применять методы ФДТ, воздействующие на сосуды.

Нами показано, что одновременное изучение опухолевой ткани тремя модальностями ОКТ дает возможность

получать информацию как о структуре ткани, состоянии коллагеновых волокон и кровеносных сосудов, так и о ее жесткостных свойствах. Совокупность этих сведений важна для правильной оценки ответа опухоли на противоопухолевую терапию. На наш взгляд, особое внимание следует уделять изучению исходного состояния опухоли до лечения, т. к. это может повлиять на выбор тактики лечения. Например, плохо васкуляризованные опухоли, скорее всего, гипоксичны, и лучевая и фотодинамическая терапия окажутся малоэффективными, а химиопрепараты, вероятно, плохо накопятся в патологическом очаге, и потребуются таргетная доставка препаратов.

## ВЫВОДЫ

В работе показана перспектива применения мультимодальной оптической когерентной томографии в решении задач по индивидуальному подбору противоопухолевой терапии на примере фотодинамической терапии. КП ОКТ дает информацию о структуре ткани и состоянии коллагеновых волокон на основе анализа рассеивающих и поляризационных свойств ткани, выявляет области некроза. ОКТ МА позволяет в реальном времени визуализировать не только архитектуру сосудистого русла в нормальной ткани и при опухолевом росте, но и оценить функциональное состояние сосудов, в частности, можно наблюдать за реакцией сосудистого компонента опухоли на терапию сразу после ее проведения и при необходимости корректировать параметры терапевтического воздействия в случае отсутствия сосудистой реакции. В работе впервые апробирован робастный (устойчивый к помехам) метод получения эластографических изображений, позволяющий получать карты деформаций *in vivo* при ручном оперировании ОКТ-зондом, что особенно важно для клинических исследований. Проведение комплексной оценки функционального состояния тканей методом ММ ОКТ открывает новые горизонты в индивидуализации лечения онкологических заболеваний.

Литература

- Casas A, Di Venosa G, Hasan T, Al Battle. Mechanisms of resistance to photodynamic therapy. *Curr Med Chem*. 2011; 18 (16): 2486–515.
- Mallidi S, Watanabe K, Timerman D, Schoenfeld D, Hasan T. Prediction of Tumor Recurrence and Therapy Monitoring Using Ultrasound-Guided Photoacoustic Imaging. *Theranostics*. 2015 Jan 1; 5 (3): 289–301.
- Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman S, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science*. 1991 Nov 22; 254 (5035): 1178–81.
- Schmitt JM, Xiang SH. Cross-polarized backscatter in optical coherence tomography of biological tissue. *Opt Lett*. 1998 Jul 1; 23 (13): 1060–2.
- Bouma BE, Tearney GJ. Clinical imaging with optical coherence tomography. *Acad Radiol*. 2002 Aug; 9 (8): 942–53.
- Zagaynova EV, Gladkova ND, Shakhova NM, Streltsova OS, Kuznetsova IA, Yanvareva IA, et al. Optical Coherence Tomography Monitoring of Surgery in Oncology. В книзі: Popp J, Tuchin V, Chiou A, Heinemann SH, editors. *Handbook of Biophotonics*. Wiley-VCH; 2012. p. 337–76.
- Enfield J, Jonathan E, Leahy M. In vivo imaging of the microcirculation of the volar forearm using correlation mapping optical coherence tomography (cmOCT). *Biomed Opt Express*. 2011; 2 (5): 1184–93.
- Mariampillai A, Leung MK, Jarvi M, Standish BA, Lee K, Wilson BC, et al. Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Opt Lett*. 2010; 35 (8): 1257–9.
- Kennedy BF, Hillman TR, McLaughlin RA, Quirk BC, Sampson DD. In vivo dynamic optical coherence elastography using a ring actuator. *Opt Express*. 2009; 17 (24): 21762–72.
- Wang S, Li J, Manapuram RK, Menodiado FM, Ingram DR, Twa MD, et al. Noncontact measurement of elasticity for the detection of soft-tissue tumors using phase-sensitive optical coherence tomography combined with a focused air-puff system. *Opt Lett*. 2012; 37 (24): 5184–6.
- Srivastava A, Verma Y, Rao K, Gupta P. Determination of elastic properties of resected human breast tissue samples using optical coherence tomographic elastography. *Strain*. 2011; Feb 1; 47 (1): 75–87.
- Kennedy KM, McLaughlin RA, Kennedy BF, Tien A, Latham B, Saunders CM, et al. Needle optical coherence elastography for the measurement of microscale mechanical contrast deep within human breast tissues. *J Biomed Opt*. 2013; 18 (12): 121510.
- Kennedy BF, McLaughlin RA, Kennedy KM, Chin L, Wijesinghe P, Curatolo A, et al. Investigation of Optical Coherence Micro-elastography as a Method to Visualize Cancers in Human Breast Tissue. *Cancer Res*. 2015; 75 (16): 3236–45.
- Wang S, Larin KV, Li J, Vantipalli S, Manapuram RK, Aglyamov S, et al. A focused air-pulse system for optical-coherence-tomography-based measurements of tissue elasticity. *Laser Physics Letters*. 2013; 10 (7): 075605.
- Nguyen TM, Song S, Arnal B, Wong EY, Huang Z, Wang RK, et al. Shear wave pulse compression for dynamic elastography using phase-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2014; 19 (1): 016013.
- Zaitsev VY, Matveyev AL, Matveev LA, Gelikonov GV, Gubarkova EV, Gladkova ND, et al. Hybrid method of strain estimation in optical coherence elastography using combined sub-wavelength phase measurements and supra-pixel displacement tracking. *J Biophotonics*. 2016; 9 (5): 499–509.
- Gubarkova EV, Dudenkova VV, Feldchtein FI, Timofeeva LB, Kiseleva EB, Kuznetsov SS, et al. Multi-modal optical imaging characterization of atherosclerotic plaques. *J Biophotonics*. 2015 Nov 25. doi: 10.1002/jbio.201500223.
- Kiseleva E, Kirillin M, Feldchtein F, Vitkin A, Sergeeva E, Zagaynova E, et al. Differential diagnosis of human bladder mucosa pathologies in vivo with cross-polarization optical coherence tomography. *Biomed Opt Express*. 2015; Apr 1; 6 (4): 1464–76.
- Matveev LA, Zaitsev VYu, Gelikonov GV, Matveyev AL, Moiseev AA, Ksenofontov SYu, et al. Hybrid M-mode-like OCT imaging of three-dimensional microvasculature in vivo using reference-free processing of complex valued B-scans. *Opt Lett*. 2015; 40 (7): 1472–5.
- Rogowska J, Patel N, Plummer S, Brezinski ME. Quantitative optical coherence tomographic elastography: method for assessing arterial mechanical properties. *Br J Radiol*. 2006; 79 (945): 707–11.
- Song S, Huang Z, Nguyen TM, Wong EY, Arnal B, O'Donnell M, et al. Shear modulus imaging by direct visualization of propagating shear waves with phase-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2013; 18 (12): 121509.
- Adie SG, Kennedy BF, Armstrong JJ, Alexandrov SA, Sampson DD. Audio frequency in vivo optical coherence elastography. *Phys Med Biol*. 2009; 54 (10): 3129–39.
- Jonathan E, Enfield J, Leahy MJ. Correlation mapping method for generating microcirculation morphology from optical coherence tomography (OCT) intensity images. *J Biophotonics*. 2011; Sep; 4 (9): 583–7.
- Jung Y, Dziennis S, Zhi Z, Reif R, Zheng Y, Wang RK. Tracking Dynamic Microvascular Changes during Healing after Complete Biopsy Punch on the Mouse Pinna Using Optical Microangiography. *PLoS ONE*. 2013; 8 (2): e57976.
- Li H, Standish BA, Mariampillai A, Munce NR, Mao Y, Chiu S, et al. Feasibility of Interstitial Doppler Optical Coherence Tomography for In Vivo Detection of Microvascular Changes During Photodynamic Therapy. *Lasers Surg Med*. 2006; Sep 1; 38 (8): 754–61.
- Standish BA, Lee KKC, Jin X, Mariampillai A, Munce NR, Wood MFG, et al. Interstitial Doppler Optical Coherence Tomography as a Local Tumor Necrosis Predictor in Photodynamic Therapy of Prostatic Carcinoma: An In vivo Study. *Cancer Res*. 2008; Dec 1; 68 (23): 9987–95.
- Standish BA, Yang VX, Munce NR, Wong Kee Song LM, Gardiner G, Lin A, et al. Doppler optical coherence tomography monitoring of microvascular tissue response during photodynamic therapy in an animal model of Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc*. 2007; 66 (2): 326–33.
- Hamdoon Z, Jerjes W, Upile T, Hopper C. Optical coherence tomography-guided photodynamic therapy for skin cancer: case study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2011; 8 (1): 49–52.
- Themstrup L, Banzhaf CA, Mogensen M, Jemec GB. Optical coherence tomography imaging of non-melanoma skin cancer undergoing photodynamic therapy reveals subclinical residual lesions. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2014; 11 (1): 7–12.

References

- Casas A, Di Venosa G, Hasan T, Al Battle. Mechanisms of resistance to photodynamic therapy. *Curr Med Chem*. 2011; 18 (16): 2486–515.
- Mallidi S, Watanabe K, Timerman D, Schoenfeld D, Hasan T. Prediction of Tumor Recurrence and Therapy Monitoring Using Ultrasound-Guided Photoacoustic Imaging. *Theranostics*. 2015 Jan 1; 5 (3): 289–301.
- Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman S, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science*. 1991 Nov 22; 254 (5035): 1178–81.
- Schmitt JM, Xiang SH. Cross-polarized backscatter in optical coherence tomography of biological tissue. *Opt Lett*. 1998 Jul 1; 23 (13): 1060–2.
- Bouma BE, Tearney GJ. Clinical imaging with optical coherence tomography. *Acad Radiol*. 2002 Aug; 9 (8): 942–53.
- Zagaynova EV, Gladkova ND, Shakhova NM, Streltsova OS,

- Kuznetsova IA, Yanvareva IA, et al. Optical Coherence Tomography Monitoring of Surgery in Oncology. In: Popp J, Tuchin V, Chiou A, Heinemann SH, editors. Handbook of Biophotonics. Wiley-VCH; 2012. p. 337–76.
7. Enfield J, Jonathan E, Leahy M. In vivo imaging of the microcirculation of the volar forearm using correlation mapping optical coherence tomography (cmOCT). *Biomed Opt Express*. 2011; 2 (5): 1184–93.
  8. Mariampillai A, Leung MK, Jarvi M, Standish BA, Lee K, Wilson BC, et al. Optimized speckle variance OCT imaging of microvasculature. *Opt Lett*. 2010; 35 (8): 1257–9.
  9. Kennedy BF, Hillman TR, McLaughlin RA, Quirk BC, Sampson DD. In vivo dynamic optical coherence elastography using a ring actuator. *Opt Express*. 2009; 17 (24): 21762–72.
  10. Wang S, Li J, Manapuram RK, Menodiado FM, Ingram DR, Twa MD, et al. Noncontact measurement of elasticity for the detection of soft-tissue tumors using phase-sensitive optical coherence tomography combined with a focused air-puff system. *Opt Lett*. 2012; 37 (24): 5184–6.
  11. Srivastava A, Verma Y, Rao K, Gupta P. Determination of elastic properties of resected human breast tissue samples using optical coherence tomographic elastography. *Strain*. 2011; Feb 1; 47 (1): 75–87.
  12. Kennedy KM, McLaughlin RA, Kennedy BF, Tien A, Latham B, Saunders CM, et al. Needle optical coherence elastography for the measurement of microscale mechanical contrast deep within human breast tissues. *J Biomed Opt*. 2013; 18 (12): 121510.
  13. Kennedy BF, McLaughlin RA, Kennedy KM, Chin L, Wijesinghe P, Curatolo A, et al. Investigation of Optical Coherence Micro-elastography as a Method to Visualize Cancers in Human Breast Tissue. *Cancer Res*. 2015; 75 (16): 3236–45.
  14. Wang S, Larin KV, Li J, Vantipalli S, Manapuram RK, Aglyamov S, et al. A focused air-pulse system for optical-coherence-tomography-based measurements of tissue elasticity. *Laser Physics Letters*. 2013; 10 (7): 075605.
  15. Nguyen TM, Song S, Arnal B, Wong EY, Huang Z, Wang RK, et al. Shear wave pulse compression for dynamic elastography using phase-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2014; 19 (1): 016013.
  16. Zaitsev VY, Matveyev AL, Matveev LA, Gelikonov GV, Gubarkova EV, Gladkova ND, et al. Hybrid method of strain estimation in optical coherence elastography using combined sub-wavelength phase measurements and supra-pixel displacement tracking. *J Biophotonics*. 2016; 9 (5): 499–509.
  17. Gubarkova EV, Dudenkova VV, Feldchtein FI, Timofeeva LB, Kiseleva EB, Kuznetsov SS, et al. Multi-modal optical imaging characterization of atherosclerotic plaques. *J Biophotonics*. 2015 Nov 25. doi: 10.1002/jbio.201500223.
  18. Kiseleva E, Kirillin M, Feldchtein F, Vitkin A, Sergeeva E, Zagaynova E, et al. Differential diagnosis of human bladder mucosa pathologies in vivo with cross-polarization optical coherence tomography. *Biomed Opt Express*. 2015; Apr 1; 6 (4): 1464–76.
  19. Matveev LA, Zaitsev VYu, Gelikonov GV, Matveyev AL, Moiseev AA, Ksenofontov SYu, et al. Hybrid M-mode-like OCT imaging of three-dimensional microvasculature in vivo using reference-free processing of complex valued B-scans. *Opt Lett*. 2015; 40 (7): 1472–5.
  20. Rogowska J, Patel N, Plummer S, Brezinski ME. Quantitative optical coherence tomographic elastography: method for assessing arterial mechanical properties. *Br J Radiol*. 2006; 79 (945): 707–11.
  21. Song S, Huang Z, Nguyen TM, Wong EY, Arnal B, O'Donnell M, et al. Shear modulus imaging by direct visualization of propagating shear waves with phase-sensitive optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2013; 18 (12): 121509.
  22. Adie SG, Kennedy BF, Armstrong JJ, Alexandrov SA, Sampson DD. Audio frequency in vivo optical coherence elastography. *Phys Med Biol*. 2009; 54 (10): 3129–39.
  23. Jonathan E, Enfield J, Leahy MJ. Correlation mapping method for generating microcirculation morphology from optical coherence tomography (OCT) intensity images. *J Biophotonics*. 2011; Sep; 4 (9): 583–7.
  24. Jung Y, Dziennis S, Zhi Z, Reif R, Zheng Y, Wang RK. Tracking Dynamic Microvascular Changes during Healing after Complete Biopsy Punch on the Mouse Pinna Using Optical Microangiography. *PLoS ONE*. 2013; 8 (2): e57976.
  25. Li H, Standish BA, Mariampillai A, Munce NR, Mao Y, Chiu S, et al. Feasibility of Interstitial Doppler Optical Coherence Tomography for In Vivo Detection of Microvascular Changes During Photodynamic Therapy. *Lasers Surg Med*. 2006; Sep 1; 38 (8): 754–61.
  26. Standish BA, Lee KKC, Jin X, Mariampillai A, Munce NR, Wood MFG, et al. Interstitial Doppler Optical Coherence Tomography as a Local Tumor Necrosis Predictor in Photodynamic Therapy of Prostatic Carcinoma: An In vivo Study. *Cancer Res*. 2008; Dec 1; 68 (23): 9987–95.
  27. Standish BA, Yang VX, Munce NR, Wong Kee Song LM, Gardiner G, Lin A, et al. Doppler optical coherence tomography monitoring of microvascular tissue response during photodynamic therapy in an animal model of Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc*. 2007; 66 (2): 326–33.
  28. Hamdoon Z, Jerjes W, Upile T, Hopper C. Optical coherence tomography-guided photodynamic therapy for skin cancer: case study. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2011; 8 (1): 49–52.
  29. Themstrup L, Banzhaf CA, Mogensen M, Jemec GB. Optical coherence tomography imaging of non-melanoma skin cancer undergoing photodynamic therapy reveals subclinical residual lesions. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2014; 11 (1): 7–12.

## ВОЗМОЖНОСТИ ДИНАМИЧЕСКОЙ МРТ С КОНТРАСТНЫМ УСИЛЕНИЕМ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ТИПА РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Е. В. Тарачкова<sup>1✉</sup>, М. А. Шориков<sup>1,2</sup>, В. О. Панов<sup>1,2</sup>, В. В. Кузнецов<sup>2</sup>, И. Е. Тюрин<sup>1,2</sup>, Н. Л. Шимановский<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Кафедра рентгенологии и радиологии,

Российская медицинская академия последипломного образования, Москва

<sup>2</sup> Российский онкологический научный центр имени Н. Н. Блохина, Москва

<sup>3</sup> Кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии имени акад. П. В. Сергеева, медико-биологический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

Определение гистологического типа рака шейки матки (плоскоклеточный рак или аденокарцинома) способствует выбору наиболее эффективной терапии. В работе описан метод дифференциальной диагностики заболевания с использованием динамической магнитно-резонансной томографии с контрастным усилением. Были обследованы 90 пациенток в возрасте 23–78 лет (средний возраст — 43,5 года) с гистологически подтвержденным раком шейки матки стадий IIb–IVb. Сканировали на аппаратах Magnetom Espree 1.5T и Magnetom Skyra 3.0T (Siemens, Германия), используя гадобутол («Гадовист», Bayer, Германия). На T1-взвешенных изображениях интенсивность сигнала и скорость ее изменения, начиная с 20 с после появления гадобутола в опухоли, были достоверно выше для аденокарцином, чем для плоскоклеточного рака ( $p < 0,04$ ). При этом для плоскоклеточного рака наблюдали две фазы на кривых зависимости интенсивности сигнала от времени после появления гадобутола в опухоли: короткую фазу относительно медленного накопления контрастного вещества с последующим выходом на плато или даже снижением сигнала к концу наблюдения (125 с). Именно характер накопления гадобутола позволяет различать гистологические типы опухолей, и на основе соответствующих кривых могут быть предложены фармакокинетические модели для опухолей разных типов. Постконтрастные изображения полезны для определения степени дифференцировки опухоли. В частности, сигнал от высокодифференцированных аденокарцином достоверно наиболее неоднородный ( $p < 0,03$ ). Описанный метод не исключает гистологической верификации диагноза и может быть рекомендован как дополнительный диагностический инструмент.

**Ключевые слова:** магнитно-резонансная томография, контрастное усиление, гадобутол, рак шейки матки, аденокарцинома, плоскоклеточный рак, дифференциальная диагностика

✉ Для корреспонденции: Тарачкова Елена Владимировна  
123995, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1; doctorid@yandex.ru

Статья получена: 10.08.2016 Статья принята в печать: 18.08.2016

## DYNAMIC CONTRAST-ENHANCED MRI IN DETERMINING HISTOLOGICAL TYPE OF CERVICAL CANCER

Tarachkova EV<sup>1✉</sup>, Shorikov MA<sup>1,2</sup>, Panov VO<sup>1,2</sup>, Kuznetsov VV<sup>2</sup>, Tyurin IE<sup>1,2</sup>, Shimanovsky NL<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Roentgenology and Radiology,

Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia

<sup>3</sup> P. V. Sergeev Molecular Pharmacology and Radiobiology Department, Biomedical Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Knowing the histology of cervical cancer (squamous cell carcinoma or adenocarcinoma) is important in deciding on the best treatment plan. We have studied the role of dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging in the differential diagnosis of cervical cancer. We examined 90 patients between 23 and 78 years of age (mean age was 43.5 years) with histologically distinctive stage IIb–IVb cervical cancers. Scanning was performed on Magnetom Espree 1.5T and Magnetom Skyra 3.0T scanners (Siemens, Germany) using gadobutrol (Gadavist by Bayer, Germany). On T1-weighted images, signal intensity and its rate of change were significantly higher for adenocarcinomas compared to squamous cell carcinomas ( $p < 0.04$ ) from the 20<sup>th</sup> second after gadobutrol had been delivered to the tumor. With squamous cell carcinomas, the time-intensity curve (showing the dependence of signal intensity on the time elapsed after gadobutrol had been delivered to the tumor) had two phases: a short phase of a relatively slow accumulation of the contrast agent with the subsequent plateau or even signal intensity reduction. The pattern of gadobutrol accumulation allows differentiating between histological types of tumors. Based on the resulting curves, a pharmacokinetic model can be described for each tumor type. Postcontrast images are useful in determining tumor differentiation grade. Specifically, the signal from a well-differentiated adenocarcinoma is the most inhomogeneous one ( $p < 0.03$ ). The method described in this work does not imply that histological analysis is unnecessary and can be recommended as a supplementary diagnostic tool.

**Keywords:** magnetic resonance imaging, contrast enhancement, gadobutrol, cervical cancer, adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, differential diagnosis

✉ Correspondence should be addressed: Elena Tarachkova  
ul. Barrikadnaya, d. 2/1, str. 1, Moscow, Russia, 123995; doctorid@yandex.ru

Received: 10.08.2016 Accepted: 18.08.2016

Рак шейки матки (РШМ) остается важной проблемой здоровья женщин репродуктивного возраста [1–6]. У 70–80 % больных инвазивным РШМ диагностируют плоскоклеточный рак, у 10–20 % — аденокарциному [6, 7]. Аденокарциномы характеризуются более агрессивным ростом, большей частотой возникновения отдаленных метастазов, худшей пятилетней выживаемостью пациенток и требуют несколько иного подхода при лечении, прежде всего, при выборе препаратов для химиотерапии [8]. Определение гистологического типа РШМ могло бы позволить своевременно подбирать наиболее эффективное лечение.

По сравнению с компьютерной томографией (КТ) и позитронно-эмиссионной компьютерной томографией (ПЭТ-КТ) магнитно-резонансная томография (МРТ) имеет преимущество при выявлении и стадировании локально ограниченного РШМ; в случае распространенного РШМ КТ и МРТ одинаково эффективны; ПЭТ-КТ рекомендуется для обнаружения рецидивов и метастазов в лимфатических узлах [1, 9, 10]. Для дифференциации доброкачественных и злокачественных опухолей широко используется динамическая МРТ с контрастным усилением (ДМРТКУ) [1], но применение этого метода для выявления различных гистологических типов РШМ пока описано не было. С этой целью проводили МРТ-исследование с получением диффузионно-взвешенных изображений (ДВИ) и построением карт измеряемого коэффициента диффузии (ИКД-карт) [11, 12]. Мы предположили, что изображения, полученные с помощью ДМРТКУ, могут быть информативнее ДВИ с построением ИКД-карт и T2-взвешенных изображений (T2ВИ) в дооперационном определении гистологического типа рака шейки матки (плоскоклеточный рак или аденокарцинома) и, возможно, степени дифференцировки опухоли. В настоящей работе были поставлены следующие задачи:

- определить, есть ли различия между кривыми интенсивности накопления гадобутрола при ДМРТКУ для разных гистологических типов РШМ;
- определить, есть ли различия в интенсивности и однородности сигнала от опухолевых тканей разного гистологического типа на отсроченных постконтрастных изображениях, полученных при ДМРТКУ;
- определить, есть ли различия в интенсивности сигнала для разных гистологических типов РШМ на T2ВИ без

- подавления сигнала от жировой ткани и с его подавлением;
- оценить чувствительность и специфичность метода ДМРТКУ для оценки гистологического типа РШМ и степени дифференцировки опухоли.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено на базе Российского онкологического научного центра имени Н. Н. Блохина. В нем приняли участие 90 женщин в возрасте 23–78 лет (средний возраст — 43,5 года) с гистологически подтвержденным раком шейки матки стадий IIb–IVb и медианой объема поражения, равной 43,3 (22,6; 92,9) см<sup>3</sup> (в скобках указаны 1 и 3-й квантили). Распределение пациенток по подгруппам в зависимости от гистологического типа РШМ и степени дифференцировки опухоли представлены в табл. 1. Различия между подгруппами по возрасту и объему опухолевого поражения были недостоверны ( $p > 0,05$ ).

Критериями включения являлись: подозрение на РШМ и необходимость выбрать тактику лечения при верификации диагноза; верифицированный диагноз и необходимость уточнить размеры опухоли, глубину инвазии, прорастание параметрия, поражение лимфоузлов и прилежащих структур; повышенный уровень содержания антигена плоскоклеточной карциномы (squamous cell carcinoma antigen, SCCA) при сомнительных результатах трансвагинального ультразвукового исследования. К критериям исключения отнесли: общее тяжелое состояние пациента (соматическое, психическое), делавшее невозможным сохранение им неподвижности; гиперчувствительность к компонентам магнитно-резонансного контрастного средства (МРКС); наличие в теле пациента металлических имплантатов и вживленных электронных устройств (клипс, водителей ритма и т. п.); клаустрофобия; тяжелые сердечно-сосудистые заболевания; почечная недостаточность (скорость клубочковой фильтрации — менее 30 мл/мин); выраженная печеночная недостаточность; избыточный вес пациента, превышающий максимально допустимую нагрузку на стол томографа.

При подготовке к исследованию пациенткам назначали 2-хдневную диету с запретом на газообразующие

**Таблица 1.** Распределение пациенток с раком шейки матки по подгруппам в зависимости от гистологического типа и степени дифференцировки опухоли

| Показатель   | Плоскоклеточный рак             |                    |                    | Аденокарцинома     |                   |                   |
|--|---------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------|
|  | низкая                          | умеренная          | высокая            | низкая             | умеренная         | высокая           |
| Количество пациенток   | 74                              |                    |                    | 16                 |                   |                   |
| Медиана возраста (квантиль 1; квантиль 3), годы                    | 42 (36; 50)                     |                    |                    | 54 (39; 54)        |                   |                   |
| Медиана объема поражения (квантиль 1; квантиль 3), см <sup>3</sup> | 43,6 (22,3; 95,2)               |                    |                    | 42,2 (24,4; 89,4)  |                   |                   |
|  | Степень дифференцировки опухоли |                    |                    |                    |                   |                   |
| Количество пациенток   | 24                              | 22                 | 6                  | 5                  | 5                 | 5                 |
| Медиана возраста (квантиль 1; квантиль 2), годы                    | 37 (35; 43)                     | 44 (37; 48)        | 38 (35; 41)        | 59 (54; 62)        | 45 (39; 48)       | 56 (39; 58)       |
| Медиана объема поражения (квантиль 1; квантиль 2), см <sup>3</sup> | 43,6 (36,5; 114,6)              | 57,6 (40,2; 211,9) | 63,6 (19,8; 166,3) | 87,9 (56,4; 206,1) | 38,2 (30,1; 72,1) | 54,7 (35,3; 74,2) |
| Стадия по FIGO IIa, %  | 28,6                            | 33,3               | –                  | –                  | 50,0              | 50,0              |
| Стадия по FIGO IIIa, %   | 19,0                            | 27,8               | 80,0               | –                  | –                 | 50,0              |
| Стадия по FIGO IIIb, %   | 23,8                            | 27,8               | 20,0               | 75,0               | 25,0              | –                 |
| Стадия по FIGO IVa, %  | 19,0                            | 5,6                | –                  | –                  | –                 | –                 |
| Стадия по FIGO IVb, %  | 9,5                             | 5,6                | –                  | 25,0               | 25,0              | –                 |

**Примечание.** Объем поражения получен прямым измерением (измерение суммы площадей опухоли на каждом срезе на T2-взвешенных изображениях с последующим умножением на толщину среза). Данные о степени дифференцировки получены для 67 пациенток, что отражено в таблице.

продукты. За день до исследования они должны были принять слабительное средство в стандартной дозе и/или не менее чем за 12 ч до исследования сделать очищающую клизму. В день исследования сделать очистительную клизму (но не позже чем за 2 ч до него) был разрешен легкий завтрак, богатый углеводами, с минимальным количеством жидкости. За 10–15 мин до исследования следовало принять спазмолитическое средство дротаверин («Но-Шпа», «ГНЦ «Ниопик», Россия) перорально в дозе 40–80 мг либо, при отсутствии в анамнезе запоров, антиперистальтическое средство — гиосцина бутилбромид («Бускопан», Boehringer Ingelheim, Германия) в дозе 10 мг. Исследования проводили при малом наполнении мочевого пузыря.

Сканировали на аппаратах Magnetom Espree 1.5T и Magnetom Skyra 3.0T (Siemens, Германия) с использованием многоканальной 12-элементной приемной катушки «для тела», которую укладывали на область малого таза пациенток, размещенных в приборе в положении «на спине» (supine), с центрированием на 2–3 см выше лобка. Использовали следующие виды изображений (во всех случаях — в аксиальной проекции):

1. T2-взвешенные изображения (T2ВИ) без подавления сигнала от жировой ткани;
2. T2ВИ с подавлением сигнала от жировой ткани;
3. ДВИ с подавлением сигнала от жировой ткани с автоматическим построением ИКД-карт по значениям b-фактора, равным 50, 800, 1000;
4. T1-взвешенные изображения (T1ВИ) до введения МРКС;
5. T1ВИ в процессе динамического исследования (ДМРТКУ) (keyhole imaging) [13] с частотным подавлением сигнала от жировой ткани — 35 серий по 4,8 с каждая. Для уменьшения зависимости от неоднородности подавления МР-сигнала от жировой ткани и более точного определения зоны накопления МРКС МР-томограммы до контрастирования вычитали из соответствующих томограмм, полученных в разное время после введения МРКС. Общее время наблюдения — 125 с после появления МРКС в опухоли;
6. T1ВИ после введения МРКС в отсроченную фазу (3–4 мин после введения) с подавлением сигнала от жировой ткани.

Технические параметры использованных последовательностей приведены в табл. 2

Для проведения ДМРТКУ вводили внутривенно водорастворимое внеклеточное 1,0 М МРКС гадобутрол («Гадовист», Bayer, Германия) в дозе 7,5 мл (примерно 0,1 ммоль/кг массы тела) со скоростью 2,5–3,0 мл/с. Двойная концентрация гадолиния в этом препарате позволяет вводить меньший объем средства и при этом благодаря высокой реактивности гадобутрола получать изображения более высокого качества [14]. Гадобутрол относится к макроциклическим гадолинийсодержащим препаратам, имеющим наименьший риск развития нефрогенного системного фиброза [15].

На МР-изображениях оценивали следующие параметры:

- интенсивность сигнала, т. е. насколько яркой или темной кажется структура на фоне окружающих тканей, а при количественном анализе — среднее значение интенсивности сигнала (ИС) в области интереса (region of interest, ROI), измеренное в усл. ед.;
- неоднородность сигнала, т. е. наличие и степень выраженности неравномерности распределения сигнала структуры на фоне окружающих тканей, а при количественном анализе — разброс значений интенсивности сигнала внутри ROI, которая может быть оценена как абсолютное значение стандартного отклонения интенсивности сигнала (СО ИС, усл. ед.) или отношение стандартного отклонения к величине интенсивности сигнала (безразмерная величина) внутри ROI.

Как следует из описания, эти характеристики доступны для простого визуального анализа, однако, используя стандартный интерфейс рабочей станции, можно установить их референсные значения. При измерении изменений интенсивности МР-сигнала на изображениях всех типов использовали данные об ИС и СО ИС в выбранных вручную ROI ткани шейки матки и большой ягодичной мышцы, по которой нормировали МР-сигнал (выбирали участки размером не менее 15 пикселей), т. е. интенсивность сигнала дополнительно оценивали как отношение ИС в области, соответствующей РШМ, к ИС мышцы.

Используя изображения, полученные при вычитании МР-томограмм до и после введения МРКС, по данным

**Таблица 2.** Использованные в работе МР-последовательности и их параметры

| Тип изображений   | Подавление сигнала от жировой ткани            | Тип последовательности и дополнительные параметры   | Толщина среза, мм | Поле зрения (сторона), мм | Матрица, пиксел x пиксел | TR/TE, мс     | Кол-во накопленных |
|---|--|---|-------------------|---------------------------|--------------------------|---------------|--------------------|
| T2ВИ  | Без подавления и с частотным подавлением       | Турбо спин-эхо, коэффициент ускорения равен 17  | 3                 | 320                       | 384 x 384                | 6300–8000/132 | 1                  |
| ДВИ + ИКД-карты   | Подавление селективным инвертирующим импульсом | Эхопланарная последовательность, b-фактор равен 50, 800, 1000   | 3–4               | 400                       | 96 x 196                 | 370/82        | 6                  |
| T1ВИ до введения МРКС, T1ВИ после введения МРКС в отсроченную фазу (3–4 мин после введения) | С частотным подавлением                        | Трехмерная модификация градиентного эха, угол отклонения равен 10°  | 2                 | 240                       | 243 x 320                | 5,94/2,08     | 1                  |
| T1ВИ ДМРТКУ   | С частотным подавлением                        | Трехмерная модификация градиентного эха, угол поворота равен 12°, процент сбора центральной и периферической части k-пространства A = 51 % и B = 21 %, временное разрешение равно 4,8 с, общее время наблюдения равно 125 с | 3                 | 260                       | 192 x 256                | 466/186       | 1                  |



ДМРТКУ строили графики (рис. 1) изменения ИС и его СО в зависимости от времени при ДМРТКУ и определяли ИС и его СО в тех же участках на постконтрастных изображениях в отсроченную фазу. Для каждого графика определяли точку перегиба, после которой скорость накопления МРКС опухолью менялась: к начальному и конечному участкам кривых проводили касательные, и точку их пересечения считали точкой перегиба графика (точкой изменения скорости изменения сигнала). В связи с вариабельностью положения точки перегиба она была принята за нуль отсчета времени  $t$  при расчете, однако в таблицах приведено время от появления гадобутрола в опухоли. Относительную интенсивность сигнала (ОИС( $t$ )) вычисляли по формуле

$$\text{ОИС}(t) = \frac{\text{ИС}(t) - \text{ИС}(0)}{\text{ИС}(0)} \times 100 \%,$$

где ОИС( $t$ ) — относительная интенсивность сигнала в конкретный момент времени  $t$ , отсчитанный от точки перегиба, ИС(0) — интенсивность сигнала в точке перегиба, ИС( $t$ ) — интенсивность сигнала в определенный момент времени  $t$  (в настоящей статье представлены  $t = 15, 30, 60$  и  $110$  с после точки перегиба).

Обработку и статистический анализ полученных данных осуществляли при помощи программных пакетов Microsoft Excel 10 с надстройкой Addinsoft XLStat (Addinsoft, США) и Statistica 10.0 (StatSoft, США) с применением критериев Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса, Данна и анализа ROC-кривых (receiver operator curves).

Исследование было одобрено Комитетом по этике научных исследований Российской медицинской академии последиplomного образования (Протокол № 8 от 14.06.2016).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После введения МРКС для опухолей обоих типов наблюдали фазу быстрого интенсивного накопления контрастного вещества с соответствующим изменением ИС длительностью около 10–20 с (медиана — 15 с) после появления

гадобутрола в опухоли (рис. 2). Эта фаза завершалась точкой перегиба на кривой зависимости ИС от времени. В дальнейшем для аденокарцином было характерно более интенсивное изменение МР-сигнала с последующим более быстрым и ровным накоплением гадобутрола ( $p < 0,003–0,040$ ). Для плоскоклеточного рака интенсивность МР-сигнала после отметки в 15 с была ниже и были характерны две фазы на кривых зависимости ИС от времени после появления гадобутрола в опухоли: короткая фаза относительно медленного накопления контрастного вещества в течение 60 с после точки перегиба (или с 15 по 75 с после появления гадобутрола в опухоли) с последующим выходом на плато или даже снижением МР-сигнала к 125 с после появления гадобутрола в опухоли.

Различия между аденокарциномой и плоскоклеточным раком, выявленные при анализе ИС и СО ИС на Т2ВИ с частотным подавлением сигнала от жировой ткани, а затем — на Т1ВИ при ДМРТКУ и в отсроченную фазу после введения МРКС, приведены в таблицах 3 и 4. На Т2ВИ с подавлением сигнала от жировой ткани аденокарциномы характеризуются более интенсивным и более однородным сигналом по сравнению с плоскоклеточным раком ( $p < 0,03–0,05$ ). При ДМРТКУ, начиная с 20 с после появления гадобутрола в опухоли, ИС и скорость ее изменения на Т1ВИ для аденокарцином также достоверно выше ( $p < 0,003–0,040$ ). На постконтрастных изображениях в отсроченную фазу низкодифференцированные аденокарциномы характеризуются более однородным сигналом по сравнению с умеренно- и высокодифференцированными аденокарциномами и плоскоклеточным раком любой степени дифференцировки, а высокодифференцированные аденокарциномы характеризуются более неоднородным сигналом по сравнению с аденокарциномами другой степени дифференцировки и плоскоклеточным раком любой степени дифференцировки ( $p < 0,03$ ). Для плоскоклеточного рака достоверных различий нет.

В связи с наличием на кривых для плоскоклеточного рака дополнительного перегиба в точке около 75 с после появления гадобутрола в опухоли дополнительно оценили отношение сигнала в этой точке и в конечной точке (125 с). Это отношение для плоскоклеточного рака

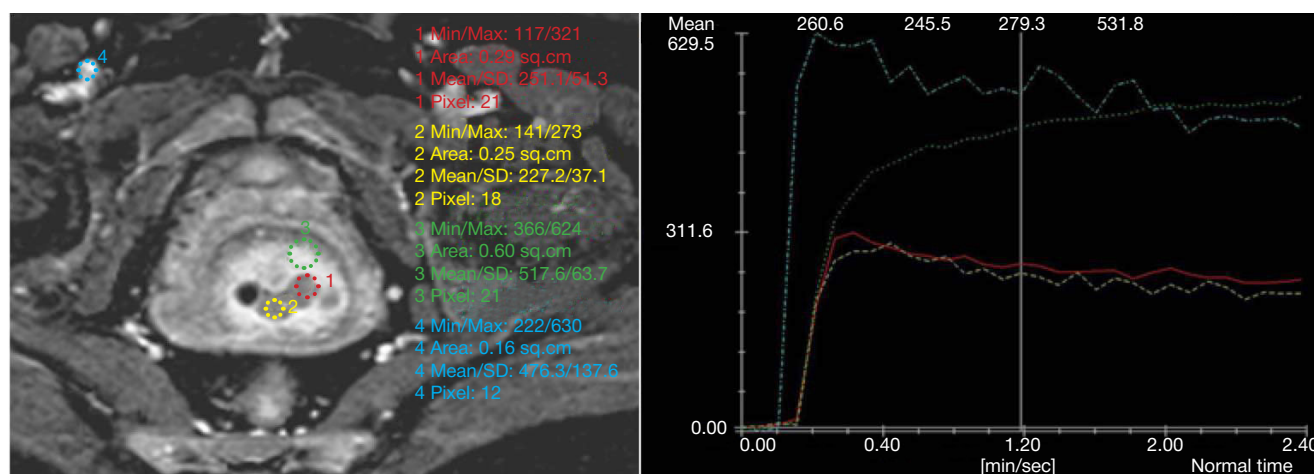
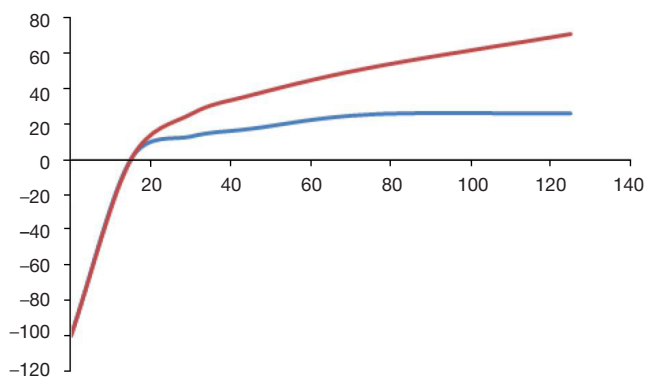


Рис. 1. Вид кривых накопления магнитно-резонансного контрастного средства, получаемых на рабочей станции томографа

Слева приведен аксиальный срез, полученный по результатам динамической МРТ с контрастным усилением (80 с от начала измерения) у пациентки 45 лет с плоскоклеточным раком шейки матки. Цветами выделены области интереса (ROI): желтым (1) и красным (2) — рак шейки матки, зеленым (3) — непораженный миометрий, голубым (4) — сосуд. Справа представлены графики зависимости интенсивности сигнала от времени в областях интереса (по цветам). Вертикальной чертой указано время от начала измерения — 80 с. По оси абсцисс отложено время от появления контрастного средства в опухоли в секундах, по оси ординат — относительная интенсивность сигнала. Более высокая интенсивность сигнала характерна для непораженного миометрия и сосуда.



**Рис. 2.** Характерный вид кривых накопления гадобутрола для рака шейки матки двух гистологических типов — плоскоклеточного рака и аденокарциномы

По оси абсцисс отложено время от появления контрастного средства в опухоли в секундах, по оси ординат — относительная интенсивность сигнала опухолевой ткани (красная кривая — аденокарцинома, синяя кривая — плоскоклеточный рак).

оказалось близким к единице в связи с выходом на плато, а для аденокарциномы — 1,1 ( $p < 0,02$ ). Именно этот параметр, а также относительная интенсивность сигнала через 75 с после появления гадобутрола в опухоли оказались наиболее чувствительными и специфичными параметрами (табл. 3). При оптимизации точности (достижении максимального значения суммы чувствительности и специфичности) они составляют около 0,75 для опухолей обоих типов.

Анализ ROC-кривых также подтвердил тот факт, что именно особенности накопления гадобутрола наилучшим образом характеризуют гистологический тип опухоли. Дополнительные параметры, достоверно отличающиеся для аденокарцином и плоскоклеточного рака, получаемые при анализе T2ВИ с подавлением сигнала от жировой ткани (ИС по абсолютному значению, нормированное к ИС ягодичной мышцы, СО ИС), должны играть вспомогательную роль. Чтобы понять их значение для комплекса МРТ-характеристик предлагаемого подхода, построили модель на основе бинарной логистической регрессии. Это позво-

**Таблица 3.** Медиана и разброс критериев различий на T2-взвешенных изображениях с подавлением сигнала от жировой ткани и на T1-взвешенных изображениях после введения гадобутрола в области интереса (не менее 15 пикселей) для рака шейки матки двух гистологических типов (плоскоклеточного рака и аденокарциномы)

| Критерий                                    | p-value | Гистологический тип рака шейки матки | Медиана, усл. ед. | Квантиль 1, усл. ед. | Квантиль 3, усл. ед. |
|---|---------|--------------------------------------|-------------------|----------------------|----------------------|
| T2ВИ с подавлением сигнала от жировой ткани |         |                                      |                   |                      |                      |
| ИС опухоли                                  | 0,05    | Плоскоклеточный рак                  | 250,38            | 202,38               | 295,11               |
|   |         | Аденокарцинома                       | 306,57            | 260,3                | 309,35               |
| ИС опухоли / ИС мышцы                       | 0,03    | Плоскоклеточный рак                  | 5,97              | 4,64                 | 6,79                 |
|   |         | Аденокарцинома                       | 7,17              | 5,37                 | 7,81                 |
| СО ИС опухоли / ИС опухоли                  | 0,02    | Плоскоклеточный рак                  | 0,15              | 0,11                 | 0,18                 |
|   |         | Аденокарцинома                       | 0,11              | 0,09                 | 0,15                 |
| T1ВИ после введения МРКС при ДМРТКУ         |         |                                      |                   |                      |                      |
| ОИС(30)                                     | 0,01    | Плоскоклеточный рак                  | 12,88             | 4,8                  | 23,21                |
|   |         | Аденокарцинома                       | 25,68             | 16,27                | 35,13                |
| ОИС(45)                                     | 0,02    | Плоскоклеточный рак                  | 17,27             | 7,98                 | 35,98                |
|   |         | Аденокарцинома                       | 36,40             | 19,18                | 46,51                |
| ОИС(75)                                     | 0,005   | Плоскоклеточный рак                  | 25,38             | 7,23                 | 47,73                |
|   |         | Аденокарцинома                       | 52,11             | 33,53                | 66,17                |
| ОИС(125)                                    | 0,002   | Плоскоклеточный рак                  | 25,93             | 6,60                 | 69,97                |
|   |         | Аденокарцинома                       | 71,09             | 41,34                | 100,38               |
| ИС(125) / ИС(75)                            | 0,02    | Плоскоклеточный рак                  | 1,00              | 0,94                 | 1,08                 |
|   |         | Аденокарцинома                       | 1,11              | 1,02                 | 1,21                 |
| СО ИС(125)                                  | 0,04    | Плоскоклеточный рак                  | 42,10             | 33,70                | 81,60                |
|   |         | Аденокарцинома                       | 53,70             | 37,2                 | 81,60                |
| СО ИС(125) / ИС(125)                        | 0,02    | Плоскоклеточный рак                  | 0,15              | 0,11                 | 0,21                 |
|   |         | Аденокарцинома                       | 0,22              | 0,17                 | 0,28                 |

**Примечание.** ИС — интенсивность сигнала; ОИС(t) — относительная интенсивность сигнала на T1-взвешенных изображениях при динамической МРТ с контрастным усилением в момент времени t (с) после появления гадобутрола в опухоли; СО ИС — стандартное отклонение интенсивности сигнала. Достоверность различий оценили по критерию Манна-Уитни.

**Таблица 4.** Медиана и разброс стандартного отклонения интенсивности сигнала на постконтрастных T1-взвешенных изображениях в отсроченную фазу после введения гадобутрола для рака шейки матки двух гистологических типов (плоскоклеточного рака и аденокарциномы) и разных степеней дифференцировки опухолей

| Гистологический тип рака шейки матки | Степень дифференцировки опухоли | Медиана CO, усл. ед. | Квантиль 1 CO, усл. ед. | Квантиль 3 CO, усл. ед. |
|--------------------------------------|---------------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|
| Плоскоклеточный рак                  | Низкая                          | 47,55                | 37,80                   | 52,70                   |
|                                      | Умеренная                       | 34,25                | 30,00                   | 46,50                   |
|                                      | Высокая                         | 32,10                | 28,70                   | 41,40                   |
| Аденокарцинома                       | Низкая                          | 25,65*               | 24,95*                  | 29,75*                  |
|                                      | Умеренная                       | 38,30                | 33,20                   | 39,00                   |
|                                      | Высокая                         | 57,20*               | 56,00*                  | 68,10*                  |

**Примечание.** Достоверность различий оценили по критерию Краскела–Уоллиса и уточнили с помощью попарного критерия Данна. \* —  $p < 0,03$ .

лило оценить общую чувствительность и специфичность метода при использовании комбинации параметров: при оптимизации точности они стали составлять 0,80 и 0,86 соответственно для аденокарциномы (или 0,86 и 0,80 — для плоскоклеточного рака).

Постконтрастные изображения в отсроченную фазу оказались полезными для определения степени дифференцировки клеток опухоли: они позволяют высокочувствительно и высокоспецифично различать низко- и высокодифференцированные аденокарциномы. Первые характеризуются более однородным сигналом, чувствительность и специфичность при площади под ROC-кривой, равной 0,90, для них составляют 0,75 и 0,96 соответственно. Вторые, напротив, характеризуются более неоднородным сигналом и при площади под ROC-кривой, равной 0,88, определяются с чувствительностью и специфичностью около 1,00 и 0,83 соответственно.

Для значений ИКД-карт при измерении в участке опухоли размером 15–30 пикселей достоверных различий между опухолями двух типов выявить не удалось ( $p = 0,21$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты, полученные другими исследователями на достаточном больших выборках (80 и 112 пациенток), показали возможность выявления достоверных различий между аденокарциномой и плоскоклеточным раком различной степени дифференцировки по значению ИКД в ткани опухоли [11, 12]. Авторы подчеркивают, что результаты МРТ могут быть значимы для уточнения или подтверждения результатов гистологического исследования, в том числе для предотвращения врачебной ошибки. Однако в обеих работах производили вычисление среднего ИКД во всем объеме опухоли, что требовало обработки каждого среза, на котором выявляли РШМ. Подобный способ измерения крайне трудоемок и едва ли может быть предложен в качестве рутинного в клинической практике даже в крупных специализированных центрах. В нашей работе установить взаимосвязь ИКД с гистологическим типом опухоли, применяя более простой метод измерения (при выборе ROI

в 15–30 пикселей), не удалось. Кроме того, существует проблема точности воспроизведения и построения ИКД-карт, особенно при использовании данных всего с двумя или тремя значениями b-фактора [16–18]. Описанная нами методика проще и легче воспроизводится. При этом ДМРТКУ имеет значение не только для диагностики, но и для прогноза исхода при РШМ. По данным Lund и соавт. [19], низкий уровень контрастного усиления при проведении ДМРТКУ ассоциируется с более негативным прогнозом в сравнении с высоким уровнем контрастного усиления.

Кроме того, по результатам ДМРТКУ было выявлено отличие кривых накопления МРКС для плоскоклеточного рака и аденокарциномы. Можно предположить возможность построения для аденокарциномы двухкомпарментной фармакокинетической модели [20] накопления гадобутрола (кровь–ткань опухоли), а для плоскоклеточного рака — более сложной трехкомпарментной модели. Последнее объясняется, возможно, наличием (частичным сохранением?) базальной мембраны по внутренней поверхности эпителия слизистой шейки матки, и это может влиять на выбор терапии, т. к. определяет тип кровоснабжения и в конечном итоге — биодоступность опухоли для химиопрепаратов.

## ВЫВОДЫ

Динамическая магнитно-резонансная томография с контрастным усилением позволяет с высокой степенью достоверности предположить гистологический тип рака шейки матки (аденокарцинома или плоскоклеточный рак) на дооперационном этапе, опираясь на данные T1-взвешенных изображений о накоплении контрастного вещества, и даже определить высокую степень дифференцировки аденокарциномы на основе анализа постконтрастных изображений (таким аденокарциномам достоверно свойствен наиболее однородный сигнал). Однако описанный метод не позволяет полностью отказаться от проведения биопсии и других методов гистологической верификации диагноза и может быть рекомендован только как уточняющий инструмент диагностики.

## Литература

- Bourgioti C, Chatoupis K, Mouloupoulos LA. Current imaging strategies for the evaluation of uterine cervical cancer. *World J Radiol.* 2016; 8 (4): 342–54.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et. al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008; 58 (2): 71–96.
- Howlader N, Noone A, Krapcho M. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2010. 2012. Доступно по ссылке: [http://seer.cancer.gov/archive/csr/1975\\_2010/](http://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2010/).
- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin.* 2013; 63 (1): 11–30.
- Аксель Е. М. Статистика злокачественных новообразований женской половой сферы. *Онкогинекология.* 2012; (1): 18–23.

6. Давыдов М. И., Кузнецов В. В., Нечушкина М. В., редакторы. Лекции по онкогинекологии. М.: МЕДпресс-информ; 2009. 432 с.
7. Cervical Cancer Statistics [Интернет]. London: Cancer Research UK. [дата обращения: август 2016 г.]. Доступно по ссылке: <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/cervix/>.
8. Williams NL, Werner TL, Jarboe EA, Gaffney DK. Adenocarcinoma of the cervix: should we treat it differently? *Curr Oncol Rep.* 2015; 17 (4): 17.
9. Тарачкова Е. В., Стрельцова О. Н., Панов В. О., Базаева И. Я., Тюрин И. Е. Мультипараметрическая магнитно-резонансная томография в диагностике рака шейки матки. *Вестник рентгенологии и радиологии.* 2015; (6): 43–55.
10. Труфанов Г. Е., Панов В. О., редакторы. Руководство по лучевой диагностике в гинекологии. СПб.: Элби-СПб; 2008. 592 с.
11. Kuang F, Ren J, Zhong Q, Liyuan F, Huan Y, Chen Z. The value of apparent diffusion coefficient in the assessment of cervical cancer. *Eur Radiol.* 2013; 23 (4): 1050–8.
12. Nakamura K, Kajitani S, Joja I, Haruma T, Fukushima C, Kusumoto T, et al. The posttreatment mean apparent diffusion coefficient of primary tumor is superior to pretreatment ADCmean of primary tumor as a predictor of prognosis with cervical cancer. *Cancer Med.* 2013; 2 (4): 519–25.
13. van Vaals JJ, Brummer ME, Dixon WT, Tuithof HH, Engels H, Nelson RC, et al. Keyhole method for imaging of contrast uptake. *J Magn Reson Imaging.* 1993; 3 (4): 671–5.
14. Gutierrez JE, Rosenberg M, Seemann J, Breuer J, Haverstock D, et al. Safety and Efficacy of Gadobutrol for Contrast-enhanced Magnetic Resonance Imaging of the Central Nervous System: Results from a Multicenter, Double-blind, Randomized, Comparator Study. *Magn Reson Insights.* 2015; 8: 1–10.
15. Thomsen HS, Morcos SK, Almén T, Bellin MF, Bertolotto M, Bongartz G, et al. Nephrogenic systemic fibrosis and gadolinium-based contrast media: updated ESUR Contrast Medium Safety Committee guidelines. *Eur Radiol.* 2013; 23 (2):307–18.
16. Koh DM, Thoeny HC, editors. *Diffusion-Weighted MR Imaging: Application in The Body.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2010, p. 7–16.
17. Giannotti E, Waugh S, Priba L, Davis Z, Crowe E, Vinnicombe S. Assessment and quantification of sources of variability in breast apparent diffusion coefficient (ADC) measurements at diffusion weighted imaging, *Eur J Radiol.* 2015; 84 (9): 1729–36.
18. Malyarenko DI, Ross BD, Chenevert TL. Analysis and correction of gradient nonlinearity bias in ADC measurements. *Magn Reson Med.* 2014; 71 (3): 1312–23.
19. Lund KV, Simonsen TG, Hompland T, Kristensen GB, Rofstad EK. Short-term pretreatment DCE-MRI in prediction of outcome in locally advanced cervical cancer. *Radiother Oncol.* 2015; 115 (3): 379–85.
20. Campbell JL Jr, Clewell RA, Gentry PR, Andersen ME, Clewell HJ. 3rd Physiologically based pharmacokinetic/toxicokinetic modeling. 2012 *Computational Toxicology, Methods in Molecular Biology Series:* 439–99.

#### References

1. Bourgioti C, Chatoupis K, Mouloupoulos LA. Current imaging strategies for the evaluation of uterine cervical cancer. *World J Radiol.* 2016; 8 (4): 342–54.
2. Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T, et. al. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin.* 2008; 58 (2): 71–96.
3. Howlader N, Noone A, Krapcho M. SEER Cancer Statistics Review, 1975–2010. 2012. Available from: [http://seer.cancer.gov/archive/csr/1975\\_2010/](http://seer.cancer.gov/archive/csr/1975_2010/).
4. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin.* 2013; 63 (1): 11–30.
5. Axel EM. [Incidence and mortality from malignant tumors of the female reproductive system in Russia]. *Gynecologic Oncology.* 2012; (1): 18–23. Russian.
6. Davydov MI, Kuznetsov VV, Nechushkina MV, editors. *Leksii po onkoginekologii.* Moscow: MEDpress-inform; 2009. 432 p. Russian.
7. Cervical Cancer Statistics [Internet]. London: Cancer Research UK. [cited 2016 Aug]. Available from: <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/cervix/>.
8. Williams NL, Werner TL, Jarboe EA, Gaffney DK. Adenocarcinoma of the cervix: should we treat it differently? *Curr Oncol Rep.* 2015; 17 (4): 17.
9. Tarachkova EV, Streltsova ON, Panov VO, Bazaeva IY, Tyurin IE. [Multiparameter magnetic resonance imaging in the diagnosis of cancer of the cervix uteri]. *Vestnik rentgenologii i radiologii.* 2015; (6): 43–55. Russian.
10. Trufanov GE, Panov VO. *Rukovodstvo po luchevoj diagnostike v ginekologii.* Saint-Petersburg: ELBI-SPb; 2008. 592 p. Russian.
11. Kuang F, Ren J, Zhong Q, Liyuan F, Huan Y, Chen Z. The value of apparent diffusion coefficient in the assessment of cervical cancer. *Eur Radiol.* 2013; 23 (4): 1050–8.
12. Nakamura K, Kajitani S, Joja I, Haruma T, Fukushima C, Kusumoto T, et al. The posttreatment mean apparent diffusion coefficient of primary tumor is superior to pretreatment ADCmean of primary tumor as a predictor of prognosis with cervical cancer. *Cancer Med.* 2013; 2 (4): 519–25.
13. van Vaals JJ, Brummer ME, Dixon WT, Tuithof HH, Engels H, Nelson RC, et al. Keyhole method for imaging of contrast uptake. *J Magn Reson Imaging.* 1993; 3 (4): 671–5.
14. Gutierrez JE, Rosenberg M, Seemann J, Breuer J, Haverstock D, et al. Safety and Efficacy of Gadobutrol for Contrast-enhanced Magnetic Resonance Imaging of the Central Nervous System: Results from a Multicenter, Double-blind, Randomized, Comparator Study. *Magn Reson Insights.* 2015; 8: 1–10.
15. Thomsen HS, Morcos SK, Almén T, Bellin MF, Bertolotto M, Bongartz G, et al. Nephrogenic systemic fibrosis and gadolinium-based contrast media: updated ESUR Contrast Medium Safety Committee guidelines. *Eur Radiol.* 2013; 23 (2):307–18.
16. Koh DM, Thoeny HC, editors. *Diffusion-Weighted MR Imaging: Application in The Body.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2010, p. 7–16.
17. Giannotti E, Waugh S, Priba L, Davis Z, Crowe E, Vinnicombe S. Assessment and quantification of sources of variability in breast apparent diffusion coefficient (ADC) measurements at diffusion weighted imaging, *Eur J Radiol.* 2015; 84 (9): 1729–36.
18. Malyarenko DI, Ross BD, Chenevert TL. Analysis and correction of gradient nonlinearity bias in ADC measurements. *Magn Reson Med.* 2014; 71 (3): 1312–23.
19. Lund KV, Simonsen TG, Hompland T, Kristensen GB, Rofstad EK. Short-term pretreatment DCE-MRI in prediction of outcome in locally advanced cervical cancer. *Radiother Oncol.* 2015; 115 (3): 379–85.
20. Campbell JL Jr, Clewell RA, Gentry PR, Andersen ME, Clewell HJ. 3rd Physiologically based pharmacokinetic/toxicokinetic modeling. 2012 *Computational Toxicology, Methods in Molecular Biology Series:* 439–99.

## МРТ-ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ОПУХОЛЕЙ С КОНТРАСТНЫМ УСИЛЕНИЕМ ГАДОПЕНТЕТОВОЙ КИСЛОТЫ, СОЕДИНЕННОЙ С ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ СЛОЖНОЭФИРНОЙ СВЯЗЬЮ

В. Н. Кулаков<sup>1</sup>, А. А. Липенгольц<sup>1,2</sup>, Е. Ю. Григорьева<sup>2</sup>, А. В. Семейкин<sup>3</sup>, М. А. Абакумов<sup>3</sup>, Э. А. Караханов<sup>4</sup>, А. Б. Максимов<sup>4</sup>, Н. Л. Шимановский<sup>3</sup> ✉

<sup>1</sup> Федеральный медицинский биофизический центр имени А. И. Бурназяна, Москва

<sup>2</sup> Российский онкологический научный центр имени Н. Н. Блохина, Москва

<sup>3</sup> Кафедра молекулярной фармакологии и радиобиологии имени акад. П. В. Сергеева, медико-биологический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

<sup>4</sup> Кафедра химии нефти и органического катализа, химический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва

В настоящее время широко используют диагностическую процедуру на основе магнитно-резонансной томографии с применением контрастных средств, из которых наиболее часто применяют гадопентетовую кислоту (Gd-ДТПА, лекарственная форма — препарат «Магневист»). Данная работа посвящена изучению релаксирующей способности Gd-ДТПА, ковалентно соединенного с β-циклодекстрином, и сравнительной оценке визуализирующей способности изучаемого соединения и «Магневиста». Показано, что высокой релаксирующей способностью обладает комплекс Gd-ДТПА, состоящий из 80 % монопроизводного Gd-ДТПА-β-циклодекстрина и содержащий по 10 % ди- и трипроизводного Gd-ДТПА циклического углевода. Остатки Gd-ДТПА соединены с β-циклодекстрином сложноэфирной связью, где –COOH относится к ДТПА, а OH — поверхностные гидроксилы β-циклодекстрина. Экспериментально доказано, что изучаемое соединение не обладает токсичностью в диагностических концентрациях. Визуализирующая способность аналогичная «Магневисту» может быть достигнута введением меньшего, до 50 %, количества препарата.

**Ключевые слова:** гадолиний, диэтиленetriаминопентауксусная кислота, β-циклодекстрин, опухолевые клетки, фибробласты, релаксивность, визуализация опухоли

**Финансирование:** работа выполнена в рамках Государственного контракта № 11411.1008700.13.081 от 13.09.2011 ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».

✉ **Для корреспонденции:** Шимановский Николай Львович  
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1; shiman@rsmu.ru

Статья получена: 15.08.2016 Статья принята в печать: 25.08.2016

## CONTRAST ENHANCED MRI OF TUMORS USING GADOPENTETIC ACID LINKED TO CYCLODEXTRIN BY AN ESTER BOND

Kulakov VN<sup>1</sup>, Lipengolts AA<sup>1,2</sup>, Grigorieva EYu<sup>2</sup>, Semeikin AV<sup>3</sup>, Abakumov MA<sup>3</sup>, Karakhanov EA<sup>4</sup>, Maximov AB<sup>4</sup>, Shimanovsky NL<sup>3</sup> ✉

<sup>1</sup> Burnazyan Federal Medical Biophysical Center, Moscow, Russia

<sup>2</sup> N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia

<sup>3</sup> P. V. Sergeev Molecular Pharmacology and Radiobiology Department, Biomedical Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Department of Petroleum Chemistry and Organic Catalysis, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Contrast-enhanced magnetic resonance imaging has become a routine diagnostic procedure. One of the most common contrast agents used for MRI is gadopentetic acid (Gd-DTPA, marketed as Magnevist). In this work, we studied the relaxivity of Gd-DTPA covalently bonded to β-cyclodextrin and compared enhancement properties of this compound and Magnevist. Our work demonstrated high relaxivity of Gd-DTPA complex containing 80 % of Gd-DTPA-modified β-cyclodextrin mono-derivative, 10 % of Gd-DTPA-modified β-cyclodextrin di-derivative and 10 % of Gd-DTPA-modified β-cyclodextrin tri-derivative. Gd-DTPA residues were linked to β-cyclodextrin by an ester bond, in which a COOH group belongs to DTPA and OH is a β-cyclodextrin surface hydroxyl group. It was proved experimentally that the studied compound is not toxic in concentrations necessary for diagnostic procedures. Compared to Magnevist, it can provide similar enhancement when used in just half of the equivalent amount.

**Keywords:** gadolinium, diethylenetriaminepentaacetic acid, β-cyclodextrin, tumor cells, fibroblasts, relaxivity, tumor visualization

**Funding:** this work was supported by Government Contract 11411.1008700.13.081 dated September 13, 2011 as part of the Federal Targeted Program for the Development of Pharmaceutical and Medical Industry of the Russian Federation until 2020.

✉ **Correspondence should be addressed:** Nikolay Shimanovsky  
ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997; shiman@rsmu.ru

Received: 15.08.2016 Accepted: 25.08.2016

При диагностике опухолевых заболеваний с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) обязательным условием является использование гадолинийсодержащих магнитно-резонансных контрастных средств, среди которых наиболее часто применяют гадопентетовую кислоту (Gd-ДТПА, лекарственная форма — препарат «Магневист»). МРТ с использованием Gd-ДТПА обладает большой диагностической информативностью, однако в ряде случаев применение Gd-ДТПА ограничено опасностью высвобождения гадолиния из хелатора при замедлении ее выделения из организма и возможностью развития нефрогенного системного фиброза [1]. Поэтому актуальным является поиск хелаторов гадолиния с повышенной релаксирующей (контрастирующей) способностью, что позволит снизить необходимую дозу контрастного средства и, следовательно, уменьшить риск развития нефрогенного системного фиброза. Для этого может быть перспективным использование циклических углеводов, главным образом  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -циклодекстринов (ЦД) [2], которые уже нашли широкое применение в фармации для обеспечения растворимости труднорастворимых лекарственных средств, а также в иных отраслях науки и техники [3].

Наибольшая значимость ЦД как в исследовательских, так и в прикладных задачах заключается в его способности избирательно образовывать комплексы включения с другими молекулами, ионами и даже радикалами. Комплексы могут быть получены в растворе, а также в твердофазном состоянии. В частности, известны сенсоры на основе ЦД, и изучен механизм их действия [4].

В настоящее время в нашей стране отсутствуют отечественные гадолинийсодержащие контрастные препараты, что серьезно ограничивает визуализацию патологических очагов, главным образом онкологических, а также контроль за эффективностью мероприятий по их терапии.

Таким образом, циклодекстрины представляют интерес как основа для создания контрастных препаратов с гадолинием. Наличие доступных гидроксильных связей на поверхности молекулы и способность образовывать соединения включения делает циклодекстрины перспективной основой для создания контрастных препаратов. Неоднократные попытки модификации различных циклодекстринов гадолинием показали существенное увеличение релаксивности гадолиния в данных комплексах [5, 6], однако их визуализирующая способность *in vivo* изучена не была.

Основными требованиями к комплексному соединению на основе ЦД являются: размеры молекулы не более 5,0 нм; молекула должна быть нетоксичной и стабильной в физиологических условиях в течение нескольких часов; химическая связь между комплексным соединением  $Gd^{3+}$  и ЦД должна расщепляться в организме; комплекс  $Gd^{3+}$  должен быть стабильным в диапазоне величин pH водного раствора 6,0–8,0.

Главная цель работы — экспериментальная оценка релаксирующей активности Gd-ДТПА, соединенной с  $\beta$ -циклодекстрином сложноэфирной связью, и изучение визуализации опухолей с помощью нового комплекса по сравнению с «Магневистом».

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовали следующие реагенты: диэтилентриаминопентауксусная кислота квалификации ч. д. а., т. пл. не ниже 219 °С;  $\beta$ -циклодекстрин ( $\beta$ -ЦД, Aldrich, США), чи-

стота более 99 %;  $Gd(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$  (Aldrich, США), чистота 99,99 %; органические растворители квалификации ч. д. а. или х. ч. Синтез гадопентетовой кислоты, соединенной с  $\beta$ -ЦД, проводили в соответствии с патентом [7]. Всего было синтезировано 5 образцов, характеристики которых приведены в табл. 1. В качестве препарата сравнения использовали «Магневист» (Bayer, Германия). Полученные образцы в лекарственной форме (водный раствор с величиной pH  $7,2 \pm 0,2$ ) имели концентрацию гадолиния 0,3 М.

Содержание Gd в образцах определяли на рентгенофлуоресцентном анализаторе X-Арт М (ЗАО «Комита», Санкт-Петербург). Навеску вещества растворяли в дистиллированной воде объемом, необходимым для получения раствора с концентрацией субстанции 30 мг/мл. В специальную кювету вносили 1 мл приготовленного раствора вещества. К полученному раствору добавляли 1 мл дистиллированной воды для дальнейшего забора 1 мл полученного раствора, который помещали в кювету для рентгенофлуоресцентного анализа, затем проводили измерение. Такие объемы были выбраны для обеспечения полного смачивания поверхности кюветы и стандартизации измерений. Количественное содержание лигандов (хелаторов) и комплексов в синтезированных образцах проводили методом масс-спектрометрии. Спектры ESI-MS регистрировали на приборе Agilent LS/MS 1100 SL (Agilent Technologies, США) с ионизацией пробы электрораспылением (ESI) в режиме регистрации положительных и отрицательных ионов, масс-анализатор типа ионной ловушки. Полученные результаты приведены в табл. 1.

$T_1$ -релаксометрию проводили на МР-томографе ClinScan фирмы Bruker BioSpin, Германия (величина магнитной индукции 7 Тл, резонансная частота 300 МГц для  $^1H$ ). Пробирки с исследуемым веществом в разной концентрации помещали в воду для равномерной настройки поля в границах исследуемого объема, а затем производили сбор данных. В качестве контроля использовали водный раствор препарата «Магневист» с той же концентрацией, что и в полученных образцах. Значения времени релаксации (величину  $T_1$ ) находили с помощью последовательности Turbo Inversion Recovery [8]. Интенсивность сигнала от каждой пробирки измеряли с использованием программы ImageJ (National Institutes of Health, США). Величины  $T_1$  исследуемых веществ рассчитывали с помощью уравнения

$$SI = k \cdot (1 - (1 - \cos\alpha) \cdot e^{-\frac{TI}{T_1}} - 2 \cdot \cos\alpha \cdot e^{-\frac{TR - TE}{T_1}} + \cos\alpha \cdot e^{-\frac{TR}{T_1}}),$$

где SI — интенсивность сигнала;  $T_1$  — время спин-решеточной релаксации; TI — время инверсии; TR — время повторения импульсной последовательности; TE — время появления эхо-сигнала;  $\alpha$  — угол отклонения импульса.

Расчеты производили с помощью программного пакета Mathcad (PTC, США). Визуализирующую способность полученных образцов оценивали по величинам  $T_1$  на МР-томографе ClinScan (Bruker BioSpin, Германия) с напряженностью поля 7 Тл (300 МГц для  $^1H$ ) с использованием двухсегментной поверхностной принимающей катушки. После получения быстрых ортогональных T1-взвешенных изображений (ВИ) получали T2-взвешенные изображения с частотным подавлением сигнала от жировой ткани во фронтальной плоскости с помощью импульсной последовательности Turbo Spin Echo с параметрами: TR = 2220 мс, TE = 49 мс, толщина среза 1 мм, 16 срезов, матрица  $320 \times 320$ , поле обзора 50 мм, траектория заполнения K-пространства — BLADE (охват 100 %). Получали также T2ВИ с частотным подавлением сигнала от

Таблица 1. T<sub>1</sub>-релаксивность и характеристика полученных образцов

| Шифр образца | Состав         | Содержание, % | Релаксивность, (ммоль/л) <sup>-1</sup> ·с <sup>-1</sup> | Содержание Gd в образце, % |
|--------------|----------------|---------------|---|----------------------------|
| K12B-1       | ЦД-ДТПА        | 20            | 5,13  | 10,0                       |
|              | Gd-ДТПА        | 10            |   |                            |
|              | ЦД-Gd-ДТПА     | 20            |   |                            |
|              | ЦД-Gd-2ДТПА    | 10            |   |                            |
|              | ЦД-2(Gd-ДТПА)  | 15            |   |                            |
|              | ЦД-3-2Gd-ДТПА  | 25            |   |                            |
| K12B-2       | ЦД-ДТПА        | 7             | 5,54  | 9,0                        |
|              | Gd-ДТПА        | 8             |   |                            |
|              | ЦД-Gd-ДТПА     | 40            |   |                            |
|              | ЦД-2-Gd-ДТПА   | 15            |   |                            |
|              | ЦД-2(Gd-ДТПА)  | 15            |   |                            |
|              | ЦД-3-Gd-ДТПА   | 15            |   |                            |
| K13-1        | ЦД-Gd-ДТПА     | 80            | 5,81  | 12,0                       |
|              | ЦД-3(Gd-ДТПА)  | 20            |   |                            |
| K13-2        | ЦД-Gd-ДТПА     | 60            | 6,29  | 11,8                       |
|              | ЦД-2(Gd-ДТПА)  | 30            |   |                            |
|              | ЦД-3(-Gd-ДТПА) | 10            |   |                            |
| K14-1        | ЦД-Gd-ДТПА     | 80            | 6,08  | 12,3                       |
|              | ЦД-2(-Gd-ДТПА) | 10            |   |                            |
|              | ЦД-3(-Gd-ДТПА) | 10            |   |                            |
| «Магневист»  | Gd-ДТПА        | 99            | 4,22  | 17,0                       |
|              | ДТПА           | 1             |   |                            |

жировой ткани в аксиальной проекции: Turbo Spin Echo, TR = 3310 мс, TE = 51 мс, толщина среза 1 мм, 26 срезов, матрица 256 × 256, поле обзора 40 мм. Перед проведением МРТ животных наркотизировали хлоралгидратом натрия на физиологическом растворе в дозе 6 мг хлоралгидрата натрия на мышь. Время наступления наркотического сна варьировало от 4 до 10 мин. Снимали контрольные интактные картины МРТ в течение 20 мин в разных позициях. Далее животным вводили «Магневист» (препарат сравнения) или исследуемое соединение в количестве около 1 мг Gd/мышь (2·10<sup>-3</sup> ммоль «Магневиста»,

1,5·10<sup>-3</sup> ммоль исследуемого K14-1) ретроорбитально и проводили МРТ в динамике (рис. 1–4). По окончании эксперимента животных эвтаназировали.

Для сравнительной оценки накопления препарата анализировали интенсивность сигнала в области опухоли до и после введения вещества K14-1 или «Магневиста» в одинаковых дозах 2·10<sup>-3</sup> ммоль. Для этого на МР-снимках выделяли область опухоли и такую же область на контрлатеральной половине и считали среднюю интенсивность сигнала (SI<sub>c</sub> и SI<sub>n</sub> соответственно). Дополнительно также выделяли область вне лабораторного животного, чтобы

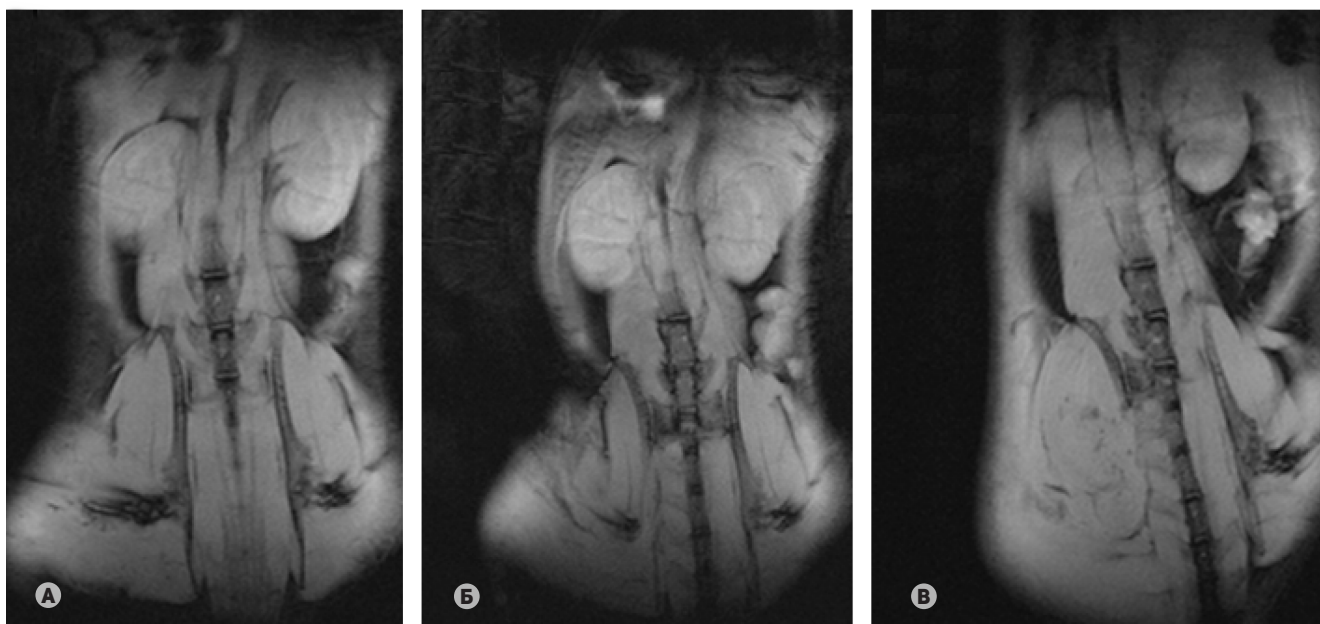
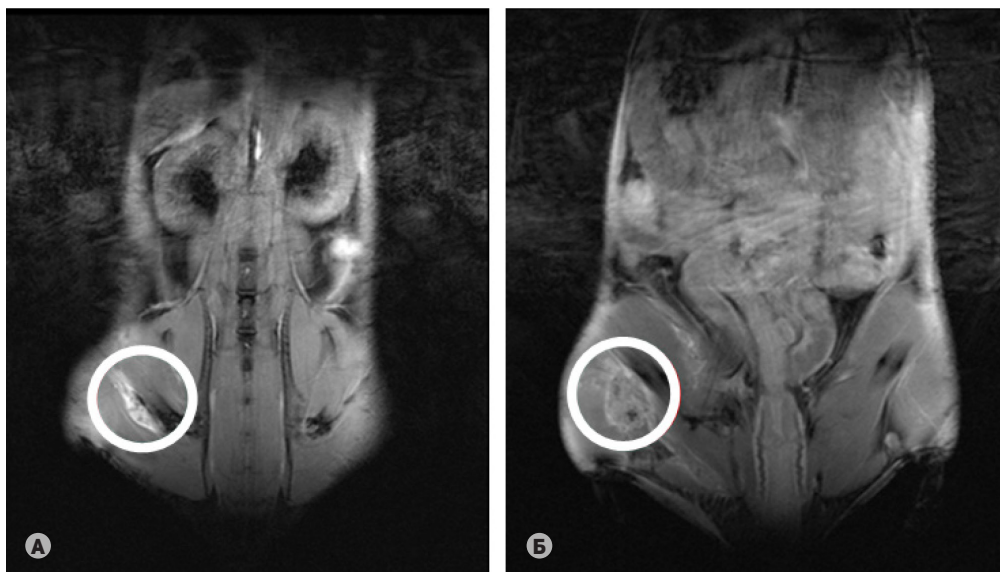
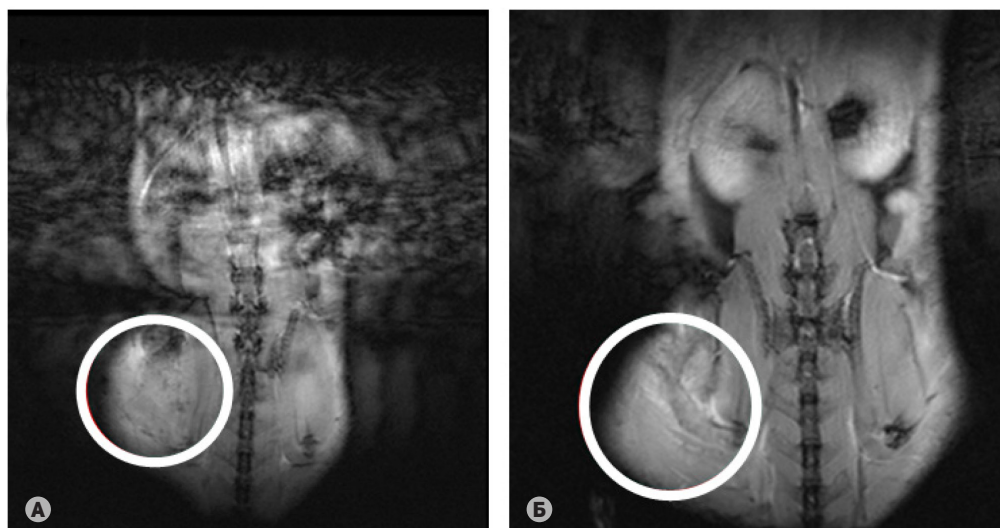


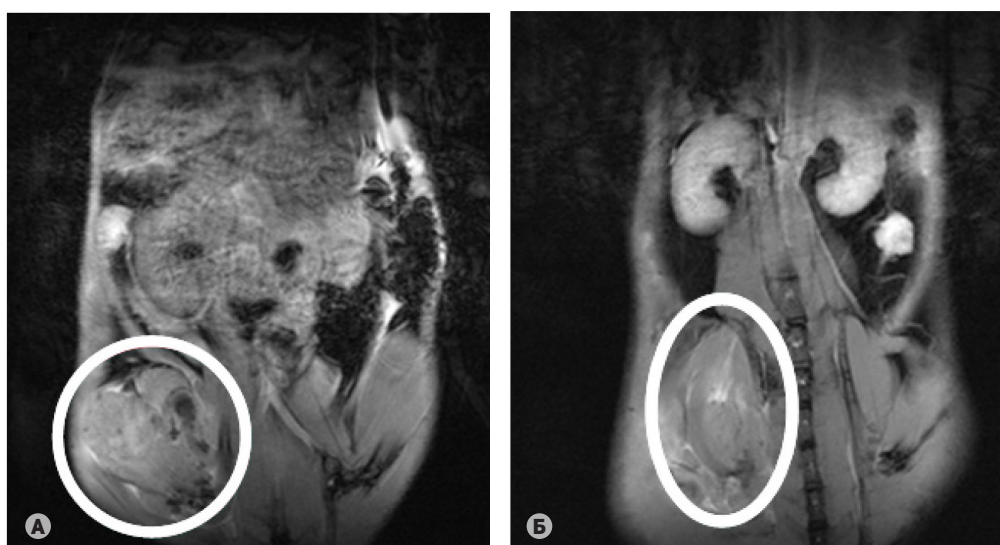
Рис. 1. МРТ-изображение мышей с трансплантированными опухолями (А — Ca755, Б — LLC и В — B16) до введения контрастных средств



**Рис. 2.** МРТ-визуализация мышечной аденокарциномы молочной железы Ca755 через 5 мин после введения (А) «Магневиста» и (Б) образца K14-1; белым выделена опухоль



**Рис. 3.** МРТ-визуализация мышечной карциномы легкого Льюиса LLC через 5 мин после введения (А) «Магневиста» и (Б) образца K14-1; белым выделена опухоль



**Рис. 4.** МРТ-визуализация мышечной меланомы B16 через 5 мин после введения (А) «Магневиста» и (Б) образца K14-1; белым выделена опухоль



оценить средний уровень шума (SN). Степень контрастирования (CNR) каждого препарата на определенный момент времени определяли по формуле

$$CNR = \frac{SI_c - SI_n}{SN}$$

Кроме того, проводили сравнительную оценку изменения уровня накопления гадолиния в опухоли и нормальной ткани. Для этого определяли нормированную по шуму интенсивность сигнала (SNR) от опухоли и от здоровой ткани в каждый момент времени:

$$SNR = \frac{SI}{SN}$$

График зависимости величины SNR от времени, прошедшего после внутривенного введения вещества K14-1 и «Магневиста» мышам с трансплантированной аденокарциномой молочной железы, приведен на рис. 5.

#### Биологические исследования

В работе использовали мышей линии C57BL/6 обоего пола массой 18–20 г и крыс линии Wistar обоего пола массой 150–200 г, полученных из питомника «Столбовая». Все животные имели ветеринарное свидетельство (форма № 1).

Выбор экспериментальных моделей проводили в соответствии с требованиями по экспериментальному изучению новых лекарственных средств [9, 10]. Для оценки визуализирующей способности синтезированных соединений методом МРТ были взяты три линии мышинных опухолевых клеток различного гистологического происхождения, полученные из банка клеточных культур РОНЦ им. Н. Н. Блохина: эпидермоидная карцинома легких Лююиса LLC1, аденокарцинома молочной железы Ca755 и меланома B16F10.

Трансплантацию опухолевых клеток животным проводили в соответствии с общепринятыми требованиями [9–11]. Суспензию опухолевых клеток ( $4 \cdot 10^6$  клеток на мышь) вводили под кожу бедра. После достижения опухолей одинакового размера (диаметр около 1 см) животных использовали в дальнейших экспериментах.

**Оценка острой токсичности.** Исследуемые комплексы вводили внутривенно в дозах 3 000, 6 000, 9 000, 12 000 и

15 000 мг/кг однократно. Срок наблюдения за животными составлял 30 сут. Критериями оценки острой токсичности служили число павших животных и сроки их гибели [9].

**Оценку цитотоксичности используемых веществ** проводили в соответствии с руководством [9] с применением МТТ-теста [12]. Развитие окраски регистрировали с помощью определения оптической плотности при длине волны 530 нм на планшетном фотометре (анализатор иммуноферментных реакций АИФР-01 УНИПЛАН, ЗАО «ПИ-КОН», Россия). Отношение средней оптической плотности для данной концентрации вещества к средней оптической плотности в контроле принималось как доля выживших клеток. Достоверность отличия образцов от контроля и друг от друга оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни при  $p < 0,05$ .

**Приготовление фибробластов.** Извлекали в асептических условиях теменную кость новорожденной крысы. После декапитации и стерилизации поверхности последовательно удаляли кожу и отделяли теменную кость, которая состоит из активно пролиферирующих клеток. Теменную кость площадью 1 см<sup>2</sup> переносили в бюкс со средой DMEM (НПП «ПанЭко», Россия) и измельчали на фрагменты 1–2 мм<sup>3</sup>. Затем среду с фрагментами ткани наносили на дно плоскодонных культуральных флаконов Costar (Corning, США) объемом 50 мл и площадью дна 25 см<sup>2</sup>, расположенных под наклоном 45°, инкубировали 30 мин при 37 °С. Прикрепление фрагментов первоначально происходит за счет их адгезии к наклонной поверхности. Через 30 мин среду удаляли, переводили флаконы в горизонтальное положение и вносили 10 мл питательной среды (DMEM с добавлением 20 % термоинактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 100 мкг/мл L-глутамина и 40 мкг/мл гентамицина сульфата).

**Культивирование фибробластов** осуществляли в стерильных условиях, клетки инкубировали при 37 °С в условиях 5 % CO<sub>2</sub>. Работа производилась в ламинарном боксе LC (ЗАО «Ламинарные системы», Россия). Через неделю наблюдали образование на поверхности флакона участков клеточного монослоя. Клетки для равномерного распределения подвергали обработке трипсином и еще через 1 нед. получали монослойную культуру.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ GraphPad Prism (GraphPad Software, США).

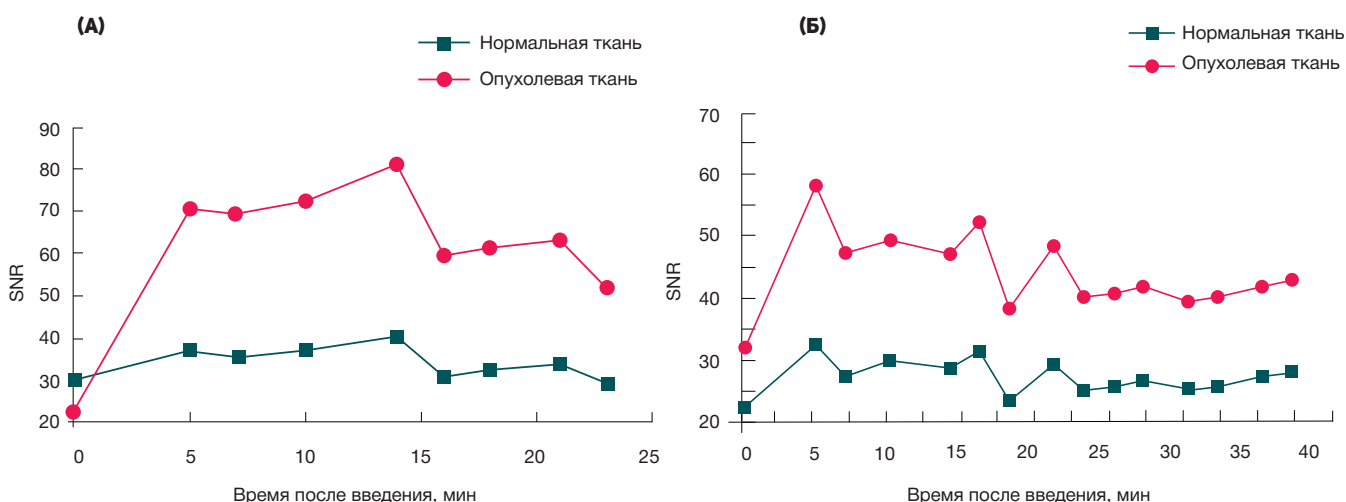


Рис. 5. Зависимость значений нормированной по шуму интенсивности сигнала от опухоли и здоровой ткани (SNR) от времени после инъекции изучаемых контрастных веществ (А — «Магневист»; Б — K14-1) в опухоли аденокарциномы Ca755 у мышей

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты измерения  $T_1$ -релаксивности полученных образцов Gd-ДТПА-ЦД и препарата «Магневист» приведены в табл. 1. Из них следует, что величина  $T_1$ -релаксивности у всех полученных образцов выше, чем у препарата «Магневист», однако наибольшая релаксивность была зафиксирована у образцов K14-1, K13-1 и K13-2. Синтезированное производное  $\beta$ -ЦД, шифр K14-1, обладает рядом преимуществ относительно препарата сравнения: его  $T_1$ -релаксивность почти на 50 % выше, чем у «Магневиста», а концентрация гадолиния в его лекарственной форме ниже таковой у «Магневиста» на 40 %. Это позволяет добиваться одинаковых результатов по визуализации опухолей при снижении необходимой дозы гадолиния и, соответственно, риска развития осложнений.

Работы с животными проводили в соответствии с международными рекомендациями [13]. Внутривенное введение исследуемых образцов крысам при оценке острой токсичности в дозах 3 000–6 000 мг/кг не оказывало токсического воздействия как на самцов, так и на самок. Летальный эффект наблюдали у самцов и самок, начиная с дозы 9 000 мг/кг массы тела. Гибель животных наступала не ранее первых суток после введения. У животных, получивших сублетальные дозы, на протяжении всего срока наблюдения не происходило потери массы тела. При аутопсии животных визуализированных изменений внутренних органов не отмечено. Самцы были более чувствительны к Gd-ДТПА-ЦД по сравнению с самками (в дозах 12 000, 15 000 мг/кг массы тела выжило 2 из 6 самок и 1 из 6 самцов). Величина  $LD_{50}$  составила  $(7 \pm 1)$  ммоль/кг.

Образец K14-1 не проявлял достоверной токсичности относительно фибробластов крысы во всех изученных концентрациях (табл. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

По основным критериям, определяющим визуализационную способность соединений в методе МРТ, таким как максимальное содержание парамагнитного иона  $Gd^{3+}$  и наибольшая величина релаксивности (табл. 1), для *in vivo* оценки диагностической способности в МРТ были отобраны образцы K13-1, K13-2, K14-1, K14-2. Наилучшие результаты получены при визуализации указанных экспериментальных опухолей при использовании соединения с шифром K14-1 (рис. 1–4). При сравнении диагностической информативности «Магневиста» и производного  $\beta$ -ЦД, шифр K14-1, видно, что качество визуализации патологического очага практически не отличается друг от друга, хотя вводимые количества гадолиния в составе Gd-ДТПА, соединенной с  $\beta$ -ЦД ковалентной связью, на 40 % меньше, чем в случае «Магневиста». Следует отметить, что при одинаковом введенном количестве Gd животным с трансплантированными опухолями производное  $\beta$ -ЦД, шифр K14-1, повышает магнитно-резонансный сигнал в хорошо васкуляризованных опухолях, например в аденокарциноме молочной железы Ca755, в большей степени, чем

## Литература

1. Буйлов В. М. Магнитно-резонансные контрастные средства и нефрогенные фиброзирующая дерматопатия и системный фиброз (обзор литературы). Мед. визуал. 2007; (2): 140–3.

Таблица 2. Сравнительное влияние «Магневиста» и производного  $\beta$ -ЦД (шифр K14-1) на жизнеспособность фибробластов крысы

| Концентрация K14-1, % (мМ в 100 мл раствора) | Жизнеспособность клеток, % <sup>#</sup> |       |
|--|---|-------|
|  | «Магневист»                             | K14-1 |
| 10 (2,55·10 <sup>-3</sup> )                  | 17*                                     | 124   |
| 1 (2,55·10 <sup>-4</sup> )                   | 73*                                     | 117   |
| 0,1 (2,55·10 <sup>-5</sup> )                 | 123                                     | 135*  |
| 0,01 (2,55·10 <sup>-6</sup> )                | 127*                                    | 140*  |

Примечание: # — приведен % от контроля (контроль — 100 %); \* — различия с контролем достоверны ( $p < 0,05$ ).

«Магневист», что является существенным преимуществом производного  $\beta$ -ЦД (рис. 5).

Оценку цитотоксической активности проводили по жизнеспособности клеток в присутствии различных концентраций K14-1 и препарата сравнения «Магневист» на культурах опухолевых клеток: эпидермоидная карцинома легких Льюиса LLC1; меланома B16; аденокарцинома молочной железы Ca755. Результаты всех тестов по определению цитотоксической активности K14-1, проведенных на клеточных линиях B16F10, LLC1, Ca755, показали схожие результаты торможения роста клеток:  $IC_{50} = (1 \div 2) \cdot 10^{-4}$  М;  $IC_{90} = (0,2 \div 0,5) \cdot 10^{-4}$  М. Поскольку рассчитанное значение  $IC_{50}$  для K14-1 укладывается в принятые требования для цитотоксичности активных соединений ( $IC_{50} \leq 10^{-4}$  М), можно констатировать, что полученное соединение, шифр K14-1, не обладает выраженной цитотоксичностью.

Объектом для оценки биологической активности соединений гадолиния были также нормальные фибробласты теменной кости крысы. Они легко поддаются культивации *in vitro* и позволяют поддерживать культуру на протяжении длительного времени. Фибробласты являются тест-объектом при оценке токсичности различных соединений [10].

Образец K14-1 не проявлял достоверной токсичности относительно фибробластов крысы. Наибольшую токсичность на фибробластах показал «Магневист». В концентрации 10 и 1 % «Магневист» снижал жизнеспособность клеток на 83 и 27 % соответственно (табл. 2).

## ВЫВОДЫ

Контрастное средство для МРТ-исследований — препарат «Магневист» и модифицированный комплекс Gd-ДТПА-ЦД (образец K14-1) обладают близкой визуализационной способностью у мышей с экспериментальными опухолями.

Образец K14-1 отличается оригинальностью, имеет простую схему получения, обладает высокой релаксивностью, что позволяет вводить в организм гадолиния на 40–50 % меньше по сравнению с «Магневистом», и тем самым снижает вероятность проявления побочных эффектов, в частности, нефрогенного системного фиброза. Преимуществом Gd-ДТПА-ЦД перед «Магневистом» является более высокое контрастное усиление изображения высоковаскуляризованных опухолей.

- analytical methods, applications. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2006. 489 p.
4. Ogoshi T, Harada A. Chemical Sensors Based on Cyclodextrin Derivatives. *Sensors*. 2008; 8: 4961–82.
  5. Battistini E, Gianolio E, Gref R, Couvreur P, Fuzerova S, Othman M, et al. High-relaxivity magnetic resonance imaging (MRI) contrast agent based on supramolecular assembly between a gadolinium chelate, a modified dextran, and poly-beta-cyclodextrin. *Chemistry*. 2008; 14 (15): 4551–61.
  6. Bryson JM, Chu WJ, Lee JH, Reineke TM. A  $\beta$ -cyclodextrin “click cluster” decorated with seven paramagnetic chelates containing two water exchange sites. *Bioconjug Chem*. 2008 Aug; 19 (8): 1505–9.
  7. Кулаков В. Н., Липенгольц А. А., Караханов Э. А., Максимов А. Л., Григорьева Е. Ю., Черепанов А. А. Модифицированные гадопентетатом производные бета-циклодекстрина. Патент РФ № 2541090. 28 ноября 2013 г.
  8. Bernstein MA, King KF, Zhou XJ. Handbook of MRI pulse sequences. Burlington, MA: Elsevier Academic Press; 2004. 788 p.
  9. Миронов А. Н., Бунатян Н. Д., Васильев А. Н., Верстакова О. Л., Журавлева М. В., Лепяхин В. К. и др., редакторы. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К; 2012. 944 с.
  10. Фисенко В. П., редактор. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Ремедиум; 2000. с. 18–25.
  11. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, ЕЭС, Страсбург, 1985 г. *Ланималогия*. 1993; (1): 29.
  12. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983 Dec 16; 65 (1–2): 55–63.
  13. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. Хроника ВОЗ. 1985; 39 (3): 7–9.

## References

1. Buylov VM. [Magnetic resonance contrast agents and nephrogenic fibrosing dermatosis and systemic fibrosis (review article)]. *Medical Visualization*. 2007; (2): 140–3. Russian.
2. Szejtli J. Cyclodextrin technology. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 1988. 450 p.
3. Dodziuk H, editor. Cyclodextrins and their complexes: Chemistry, analytical methods, applications. Weinheim, Germany: Wiley-VCH; 2006. 489 p.
4. Ogoshi T, Harada A. Chemical Sensors Based on Cyclodextrin Derivatives. *Sensors*. 2008; 8: 4961–82.
5. Battistini E, Gianolio E, Gref R, Couvreur P, Fuzerova S, Othman M, et al. High-relaxivity magnetic resonance imaging (MRI) contrast agent based on supramolecular assembly between a gadolinium chelate, a modified dextran, and poly-beta-cyclodextrin. *Chemistry*. 2008; 14 (15): 4551–61.
6. Bryson JM, Chu WJ, Lee JH, Reineke TM. A  $\beta$ -cyclodextrin “click cluster” decorated with seven paramagnetic chelates containing two water exchange sites. *Bioconjug Chem*. 2008 Aug; 19 (8): 1505–9.
7. Kulakov VN, Lipengol'ts AA, Karakhanov EA, Maksimov AL, Grigor'eva EYu, Cherepanov AA, inventors. Modifitsirovannye gadopentetatom proizvodnye beta-tsiklodekstrina. Russian Federation patent No. 2541090. 2013 Nov 28. Russian.
8. Bernstein MA, King KF, Zhou XJ. Handbook of MRI pulse sequences. Burlington, MA: Elsevier Academic Press; 2004. 788 p.
9. Mironov AN, Bunatyan ND, Vasil'ev AN, Verstakova OL, Zhuravleva MV, Lepakhin VK, et al, editors. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Moscow: Grif i K; 2012. 944 p. Russian.
10. Fisenko VP, editor. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv. Moscow: Remedium; 2000. p. 18–25. Russian.
11. Evropeiskaya konventsiya po zashchite pozvonochnykh zhivotnykh, ispol'zuemykh dlya eksperimental'nykh i drugikh nauchnykh tselei, EEC, Strasbourg, 1985. *Lanimalogiya*. 1993; (1): 29. Russian.
12. Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983 Dec 16; 65 (1–2): 55–63.
13. Mezhdunarodnye rekomendatsii po provedeniyu mediko-biologicheskikh issledovaniy s ispol'zovaniem zhivotnykh. WHO Chron. 1985; 39 (3): 7–9. Russian.

## ВОЗМОЖНОСТИ ЯДЕРНОЙ МЕДИЦИНЫ В ДИАГНОСТИКЕ ДЕМЕНЦИЙ

А. К. Кондаков<sup>1,3</sup> ✉, И. А. Знаменский<sup>1,2,3</sup>, Д. Ю. Мосин<sup>2,3</sup>, А. В. Гречко<sup>2</sup><sup>1</sup>Кафедра лучевой диагностики и терапии, медико-биологический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва<sup>2</sup>Госпиталь для incurable больных – Научный лечебно-реабилитационный центр, Москва<sup>3</sup>Отделение радионуклидных методов диагностики, Центральная клиническая больница РАН, Москва

В работе представлено мнение о применимости различных методов ядерной медицины для диагностики, в том числе дифференциальной, различных деменций. Перфузионная однофотонная эмиссионная компьютерная томография с эксаметазимом и позитронно-эмиссионная томография с <sup>18</sup>F-фтордезоксиглюкозой высокочувствительны и высокоспецифичны и рекомендуются для широкого применения в клинической практике. Эффективность визуализации распределения амилоида при выявлении болезни Альцгеймера остается под сомнением, так как накопление амилоида характерно для пациентов с другими деменциями. Визуализация распределения переносчиков дофамина с <sup>123</sup>I-иофлупаном крайне эффективна в диагностике болезни Паркинсона и деменции с тельцами Леви: ее результаты могут обуславливать коррекцию тактики лечения. Дальнейшее развитие методов, скорее всего, будет заключаться в разработке новых радионуклидных маркеров к таким мишеням, как клетки микроглии и нейрофибрилярные клубки.

**Ключевые слова:** ядерная медицина, ОФЭКТ, ПЭТ, эксаметазим, <sup>18</sup>F-фтордезоксиглюкоза, болезнь Альцгеймера, деменция с тельцами Леви, фронтотемпоральная дегенерация, сосудистая деменция, переносчики дофамина, визуализация амилоида

✉ **Для корреспонденции:** Кондаков Антон Кириллович  
117593, г. Москва, Литовский бульвар, д. 1а; kondakov.a.k@gmail.com

Статья поступила: 16.08.2016 Статья принята к печати: 21.08.2016

## NUCLEAR MEDICINE IMAGING IN DEMENTIA

Kondakov AK<sup>1,3</sup> ✉, Znamensky IA<sup>1,2,3</sup>, Mosin DY<sup>2,3</sup>, Grechko AV<sup>2</sup><sup>1</sup>Department of Radiology, Biomedical Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia<sup>2</sup>Hospital for incurable patients – the Scientific Medical and Rehabilitation Center, Moscow, Russia<sup>3</sup>Department of Radionuclide Imaging, Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

In this work the authors share their opinion on the role of nuclear medicine imaging in the diagnosis and differential diagnosis of dementias. Perfusion single-photon emission computed tomography using <sup>99m</sup>Tc-exametazim and <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography are highly sensitive and specific; they are recommended for a wide range of clinical applications. The efficacy of amyloid imaging in Alzheimer's is still a matter of discussion, because amyloid accumulation is also typical in patients with other dementias. Dopamine transporter imaging using <sup>123</sup>I-ioflupane is a very reliable diagnostic tool for Parkinson's disease and Lewy body dementia, and can help to adjust treatment strategies. Further evolution of nuclear medicine methods will most likely include the development of new radionuclide tracers for such targets as microglial cells' activation and neurofibrillary tangles.

**Keywords:** nuclear medicine, SPECT, PET, exametazim, <sup>18</sup>F-fluorodeoxyglucose, Alzheimer's disease, Lewy body dementia, frontotemporal lobar degeneration, vascular dementia, dopamine transporters, amyloid imaging

✉ **Correspondence should be addressed:** Anton Kondakov  
Litovsky bulvar, d. 1a, Moscow, Russia, 117593; kondakov.a.k@gmail.com

Received: 16.08.2016 Accepted: 21.08.2016

Рост средней продолжительности жизни населения приводит ко все большему распространению болезней, связанных со старением, в первую очередь — деменций. В западных странах их частота составляет около 1,5 %, причем до 70 % всех случаев деменции приходится на болезнь Альцгеймера (БА) и до 20 % — на сосудистую деменцию. В 2010 г. в мире жило около 35 млн человек с различными деменциями, а их наибольшая распространенность была зафиксирована в странах Латинской Америки [1].

Для диагностики деменций на ранних стадиях применяют методы ядерной медицины, в частности, однофотон-

ную эмиссионную компьютерную томографию (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионную томографию (ПЭТ). При проведении ОФЭКТ головного мозга во всем мире, в том числе и в России, используют радиофармацевтический препарат (РФП) на основе технеция-99м — эксаметазим, визуализирующий регионарный мозговой кровоток (рМК), а при проведении ПЭТ — <sup>18</sup>F-фтордезоксиглюкозу (ФДГ), позволяющую определить скорость утилизации глюкозы. При выборе метода ядерной медицины для наблюдения пациентов с нейродегенеративными заболеваниями врачу следует опираться на особенности распределения РФП

в головном мозге, которые в значительной степени влияют на точность диагноза и возможность корректировать терапию на его основе. Ниже мы даем оценку некоторым методам радионуклидной нейровизуализации для дифференциальной диагностики и контроля эффективности лечения деменций, а также обсуждаем дальнейшее развитие этой области исследований.

### Клиническая эффективность перфузионной ОФЭКТ с эксаметазимом

По нашему мнению, один из наиболее эффективных методов дифференциальной диагностики нейродегенеративных заболеваний — перфузионная ОФЭКТ с эксаметазимом. Она позволяет диагностировать и дифференцировать деменции за счет различий в паттернах распределения РФП в головном мозге (рис. 1) [2]. Паттерн, характерный для фронтотемпоральной дегенерации (ФТД) (преобладание гипоперфузии в лобных долях головного мозга) значительно отличается от паттерна БА (гипоперфузия в теменной области, префронтальной коре и задних отделах височных долей) [3]. При различении БА и деменции с тельцами Леви (ДТЛ) перфузионная ОФЭКТ наименее эффективна, поскольку паттерны этих патологий сходны между собой. Dougal и соавт. [4] сообщают о чувствительности и специфичности метода на уровне 71,5 и 78,2 % при дифференциальной диагностике БА и ФТД, на уровне 71,3 и 75,9 % — при дифференциальной диагностике БА и сосудистой деменции, на уровне 66,0 и 79,0 % — при диагностике БА сравнением паттернов больных и здоровых людей. Данные Yeо и соавт. [5] несколько отличаются: взвешенная чувствительность и специфичность метода при дифференциальной диагностике БА и ФТД составля-

ет 79,7 и 79,9 % соответственно, БА и сосудистой деменции — 74,5 и 72,4 %, БА и ДТЛ — 70,2 и 76,2 %, при диагностике БА сравнением паттернов больных и здоровых людей — 76,1 и 85,4 %.

Возможности перфузионной ОФЭКТ в области контроля качества лечения нейродегенеративных заболеваний исследованы недостаточно. Ефимова и соавт. [6] показали, что перфузия головного мозга и когнитивная функция улучшаются у пациентов на фоне антигипертензивной терапии при сравнении результатов обследования до лечения и через 6 месяцев после его начала. Исследование перфузии головного мозга на фоне гипертонической энцефалопатии, проведенное Мурашко [7], показало, что при терапии кавинтоном перфузия улучшается, но в исследовании была небольшая выборка и отсутствовала контрольная группа. Следует отметить работу Nobili и соавт. [8], которые проводили повторную перфузионную ОФЭКТ головного мозга через некоторое время после начала лечения БА ингибиторами ацетилхолинэстеразы. Ими было показано, что при сохранении когнитивного статуса пациентов паттерн перфузии головного мозга значительно не изменяется, в то время как у пациентов со снижением когнитивных возможностей на фоне терапии уменьшается рМК. Мы считаем, что перфузионная ОФЭКТ перспективна в качестве метода контроля эффективности медикаментозной терапии и прогнозирования исхода состояния пациента, однако требует проведения дополнительных продольных исследований.

В России применение метода ограничено его невключением в утвержденный стандарт оказания медицинской помощи и высокой стоимостью РФП. На наш взгляд, учитывая, что оборудование для проведения перфузионной ОФЭКТ доступно в большинстве региональных центров, профессиональному сообществу следует инициировать включение метода в стандарт оказания специализированной медицинской помощи при болезни Альцгеймера и других деменциях.

### Клиническая эффективность ПЭТ с <sup>18</sup>F-фтордезоксиглюкозой

Мы полагаем, что ПЭТ с <sup>18</sup>F-фтордезоксиглюкозой может применяться в диагностике нейродегенеративных заболеваний по тем же показаниям, что и перфузионная ОФЭКТ, так как паттерны гипометаболизма глюкозы и гипоперфузии сходны между собой: метаболизм глюкозы связан с регионарной перфузией головного мозга [9]. Как области гипоперфузии при перфузионной ОФЭКТ с эксаметазимом, так и области гипометаболизма при ПЭТ с <sup>18</sup>F-ФДГ отражают структурные изменения в головном мозге [10]. При этом у ПЭТ выше разрешающая способность, а <sup>18</sup>F-ФДГ — более стабильный, чем эксаметазим, препарат, что, по нашему мнению, обеспечивает этому методу более высокую точность. Это подтверждается результатами Davison и соавт. [11], сравнивших ПЭТ с <sup>18</sup>F-ФДГ и перфузионную ОФЭКТ с эксаметазимом при дифференциальной диагностике деменций. В их обзоре указано, что чувствительность и специфичность перфузионной ОФЭКТ достигают 85,0 и 87,0 % соответственно, а ПЭТ — 99,0 и 93,0 %. Однако авторы отмечают недостаточное количество работ, подтверждающих эти данные, и указывают на необходимость проведения прямых проспективных сравнительных исследований.

Следует также отметить работу Kato и соавт. [12], которые в дополнение к уже известным паттернам снижения

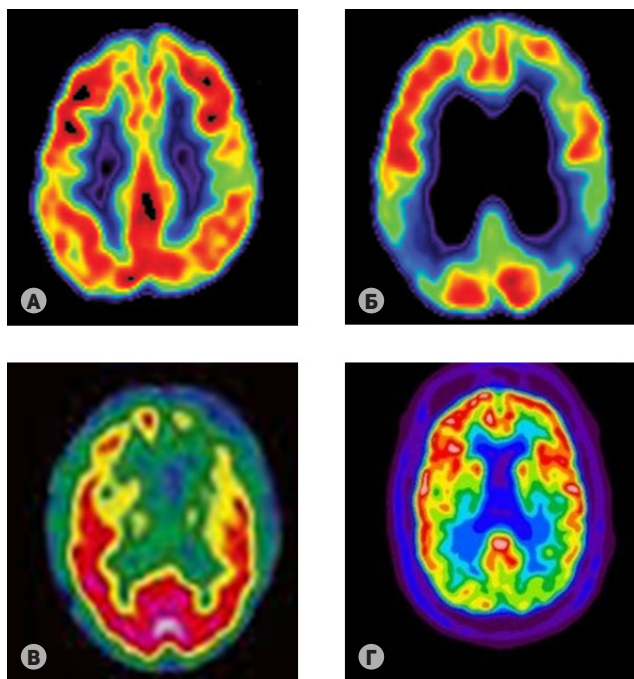


Рис. 1. Перфузионная ОФЭКТ головного мозга с эксаметазимом, аксиальные срезы. (А) Сохранная перфузия головного мозга. (Б) Паттерн перфузии, характерный для болезни Альцгеймера (со снижением перфузии в теменных долях). (В) Паттерн перфузии при фронтотемпоральной дегенерации (со снижением перфузии в лобных долях). (Г) Паттерн перфузии при деменции с тельцами Леви, схожий с паттерном для болезни Альцгеймера, однако отмечается также снижение перфузии затылочных долей (Dierckx и соавт., [2])

захвата глюкозы указывают на снижение перфузии в областях нижней теменной доли, предклинья и задней части поясной извилины в качестве предиктора прогрессии легкого когнитивного расстройства до болезни Альцгеймера.

По нашему мнению, ПЭТ-исследование для дифференциальной диагностики деменций следует проводить только при невозможности установить диагноз другими методами и при условии, что результат исследования окажет влияние на выбор терапии. В частности, ПЭТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ может быть применена при диагностике БА, выявленной по результатам нейропсихологического тестирования, если по данным компьютерной или магнитно-резонансной томографии изменения вещества головного мозга не обнаружены, а результаты перфузионной ОФЭКТ сомнительны.

### Визуализация амилоида с использованием ПЭТ

Для визуализации амилоида в головном мозге используют меченое  $^{11}\text{C}$  Питтсбургское соединение В, первое клиническое применение которого было описано в 2004 г. [13]. В связи с коротким временем полураспада  $^{11}\text{C}$  были разработаны РФП на основе  $^{18}\text{F}$ : флорбетапир, флорбетабен и флютеметамол, — допущенные к применению Food and Drug Administration (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, США).

Мы считаем, что клиническая польза исследования с тропными к амилоиду РФП сомнительна. Этот метод в силу высокой стоимости не может быть включен в скрининговые программы. Мы не рекомендуем его и для дифференциальной диагностики деменций, так как амилоид может быть визуализирован у пациентов без БА или у пациентов с другими деменциями. Примерно в 20 % случаев накопление амилоида наблюдается у пациентов с клинически установленным диагнозом ФТД, что может быть объяснено схожестью симптомов БА и ФТД либо параллельным течением БА и ФТД [14]. Примерно у 89 % пациентов с ДТЛ определяется накопление тропных к амилоиду РФП, однако это не является ложноположительным результатом, а отражает реальную патофизиологическую картину [2].

Мы также не рекомендуем визуализацию амилоида для оценки тяжести деменции и эффективности терапии, так как отложение амилоида практически прекращается после развития легких когнитивных нарушений. С этого момента исследование амилоидной нагрузки становится неэффективным, так как далее ведущую роль в утрате когнитивных функций играет не накопление амилоида, а структурные изменения в мозге. Перфузионная ОФЭКТ или ПЭТ с  $^{18}\text{F}$ -ФДГ будут лучше отражать течение заболевания.

### Визуализация распределения переносчиков дофамина

Снижение количества переносчиков дофамина в скорлупе головного мозга — один из известных признаков болезни Паркинсона и деменции с тельцами Леви. Прижизненная визуализация такого распределения стала возможна благодаря использованию меченого йодом-123 иофлупана.  $^{123}\text{I}$ -иофлупан связывается с высокой афинностью с переносчиками дофамина, в частности, в полосатых телах, что при визуализации методом ОФЭКТ позволяет оценить снижение их количества (рис. 2) [15].

Этот метод может быть рекомендован к внедрению в клиническую практику, так как показывает высокую диагностическую эффективность: чувствительность более 70,0 % и специфичность более 90,0 % в диагностике ДТЛ [16]. По нашему мнению, результаты исследования позво-

лят корректировать тактику лечения. Рандомизированное исследование Walker и соавт. [17] подтвердило, что при положительном (подтверждающем ДТЛ) результате лечащие врачи изменяют диагноз и, соответственно, тактику лечения. Применение метода в широкой клинической практике ограничивается высокой стоимостью  $^{123}\text{I}$ -иофлупана.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Радионуклидные методы являются эффективными дополнительными методами диагностики и дифференциальной диагностики деменций, в том числе на ранних стадиях — до развития морфологических изменений в головном мозге. Доступные в России методы перфузионной ОФЭКТ и ПЭТ высокочувствительны и высокоспецифичны, а также достаточно эффективны для контроля течения нейродегенеративных заболеваний при сочетании с продольными исследованиями, однако их применение ограничено высокой стоимостью используемых радиофармацевтических препаратов.

Мы считаем, что визуализация распределения переносчиков дофамина в головном мозге высокоэффективна и эту технологию следует развивать не только для диагностики деменции с тельцами Леви, но и для других паркинсонических синдромов путем разработки новых радиофармпрепаратов. В то же время визуализация распределения амилоида в клиническую практику малоэффективна в связи с высокой стоимостью РФП и трудностью интерпретации результатов при дифференциальной диагностике различных деменций. Применение этого метода мы рекомендуем к внедрению только в нескольких медицинских центрах федерального значения для изучения сложных случаев деменций ранних стадий и проведения научных исследований с параллельной разработкой новых радиофармпрепаратов в циклотронно-радиохимических комплексах.

Дальнейшее развитие методов ядерной медицины для диагностики нейродегенеративных заболеваний, по нашему мнению, будет идти путем создания более специфичных радионуклидных маркеров, в том числе отражающих активацию клеток микроглии ( $^{11}\text{C}$ -ПК11195) [18]. Другая патофизиологическая мишень для диагностики деменций — нейрофибриллярные клубки, и для нее активно разрабатывают новые РФП. Однако один из таких препаратов,  $^{18}\text{F}$ -FDDNP, пока менее эффективен в предсказании прогресса заболевания, чем Питтсбургское соединение В и  $^{18}\text{F}$ -ФДГ [19].

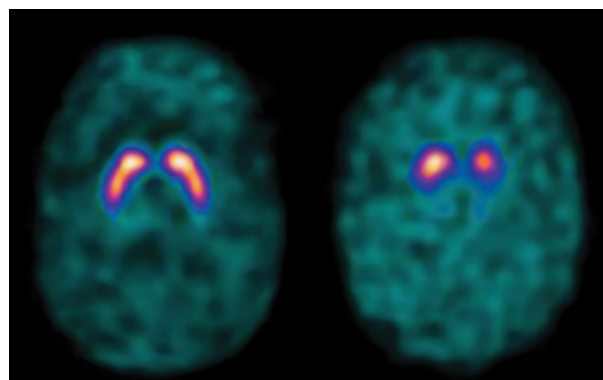


Рис. 2. ОФЭКТ с  $^{123}\text{I}$ -иофлупаном отражает плотность распределения переносчиков дофамина. На рисунке представлены аксиальные срезы на уровне полосатого тела. Слева — срез головного мозга здорового добровольца, справа — срез головного мозга пациента с болезнью Паркинсона (Hauser и соавт., [15])

Литература

1. Prince M, Bryce R, Albanese E, Wimo A, Ribeiro W, Ferri CP. The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. *Alzheimers Dement.* 2013 Jan; 9 (1): 63–75.e2. doi: 10.1016/j.jalz.2012.11.007.
2. Dierckx RAJO, Otte A, de Vries EFJ, van Waarde A, Leenders KL, editors. *PET and SPECT in Neurology.* Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2014.
3. Trollor JN, Sachdev PS, Haindl W, Brodaty H, Wen W, Walker BM. Regional cerebral blood flow deficits in mild Alzheimer's disease using high resolution single photon emission computerized tomography. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2005 Jun; 59 (3): 280–90. doi: 10.1111/j.1440-1819.2005.01372.x.
4. Dougall NJ, Bruggink S, Ebmeier KP. Systematic review of the diagnostic accuracy of 99mTc-HMPAO-SPECT in dementia. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2004 Nov–Dec; 12 (6): 554–70. doi: 10.1176/appi.ajgp.12.6.554.
5. Yeo JM, Lim X, Khan Z, Pal S. Systematic review of the diagnostic utility of SPECT imaging in dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2013 Oct; 263 (7): 539–52. doi: 10.1007/s00406-013-0426-z.
6. Ефимова Н. Ю., Чернов В. И., Ефимова И. Ю., Шнайдер О. Л., Попов С. В. Влияние имплантации электрокардиостимулятора на когнитивную дисфункцию у пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий: взаимосвязь с церебральной перфузией. *Вестн. аритмол.* 2008; (54): 15–9.
7. Мурашко Н. К. Однофотонная эмиссионная томография при хронической гипертонической энцефалопатии. *Клин. геронтол.* 2007; (8): 26–9.
8. Nobili F, Koulibaly M, Vitali P, Migneco O, Mariani G, Ebmeier K, et al. Brain perfusion follow-up in Alzheimer's patients during treatment with acetylcholinesterase inhibitors. *J Nucl Med.* 2002 Aug; 43 (8): 983–90.
9. Rocher AB, Chapon F, Blaizot X, Baron JC, Chavoix C. Resting-state brain glucose utilization as measured by PET is directly related to regional synaptophysin levels: a study in baboons. *Neuroimage.* 2003 Nov; 20 (3): 1894–8.
10. Ahmed RM, Paterson RW, Warren JD, Zetterberg H, O'Brien JT, Fox NC, et al. Biomarkers in dementia: clinical utility and new directions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2014 Dec; 85 (12): 1426–34. doi: 10.1136/jnnp-2014-307662.
11. Davison CM, O'Brien JT. A comparison of FDG-PET and blood flow SPECT in the diagnosis of neurodegenerative dementias: A systematic review. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2014 Jun; 29 (6): 551–61. doi: 10.1002/gps.4036.
12. Kato T, Inui Y, Nakamura A, Ito K. Brain fluorodeoxyglucose (FDG) PET in dementia. *Ageing Res Rev.* 2016 Feb 11. doi: 10.1016/j.arr.2016.02.003. [Epub ahead of print].
13. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol.* 2004 Mar; 55 (3): 306–19. doi: 10.1002/ana.20009.
14. Villemagne VL. Amyloid imaging: Past, present and future perspectives. *Ageing Res Rev.* 2016 Jan 28. doi: 10.1016/j.arr.2016.01.005. [Epub ahead of print].
15. Hauser RA, Grosset DG. [123I]FP-CIT (DaTscan) SPECT brain imaging in patients with suspected parkinsonian syndromes. *J Neuroimaging.* 2012 Jul; 22 (3): 225–30. doi: 10.1111/j.1552-6569.2011.00583.x.
16. Baglio F, Preti MG, Farina E. Neuroimaging Findings in Dementia with Lewy Body: A Review. In: Bright P, editor. *Neuroimaging — Methods.* InTech; 2012. doi: 10.5772/24221. Available from: <http://www.intechopen.com/books/neuroimaging-methods/neuroimaging-findings-in-dementia-with-lewy-body-a-review>
17. Walker Z, Moreno E, Thomas A, Inglis F, Tabet N, Rainer M, et al. Clinical usefulness of dopamine transporter SPECT imaging with 123I-FP-CIT in patients with possible dementia with Lewy bodies: randomised study. *Br J Psychiatry.* 2015 Feb; 206 (2): 145–52. doi: 10.1192/bjp.bp.114.148643.
18. Okello A, Edison P, Archer HA, Turkheimer FE, Kennedy J, Bullock R, et al. Microglial activation and amyloid deposition in mild cognitive impairment: a PET study. *Neurology.* 2009 Jan 6; 72 (1): 56–62. doi: 10.1212/01.wnl.0000338622.27876.0d.
19. Ossenkopppele R, Tolboom N, Foster-Dingley JC, Adriaanse SF, Boellaard R, Yaquub M, et al. Longitudinal imaging of Alzheimer pathology using [11C]PIB, [18F]FDDNP and [18F]FDG PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2012 Jun; 39 (6): 990–1000. doi: 10.1007/s00259-012-2102-3.

References

1. Prince M, Bryce R, Albanese E, Wimo A, Ribeiro W, Ferri CP. The global prevalence of dementia: A systematic review and metaanalysis. *Alzheimers Dement.* 2013 Jan; 9 (1): 63–75.e2. doi: 10.1016/j.jalz.2012.11.007.
2. Dierckx RAJO, Otte A, de Vries EFJ, van Waarde A, Leenders KL, editors. *PET and SPECT in Neurology.* Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2014.
3. Trollor JN, Sachdev PS, Haindl W, Brodaty H, Wen W, Walker BM. Regional cerebral blood flow deficits in mild Alzheimer's disease using high resolution single photon emission computerized tomography. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2005 Jun; 59 (3): 280–90. doi: 10.1111/j.1440-1819.2005.01372.x.
4. Dougall NJ, Bruggink S, Ebmeier KP. Systematic review of the diagnostic accuracy of 99mTc-HMPAO-SPECT in dementia. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2004 Nov–Dec; 12 (6): 554–70. doi: 10.1176/appi.ajgp.12.6.554.
5. Yeo JM, Lim X, Khan Z, Pal S. Systematic review of the diagnostic utility of SPECT imaging in dementia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2013 Oct; 263 (7): 539–52. doi: 10.1007/s00406-013-0426-z.
6. Efimova NYu, Chernov VI, Efimova IYu, Shnaider OL, Popov SV. Vliyaniye implantatsii elektrokardiosimulyatora na kognitivnyuyu disfunktsiyu u patsientov s postoyannoi formoi fibrillyatsii predserdii: vzaimosvyaz' s tserebral'noi perfuziei. *Vestnik aritmologii.* 2008; (54): 15–9. Russian.
7. Murashko NK. Odnofotonnaya emissionnaya tomografiya pri khronicheskoi gipertonicheskoi entsefalopatii. *Klinicheskaya gerontologiya.* 2007; (8): 26–9. Russian.
8. Nobili F, Koulibaly M, Vitali P, Migneco O, Mariani G, Ebmeier K, et al. Brain perfusion follow-up in Alzheimer's patients during treatment with acetylcholinesterase inhibitors. *J Nucl Med.* 2002 Aug; 43 (8): 983–90.
9. Rocher AB, Chapon F, Blaizot X, Baron JC, Chavoix C. Resting-state brain glucose utilization as measured by PET is directly related to regional synaptophysin levels: a study in baboons. *Neuroimage.* 2003 Nov; 20 (3): 1894–8.
10. Ahmed RM, Paterson RW, Warren JD, Zetterberg H, O'Brien JT, Fox NC, et al. Biomarkers in dementia: clinical utility and new directions. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2014 Dec; 85 (12): 1426–34. doi: 10.1136/jnnp-2014-307662.
11. Davison CM, O'Brien JT. A comparison of FDG-PET and blood flow SPECT in the diagnosis of neurodegenerative dementias: A systematic review. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2014 Jun; 29 (6): 551–61. doi: 10.1002/gps.4036.
12. Kato T, Inui Y, Nakamura A, Ito K. Brain fluorodeoxyglucose (FDG) PET in dementia. *Ageing Res Rev.* 2016 Feb 11. doi: 10.1016/j.arr.2016.02.003. [Epub ahead of print].
13. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol.* 2004 Mar; 55 (3): 306–19. doi: 10.1002/ana.20009.
14. Villemagne VL. Amyloid imaging: Past, present and future perspectives. *Ageing Res Rev.* 2016 Jan 28. doi: 10.1016/j.arr.2016.01.005. [Epub ahead of print].
15. Hauser RA, Grosset DG. [123I]FP-CIT (DaTscan) SPECT brain imaging in patients with suspected parkinsonian syndromes. *J*

- Neuroimaging. 2012 Jul; 22 (3): 225–30. doi: 10.1111/j.1552-6569.2011.00583.x.
16. Baglio F, Preti MG, Farina E. Neuroimaging Findings in Dementia with Lewy Body: A Review. In: Bright P, editor. Neuroimaging — Methods. InTech; 2012. doi: 10.5772/24221. Available from: <http://www.intechopen.com/books/neuroimaging-methods/neuroimaging-findings-in-dementia-with-lewy-body-a-review>
  17. Walker Z, Moreno E, Thomas A, Inglis F, Tabet N, Rainer M, et al. Clinical usefulness of dopamine transporter SPECT imaging with 123I-FP-CIT in patients with possible dementia with Lewy bodies: randomised study. *Br J Psychiatry*. 2015 Feb; 206 (2): 145–52. doi: 10.1192/bjp.bp.114.148643.
  18. Okello A, Edison P, Archer HA, Turkheimer FE, Kennedy J, Bullock R, et al. Microglial activation and amyloid deposition in mild cognitive impairment: a PET study. *Neurology*. 2009 Jan 6; 72 (1): 56–62. doi: 10.1212/01.wnl.0000338622.27876.0d.
  19. Ossenkuppele R, Tolboom N, Foster-Dingley JC, Adriaanse SF, Boellaard R, Yaqub M, et al. Longitudinal imaging of Alzheimer pathology using [11C]PIB, [18F]FDDNP and [18F]FDG PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2012 Jun; 39 (6): 990–1000. doi: 10.1007/s00259-012-2102-3.



## ПОСМЕРТНАЯ МРТ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВРОЖДЕННОЙ ПНЕВМОНИИ

У. Н. Туманова<sup>1</sup>✉, В. М. Ляпин<sup>1</sup>, В. Г. Быченко<sup>1</sup>, А. И. Щеголев<sup>1,2</sup>, Г. Т. Сухих<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова, Москва

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

Врожденная пневмония — одна из основных причин гибели детей в неонатальном периоде. В работе оценена возможность применения посмертной магнитно-резонансной томографии для диагностики врожденной пневмонии на аутопсийном материале. Исследовали тела 21 умершего новорожденного. До аутопсии проводили МРТ-исследование на аппарате 3T Magnetom Verio (Siemens, Германия) в стандартных T1 и T2 режимах. На томограммах анализировали интенсивность сигнала от ткани легких, плевральной жидкости и воздуха и рассчитывали показатель воздушности — отношение интенсивности сигнала от жидкости в плевральной полости к интенсивности сигнала от ткани легких. Затем проводили патологоанатомическое вскрытие и по результатам изучения гистологических препаратов все наблюдения разделили на две группы: в основную группу включили тела 9 новорожденных, умерших от врожденной пневмонии, в группу сравнения — тела 12 умерших новорожденных без признаков пневмонии. Интенсивность сигнала от ткани легких новорожденных с врожденной пневмонией была выше аналогичного показателя в группе сравнения: на 26,5 и 12,9 % в левом и правом легком соответственно на T1-взвешенных изображениях ( $p > 0,05$ ) и на 23,7 и 31,2 % — на T2-взвешенных изображениях ( $p > 0,05$ ). Чувствительность описанного метода составила 77,8 %, специфичность — 75,0 %, диагностическая эффективность — 76,2 %.

**Ключевые слова:** врожденная пневмония, легкое, посмертная магнитно-резонансная томография, аутопсия, показатель воздушности

✉ Для корреспонденции: Туманова Ульяна Николаевна  
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4; u.n.tumanova@gmail.com

Статья поступила: 17.08.2016 Статья принята к печати: 23.08.2016

## POSTMORTEM MAGNETIC RESONANCE IMAGING IN THE DIAGNOSIS OF CONGENITAL PNEUMONIA

Tumanova UN<sup>1</sup>✉, Lyapin VM<sup>1</sup>, Bychenko VG<sup>1</sup>, Schegolev AI<sup>1,2</sup>, Sukhikh GT<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Congenital pneumonia is one of the leading causes of neonatal deaths. In this work we assess the possibility of using postmortem magnetic resonance imaging for the diagnosis of congenital pneumonia. The study was conducted on 21 neonate bodies. Before the autopsy, MRI scanning was performed on the Magnetom Verio 3T system (Siemens, Germany) in T1 and T2 standard modes. The resulting images were used to analyze signal intensities of lung tissue, pleural fluid and air. Airiness index was computed as the ratio of pleural fluid signal intensity to lung tissue signal intensity. Then, the autopsy was performed. Based on the histological analysis results, the main and the control groups were formed. The bodies of 9 neonates who had died from congenital pneumonia were included into the main group; the control group consisted of 12 dead neonates with no signs of pneumonia. On T1-weighted images, the signal intensity from the lungs of the infants with congenital pneumonia was higher by 26.5 % in the left lung and 12.9 % in the right lung, compared to the controls ( $p > 0.05$ ). On T2-weighted images, the corresponding figures were 23.7 and 31.2 % ( $p > 0.05$ ). The sensitivity of the method is 77.8 %, specificity is 75.0 % and diagnostic efficacy is 76.2 %.

**Keywords:** congenital pneumonia, lung, postmortem magnetic resonance imaging, autopsy, airiness index

✉ Correspondence should be addressed: Uliana Tumanova  
ul. Akademika Oparina, d. 4, Moscow, Russia, 117997; u.n.tumanova@gmail.com

Received: 17.08.2016 Accepted: 23.08.2016

Врожденная пневмония — острое инфекционно-воспалительное заболевание респираторных отделов легких, развивающееся в результате антенатального и/или интранатального инфицирования и имеющее клинико-рентгенологические проявления в первые 72 ч жизни новорожденного [1]. Совершенствование методов диагностики и лечения способствует успешному выживанию младенцев с этой патологией, однако частота неблагоприятных исходов остается достаточно высокой. По данным мировой литературы [2], врожденная пневмония диагностируется у 10–38 % мертворожденных и у 20–63 % умерших

новорожденных. В России в 2010 г., по данным Росстата, заболевание стало причиной внутриутробной гибели плода в 0,43 % случаев и первоначальной причиной смерти новорожденных в возрасте 0–6 сут — в 8,7 % случаев [3]. В 2014 г. эти показатели составили 0,35 и 8,34 % соответственно [4].

Основным методом посмертной диагностики врожденной пневмонии является патологоанатомическое вскрытие. Однако и морфологический анализ часто затруднителен в связи с ложноположительными результатами плавательной пробы во время аутопсии, а также слабой

выраженностью воспалительных реакций у недоношенных новорожденных и в случае антибиотикотерапии [5, 6]. Альтернативой является лучевая диагностика.

Считается, что основной метод лучевой диагностики патологий легких — компьютерная томография (КТ) [7–9]. Посмертная КТ также достаточно эффективна для оценки состояния легких и определения причины смерти у взрослых [10]. Однако легкие погибших плодов и умерших новорожденных практически не визуализируются при бесконтрастной КТ [11]. В то же время для диагностики легочных патологий, в том числе пневмонии, все чаще используют магнитно-резонансную томографию (МРТ) [12]. Так, при помощи МРТ была диагностирована очаговая пневмония у 21 из 22 взрослых больных, у которых она была выявлена ранее при КТ-исследовании, и эффективность метода оказалась достаточно высокой: чувствительность — 95 %, специфичность — 88 %, положительная прогностическая значимость — 95 % [13]. МРТ была эффективна при обследовании 30 детей в возрасте 3–19 лет, у которых наличие пневмонии было установлено при рентгенологическом исследовании [14]. В результате исследователи заключили, что МРТ можно использовать в качестве альтернативы рентгенологическому или компьютерно-томографическому выявлению фокусов пневмонии размером не менее 1 см при отсутствии участков обызвествления [13, 14]. В связи с возможностью получения изображений в любой проекции и отсутствием радиологического воздействия МРТ рекомендуется для динамической оценки течения пневмонии. Leutner и соавт. [15] показали, что МРТ превосходит КТ с контрастным усилением в клинической диагностике некротической пневмонии. МРТ также продемонстрировала высокую эффективность при дифференциальной диагностике причин мертворождения и смерти новорожденных после рождения [16, 17], а также при определении давности внутриутробной гибели плода путем оценки состояния легких [18, 19].

Целью настоящей работы являлось изучение возможности использования посмертной магнитно-резонансной томографии для диагностики врожденной пневмонии на аутопсийном материале.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе исследовали тела 21 умершего новорожденного. Через 6–15 ч после констатации смерти до аутопсии проводили МРТ-исследование тела в стандартных режимах T1 и T2 на аппарате 3T Magnetom Verio (Siemens, Германия). Использовали следующие настройки томографа: область сканирования (field of view) — 300 мм, угол отклонения (flip angle) — 180°. Настройки T1-режима: толщина среза (slice thickness) — 0,9 мм, время повторения интервала (time repetition) — 1 900 мс, время эхо (time echo) — 2,2 мс. Настройки тех же параметров в T2-режиме: 1 мм, 3 200 мс и 410 мс соответственно. На T1- и T2-взвешенных изображениях в сагиттальной проекции определяли интенсивность сигнала (ИС) в выбранных областях интереса (region of interest, ROI) — правом и левом легких в плоскости максимального среза с исключением крупных элементов бронхо-сосудистого пучка и в области плевральной жидкости и воздуха в непосредственной близости от передней брюшной стенки. Затем рассчитывали оригинальный показатель воздушности (ПВ) для правого и левого легких как отношение ИС в области жидкости к ИС в ткани легкого. Поскольку интенсивность МР-сигнала в отдельной точке тела изменяется нелинейно и зависит от ряда

факторов (удаленности от изоцентра аппарата, однородности магнитного поля, физических характеристик соседних тканей и т. д.), то исследовать только его абсолютное значение не совсем корректно. Показатель воздушности, на наш взгляд, позволяет нивелировать или даже исключить погрешности, связанные с особенностями работы томографа.

После МРТ-исследования провели патологоанатомическое вскрытие и анализ гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином. По результатам вскрытия все наблюдения разделили на две группы: в основную группу (группу I) включили тела 9 новорожденных, умерших от врожденной пневмонии в возрасте от 2 ч 12 мин до 36,5 сут., в группу сравнения (группу II) — тела 12 новорожденных, умерших в возрасте от 2 ч 7 мин до 24 сут., без признаков пневмонии. Взвешивали тела, правое и левое легкие, определяли отношение массы обоих легких к массе тела.

Статистическую обработку полученных данных провели при помощи программного пакета Statistica 8.0 (StatSoft, США). Рассчитали среднее значение, стандартное отклонение и коэффициент вариации для каждого измеренного параметра. Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ . На основании полученных результатов рассчитали чувствительность, специфичность и диагностическую эффективность посмертной МРТ для диагностики врожденной пневмонии.

Исследование было одобрено Комитетом по этике биомедицинских исследований Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова (протокол № 25 от 22.06.2012).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При морфологическом исследовании аутопсийного материала в группе сравнения было установлено, что масса левого легкого колебалась в пределах от 2,1 до 36,5 г (коэффициент вариации — 95,4 %), правого — от 0,3 до 24,2 г (коэффициент вариации — 50,9 %) (табл. 1). Средние значения масс левого, правого и обоих легких составили  $10,8 \pm 10,8$ ,  $11,5 \pm 6,1$  и  $22,3 \pm 14,6$  г соответственно. На гистологических препаратах ткани легких отмечались признаки гипоплазии (при наличии врожденной диафрагмальной грыжи) (рис. 1А), а также ателектазов и дистелектазов.

У новорожденных, умерших от пневмонии, масса левого и правого легкого находилась в пределах от 4,1 до 42,7 г (коэффициенты вариации — 44,9 и 40,1 %) (табл. 1). Средние значения масс составили  $19,6 \pm 9,3$  и  $24,1 \pm 10,2$  г соответственно, а среднее значение массы обоих легких —  $45,9 \pm 17,7$  г, т. е. все значения были в 1,8–2,1 раза больше, чем в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). Отношение массы обоих легких к массе тела также было больше в основной группе, чем в группе сравнения — в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ). На гистологических препаратах в группе I отмечались признаки пневмонии в виде слабо выраженной моноцитарно-макрофагальной инфильтрации (рис. 1Б).

При визуальном анализе МР-томограмм на T1- и T2-взвешенных изображениях внутри групп отмечалась практически одинаковая интенсивность сигнала от обоих легких, но на T2ВИ структура органа была видна несколько отчетливее в сравнении с T1ВИ (рис. 2, 3). Сигнал от легких новорожденных, умерших от пневмонии, был более интенсивным в обоих режимах сканирования, чем сигнал от легких новорожденных, умерших от других патологий:

Таблица 1. Клинико-морфологические характеристики умерших новорожденных

| Группа | Наблюдение | Пол | Срок гестации при рождении, нед. | Возраст      | Масса тела, г   | Масса обоих легких, г | Масса правого легкого, г | Масса левого легкого, г | Отношение массы легких к массе тела |
|--------|------------|-----|----------------------------------|--------------|-----------------|-----------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------------------|
| I      | 1          | ж   | 38                               | 5 сут. 11 ч  | 2080,0          | 43,2                  | 22,1                     | 21,1                    | 0,021                               |
|        | 2          | м   | 33                               | 28 сут.      | 2800,0          | 58,6                  | 25,2                     | 33,4                    | 0,021                               |
|        | 3          | м   | 24                               | 5 сут. 15 ч  | 800,0           | 16,3                  | 12,2                     | 14,1                    | 0,020                               |
|        | 4          | ж   | 33                               | 7 сут. 14 ч  | 2674,0          | 52,6                  | 29,3                     | 23,3                    | 0,020                               |
|        | 5          | м   | 35                               | 36 сут. 10 ч | 3206,0          | 43,9                  | 23,3                     | 20,6                    | 0,014                               |
|        | 6          | м   | 39                               | 3 сут. 4 ч   | 3980,0          | 65,3                  | 42,7                     | 22,6                    | 0,016                               |
|        | 7          | м   | 30                               | 5 сут.       | 1942,0          | 62,7                  | 33,7                     | 29,0                    | 0,032                               |
|        | 8          | ж   | 33                               | 1 сут. 1 ч   | 2636,0          | 21,3                  | 17,2                     | 4,1                     | 0,008                               |
|        | 9          | ж   | 27                               | 2 ч          | 980,0           | 19,3                  | 10,8                     | 8,5                     | 0,020                               |
|        | M ± SD     |     |                                  | 32,4 ± 4,8   | 10 сут. 7 ч     | 2344,2 ± 1018,4       | 45,9 ± 17,7              | 24,1 ± 10,2             | 19,6 ± 9,3                          |
| II     | 10         | м   | 40                               | 2 ч          | 2747,0          | 15,7                  | 9,6                      | 6,1                     | 0,006                               |
|        | 11         | ж   | 36                               | 23 сут. 15 ч | 1820,0          | 46,5                  | 24,2                     | 22,3                    | 0,026                               |
|        | 12         | м   | 39                               | 23 ч         | 3538,0          | 13,2                  | 6,2                      | 7,0                     | 0,004                               |
|        | 13         | м   | 35                               | 3 сут. 2 ч   | 1391,0          | 12,6                  | 9,4                      | 3,2                     | 0,009                               |
|        | 14         | ж   | 39                               | 2 сут.       | 3740,0          | 17,0                  | 14,5                     | 2,5                     | 0,005                               |
|        | 15         | ж   | 39                               | 21 ч         | 4450,0          | 21,3                  | 11,4                     | 9,9                     | 0,005                               |
|        | 16         | ж   | 37                               | 16 ч         | 2310,0          | 10,1                  | 7,8                      | 2,3                     | 0,004                               |
|        | 17         | м   | 40                               | 6 ч          | 4550,0          | 13,6                  | 11,3                     | 2,3                     | 0,003                               |
|        | 18         | ж   | 37                               | 19 ч         | 2853,0          | 11,5                  | 9,4                      | 2,1                     | 0,004                               |
|        | 19         | м   | 37                               | 4 сут.       | 3182,0          | 36,0                  | 17,5                     | 18,5                    | 0,011                               |
|        | 20         | ж   | 39                               | 24 сут.      | 5164,0          | 53,1                  | 16,6                     | 36,5                    | 0,010                               |
|        | 21         | ж   | 37                               | 1 сут. 11 ч  | 3770,0          | 17,1                  | 0,3                      | 16,8                    | 0,005                               |
| M ± SD |            |     | 37,9 ± 1,6                       | 5 сут. 10 ч  | 3292,9 ± 1134,7 | 22,3 ± 14,6           | 11,5 ± 6,1               | 10,8 ± 10,8             | 0,008 ± 0,006                       |

на 26,5 и 12,9 % — для левого и правого легкого на T1ВИ и на 23,7 и 31,2 % — на T2ВИ ( $p > 0,05$ ) (табл. 2). В ряде случаев в группе сравнения наблюдали неравномерную интенсивность сигнала в пределах одного легкого, что было обусловлено наличием кровоизлияний (рис. 4), и различную яркость отображения ткани правого и левого легкого из-за компрессии органа при врожденной диафрагмальной грыже (рис. 5).

Среднее значение показателя воздушности, рассчитанное при анализе T1-взвешенных изображений, полученных при сканировании тел новорожденных, умерших

от пневмонии, в левом легком было на 44 % меньше, чем в группе сравнения, в правом — на 1,1 % больше (табл. 2). Аналогичный показатель, рассчитанный при анализе T2-взвешенных изображений, в основной группе был меньше, чем в группе сравнения, в обоих легких: на 14,3 % — в левом и на 5,7 % — в правом. Однако все различия были статистически незначимыми ( $p > 0,05$ ).

Чувствительность описанного метода составила 77,8 %, специфичность — 75,0 %, диагностическая эффективность — 76,2 %, что свидетельствует о достаточно высокой эффективности использованной методики.

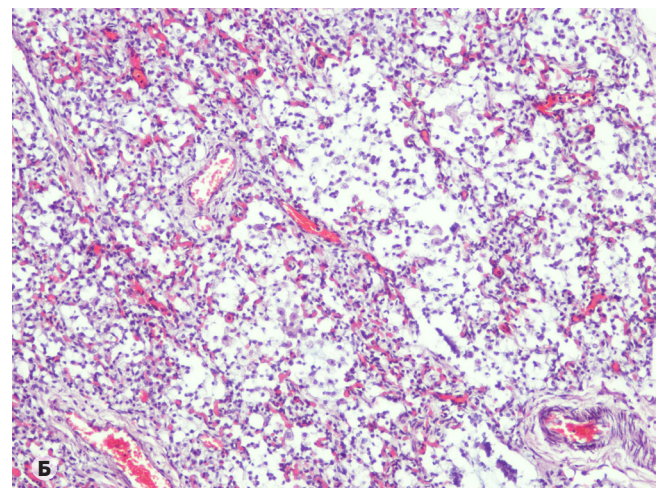
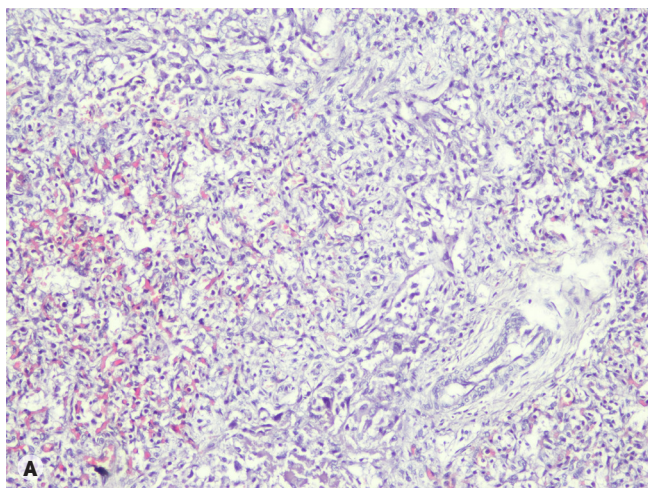
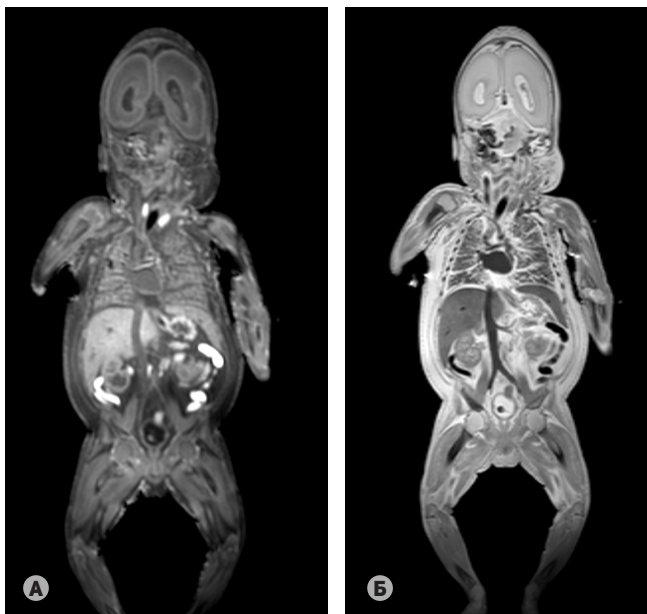
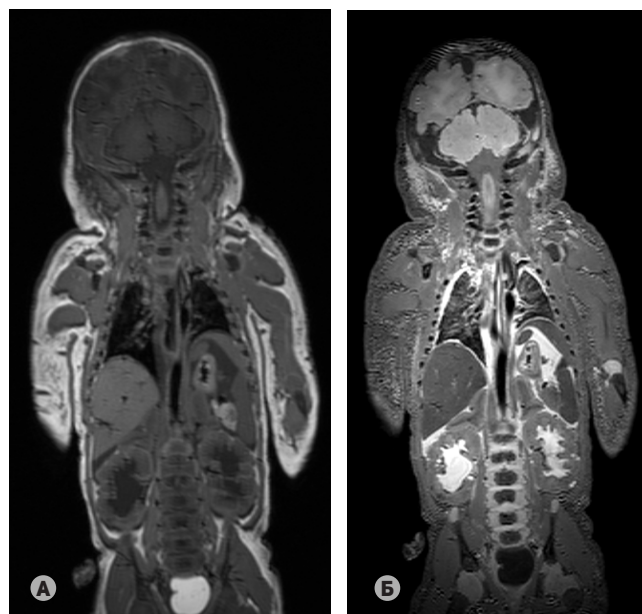


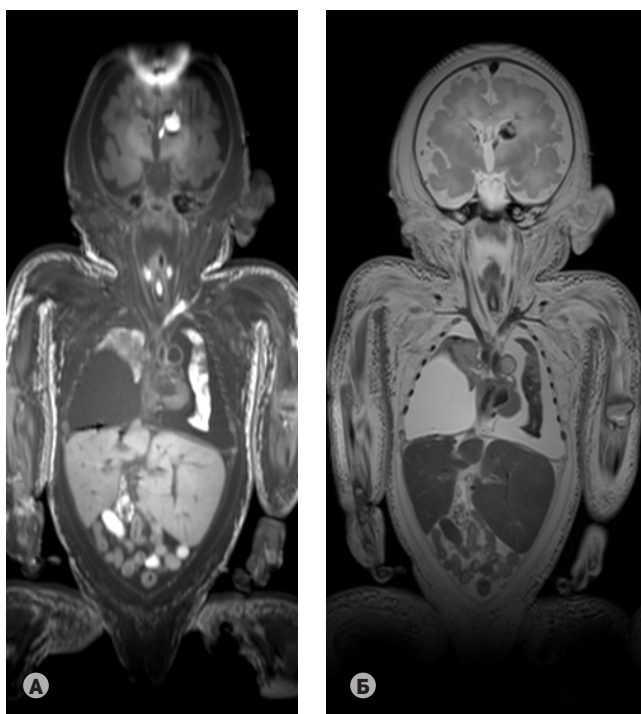
Рис. 1. Гистологические изменения ткани легких: (А) гипоплазия легкого, (Б) моноцитарно-макрофагальная пневмония. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$



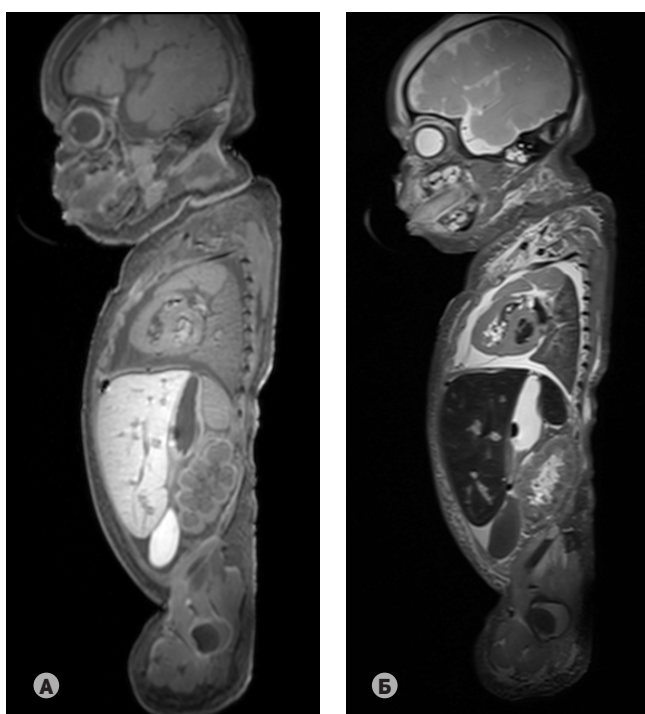
**Рис. 2.** МР-томограммы во фронтальной проекции умершего новорожденного с врожденной пневмонией из основной группы: (А) T1-взвешенное изображение, (Б) T2-взвешенное изображение



**Рис. 3.** МР-томограммы во фронтальной проекции умершего новорожденного без патологии легких из группы сравнения: (А) T1-взвешенное изображение, (Б) T2-взвешенное изображение



**Рис. 4.** МР-томограммы во фронтальной проекции умершего новорожденного из группы сравнения с наличием кровоизлияний в обоих легких при отсутствии пневмонии: (А) T1-взвешенное изображение, (Б) T2-взвешенное изображение



**Рис. 5.** МР-томограммы в сагиттальной проекции умершего новорожденного из группы сравнения с интактным левым и поджатым диафрагмальной грыжей правым легким: (А) T1-взвешенное изображение, (Б) T2-взвешенное изображение

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Значения интенсивности сигнала варьировали в области плевральной жидкости и воздуха, выбранных нами в качестве наиболее статичных по физическим параметрам участков структуры. Поскольку во всех наблюдениях при вскрытии отсутствовали признаки плеврита, подобная вариабельность, видимо, была связана с отличиями в настройках томографа при проведении исследований разными специалистами. Наличие же жидкости невос-

палительного происхождения (аналогичной транссудату) в плевральной полости отражает развитие ранних неспецифических посмертных изменений [20] и выявляется во всех случаях смерти, что было подтверждено и нами при вскрытии.

Различия между группами по показателю воздушности были статистически недостоверными, что, видимо, связано с относительно малым количеством наблюдений и необходимостью анализировать патологию легких в каждом наблюдении, а не в группе в целом. Тем

Таблица 2. Значения интенсивности сигнала и показателя воздушности (ПВ) легких умерших новорожденных

| Группа | Наблюдение    | T1-взвешенные изображения |                   |               |              |           |               | T2-взвешенные изображения |                   |               |               |           |           |
|--------|---------------|---------------------------|-------------------|---------------|--------------|-----------|---------------|---------------------------|-------------------|---------------|---------------|-----------|-----------|
|        |               | Интенсивность сигнала     |                   |               |              | ПВ ПЛ     | ПВ ЛЛ         | Интенсивность сигнала     |                   |               |               | ПВ ПЛ     | ПВ ЛЛ     |
|        |               | Правое легкое (ПЛ)        | Левое легкое (ЛЛ) | Воздух        | Жидкость     |           |               | Правое легкое (ПЛ)        | Левое легкое (ЛЛ) | Воздух        | Жидкость      |           |           |
| I      | 1             | 128                       | 664               | 6,0           | 515          | 4,0       | 0,8           | 120                       | 330               | 3,0           | 880           | 7,3       | 2,7       |
|        | 2             | 488                       | 750               | 7,0           | 409          | 0,8       | 0,5           | 330                       | 200               | 6,0           | 300           | 0,9       | 1,5       |
|        | 3             | 538                       | 517               | 9,0           | 379          | 0,7       | 0,7           | 416                       | 345               | 4,5           | 735           | 1,8       | 2,1       |
|        | 4             | 769                       | 530               | 9,0           | 588          | 0,8       | 1,1           | 330                       | 300               | 3,0           | 720           | 2,2       | 2,4       |
|        | 5             | 566                       | 492               | 6,0           | 293          | 0,5       | 0,6           | 380                       | 290               | 1,0           | 523           | 1,4       | 1,8       |
|        | 6             | 688                       | 741               | 11            | 557          | 0,8       | 0,8           | 521                       | 450               | 4,5           | 1122          | 2,2       | 2,5       |
|        | 7             | 719                       | 693               | 7,0           | 393          | 0,5       | 0,6           | 239                       | 208               | 5,0           | 639           | 2,7       | 3,1       |
|        | 8             | 479                       | 595               | 12            | 444          | 0,9       | 0,7           | 446                       | 453               | 6,0           | 920           | 2,1       | 2,0       |
|        | 9             | 873                       | 887               | 12            | 516          | 0,6       | 0,6           | 870                       | 837               | 8,0           | 1120          | 1,3       | 1,3       |
|        | M ± SD        | 583,1 ± 217,2             | 652,1 ± 130,6     | 8,8 ± 2,4     | 454,9 ± 95,8 | 1,1 ± 1,1 | 0,7 ± 0,2     | 405,8 ± 209,8             | 379,2 ± 193,4     | 4,6 ± 2,1     | 773,2 ± 270,1 | 2,4 ± 1,9 | 2,2 ± 0,5 |
| II     | 10            | 144                       | 72                | 6,0           | 277          | 1,9       | 3,8           | 195                       | 176               | 3,0           | 590           | 3,0       | 3,4       |
|        | 11            | 938                       | 871               | 9,6           | 736          | 0,8       | 0,8           | 552                       | 465               | 4,0           | 996           | 2,1       | 2,1       |
|        | 12            | 605                       | 564               | 9,0           | 420          | 0,7       | 0,7           | 119                       | 133               | 3,0           | 500           | 4,2       | 3,8       |
|        | 13            | 624                       | 585               | 7,0           | 430          | 0,7       | 0,7           | 363                       | 365               | 3,0           | 672           | 1,9       | 1,8       |
|        | 14            | 251                       | 569               | 9,0           | 349          | 1,4       | 0,6           | 251                       | 312               | 3,0           | 690           | 2,7       | 2,2       |
|        | 15            | 477                       | 384               | 10            | 340          | 0,7       | 0,9           | 265                       | 237               | 3,0           | 598           | 2,3       | 2,5       |
|        | 16            | 829                       | 866               | 10            | 573          | 0,7       | 0,7           | 436                       | 456               | 7,0           | 1140          | 2,6       | 2,5       |
|        | 17            | 581                       | 541               | 5,0           | 435          | 0,7       | 0,8           | 287                       | 278               | 3,0           | 742           | 2,6       | 2,7       |
|        | 18            | 524                       | 388               | 7,0           | 261          | 0,5       | 0,7           | 279                       | 396               | 4,0           | 583           | 2,1       | 1,5       |
|        | 19            | 359                       | 250               | 3,0           | 930          | 2,6       | 3,7           | 359                       | 363               | 3,0           | 930           | 2,6       | 2,6       |
|        | 20            | 504                       | 678               | 3,0           | 341          | 0,7       | 0,5           | 446                       | 323               | 2,0           | 926           | 2,1       | 2,9       |
|        | 21            | 362                       | 419               | 5,0           | 514          | 1,4       | 1,2           | 160                       | 176               | 1,0           | 412           | 2,6       | 2,3       |
| M ± SD | 516,5 ± 225,3 | 515,6 ± 232,8             | 7,0 ± 2,6         | 467,2 ± 197,5 | 1,1 ± 0,6    | 1,3 ± 1,1 | 309,3 ± 127,0 | 306,7 ± 109,6             | 3,3 ± 1,4         | 731,6 ± 220,5 | 2,6 ± 0,6     | 2,5 ± 0,6 |           |

не менее, мы полагаем, что значение ПВ менее 2,5, регистрируемое одновременно в обоих легких на T2ВИ, свидетельствует о наличии пневмонии. Эта закономерность была отмечена в 7 из 9 случаев в основной группе. В двух оставшихся наблюдениях более высокое значение ПВ было обусловлено сопутствующими патологиями: пневмотораксом в наблюдении № 1 и отечной формой гемолитической болезни в наблюдении № 7. В группе сравнения значения ПВ превышали 2,5 в обоих легких в 9 из 12 случаев. В трех наблюдениях, где показатель воздушности был менее 2,5 в обоих легких и тем самым указывал на наличие пневмонии, диагностировали множественные врожденные пороки развития (наблюдение № 11) и врожденную ложную левостороннюю диафрагмальную грыжу (наблюдения № 13 и 18).

Предложенный коэффициент позволяет, на наш взгляд, нивелировать или даже исключить погрешности, связанные с особенностями работы аппарата и индивидуальными настройками сканирования.

Полученные нами результаты диагностической эффективности метода превосходят данные Arthurs и соавт. [21], показавших, что чувствительность посмертной МРТ пневмонии у плодов, новорожденных и детей составила 12,5 %, специфичность — 92,6 %, а прогностическая ценность положительного результата — 25 %. Возможно, это объясняется тем, что в этом исследовании заключение о наличии или отсутствии пневмонии делали на основании визуальной оценки воздушности–уплотнения ткани легко-

го. В этой же работе было показано, что эффективность МРТ-диагностики повышается с возрастом умершего пациента: худшие результаты (69,7 % расхождений с результатами морфологического исследования) были получены для плодов, погибших до 24 недели гестации.

С одной стороны, выявление при помощи МРТ поражений легких, в том числе пневмонии, в клинической практике является достаточно трудной задачей: МРТ-изображения легких характеризуются низким качеством из-за малой плотности протонов и большого количества градиентов воздух–ткань [22, 23]. С другой стороны, еще в 1990-х гг. Herold и соавт. [24] и Blum и соавт. [25] указали на умеренную интенсивность сигнала на T1-взвешенных изображениях и высокую — на T2-взвешенных изображениях при диагностике аспергиллезной пневмонии у иммунокомпрометированных пациентов. В качестве несомненного достоинства МРТ следует указать на возможность достаточно четкого определения как абсолютных, так и относительных размеров легких, отражающих в определенной мере развитие легочной недостаточности [26, 27].

Причинами артефактов на томограммах являются движения легких во время дыхания и пульсация крови в сердечно-сосудистой системе, особенно у новорожденных [28]. Для посмертной МРТ это неактуально, хотя следует отметить, что возникает проблема корректной оценки неспецифических посмертных изменений, связанных с перераспределением крови и аутолизом [20, 29, 30]. Для повышения точности диагностики и возможности прове-

дения дифференциальной диагностики некоторые авторы предлагают дополнить посмертную МРТ гистологическим анализом образцов ткани легкого, получаемых чрескожно или эндоскопически [31].

Поскольку эффективность посмертной МРТ-диагностики в значительной степени зависит от типа томографа и используемых настроек, необходима разработка специальных протоколов исследования, учитывающих не только тип оборудования, но также режимы и программы сканирования. Taylor и соавт. [32] пришли к выводу о необходимости использования отдельных протоколов при анализе тел погибших плодов и умерших детей.

## Выводы

Посмертная магнитно-резонансная томография эффективна для выявления врожденной пневмонии у мертво-

рожденных и умерших новорожденных. При этом для верификации патологии более важны не конкретные характеристики легочной ткани на томограммах, а соотношение значений интенсивности сигнала от ткани легких и жидкости (в данном случае — плевральной) на T2-взвешенных изображениях. Это соотношение, показатель воздушности, позволяет нивелировать влияние индивидуальных настроек томографа на результаты диагностики. Различия по показателю воздушности, выявленные нами в исследовании между группой детей, умерших от врожденной пневмонии, и группой детей, умерших по другим причинам, были статистически недостоверны из-за малой выборки. Возможно, исследование с большим числом наблюдений подтвердит наше предположение о том, что при значении показателя воздушности менее 2,5 в обоих легких на T2-взвешенных изображениях можно диагностировать врожденную пневмонию.

## Литература

1. Гребенников В. А., Ионов О. М., Мостовой А. В., Овсянников Д. Ю., Дегтярев Д. Н. Дыхательные расстройства. В кн.: Володин Н. Н., редактор. Неонатология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. с. 246–92.
2. Duke T. Neonatal pneumonia in developing countries. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005; 90 (3): F211–9.
3. Щеголев А. И., Туманова У. Н., Фролова О. Г. Региональные особенности мертворождаемости в Российской Федерации. В сб.: Межрегиональная научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы судебно-медицинской экспертизы и экспертной практики в региональных бюро судебно-медицинской экспертизы на современном этапе»; 21–22 ноября 2013 г.; Рязань, Россия. Рязань; 2013. с. 163–9.
4. Щеголев А. И., Туманова У. Н., Шувалова М. П., Фролова О. Г. Врожденная пневмония как причина перинатальной смерти в Российской Федерации. *Неонатология: новости, мнения, обучение.* 2016; 2: 61–6.
5. Хрущелевски Э., Шперль-Зейфридова Г., Черваков В. Ф., редакторы. Секция трупов плодов и новорожденных. М.: Медгиз; 1962. с. 224.
6. Сорокин А. Ф. Пневмонии новорожденных. В книге: Ивановская Т. Е., Леонова Л. В., редакторы. Патологическая анатомия болезней плода и ребенка. М.: Медицина; 1989. с. 208–10.
7. Вишневецкий А. А., Кармазановский Г. Г., Коков Л. С., Быков Г. А., Борисов В. В., Щеголев А. И. Современные возможности диагностики в торакальной хирургии. *Хирургия. Журнал имени Н. И. Пирогова.* 2003; 3: 92–5.
8. Verschakelen JA, De Wever W. *Computed tomography of the lung. A pattern approach.* Berlin: Springer-Verlag; 2007.
9. Тюрин И. Е. Новые горизонты торакальной хирургии. *Политклиника.* 2013; 5 (1): 12–7.
10. Michiue T, Sakurai T, Ishikawa T, Oritani S, Maeda H. Quantitative analysis of pulmonary pathophysiology using postmortem computed tomography with regard to the cause of death. *Forensic Sci Int.* 2012; 220 (1–3): 232–8.
11. Федосеева В. К., Туманова У. Н., Ляпин В. М., Воеводин С. М., Щеголев А. И. Возможности использования мультиспиральной компьютерной томографии в посмертной диагностике патологии плодов и новорожденных. *Российский электронный журнал лучевой диагностики.* 2013; 3 (S2): 448.
12. Puderbach M, Kauczor HU. Can lung MR replace lung CT? *Pediatr Radiol.* 2008; 38 Suppl 3: S439–51.
13. Eibel RP, Herzog O, Dietrich C, Rieger H, Ostermann M, Reiser S, et al. Nachweis von pneumonischen Infiltraten mit der MRT. *Radiologe.* 2006; 46: 267–74. German.
14. Rupperecht T, Böwing B, Kuth R, Deimling M, Rascher W, Wagner M. Steady-state free precession projection MRI as a potential alternative to the conventional chest X-ray in pediatric patients with suspected pneumonia. *Eur Radiol.* 2002; 12 (11): 2752–6.
15. Leutner CC, Gieseke J, Lutterbey G, Kuhl C K, Glasmacher A, Wardelmann E, et al. MR-imaging of pneumonia in immunocompromised patients: comparison with helical CT. *AJR Am J Roentgenol.* 2000; 175 (2): 391–7.
16. Barber JL, Sebire NJ, Chitty LS, Taylor AM, Arthurs OJ. Lung aeration on post-mortem magnetic resonance imaging is a useful marker of live birth versus stillbirth. *Int J Legal Med.* 2015; 129 (3): 531–6.
17. Туманова У. Н., Быченко В. Г., Ляпин В. М., Воеводин С. М., Щеголев А. И., Сухих Г. Т., авторы. Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени В. И. Кулакова, патентообладатель. Способ дифференциальной диагностики мертворожденного и смерти новорожденного после рождения. Патент РФ №2577454 от 18.06.2015.
18. Lally PJ, Arthurs O, Addison S, Alavi A, Sebire NJ, Taylor A, et al. Estimating maceration severity using whole body magnetic resonance T2 relaxometry. *Arch Dis Child Fetal Neonatal.* 2014; (S1): A92–3.
19. Tumanova UN, Lyapin VM, Voevodin SM, Shchegolev AI, Sukhikh GT. Postmortem MRI to determine the time of intrauterine fetal death. *Vichows Archiv.* 2015; 467 (S1): 27.
20. Туманова У. Н., Щеголев А. И. Неспецифические посмертные изменения, выявляемые при компьютерно-томографическом исследовании. В сборнике: Международная конференция «Криминалистическое сопровождение расследования преступлений: проблемы и пути их решения»; 19 февраля 2016 г.; Москва, Россия. М.; 2016. с. 525–9.
21. Arthurs OJ, Thayyil S, Olsen OE, Addison S, Wade A, Jones R, et al. Diagnostic accuracy of post-mortem MRI for thoracic abnormalities in fetuses and children. *Eur Radiol.* 2014; 24: 2876–84.
22. Bankier AA, O'Donnell CR, Mai VM, Storey P, De Maertelaer V, Edelman RR, et al. Impact of lung volume on MR signal intensity changes of the lung parenchyma. *J Magn Reson Imaging.* 2004; 20 (6): 961–6.
23. Ciet P, Tiddens HAWM, Wielopolski PA, Wild JM, Lee EY, et al. Magnetic resonance imaging in children: common problems and possible solutions for lung and airways imaging. *Pediatr Radiol.* 2015; 45 (13): 1901–5.
24. Herold CJ, Mostbeck G, Kramer J, Schwarzingler I, Wrba F, Haller J, et al. Invasive pulmonary aspergillosis: radiologic and magnetic resonance tomographic characteristics. *Rofo.* 1990; 153 (5): 569–74.
25. Blum U, Windfuhr M, Buitrago-Tellez C, Sigmund G, Herbst EW, Langer M. Invasive pulmonary aspergillosis. MRI, CT and plain radiographic findings and their contribution for early diagnosis. *Chest.* 1994; 106 (4): 1156–61.
26. Thayyil S, Schievano S, Robertson NJ, Jones R, Chitty LS,

- Sebire NJ, et al. A semi-automated method for non-invasive internal organ weight estimation by post-mortem magnetic resonance imaging in fetuses, newborns and children. *Eur J Radiol.* 2009; 72: 321–6.
27. Туманова У. Н., Быченко В. Г., Ляпин В.М., Воеводин С. М., Щеголев А. И. Врожденная диафрагмальная грыжа у новорожденного: МРТ – патоморфологические сопоставления. *Медицинская визуализация.* 2014; 4: 72–83.
28. Liszewski MC, Hersman FW, Altes TA, Ohno Y, Ciet P, Warfield SK, et al. Magnetic resonance imaging of pediatric lung parenchyma, airways, vasculature, ventilation, and perfusion: state of the art. *Radiol Clin N Am.* 2013; 51 (4): 555–82.
29. Дуброва С. Э., Вишнякова М. В., Кинле А. Ф., Филимонов Б. А. Особенности компьютерной томографии трупа: проблема интерпретации специфических и неспецифических артефактов. *Лучевая диагностика и терапия.* 2016; 1: 25–40.
30. Туманова У. Н., Щеголев А. И. Посмертная магнитно-резонансная томография плодов и новорожденных. *Медицинская визуализация.* 2015; 5: 128–36.
31. Sebire NJ, Weber MA, Thayyil S, Mushtaq I, Taylor A, Chitty LS. Minimally invasive perinatal autopsies using magnetic resonance imaging and endoscopic postmortem examination (“keyhole autopsy”): feasibility and initial experience. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2012; 25 (5): 513–8.
32. Taylor AM, Sebire NJ, Ashworth MT, Schievano S, Scott RJ, Wade A, et al. Postmortem Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Fetuses and Children: A Masked Comparison Study With Conventional Autopsy. *Circulation.* 2014; 129 (19): 1937–44.
1. Grebennikov VA, Ionov OM, Mostovoy AV, Ovsyannikov DYU, Degtyarev DN. Dykhatel'nye rasstroystva. In: Volodin NN, editor. *Neonatologiya: natsional'noe rukovodstvo.* Moscow: GEOTAR-Media; 2009. p. 246–92. Russian.
2. Duke T. Neonatal pneumonia in developing countries. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005; 90 (3): F211–9.
3. Shchegolev AI, Tumanova UN, Frolova OG. [Regional features of stillbirth in the Russian Federation]. In: *Mezhregional'naya nauchno-prakticheskaya konferentsiya s mezhdunarodnym uchastiem “Aktual'nye voprosy sudebno-meditsinskoj ekspertizy i ekspertnoy praktiki v regional'nykh byuro sudebno-meditsinskoj ekspertizy na sovremennom etape”;* 2013 Nov 21–22; Ryazan, Russia. Ryazan; 2013. p. 163–9. Russian
4. Shchegolev AI, Tumanova UN, Shuvalova MP, Frolova OG. Vrozhden'naya pnevmoniya kak prichina perinatal'noy smerti v Rossiyskoj Federatsii. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obucheniye* 2016; 2: 61–6. Russian.
5. Khrushchevskiy E, Shperl'-Zeyfridova G, Chervakov VF, editors. *Sektsiya trupov plodov i novorozhdennykh.* Moscow: Medgiz; 1962. p. 224. Russian.
6. Sorokin AF. Pnevmonii novorozhdennykh. In: Ivanovskaya TE, Leonova LV, editors. *Patologicheskaya anatomiya bolezney ploda i rebenka.* Moscow: Meditsina; 1989. p. 208–10. Russian.
7. Vishnevskiy AA, Karmazanovskiy GG, Kokov LS, Bykov GA, Borisov VV, Shchegolev AI. *Sovremennyye vozmozhnosti diagnostiki v torakal'noy khirurgii.* *Khirurgiya. Zhurnal imeni N. I. Pirogova.* 2003; 3: 92–5. Russian.
8. Verschakelen JA, De Wever W. *Computed tomography of the lung. A pattern approach.* Berlin: Springer-Verlag; 2007.
9. Tyurin IE. *Novyye gorizonty torakal'noy khirurgii.* *Poliklinika.* 2013; 5 (1): 12–7. Russian.
10. Michiue T, Sakurai T, Ishikawa T, Oritani S, Maeda H. Quantitative analysis of pulmonary pathophysiology using postmortem computed tomography with regard to the cause of death. *Forensic Sci Int.* 2012; 220 (1–3): 232–8.
11. Fedoseeva VK, Tumanova UN, Lyapin VM, Voevodin SM, Shchegolev AI. *Vozmozhnosti ispol'zovaniya mul'tispiral'noy komp'yuternoy tomografii v posmertnoy diagnostike patologii plodov i novorozhdennykh.* *Rossiyskiy elektronnyy zhurnal luchevoy diagnostiki.* 2013; 3 (S2): 448. Russian.
12. Puderbach M, Kauczor HU. Can lung MR replace lung CT? *Pediatr Radiol.* 2008; 38 Suppl 3: S439-51.
13. Eibel RP, Herzog O, Dietrich C, Rieger H, Ostermann M, Reiser S, et al. Nachweis von pneumonischen Infiltraten mit der MRT. *Radiologe.* 2006; 46: 267–74. German.
14. Rupprecht T, Böwing B, Kuth R, Deimling M, Rascher W, Wagner M. Steady-state free precession projection MRI as a potential alternative to the conventional chest X-ray in pediatric patients with suspected pneumonia. *Eur Radiol.* 2002; 12 (11): 2752–6.
15. Loutner CC, Gieseke J, Lutterbey G, Kuhl C K, Glasmacher A, Wardelmann E, et al. MR-imaging of pneumonia in immunocompromised patients: comparison with helical CT. *AJR Am J Roentgenol.* 2000; 175 (2): 391–7.
16. Barber JL, Sebire NJ, Chitty LS, Taylor AM, Arthurs OJ. Lung aeration on post-mortem magnetic resonance imaging is a useful marker of live birth versus stillbirth. *Int J Legal Med.* 2015; 129 (3): 531–6.
17. Tumanova UN, Bychenko VG, Lyapin VM, Voevodin SM, Shchegolev AI, Sukhikh GT, inventors. Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, assignee. *Sposob differentsial'noy diagnostiki mertvorozhdenogo i smerti novorozhdenного после rozhdeniya.* Patent. RU 2577454 2015 Jun 18. Russian.
18. Lally PJ, Arthurs O, Addison S, Alavi A, Sebire NJ, Taylor A, et al. Estimating maceration severity using whole body magnetic resonance T2 relaxometry. *Arch Dis Child Fetal Neonatal.* 2014; (S1): A92–3.
19. Tumanova UN, Lyapin VM, Voevodin SM, Shchegolev AI, Sukhikh GT. Postmortem MRI to determine the time of intrauterine fetal death. *Vichows Archiv.* 2015; 467 (S1): 27.
20. Tumanova UN, Shchegolev AI. *Nespetsificheskie posmertnye izmeneniya, vyyavlyayemye pri komp'yuterno-tomograficheskom issledovanii.* In: *Mezhdunarodnaya konferentsiya “Kriminalisticheskoe soprovozhdenie rassledovaniya prestupleniy: problemy i puti ikh resheniya”;* 2016 Feb 19; Moscow, Russia. Moscow; 2016. p. 525–9. Russian.
21. Arthurs OJ, Thayyil S, Olsen OE, Addison S, Wade A, Jones R, et al. Diagnostic accuracy of post-mortem MRI for thoracic abnormalities in fetuses and children. *Eur Radiol.* 2014; 24: 2876–84.
22. Bankier AA, O'Donnell CR, Mai VM, Storey P, De Maertelaer V, Edelman RR, et al. Impact of lung volume on MR signal intensity changes of the lung parenchyma. *J Magn Reson Imaging.* 2004; 20 (6): 961–6.
23. Ciet P, Tiddens HAWM, Wielopolski PA, Wild JM, Lee EY, et al. Magnetic resonance imaging in children: common problems and possible solutions for lung and airways imaging. *Pediatr Radiol.* 2015; 45 (13): 1901–5.
24. Herold CJ, Mostbeck G, Kramer J, Schwarzingler I, Wrba F, Haller J, et al. Invasive pulmonary aspergillosis: radiologic and magnetic resonance tomographic characteristics. *Rofo.* 1990; 153 (5): 569–74.
25. Blum U, Windfuhr M, Buitrago-Tellez C, Sigmund G, Herbst EW, Langer M. Invasive pulmonary aspergillosis. MRI, CT and plain radiographic findings and their contribution for early diagnosis. *Chest.* 1994; 106 (4): 1156–61.
26. Thayyil S, Schievano S, Robertson NJ, Jones R, Chitty LS, Sebire NJ, et al. A semi-automated method for non-invasive internal organ weight estimation by post-mortem magnetic resonance imaging in fetuses, newborns and children. *Eur J Radiol.* 2009; 72: 321–6.
27. Tumanova UN, Bychenko VG, Liapin VM, Voevodin SM, Shchegolev AI. [Congenital Diaphragmatic Hernia in a Newborn: MRI – Pathomorphological Comparisons]. *Medical Visualization.* 2014; 4: 72–83. Russian.
28. Liszewski MC, Hersman FW, Altes TA, Ohno Y, Ciet P, Warfield SK, et al. Magnetic resonance imaging of pediatric lung parenchyma, airways, vasculature, ventilation, and perfusion: state of the art. *Radiol Clin N Am.* 2013; 51 (4): 555–82.

References

29. Dubrova SE, Vishnyakova MV, Kinle AF, Filimonov BA. [Features of computed tomography autopsy: the problem of interpretation of specific and nonspecific artifacts]. *Diagnostic radiology and radiotherapy*. 2016; 1: 25–40. Russian.
30. Tumanova UN, Shchyogolev AI. [Postmortem Magnetic Resonance Tomography of Fetuses and Newborns]. *Medical Visualization*. 2015; 5: 128–36. Russian.
31. Sebire NJ, Weber MA, Thayyil S, Mushtaq I, Taylor A, Chitty LS. Minimally invasive perinatal autopsies using magnetic resonance imaging and endoscopic postmortem examination (“keyhole autopsy”): feasibility and initial experience. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012; 25 (5): 513–8.
32. Taylor AM, Sebire NJ, Ashworth MT, Schievano S, Scott RJ, Wade A, et al. Postmortem Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Fetuses and Children: A Masked Comparison Study With Conventional Autopsy. *Circulation*. 2014; 129 (19): 1937–44.



## ВЛИЯНИЕ МЕТОДА АНЕСТЕЗИИ НА ВОЗНИКНОВЕНИЕ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОЙ КОГНИТИВНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ПАЦИЕНТОВ ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА ПРИ ОПЕРАЦИЯХ В ГИНЕКОЛОГИИ

Е. А. Красенкова<sup>1</sup> ✉, А. Ю. Овечкин<sup>2</sup>, А. В. Пырегов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Педиатрический факультет,

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

<sup>2</sup> Отделение анестезиологии-реанимации,

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова, Москва

Послеоперационная когнитивная дисфункция (ПОКД) — расстройство, развивающееся в ранний послеоперационный период, сохраняющееся в течение нескольких дней или недель и проявляющееся снижением высших корковых функций (речи, памяти, внимания и др.). Возникновение ПОКД часто связывают с методом анестезиологического обеспечения и препаратами. В работе изучено влияние общей, нейроаксиальной и сочетанной анестезии на развитие ПОКД у женщин пожилого и старческого возраста при операциях в гинекологии. В исследование включили 43 пациентки (средний возраст — 65,0 ± 2,2 года). В группе с общей анестезией было 12 женщин, с нейроаксиальной — 23, с сочетанной — 8. Интраоперационный мониторинг включал снятие электрокардиограммы, неинвазивное измерение артериального давления, определение уровня насыщения крови кислородом (rSO<sub>2</sub>), определение биспектрального индекса (BIS-мониторинг). За день до операции и на 5-й день после нее проводили нейропсихологическое тестирование с помощью теста слежения, краткой шкалы оценки психического статуса и батареи оценки лобной функции. Все интраоперационные показатели у всех пациенток были в норме. ПОКД была диагностирована у 3 женщин, находившихся под общей анестезией, у 7 — под нейроаксиальной и у 2 — под сочетанной (25, 30 и 25 % относительно общего числа пациенток в группах соответственно). Среднее значение показателя rSO<sub>2</sub> во всех группах было ниже исходного уровня: при общей анестезии — на 6 %, при нейроаксиальной — на 15 %, при сочетанной — на 10 %, однако различия были статистически незначимыми (p > 0,05). Связь между типом анестезии и развитием ПОКД не была выявлена.

**Ключевые слова:** послеоперационная когнитивная дисфункция, когнитивное расстройство, общая анестезия, нейроаксиальная анестезия, сочетанная анестезия, пожилой возраст

✉ Для корреспонденции: Красенкова Екатерина Алексеевна  
121471, г. Москва, ул. Маршала Неделина, д. 34, корп. 1, кв. 99; krasenkova.ea@gmail.com

Статья поступила: 09.06.2016 Статья принята в печать: 16.08.2016

## INFLUENCE OF ANESTHETIC TECHNIQUES ON OCCURRENCE OF POSTOPERATIVE COGNITIVE DYSFUNCTION IN ELDERLY PATIENTS UNDERGOING GYNECOLOGICAL SURGERY

Krasenkova EA<sup>1</sup> ✉, Ovechkin AY<sup>2</sup>, Pyregov AV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Pediatrics,

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Department of Anesthesiology and Resuscitation,

Kulakov Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

Postoperative cognitive dysfunction (POCD) is a disorder that develops in the early postoperative period, persisting for several days or weeks and leading to decrease in higher cortical functions (speech, memory, attention, etc.). POCD is often associated with anesthetic techniques and drugs. This paper studied the effect of general, neuraxial and combined anesthesia on POCD development in elderly women undergoing gynecological surgery. The study featured 43 patients (mean age 65,0 ± 2.2 years). There were 12 women in the general anesthesia group, 23 in the neuraxial anesthesia group, and 8 women in the combined anesthesia group. Intraoperative monitoring included electrocardiography, non-invasive blood pressure measurement, determination of blood oxygen saturation level (rSO<sub>2</sub>) and determination of bispectral index (BIS monitoring). A day before surgery and on the 5th day after the surgery, neuropsychological tests were carried out through tracking test, Mini-Mental State Examination and frontal assessment battery. All intraoperative indicators were normal in all the patients. POCD was diagnosed in 3 women who were under general anesthesia, in 7 women under neuraxial anesthesia and 2 under the combined group (25, 30 and 25 % relative to the total number of patients in the groups, respectively). The average rSO<sub>2</sub> value was below the initial level in all groups: below by 6 % in the general anesthesia group, by 15 % in the neuraxial group, and by 10 % in the combined group. However, the differences were statistically insignificant (p > 0.05). The study found no relationship between anesthetic techniques and POCD.

**Keywords:** postoperative cognitive dysfunction, cognitive impairment, general anesthesia, neuraxial anesthesia, combined anesthesia, elderly age

✉ Correspondence should be addressed: Ekaterina Krasenkova  
ul. Marshala Nedelina, d. 34, korp. 1, kv. 99, Moscow, Russia, 121471; krasenkova.ea@gmail.com

Received: 09.06.2016 Accepted: 16.08.2016

Одной из острых проблем современной анестезиологии является послеоперационная когнитивная дисфункция (ПОКД) — расстройство, развивающееся в ранний послеоперационный период, сохраняющееся на протяжении нескольких дней или недель, реже — месяцев, и клинически проявляющееся в виде нарушений памяти, трудности концентрации и длительного удержания внимания, а также нарушений других высших корковых функций (мышления, речи и т. д.). У пациента возникают проблемы с обучением, снижается умственная работоспособность, ухудшается настроение (возникает депрессия) [1]. Все это может повлечь за собой снижение качества жизни [2–4]. Несмотря на большую распространенность расстройства и интерес научного сообщества к нему, ПОКД не включена в Международную статистическую классификацию болезней и проблем, связанных со здоровьем (МКБ-10): существует только близкий ей диагноз — легкое когнитивное расстройство (F06.7).

Точный механизм развития послеоперационной когнитивной дисфункции неизвестен. В ряде исследований возникновение данного состояния связывают с действием анестетиков и глубиной анестезии [5–7]. Bianchi и соавт. [8] установили, что применение ингаляционных анестетиков влияет на амилоидогенез в головном мозге, способствуя развитию ПОКД. Monk и соавт. [7] предположили, что ингаляционные анестетики нейротоксичны и вызывают старение мозга, однако точного подтверждения этой гипотезы пока нет. В то же время указывается на влияние операционного стресса [9] и предоперационного состояния пациентов [7, 9] на развитие ПОКД. Так, наличие инфарктов мозга в анамнезе пациента значительно ухудшают течение ранней ПОКД даже при отсутствии остаточных нарушений. Некоторые исследователи также рассматривают послеоперационную когнитивную дисфункцию как фактор риска развития болезни Альцгеймера [10], при этом этиология обоих нарушений остается невыясненной.

Отмечена связь между возникновением ПОКД и показателем насыщения крови кислородом ( $rSO_2$ ): интраоперационное снижение  $rSO_2$  является предиктором расстройства. Li и соавт. [11] показали эту связь в торакальной хирургии при вентиляции одного легкого, Papadopoulos и соавт. [12] — при операциях по поводу переломов шейки бедра у пациентов старше 75 лет. Церебральную оксиметрию предлагается применять не только для выявления риска развития ПОКД, но и для определения тактики послеоперационного ведения пациентов [11, 13–16]. Некоторые исследователи сообщают также о связи показателей церебральной оксиметрии с применением конкретных анестетиков [17, 18] и преморбидным фоном ПОКД [19]. Salazar и соавт. [20] предположили развитие послеоперационной когнитивной дисфункции на фоне снижения  $rSO_2$  при определенном положении пациентов во время операции, и, хотя достоверную связь выявить не удалось, авторы заключили, что протоколы с измерением  $rSO_2$  уменьшают риск развития ПОКД. Другие исследователи отмечают снижение  $rSO_2$  при полусидячем положении пациента с приподнятой верхней частью туловища [21].

Важным фактором риска возникновения ПОКД считается пожилой и старческий возраст, который ассоциирован с естественным снижением когнитивных функций и различными заболеваниями — гипертонической болезнью, атеросклерозом, ишемической болезнью, тромбозами, инсультами и др. [1, 3, 6, 7, 12–15]. При этом количество оперативных вмешательств у пожилых пациентов растет, а вместе с ним — и количество публикаций по проблеме

ПОКД у пожилых людей [4]. Другие факторы риска — наличие у пациента органической патологии мозга и психических расстройств [1, 3]; объем и длительность операции, интра- и послеоперационные осложнения (кровопотеря, гемодинамические реакции и др.) [3–6]; наличие у пациента хронического болевого синдрома [8]; III–IV степень риска по шкале Американской ассоциации анестезиологов [22].

Целью данного исследования являлась оценка воздействия анестезии (метода, препаратов) на когнитивный статус пациентов пожилого и старческого возраста при операциях в гинекологии путем комплексного нейропсихологического обследования.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование провели с участием пациенток Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова (НЦАГиП им. В. И. Кулакова) в 2015 г. Критериями включения являлись возраст 60–80 лет и наличие гинекологического заболевания, требующего планового оперативного вмешательства. Критериями исключения являлись отягощенный неврологический анамнез и наличие выраженных цереброваскулярных нарушений; наличие органических поражений ЦНС, эпилепсии, психических заболеваний в анамнезе; тяжелые сотрясения головного мозга, инсульты; тяжелая соматическая патология; деменция (оценка по Краткой шкале оценки психического статуса (Mini-mental State Examination, MMSE) — 24 балла и более); отягощенный алкогольный, наркотический или токсикологический анамнез; расширение объема оперативного вмешательства; декомпенсация экстрагенитальной патологии. В исследование были включены 43 пациентки в возрасте  $65,0 \pm 2,2$  года.

19 пациенткам провели влагалищную гистерэктомию, 8 — лапароскопическую (laparoscopic, LS) гистерэктомию, 7 — LS-аднексэктомию, 6 — лапаротомическую гистерэктомию, 2 — LS-холицистэктомию, 1 — закрытие стомы. Использовали три типа анестезиологического обеспечения: общую анестезию (12 пациенток, средний возраст —  $66,0 \pm 5,6$  года), нейроаксиальную анестезию (23 пациентки, средний возраст —  $66,0 \pm 4,9$  года) и сочетанную анестезию (8 пациенток, средний возраст —  $68,0 \pm 6,4$  года). Дозы препаратов подбирали индивидуально в соответствии с рекомендациями производителей, возрастом и чувствительностью пациенток, необходимым анестезиологическим эффектом. Далее для групп пациенток (по типу анестезии) приведены средние значения доз препаратов.

Общую анестезию проводили по следующей методике. Выполняли премедикацию атропина сульфатом («Дальхимфарм», Россия) и «Дексаметазоном» (Krka, Словения). Для индукции использовали «Пропофол» (AstraZeneca, Великобритания) —  $1,3 \pm 1,5$  мг/кг и «Рокуроний Каби» (Hamein Pharmaceuticals, Германия) —  $0,9$  мг/кг. После индукции интубировали трахею. Для поддержания анестезии использовали наркозно-дыхательную смесь «Севофлурана» (Abbott Laboratories, США) и кислорода с поддержанием минимальной альвеолярной концентрации на уровне  $0,8–1,0$ .

Для проведения нейроаксиальной анестезии использовали метод спинально-эпидуральной анестезии. Пункцию эпидурального и спинального пространств проводили на уровне люмбальных позвонков 2–3 (L2–L3). В спинальное пространство вводили гипербарический «Бупивакаин» (AstraZeneca) в дозе  $8,95 \pm 3,05$  мг, в эпидуральное — «Ропивакаин» (AstraZeneca) в дозе  $68,5 \pm 12,0$  мг.

Пункции предшествовала премедикация атропина сульфатом и «Дексаметазоном».

Сочетанная анестезия включала общую анестезию и установку эпидурального катетера на уровне L1–L3 после стандартной премедикации (атропина сульфат и «Дексаметазон»). Затем выполняли индукцию, интубацию трахеи и проводили общую анестезию. В эпидуральное пространство вводили «Ропивакаин» в дозе 1 мг/кг.

Интраоперационный мониторинг осуществляли согласно Оксфордскому стандарту (ЭКГ, АД, SpO<sub>2</sub>) [23] с помощью монитора InfinityDelta (Draeger, Германия), BIS-мониторинг (измерение биспектрального индекса для оценки уровня анестезии и седации головного мозга) — с помощью приставки к монитору Infinity BISx SmartPod (Draeger). Для церебральной оксиметрии использовали монитор INVOS 5100C (Covidien AG, США).

Когнитивный статус пациенток оценивали за день до операции и на 5-й день после нее с помощью трех нейропсихологических тестов — теста слежения, краткой шкалы оценки психического статуса и батареи оценки лобной функции.

Тест слежения (Trail Making Test, TMT) [24] позволяет оценить внимание, скорость мышления и координацию пациента. Состоит из двух частей: в части А пациенту предлагается последовательно соединить цифры от 1 до 25, в части В — соединить чередующиеся буквы и цифры в порядке возрастания. На тест отводится 300 с, затем оценивается время, за которое пациент выполнил задание, и определяется степень дисфункции в соответствии со шкалой результатов (три степени).

Краткая шкала оценки психического статуса [25] включает 9 проб, оценивающих ориентацию в пространстве и времени, внимание, память и речь пациента. Результат приводится в баллах.

Батарея оценки лобной функции (Frontal Assessment Battery, FAB) [26] состоит из 6 заданий, которые позволяют оценить способность пациента к обобщению, внимательность, умение концентрировать внимание, состояние речевых процессов, двигательную активность. Результат также приводится в баллах.

Для каждой группы пациенток рассчитали средние значения и средние отклонения результатов тестирования до и после операции и сопоставили их для выявления ПОКД: если после операции результат тестирования оказывался хуже результата до операции более чем на 10 %, диагностировали когнитивное расстройство. Также для каждой группы пациенток рассчитали средние значения и средние отклонения показателя rSO<sub>2</sub> до и после операции. Полученные данные обработали статистически с использованием критерия Стьюдента (p < 0,05).

Исследование было одобрено Комитетом по этике биомедицинских исследований НЦАГиП им. В. И. Кулакова

(протокол № 1 от 29.01.2015). Все пациентки дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Электрокардиограммы, полученные в процессе операции, были характерными для возрастной нормы. Сатурация поддерживалась на уровне 97–99 %. Значение биспектрального индекса оставалось в норме (45–60 %), что позволяет исключить влияние недостаточной или избыточной седации головного мозга на когнитивные функции пациенток.

Среднее значение показателя rSO<sub>2</sub> во время операции во всех трех группах отличалось от исходных значений (снижалось): при общей анестезии — на 6 %, при нейроаксиальной — на 15 %, при сочетанной — на 10 %. Однако различия были незначимыми (p > 0,05).

По результатам оценки когнитивного статуса пациенток с помощью теста слежения и батареи оценки лобной функции ПОКД выявили у 12 человек: 3 женщин, получивших общую анестезию, 7 — нейроаксиальную и 2 — сочетанную. Однако в процентном соотношении число пациенток с ПОКД в каждой группе оказалось приблизительно равным: 25, 30 и 25 % соответственно. Когнитивный дефицит по тесту FAB в группе пациенток с общей анестезией составил в среднем 24,0 %, по тесту TMT — 25,0 % (таблица). Средние значения этих же показателей в группе пациенток с нейроаксиальной анестезией оказались равны 18,6 и 28,0 %, а в группе пациенток с сочетанной анестезией — 25,0 и 23,8 % соответственно. Результаты послеоперационного тестирования с помощью MMSE отличались от дооперационных значений менее чем на 10 %. Данные статистически значимы только для тестов FAB и TMT (p < 0,05). Можно предположить, что тест MMSE наименее чувствителен в отношении послеоперационной когнитивной дисфункции.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Некоторые исследователи отмечают, что общая анестезия ассоциирована с более значительным снижением rSO<sub>2</sub>, чем нейроаксиальная [27–29], другие — что различий нет [30, 31]. Действительно, нейроаксиальный блок приводит к изменению центральной гемодинамики, что может влиять на уровень оксигенации мозгового кровотока. Однако в нашей работе более значительное снижение rSO<sub>2</sub> при нейроаксиальной анестезии было недостоверным. Возможно, это объясняется недостаточным объемом выборки.

Многие авторы связывают возникновение ПОКД с типом анестезиологического обеспечения [1, 2, 5, 7, 17, 28, 30]. Но большинство исследователей формировали

Результаты нейропсихологического тестирования пациенток

| Группа (тип анестезии) | n  | Выявленная ПОКД, n (доля в группе, %) | Оценка по FAB (баллы) |                |              | Оценка по MMSE (баллы) |                |              | Оценка по TMT (с) |                |              |
|------------------------|----|---------------------------------------|-----------------------|----------------|--------------|------------------------|----------------|--------------|-------------------|----------------|--------------|
|                        |    |                                       | до операции           | после операции | изменение, % | до операции            | после операции | изменение, % | до операции       | после операции | изменение, % |
| Общая                  | 12 | 3 (25,0)                              | 14,5 ± 1,7            | 11,0 ± 1,3     | 24,0*        | 26,1 ± 4,0             | 24,3 ± 3,7     | 7,0          | 46,5 ± 6,6        | 62,0 ± 8,9     | 25,0*        |
| Нейроаксиальная        | 23 | 7 (30,0)                              | 14,3 ± 2,9            | 11,6 ± 2,4     | 18,6*        | 26,5 ± 3,1             | 24,2 ± 2,2     | 8,7          | 48,4 ± 4,5        | 67,2 ± 6,2     | 28,0*        |
| Сочетанная             | 8  | 2 (25,0)                              | 13,1 ± 3,6            | 9,8 ± 2,7      | 25,0*        | 25,1 ± 2,9             | 23,4 ± 2,7     | 6,9          | 50,2 ± 5,0        | 65,8 ± 6,5     | 23,8*        |

**Примечание.** FAB — Frontal Assessment Battery (батарея оценки лобной функции), MMSE — Mini-mental State Examination (краткая шкала оценки психического статуса), TMT — Trail Making Test (тест слежения). \* — p < 0,05 (при сравнении средних значений признака в группе до и после операции).

опытные группы из пожилых людей, предрасположенных к возникновению когнитивной дисфункции в силу возрастных изменений головного мозга. В нашем исследовании различий между тремя типами анестезии выявить не удалось. Возможно, в большей степени факторами риска возникновения ПОКД являются объем оперативного вмешательства, операционный стресс и качество ведения послеоперационного периода [32, 33].

Косвенные подтверждения отсутствию влияния типа анестезии на возникновение ПОКД можно найти в детской хирургии и кардиологии. В детской анестезиологии проблема когнитивной дисфункции стоит так же остро, как и во взрослой. Но многие исследователи указывают на то, что, несмотря на отдельные случаи послеоперационной когнитивной дисфункции у детей школьного возраста, нельзя утверждать, что какое-либо анестезиологическое пособие влияет более других на развитие данного состояния [34]. Кардиохирургические операции сопряжены с кислородным голоданием мозга, которое должно приводить

к когнитивной дисфункции. Однако некоторые исследователи, изучающие эту проблему, также сообщают, что тип анестезиологического обеспечения не влияет на частоту возникновения ПОКД [35].

## ВЫВОДЫ

Наше исследование показало, что вероятность развития послеоперационной когнитивной дисфункции у женщин пожилого возраста при гинекологических операциях не определяется типом анестезии. Снижение церебральной оксигенации могло бы быть причиной более частого возникновения ПОКД при нейроаксиальной анестезии, но полученные нами данные о снижении  $rSO_2$  при этом типе анестезии статистически недостоверны, и предположение нуждается в дополнительной проверке в группе с большим числом пациенток. Также нами отмечено, что наиболее чувствительными инструментами выявления ПОКД являются тест слежения и батарея оценки лобной функции.

## Литература

1. Соленкова А. А., Бондаренко А. А., Лубнин А. Ю., Дзюбанова Н. А. Послеоперационные когнитивные изменения у больных пожилого и старческого возраста. *Анестезиология и реаниматология*. 2012; 4: 13–9.
2. Newman S, Stygall J, Hirani S, Shaefi S, Maze M. Postoperative cognitive dysfunction after noncardiac surgery: a systematic review. *Anesthesiology*. 2007 Mar; 106 (3): 572–90.
3. Dijkstra JB, Houx PJ, Jolles J. Cognition after major surgery in the elderly: test performance and complaints. *Br J Anaesth*. 1999 Jun; 82 (6): 867–74.
4. Berger M, Nadler JW, Browndyke J, Terrando N, Ponnusamy V, Cohen HJ, et al. Postoperative Cognitive Dysfunction: Minding the Gaps in Our Knowledge of a Common Postoperative Complication in the Elderly. *Anesthesiol Clin*. 2015 Sep; 33 (3): 517–50.
5. Monk TG, Price CC. Postoperative cognitive disorders. *Curr Opin Crit Care*. 2011 Aug; 17 (4): 376–81.
6. Newfield P. Postoperative cognitive dysfunction. *F1000 Med Rep*. 2009 Feb 24; 1: 14.
7. Monk TG, Weldon BC, Garvan CW, Dede DE, van der Aa MT, Heilman KM, et al. Predictors of cognitive dysfunction after major noncardiac surgery. *Anesthesiology*. 2008 Jan; 108 (1): 18–30.
8. Bianchi SL, Tran T, Liu C, Lin S, Li Y, Keller JM, et al. Brain and behavior changes in 12-month-old Tg2576 and nontransgenic mice exposed to anesthetics. *Neurobiol Aging*. 2008 Jul; 29 (7): 1002–10.
9. Zhang C, Li C, Xu Z, Zhao S, Li P, Cao J, et al. The effect of surgical and psychological stress on learning and memory function in aged C57BL/6 mice. *Neuroscience*. 2016 Apr 21; 320: 210–20.
10. Hu X, Xu G. Does anesthesia cause postoperative cognitive decline. *Med Princ Pract*. 2016; 25 (5): 497.
11. Li XM, Li F, Liu ZK, Shao MT. Investigation of one-lung ventilation postoperative cognitive dysfunction and regional cerebral oxygen saturation relations. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2015 Dec; 16 (12): 1042–8.
12. Papadopoulos G, Karanikolas M, Liarmakopoulou A, Papathanakos G, Korre M, Beris A. Cerebral oximetry and cognitive dysfunction in elderly patients undergoing surgery for hip fractures: a prospective observational study. *Open Orthop J*. 2012; 6: 400–5.
13. Li XM, Shao MT, Wang JJ, Wang YL. Relationship between postoperative cognitive dysfunction and regional cerebral oxygen saturation and  $\beta$ -amyloid protein. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2014 Oct; 15 (10): 870–8.
14. Hong SW, Shim JK, Choi YS, Kim DH, Chang BC, Kwak YL. Prediction of cognitive dysfunction and patients' outcome following valvular heart surgery and the role of cerebral oximetry. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008 Apr; 33 (4): 560–5.
15. de Tournay-Jetté E, Dupuis G, Bherer L, Deschamps A, Cartier R, Denault A. The relationship between cerebral oxygen saturation changes and postoperative cognitive dysfunction in elderly patients after coronary artery bypass graft surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2011 Feb; 25 (1): 95–104.
16. Ni C, Xu T, Li N, Tian Y, Han Y, Xue Q, et al. Cerebral oxygen saturation after multiple perioperative influential factors predicts the occurrence of postoperative cognitive dysfunction. *BMC Anesthesiol*. 2015 Oct 26; 15: 156.
17. Xu JH, Zhang TZ, Peng XF, Jin CJ, Zhou J, Zhang YN. Effects of sevoflurane before cardiopulmonary bypass on cerebral oxygen balance and early postoperative cognitive dysfunction. *Neurol Sci*. 2013 Dec; 34 (12): 2123–9.
18. Choi JW, JooAhn H, Yang M, Kim JA, Lee SM, Ahn JH. Comparison Between Phenylephrine and Dopamine in Maintaining Cerebral Oxygen Saturation in Thoracic Surgery: A Randomized Controlled Trial. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Dec; 94 (49): 2212.
19. Kim SY, Chae DW, Chun YM, Jeong KH, Park K, Han DW. Modelling of the Effect of End-Tidal Carbon Dioxide on Cerebral Oxygen Saturation in Beach Chair Position under General Anaesthesia. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2016 Jul; 119 (1): 85–92.
20. Salazar D, Sears BW, Aghdasi B, Only A, Francois A, Tonino P, et al. Cerebral desaturation events during shoulder arthroscopy in the beach chair position: patient risk factors and neurocognitive effects. *J Shoulder Elbow Surg*. 2013 Sep; 22 (9): 1228–35.
21. Deiner S, Chu I, Mahanian M, Lin HM, Hecht AC, Silverstein JH. Prone position is associated with mild cerebral oxygen desaturation in elderly surgical patients. *PLoS One*. 2014 Sep 12; 9 (9): e106387.
22. American Society of Anesthesiologists. New classification of physical status. *Anesthesiology*. 1963; 24: 111.
23. Sykes MK, Vickers MD, Hull CJ. Principles of measurement and monitoring in anaesthesia and intensive care. 3rd ed. Oxford: Blackwell; 1991. 372 p.
24. Reitan RM. The relation of the trail making test to organic brain damage. *J Consult Psychol*. 1955 Oct; 19 (5): 393–4.
25. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975 Nov; 12 (3): 189–98.
26. Julayanont P, Tangwongchai S, Hemrungron S, Tunvirachaisakul C, Phanthumchinda K, Hongsawat J, et al. The Montreal Cognitive Assessment-Basic: A Screening Tool for Mild Cognitive Impairment in Illiterate and Low-Educated Elderly Adults. *J Am Geriatr Soc*. 2015 Dec; 63 (12): 2550–4.

27. Ozgen ZS, Toraman F, Erkek E, Sungur T, Guclu P, Durmaz S, et al. Cesarean under general or epidural anesthesia: does it differ in terms of regional cerebral oxygenation? *Acta Anaesthesiol Taiwan*. 2014 Dec; 52 (4): 159–62.
28. Kermany MP, Soltani MH, Ahmadi K, Motiee H, Rubenzadeh S, Nejati V. The impact of anesthetic techniques on cognitive functions after urological surgery. *Middle East J Anaesthesiol*. 2015 Feb; 23 (1): 35–42.
29. Silbert BS, Evered LA, Scott DA. Incidence of postoperative cognitive dysfunction after general or spinal anaesthesia for extracorporeal shock wave lithotripsy. *Br J Anaesth*. 2014 Nov; 113 (5): 784–91.
30. Closhen D, Engelhard K, Dette F, Werner C, Schramm P. Changes in cerebral oxygen saturation following prone positioning for orthopaedic surgery under general anaesthesia: a prospective observational study. *Eur J Anaesthesiol*. 2015 Jun; 32 (6): 381–6.
31. Rasmussen LS, Jonson T, Kuipers HM. Does anesthesia cause postoperative cognitive dysfunction? A randomized study of regional versus general anesthesia in 438 elderly patients. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2003; 47: 1188–94.
32. Casati A, Aldegheri G, Vinciguerra F. Randomized comparison between sevoflurane anaesthesia and unilateral spinal anaesthesia in elderly patients undergoing orthopaedic surgery. *Eur J Anaesth*. 2003; 20: 640–6.
33. Crul BJ, Hulstijn W, Burger IC. Influence of the type of anaesthesia on post-operative subjective physical well-being and mental function in elderly patients. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1992; 36: 615–20.
34. Aun CS, McBride C, Lee A, Lau AS, Chung RC, Yeung CK, et al. Short-Term Changes in Postoperative Cognitive Function in Children Aged 5 to 12 Years Undergoing General Anesthesia: A Cohort Study. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Apr; 95 (14): e3250.
35. Mayr NP, Hapfelmeier A, Martin K, Kurz A, van der Starre P, Babik B, et al. Comparison of sedation and general anaesthesia for transcatheter aortic valve implantation on cerebral oxygen saturation and neurocognitive outcome. *Br J Anaesth*. 2016 Jan; 116 (1): 90–9.

## References

1. Solenkova AA, Bondarenko AA, Lubnin AYu, Dzyubanov NA. [Postoperative cognitive dysfunction in elderly patients]. *Anesteziologiya i reanimatologiya*. 2012; 4: 13–9. Russian.
2. Newman S, Stygall J, Hirani S, Shaefi S, Maze M. Postoperative cognitive dysfunction after noncardiac surgery: a systematic review. *Anesthesiology*. 2007 Mar; 106 (3): 572–90.
3. Dijkstra JB, Houx PJ, Jolles J. Cognition after major surgery in the elderly: test performance and complaints. *Br J Anaesth*. 1999 Jun; 82 (6): 867–74.
4. Berger M, Nadler JW, Browndyke J, Terrando N, Ponnusamy V, Cohen HJ, et al. Postoperative Cognitive Dysfunction: Minding the Gaps in Our Knowledge of a Common Postoperative Complication in the Elderly. *Anesthesiol Clin*. 2015 Sep; 33 (3): 517–50.
5. Monk TG, Price CC. Postoperative cognitive disorders. *Curr Opin Crit Care*. 2011 Aug; 17 (4): 376–81.
6. Newfield P. Postoperative cognitive dysfunction. *F1000 Med Rep*. 2009 Feb 24; 1: 14.
7. Monk TG, Weldon BC, Garvan CW, Dede DE, van der Aa MT, Heilman KM, et al. Predictors of cognitive dysfunction after major noncardiac surgery. *Anesthesiology*. 2008 Jan; 108 (1): 18–30.
8. Bianchi SL, Tran T, Liu C, Lin S, Li Y, Keller JM, et al. Brain and behavior changes in 12-month-old Tg2576 and nontransgenic mice exposed to anesthetics. *Neurobiol Aging*. 2008 Jul; 29 (7): 1002–10.
9. Zhang C, Li C, Xu Z, Zhao S, Li P, Cao J, et al. The effect of surgical and psychological stress on learning and memory function in aged C57BL/6 mice. *Neuroscience*. 2016 Apr 21; 320: 210–20.
10. Hu X, Xu G. Does anesthesia cause postoperative cognitive decline. *Med Princ Pract*. 2016; 25 (5): 497.
11. Li XM, Li F, Liu ZK, Shao MT. Investigation of one-lung ventilation postoperative cognitive dysfunction and regional cerebral oxygen saturation relations. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2015 Dec; 16 (12): 1042–8.
12. Papadopoulos G, Karanikolas M, Liarmakopoulou A, Papathanakos G, Korre M, Beris A. Cerebral oximetry and cognitive dysfunction in elderly patients undergoing surgery for hip fractures: a prospective observational study. *Open Orthop J*. 2012; 6: 400–5.
13. Li XM, Shao MT, Wang JJ, Wang YL. Relationship between postoperative cognitive dysfunction and regional cerebral oxygen saturation and  $\beta$ -amyloid protein. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2014 Oct; 15 (10): 870–8.
14. Hong SW, Shim JK, Choi YS, Kim DH, Chang BC, Kwak YL. Prediction of cognitive dysfunction and patients' outcome following valvular heart surgery and the role of cerebral oximetry. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008 Apr; 33 (4): 560–5.
15. de Tournay-Jetté E, Dupuis G, Bherer L, Deschamps A, Cartier R, Denault A. The relationship between cerebral oxygen saturation changes and postoperative cognitive dysfunction in elderly patients after coronary artery bypass graft surgery. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2011 Feb; 25 (1): 95–104.
16. Ni C, Xu T, Li N, Tian Y, Han Y, Xue Q, et al. Cerebral oxygen saturation after multiple perioperative influential factors predicts the occurrence of postoperative cognitive dysfunction. *BMC Anesthesiol*. 2015 Oct 26; 15: 156.
17. Xu JH, Zhang TZ, Peng XF, Jin CJ, Zhou J, Zhang YN. Effects of sevoflurane before cardiopulmonary bypass on cerebral oxygen balance and early postoperative cognitive dysfunction. *Neurol Sci*. 2013 Dec; 34 (12): 2123–9.
18. Choi JW, JooAhn H, Yang M, Kim JA, Lee SM, Ahn JH. Comparison Between Phenylephrine and Dopamine in Maintaining Cerebral Oxygen Saturation in Thoracic Surgery: A Randomized Controlled Trial. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Dec; 94 (49): 2212.
19. Kim SY, Chae DW, Chun YM, Jeong KH, Park K, Han DW. Modelling of the Effect of End-Tidal Carbon Dioxide on Cerebral Oxygen Saturation in Beach Chair Position under General Anaesthesia. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2016 Jul; 119 (1): 85–92.
20. Salazar D, Sears BW, Aghdasi B, Only A, Francois A, Tonino P, et al. Cerebral desaturation events during shoulder arthroscopy in the beach chair position: patient risk factors and neurocognitive effects. *J Shoulder Elbow Surg*. 2013 Sep; 22 (9): 1228–35.
21. Deiner S, Chu I, Mahanian M, Lin HM, Hecht AC, Silverstein JH. Prone position is associated with mild cerebral oxygen desaturation in elderly surgical patients. *PLoS One*. 2014 Sep 12; 9 (9): e106387.
22. American Society of Anesthesiologists. New classification of physical status. *Anesthesiology*. 1963; 24: 111.
23. Sykes MK, Vickers MD, Hull CJ. Principles of measurement and monitoring in anaesthesia and intensive care. 3rd ed. Oxford: Blackwell; 1991. 372 p.
24. Reitan RM. The relation of the trail making test to organic brain damage. *J Consult Psychol*. 1955 Oct; 19 (5): 393–4.
25. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975 Nov; 12 (3): 189–98.
26. Julayanont P, Tangwongchai S, Hemrungronj S, Tunvirachaisakul C, Phanthumchinda K, Hongsawat J, et al. The Montreal Cognitive Assessment-Basic: A Screening Tool for Mild Cognitive Impairment in Illiterate and Low-Educated Elderly Adults. *J Am Geriatr Soc*. 2015 Dec; 63 (12): 2550–4.
27. Ozgen ZS, Toraman F, Erkek E, Sungur T, Guclu P, Durmaz S, et al. Cesarean under general or epidural anesthesia: does it differ in terms of regional cerebral oxygenation? *Acta Anaesthesiol Taiwan*. 2014 Dec; 52 (4): 159–62.
28. Kermany MP, Soltani MH, Ahmadi K, Motiee H, Rubenzadeh S,

- Nejati V. The impact of anesthetic techniques on cognitive functions after urological surgery. *Middle East J Anaesthesiol*. 2015 Feb; 23 (1): 35–42.
29. Silbert BS, Evered LA, Scott DA. Incidence of postoperative cognitive dysfunction after general or spinal anaesthesia for extracorporeal shock wave lithotripsy. *Br J Anaesth*. 2014 Nov; 113 (5): 784–91.
30. Closhen D, Engelhard K, Dette F, Werner C, Schramm P. Changes in cerebral oxygen saturation following prone positioning for orthopaedic surgery under general anaesthesia: a prospective observational study. *Eur J Anaesthesiol*. 2015 Jun; 32 (6): 381–6.
31. Rasmussen LS, Jonson T, Kuipers HM. Does anesthesia cause postoperative cognitive dysfunction? A randomized study of regional versus general anesthesia in 438 elderly patients. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2003; 47: 1188–94.
32. Casati A, Aldegheri G, Vinciguerra F. Randomized comparison between sevoflurane anaesthesia and unilateral spinal anaesthesia in elderly patients undergoing orthopaedic surgery. *Eur J Anaesth*. 2003; 20: 640–6.
33. Crul BJ, Hulstijn W, Burger IC. Influence of the type of anaesthesia on post-operative subjective physical well-being and mental function in elderly patients. *Acta Anaesthesiol Scand*. 1992; 36: 615–20.
34. Aun CS, McBride C, Lee A, Lau AS, Chung RC, Yeung CK, et al. Short-Term Changes in Postoperative Cognitive Function in Children Aged 5 to 12 Years Undergoing General Anesthesia: A Cohort Study. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Apr; 95 (14): e3250.
35. Mayr NP, Hapfelmeier A, Martin K, Kurz A, van der Starre P, Babik B, et al. Comparison of sedation and general anaesthesia for transcatheter aortic valve implantation on cerebral oxygen saturation and neurocognitive outcome. *Br J Anaesth*. 2016 Jan; 116 (1): 90–9.

## ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ВАРИАНТОВ ПЛАСТИКИ ТВЕРДОЙ МОЗГОВОЙ ОБОЛОЧКИ В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С АНОМАЛИЕЙ (МАЛЬФОРМАЦИЕЙ) КИАРИ I ТИПА

Р. А. Каххаров<sup>1✉</sup>, А. Н. Флегонтов<sup>1</sup>, Н. В. Мохов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра неврологии и нейрохирургии ФПК и ППС, Казанский государственный медицинский университет, Казань

<sup>2</sup>Межрегиональный клинико-диагностический центр, Казань

Появление современных методов нейровизуализации позволило эффективно выявлять пациентов с аномалией Киари, сформировать более точную картину аномалии. Возникла возможность развития различных методов хирургического лечения, что в настоящее время приводит к проблемам стандартизации, а также отсутствию единых рекомендаций в лечении пациентов с мальформацией Киари. По результатам проведенного авторами исследования, оптимальной по объему хирургического лечения подобных пациентов была операция со вскрытием твердой мозговой оболочки и последующей ее пластикой аутоотрансплантатом.

**Ключевые слова:** мальформация Киари, аномалия Арнольда–Киари, твердая мозговая оболочка, асептический менингит

**Благодарности:** профессору Валерию Данилову из Казанского государственного медицинского университета за помощь в подготовке рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Каххаров Руслан Абдуллаевич  
420097, г. Казань, ул. Карбышева, д. 12а; ruslan.kahharov@mail.ru

Статья поступила: 10.06.2016 Статья принята к печати: 01.08.2016

## USING DIFFERENT DURAPLASTY VARIANTS IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH CHIARI MALFORMATION TYPE I

Kakhkharov RA<sup>1✉</sup>, Flegontov AN<sup>1</sup>, Mokhov NV<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Neurology and Neurosurgery, Faculty of Advanced Training and Professional Retraining, Kazan State Medical University, Kazan, Russia

<sup>2</sup>Interregional Clinical Diagnostic Center, Kazan, Russia

The emergence of modern neuroimaging techniques has allowed for effective identification of patients with Chiari malformation. It is now possible to create a more accurate picture of this anomaly. Different surgical treatments can now be developed but this has led to standardization issues and lack of uniform recommendations for treatment of patients with Chiari malformation. A study conducted by the authors found that surgery involving the opening of the dura mater and subsequent plastic reconstruction by autoplasmic graft was the optimal surgery option (with respect to volume of surgical treatment of such patients).

**Keywords:** Chiari malformation, Arnold–Chiari malformation, dura mater, aseptic meningitis

**Acknowledgement:** authors thank professor Valery Danilov from Kazan State Medical University for his help in preparing the manuscript.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ruslan Kakhkharov  
ul. Karbysheva, d. 12a, Kazan, Russia, 420097; ruslan.kahharov@mail.ru

Received: 10.06.2016 Accepted: 01.08.2016

Аномалия (мальформация) Киари — это порок, чаще врожденный, характеризующийся смещением миндалин мозжечка ниже уровня большого затылочного отверстия, что приводит к хроническому сдавлению структур кранио-вертебрального перехода и нарушению ликвородинамики и кровообращения в данной области (рис. 1) [1, 2].

В настоящее время выделяют 6 типов аномалии (мальформации) Киари (таблица) [1, 3–6]. Наиболее часто встречаются I и II типы аномалии: I тип — 3,3–8,2 случая на 1000 человек, II тип — 1–2 случая на 1000 человек [1, 7].

Основным методом лечения при наличии показаний (сирингомиелии и прогрессировании клинической симптоматики) является хирургическое лечение.

В 1932 г. С. J. Van Houweninge Graaftidijk доложил о первых попытках хирургической коррекции мальформации. Он пытался восстановить цереброспинальный ликвороток на уровне деформации путем резекции излишней части мозжечка или резекции кости по задней поверхности мальформации с рассечением подлежащей твердой мозговой оболочки. Лечение не дало положительных результатов [8–10]. В 1938 г. Penfield и Coburn описали хирургическую технику резекции нижней порции миндалин мозжечка при аномалии [11]. В дальнейшем с появлением концепций W. J. Gardner и В. Williams хирургическая методика лечения сирингомиелии (рис. 2) и мальформации Киари нашла теоретическое обоснование. Именно имя Gardner'a

Типы аномалии Киари

| Тип аномалии | Диагностические критерии   |
|--------------|--|
| I            | Смещение миндалин мозжечка ниже уровня большого затылочного отверстия более чем на 5 мм или наличие сириномиелии спинного мозга со смещением миндалин мозжечка ниже уровня большого затылочного отверстия более чем на 2 мм  |
| II           | Опущение в позвоночный канал миндалин мозжечка и его червя, а также IV желудочка и продолговатого мозга  |
| III          | Опущение содержимого задней черепной ямки в менингеальный мешок, расположенный в дефекте затылочной кости  |
| IV           | Гипоплазия мозжечка без его смещения. Данный вид не сопровождается грыжевым выпячиванием структур ЦНС, поэтому часто не включается в общепринятую классификацию  |
| 0            | Миндалины мозжечка заполняют всю большую затылочную цистерну, но не выходят за ее пределы. Характеризуется «переполненной» задней черепной ямкой   |
| 1,5          | Дистопия миндалин мозжечка, незначительное растяжение IV желудочка и ствола головного мозга (возможно легкое его уплощение или извитость) минимальными изменениями со стороны оральных отделов спинного мозга. Является переходной, «пограничной» формой между I и II типами, сочетающей в себе признаки обоих типов патологии, или эмбриологически незавершенным вариантом II типа без сопутствующей миелодисплазии |

(или «базисная методика») носит операция, описанная им для коррекции сириномиелии при мальформации Киари в 1965 г. В различных модификациях она используется и по сей день. Операция включает субокципитальную резекционную трепанацию, ламинэктомию верхних шейных позвонков, рассечение арахноидальных спаек, ревизию отверстия Мажанди и закрытие входа в центральный канал спинного мозга кусочком мышцы. Хирургическое вмешательство предусматривает выравнивание гидродинамического давления ликвора на уровне краниовертебрального перехода [12, 13].

В настоящее время операция Гарднера в ее классическом варианте осуществляется редко. Предложенные модификации данной операции выполняют в двух видах. Первый вид — резекционная трепанация задней черепной ямки, рассечение твердой и арахноидальной мозговых оболочек с резекцией или без резекции миндалин мозжечка с реконструкцией большой затылочной цистерны или без нее. Второй вид — резекционная трепанация задней черепной ямки со вскрытием твердой мозговой оболочки (ТМО) и проведением манипуляций на ней [14–17].

Выделяют также другие виды хирургического вмешательства: эндоскопическую тривентрикулостомию (ЭТВС), трансоральную декомпрессию и краниовертебральную декомпрессию с окципитоспондилодезом [5].

Выполнение ЭТВС в качестве первого этапа лечения пациентов с мальформацией Киари I типа (МК I) и сопутствующей гидроцефалией в настоящее время признано золотым стандартом, вытеснившим используемые ранее шунтирующие системы. Эффективность процедуры, по мнению исследователей [6], составляет до 95 %. Существует небольшая группа пациентов с МК, страдающих непосредственно от симптомов внутричерепной гипертензии, хирургическое лечение которых может быть ограничено лишь выполнением ЭТВС [6]. Однако большинству пациентов с МК и сопутствующей гидроцефалией в последующем требуется проведение декомпрессии краниовертебрального перехода.

К методике трансоральной декомпрессии у пациентов с мальформацией Киари следует прибегать в случаях выраженной передней компрессии и наличии базилярной инвагинации. У пациентов с комбинацией передней и задней компрессии, по мнению большинства ученых, учитывая травматичность данного метода, целесообразно в качестве первого этапа хирургического лечения прибегнуть к стандартной краниовертебральной декомпрессии с одномоментной стабилизирующей операцией [18].

Одномоментное выполнение краниовертебральной декомпрессии и стабилизирующей операции показано в относительно небольшой группе пациентов с МК I,



Рис. 1. МРТ-снимок, T1-взвешенное изображение, сагиттальный срез. Мальформация Киари. Пролабирование миндалин мозжечка



Рис. 2. МРТ-снимок, T1-взвешенное изображение, сагиттальный срез. Сириномиелия — патология, часто сопутствующая мальформации Киари



атлантаксиальной дислокацией и высоким риском формирования нестабильности шейного отдела позвоночника, выявленных на этапе дооперационного обследования. Провоцирующими факторами для формирования нестабильности шейного отдела у пациентов с МК I являются нарушение иннервации мышц шеи при наличии синингомиелической кисты на верхнешейном уровне, фиброзные изменения в мышцах, повторяющиеся их сокращения и растяжения и неадекватное закрытие операционной раны [18, 19].

Цель операции — декомпрессия структур краниовертебрального перехода, результатом которой является устранение нарушений ликвородинамики и кровообращения на данном уровне за счет восстановления оттока ликвора из отверстия Мажанди и большой затылочной цистерны в спинальное субарахноидальное пространство.

Выделяют ряд послеоперационных осложнений, связанных с несостоятельностью пластики твердой мозговой оболочки. В нашем исследовании мы решили остановиться на двух основных — асептическом менингите и псевдоменингоцеле.

Асептический менингит — это воспалительная реакция мозговых оболочек, отличающаяся от гнойного послеоперационного менингита отсутствием выявленного при бактериоскопии пиогенного возбудителя. Данный синдром имеет характерную клиническую картину (гипертермия, менингеальный симптомы, воспалительные изменения в крови и цереброспинальной жидкости), которая существенно не отличается от таковой при гнойном послеоперационном менингите. Синдром асептического менингита сопровождается иммунологическим феноменом послеоперационного транзиторного реактивного воспаления, связанного с активацией лимфоцитов [20].

Псевдоменингоцеле — это патологическое экстрадуральное скопление ликвора в мягких тканях, сообщающееся через дефект ТМО с субдуральным пространством (рис. 3).

Встречается также ряд других послеоперационных осложнений: скопление пластинчатой субдуральной гигромы в области полушарий мозжечка, пневмоцефалия, арахноидит. В связи с сидячим положением пациента во время операции отмечают и такое интраоперационное осложнение как воздушная эмболия.

Цель исследования: определить роль пластики твердой мозговой оболочки при операциях по поводу аномалии (мальформации) Киари.

Задачи:

- уточнить частоту встречаемости различных клинических симптомов при аномалии Киари;
- оценить частоту послеоперационных осложнений в зависимости от вида хирургической техники;
- оценить результаты хирургического лечения при различных вариантах пластики ТМО.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 34 пациента с аномалией Киари, пролеченные в нейрохирургическом отделении Межрегионального клинико-диагностического центра в период с 2010 по 2014 г.

Для проведения исследования использовали клинический метод, метод предоперационной нейровизуализации, непосредственную интраоперационную визуализацию, ретроспективный анализ.

Всем пациентам проводили неврологический осмотр в дооперационном и раннем послеоперационном периодах с оценкой основных неврологических функций.

Предоперационная визуализация заключалась в МРТ головного мозга с захватом краниовертебрального перехода и в МРТ спинного мозга по длиннику в зависимости от уровня синингомиелии. МРТ-исследование проводили на томографах Signa HDxt 1,5T (General Electric, США) с напряженностью магнитного поля не менее 1,5 Тл в аксиальной, сагиттальной и коронарной проекциях, а также в режиме гидрографии для оценки ликвородинамики в области краниовертебрального перехода.

Основными критериями диагностики аномалии Киари служили данные нейровизуализации (рис. 4) [21–23] и клинического обследования, основанного на выявлении характерных клинических синдромов (мозжечкового, гипертензионно-гидроцефального, синингомиелического, корешкового, бульбарного и синдрома вертебробазилярной недостаточности [24]). На МРТ при МК I в большинстве случаев определяют опущение миндалин мозжечка ниже линии Мак-Роя, синингомиелию, компрессию ствола головного мозга. При мальформации Киари II типа (МК II) также определяется опущение миндалин мозжечка, Z-образная деформация продолговатого мозга, четверохолмное сращение (ключевидный изгиб в области четверохолмия), удлинение продолговатого мозга, низкое прикрепление головного мозга. При МК II на МРТ встречается гидроцефалия, синингомиелия в области краниовертебрального перехода, изолированный IV желудочек, церебелломуллярная компрессия, агенезия/дисгенезия мозолистого тела [5].

Средний возраст исследуемых больных составил 45 лет (от 18 до 69 лет), соотношение между мужским и женским полом — 1 : 3,2 соответственно. Стоит отметить, что наиболее часто хирургическое вмешательство проводили пациентам в возрасте 50–60 лет. Показанием к оперативному вмешательству было прогрессирование неврологической симптоматики.

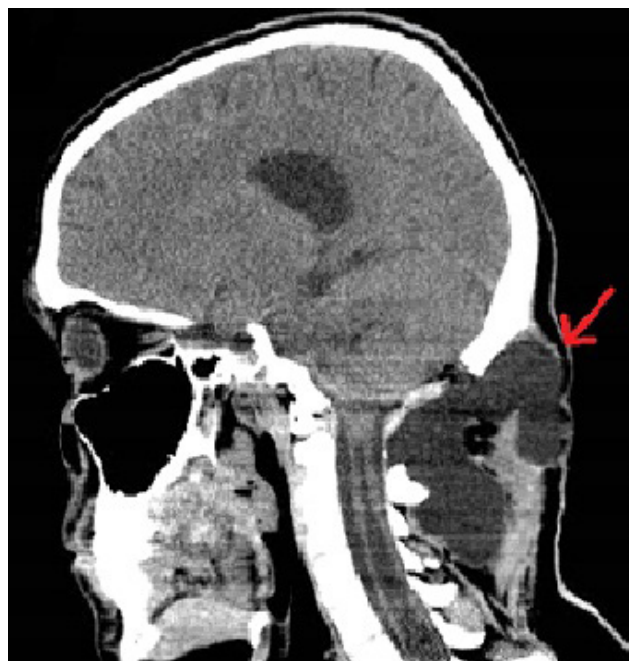
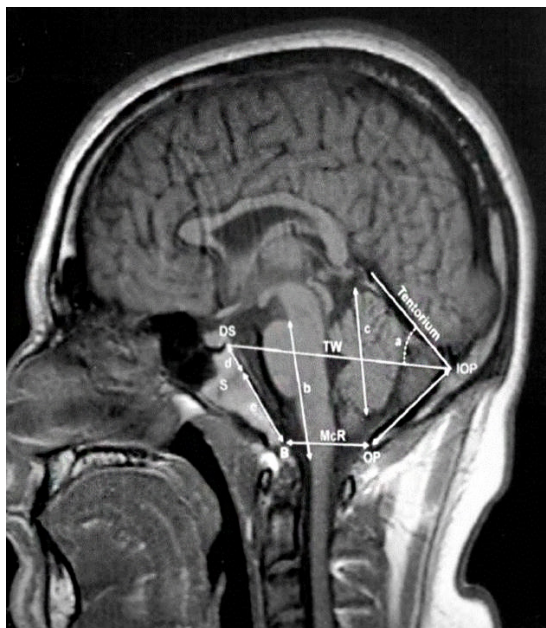


Рис. 3. КТ-снимок, сагиттальный срез. Псевдоменингоцеле (отмечено стрелкой) — одно из послеоперационных осложнений хирургического лечения мальформации Киари



**Рис. 4.** Ориентиры задней черепной ямки, используемые при диагностике аномалии (мальформации) Киари (Sekula и соавт., 2005 [21])

d + e — длина ската; S — сфеноокципитальный синхондроз; d — длина основания сфеноидальной площадки от спинки турецкого седла и сфеноокципитального синхондроза до ската; e — длина между синхондрозом и basion; b — длина ствола мозга между плоскостью соединения среднего мозга и мостика и медулло-цервикальным соединением; a — угол намета мозжечка по отношению к линии Твайнинга (Twining's line); c — длина полушария мозжечка; DS — верхушка спинки турецкого седла; IOP — внутреннее возвышение затылочной кости; OP — opisthion; IOP to OP — длина supraocciput; B — basion; TW — линия Твайнинга; McR (B to OP) — линия Мак-Рая (McRae's line).

Операцию проводили в положении больного сидя. Рассечение мягких тканей выполняли по Наффцигеру–Тауну в модификации И. С. Бабчина. На следующем этапе проводили резекцию нижних участков чешуи затылочной кости и ламинэктомию С1, а иногда и С2. По объему дальнейшего вмешательства всех пациентов разделили на две группы.

В первую группу были включены 8 (23,5 %) пациентов, которым ТМО не вскрывали. В этом случае виднелась отчетливая пульсация ТМО.

Пациентам второй группы, представленной 26 (76,5 %) больными, проводили Y-образное вскрытие ТМО. В большинстве случаев ТМО оказывалась утолщенной, не пульсировала. Венозные синусы нередко были расширенными. После рассечения ТМО выполняли осмотр и оценивали уровень опущения миндалин мозжечка, субарахноидального пространства. В случае выраженного спаечного процесса производили ревизию субарахноидального пространства с освобождением от спаек сосудов, продолговатого мозга и миндалин мозжечка. Далее восстанавливали целостность твердой мозговой оболочки путем ее пластики. В зависимости от вида пластики ТМО вторую группу разделили на две подгруппы:

– 2А: 14 (41,2 %) пациентов, вскрытие ТМО с последующей ее пластикой аллотрансплантатом. В качестве аллотрансплантата использовали искусственную ТМО DURAFORM (Codman Neuro, США).

– 2В: 12 (35,3 %) пациентов, вскрытие ТМО с последующей ее пластикой аутоотрансплантатом. Аутоотрансплантатом выступал ранее выделенный апоневроз затылочных мышц. На этапе доступа рассечение мягких тканей дохо-

дило до апоневроза затылочных мышц, далее апоневроз отсекался лоскутом размером 3 × 5 см и откидывался в сторону, основанием лоскут был направлен в сторону затылочных мышц. Таким образом, лоскут оставался на ножке, по средству которой происходило его питание до окончания операции. Далее рассечение происходило линейно, как и в других группах. На этапе пластики питающая ножка отсекалась, и лоскут подшивался к краям вскрытой ТМО. Таким образом, происходило увеличение и большой затылочной цистерны, что приводило к дополнительной декомпрессии краниовертебрального перехода.

Резекцию миндалин мозжечка не проводили ни одному пациенту.

Проанализированы результаты хирургического лечения в раннем послеоперационном периоде. При их сравнении в первую очередь учитывали неврологический регресс, частоту встречаемости послеоперационных осложнений, связанных с несостоятельностью пластики твердой мозговой оболочки, зависимость от варианта пластики ТМО.

Статистическую обработку данных производили с помощью программы Microsoft Office Excel 2010.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе историй болезни пациентов с аномалией Киари была определена частота встречаемости неврологических синдромов, выявленных у них в ходе предоперационного клинического обследования (рис. 5). В большинстве случаев (88,2 %) отмечен мозжечковый синдром. Реже всего (менее чем у половины пациентов) наблюдали бульбарный синдром и синдром вертебробазилярной недостаточности.

При анализе результатов хирургического лечения использовали клинический метод и метод послеоперационной нейровизуализации. При проведении неврологического осмотра учитывали регресс характерной клинической симптоматики, критерием наличия которого были отсутствие жалоб у пациента; улучшение чувствительности по соответствующему дерматому и увеличение силы в конечностях; уменьшение мозжечковой симптоматики и признаков внутричерепной гипертензии.

Результаты лечения оценивали в раннем и отдаленном послеоперационном периодах. Положительные результаты достигнуты у всех больных после осуществления полноценного лечения.

В динамике раньше всех регрессировал гипертензивно-гидроцефальный синдром. В течение первых дней после операции у больных исчезли характерные неврологические симптомы внутричерепной гипертензии. В пределах 3–4 мес. у пациентов наблюдалось полное или частичное исчезновение бульбарного, мозжечкового и синдрома миелического. Отмечено восстановление чувствительности, мышечной силы. По данным МРТ-исследования, синдрома миелического кисты исчезали в пределах от 6 мес. до 1 года.

Были получены следующие результаты (рис. 6).

В группе пациентов, которым была проведена декомпрессия структур краниовертебрального перехода с последующей пластикой ТМО, у 21 (80,8 %) из 26 пациентов наблюдали регресс неврологических синдромов в течение первых 20 дней со дня операции: в первой подгруппе с пластикой ТМО аллотрансплантатом — у 11 (79 %) из 14 пациентов; во второй подгруппе с пластикой ТМО аутоотрансплантатом — у 10 (83 %) из 12 больных.

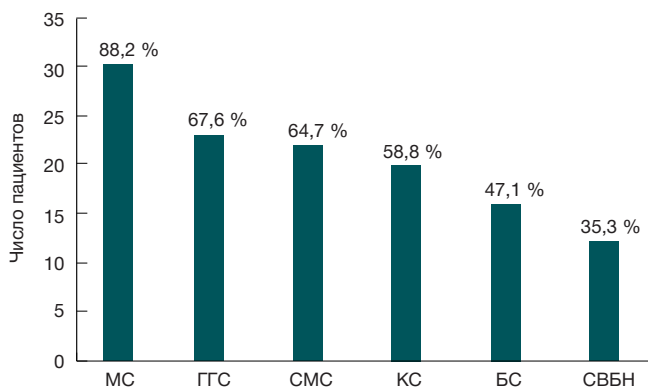


Рис. 5. Частота встречаемости синдромов при аномалии (мальформации) Киари

МС — мозжечковый синдром; ГГС — гипертензивно-гидроцефальный синдром; СМС — сирингомиелический синдром; КС — корешковый синдром; БС — бульбарный синдром; СВБН — синдром вертебробазилярной недостаточности.

Временной лимит в 20 дней был выбран условно в соответствии результатами полученных в исследовании данных.

В группе пациентов, которым была проведена декомпрессия структур краниовертебрального перехода без вскрытия ТМО, регресс неврологических синдромов в 75 % случаев происходил не ранее, чем через месяц со дня проведения операции. У 2 (25 %) из 8 пациентов основные синдромы регрессировали в пределах первых 20 дней.

Послеоперационные осложнения, связанные с несостоятельностью пластики ТМО, в виде асептического менингита и псевдоменингоцеле были выявлены только у пациентов, которым проводили декомпрессию структур краниовертебрального перехода со вскрытием ТМО и последующей ее пластикой аллотрансплантатом (42,9 %). При этом из всех больных данной подгруппы (n = 14) асептический менингит в послеоперационном периоде наблюдали у 5 (35,7 %) пациентов, а псевдоменингоцеле — у 1 (7,1 %).

В подгруппе пациентов, которым выполняли декомпрессию структур краниовертебрального перехода со вскрытием ТМО и последующей ее пластикой аутооттрансплантатом, вышеуказанных послеоперационных осложнений не наблюдали.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Выявление эффективной методики хирургической коррекции и стандартизация данного метода — это важная задача, так как хирургическое лечение является основным методом лечения больных с данной патологией. Однако решение об объеме хирургического вмешательства в некоторых случаях не может быть стандартизировано, и какие-либо дополнения к основной методике операции должны определяться интраоперационно. Основная цель операции — декомпрессия структур краниовертебрально-

Литература

1. Вишневикий А. А., Шулушова Н. В. Спинной мозг. Клинические и патофизиологические сопоставления. СПб.: Фолиант; 2014. 744 с.
2. Cahan LD, Bentson JR. Considerations in the diagnosis and treatment of syringomyelia and the Chiari malformation. J Neurosurg. 1982 Jul; 57 (1): 24–31.

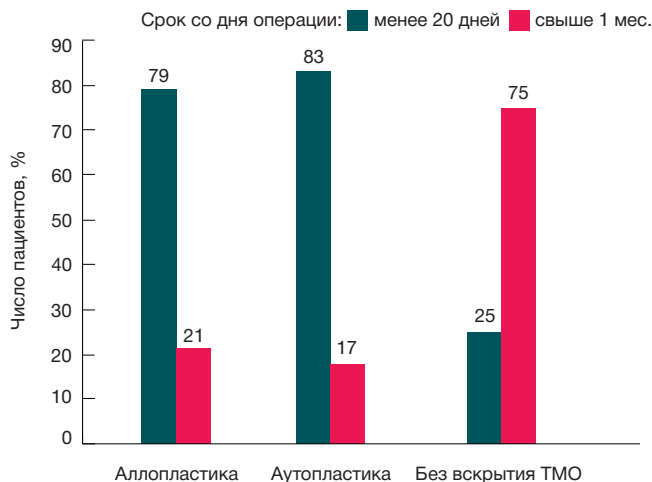


Рис. 6. Сроки регресса неврологических синдромов при разных видах операции

го перехода и восстановление ликвороциркуляции в данной зоне.

В ряде случаев костной декомпрессии бывает вполне достаточно для достижения цели операции. Об этом свидетельствует четкая пульсация ТМО, но единственный критерий не может дать нужной достоверности. Поэтому, по нашему мнению, следует использовать процедуру соматосенсорных вызванных потенциалов интраоперационно. Данный метод дает достаточно достоверную информацию о возможном послеоперационном регрессе. Свидетельством этому являются полученные нами интраоперационные результаты, а именно положительная динамика у 2 из 8 пациентов, которым не проводили вскрытие ТМО. Данные 2 пациента первой группы демонстрировали наиболее быстрый регресс неврологической симптоматики.

Результаты нашего исследования показывают, что наиболее оптимальным объемом хирургического лечения аномалии Киари I типа является операция со вскрытием ТМО и последующей ее пластикой аутооттрансплантатом, что совпадает с данными мировой литературы [25–27].

ВЫВОДЫ

На основании результатов хирургического лечения пациентов с аномалией Киари I типа можно заключить, что декомпрессия структур краниовертебрального перехода со вскрытием твердой мозговой оболочки и последующей ее герметизацией аутооттрансплантатом является эффективным методом хирургического лечения больных с данной патологией, снижающим риск развития послеоперационных осложнений. Доказательством эффективности данной методики является относительно большинство пациентов с наиболее быстрым регрессом неврологической симптоматики.

3. Можаяев С. В., Скоромец А. А., Скоромец Т. А. Нейрохирургия. СПб.: Издательство «Политехника»; 2001. 355 с.
4. Реутов А. А., Карнаухов В. В. Клинические рекомендации по хирургическому лечению мальформации Киари у взрослых. Клинические рекомендации обсуждены и утверждены на Пленуме Правления Ассоциации нейрохирургов России,

- г. Санкт-Петербург, 16.04.2015. М.: Ассоциации нейрохирургов России; 2015.
- Greenberg MS, Arredondo N. Handbook of Neurosurgery. 6th ed. Lakeland, FL, New York: Greenberg Graphics, Thieme Medical Publishers; 2006. 1016 p.
  - Реутов А. А. Принципы диагностики и тактика хирургического лечения больных с мальформацией Киари I типа [автореф. дисс.]. М.: НИИ нейрохирургии им. акад. Н. Н. Бурденко; 2012.
  - Аникандров А. Б., Корелякова А. Г. Клиника и диагностика сирингобульбии и опухолей ствола головного мозга. В кн.: X Всесоюзная конференция молодых нейрохирургов; 1974; Калуга. Тезисы докладов. Т. 1, Новое в клинике, диагностике и лечении различных видов нейрохирургической патологии. М.: [б. и.]; 1974. с. 22–5.
  - Дзак Л. А., Зорин Н. А., Егоров В. Ф., Чередниченко Ю. В. Мальформация Арнольда–Киари: классификация, этиопатогенез, клиника, диагностика (обзор литературы). Укр. нейрохир. журн. 2001; (1): 17–23.
  - Кахраманов С. В. Мальформация Киари I типа. Журн. Вопр. нейрохир. 2005; (3): 36–9.
  - Bejjani GK. Definition of the adult Chiari malformation: a brief historical overview. Neurosurg Focus. 2001 Jul 15; 11 (1): 1–8.
  - Penfield W, Coburn DF. Arnold–Chiari malformation and its operative treatment. Arch Neurol Psychiatry. 1938; 40: 328–36.
  - Ларионов С. Н., Сороковиков В. А. Принципы реконструктивной хирургии мальформации Киари у детей. В кн.: Материалы II Всероссийской конференции по детской нейрохирургии; 27–29 июня 2007 г.; Екатеринбург. Екатеринбург; 2007. с. 101.
  - Севостьянов Д. В. Дифференцированный подход к хирургическому лечению больных мальформацией Киари I типа [диссертация]. Новосибирск: ННИИТО; 2013.
  - Oldfield EH, Muraszko K, Shawker TH, Patronas NJ. Pathophysiology of syringomyelia associated with Chiari I malformation of the cerebellar tonsils. Implications for diagnosis and treatment. J Neurosurg. 1994 Jan; 80 (1): 3–15.
  - Можжаев С. В., Стерликова Н. В., Скоромец А. А., Костюкевич А. В. Оперативное лечение аномалии Киари I типа. Нейрохирургия. 2007; (1): 14–8.
  - Благодатский М. Д. Хирургическое лечение сообщающейся формы сирингомиелии. Вопр. нейрохир. 1985; (2): 20–2.
  - Благодатский М. Д., Ларионов С. Н. Результаты лечения прогрессирующих форм сирингомиелии. Вопр. нейрохир. 1993; (2): 8–10.
  - Nishikawa M, Ohata K, Baba M, Terakawa Y, Hara M. Chiari I malformation associated with ventral compression and instability: one-stage posterior decompression and fusion with a new instrumentation technique. Neurosurgery. 2004 Jul; 54 (6): 1430–4; discussion 1434–5.
  - Hurlbert RJ, Crawford NR, Choi WG, Dickman CA. A biomechanical evaluation of occipitocervical instrumentation: screw compared with wire fixation. J Neurosurg. 1999 Jan; 90 (1 Suppl): 84–90.
  - Немировский А. М. Синдром асептического менингита у больных с опухолями головного мозга в раннем послеоперационном периоде [диссертация]. СПб: РНХИ им. проф. А. Л. Поленова; 2008.
  - Sekula RF Jr, Jannetta PJ, Casey KF, Marchan EM, Sekula LK, McCrady CS. Dimensions of the posterior fossa in patients symptomatic for Chiari I malformation but without cerebellar tonsillar descent. Cerebrospinal Fluid Res. 2005 Dec 18; 2: 1–11.
  - Garland EM, Anderson JC, Black BK, Kessler RM, Konrad PE, Robertson D. No increased herniation of the cerebellar tonsils in a group of patients with orthostatic intolerance. Clin Auton Res. 2002 Dec; 12 (6): 472–6. doi: 10.1007/s10286-002-0051-9.
  - Karagöz F, Izgi N, Kapıçcıoğlu Sencer S. Morphometric measurements of the cranium in patients with Chiari type I malformation and comparison with the normal population. Acta Neurochir (Wien). 2002 Feb; 144 (2): 165–71; discussion 171. doi: 10.1007/s007010200020.
  - Голубев В. Л., Вейн А. М. Неврологические синдромы. Руководство для врачей. М.: Эйдос Медиа; 2002. 832 с.
  - Бикмуллин Т. А., Бариев Э. Р., Анисимов В. И. Сравнительный анализ различных методов хирургического лечения аномалии Арнольда–Киари. Практ. мед. 2015; 4 (89): 28–30.
  - Слынько Е. И., Вербв В. В., Пастушин А. И., Ермолаев А. А. Результаты хирургического лечения аномалии Киари у взрослых. Укр. нейрохир. журн. 2006; (2): 77–89.
  - Mutchnick IS, Janjua RM, Moeller K, Moriarty TM. Decompression of Chiari malformation with and without duraplasty: morbidity versus recurrence. J Neurosurg Pediatr. 2010 May; 5 (5): 474–8.

## References

- Vishnevskii AA, Shuleshova NV. Spinnoi mozg. [Klinicheskie i patofiziologicheskie sopostavleniya]. St. Petersburg: Foliant; 2014. 744 p. Russian.
- Cahan LD, Bentson JR. Considerations in the diagnosis and treatment of syringomyelia and the Chiari malformation. J Neurosurg. 1982 Jul; 57 (1): 24–31.
- Mozhaev SV, Skoromets AA, Skoromets TA. Neurokhirurgiya. St. Petersburg: Izdatel'stvo "Politekhnika"; 2001. 355 p. Russian.
- Reutov AA, Karnaukhov VV. Klinicheskie rekomendatsii po khirurgicheskomu lecheniyu mal'formatsii Kiari u vzroslykh. Klinicheskie rekomendatsii obsuzhdeny i utverzhdeny na Plenumе Pravleniya Assotsiatsii neirokhirurgov Rossii; 2015 Apr 16; St. Petersburg. Moscow: Association of Neurosurgeons of Russia; 2015. Russian.
- Greenberg MS, Arredondo N. Handbook of Neurosurgery. 6th ed. Lakeland, FL, New York: Greenberg Graphics, Thieme Medical Publishers; 2006. 1016 p.
- Reutov AA. Printsipy diagnostiki i taktika khirurgicheskogo lecheniya bol'nykh s mal'formatsiei Kiari I tipa [dissertation abstract]. Moscow: N N Burdenko Scientific Research Neurosurgery Institute; 2012. Russian.
- Anikandrov AB, Korelyakova AG. Klinika i diagnostika siringobul'bi i opukholei stvola golovnogogo mozga. In: X Vsesoyuznaya konferentsiya molodykh neirokhirurgov; 1974; Kaluga, Russia. Conference proceedings. Vol. 1, Novoe v klinike, diagnostike i lechenii razlichnykh vidov neirokhirurgicheskoi patologii. Moscow; 1974. p. 22–5. Russian.
- Dzyak LA, Zorin NA, Egorov VF, Cherednichenko YuV. Mal'formatsiya Arnol'da–Kiari: klassifikatsiya, etiopatogenez, klinika, diagnostika (obzor literatury). Ukrainskii neirokhirurgicheskii zhurnal. 2001; (1): 17–23. Russian.
- Kakhramanov SV. [Chiari malformation]. Zh Vopr Neurokhir Im N N Burdenko. 2005 Jul–Sep; (3): 36–9. Russian.
- Bejjani GK. Definition of the adult Chiari malformation: a brief historical overview. Neurosurg Focus. 2001 Jul 15; 11 (1): 1–8.
- Penfield W, Coburn DF. Arnold–Chiari malformation and its operative treatment. Arch Neurol Psychiatry. 1938; 40: 328–36.
- Larionov SN, Sorokovikov VA. Printsipy rekonstruktivnoi khirurgii mal'formatsii Kiari u detei. In: Materialy II Vserossiiskoi konferentsii po detskoj neirokhirurgii; 2007 Jun 27–29; Yekaterinburg, Russia. Yekaterinburg; 2007. p. 101. Russian.
- Sevost'yanov DV. Differentsirovannyi podkhod k khirurgicheskomu lecheniyu bol'nykh mal'formatsiei Kiari I tipa [dissertation]. Novosibirsk: NNIITO; 2013. Russian.
- Oldfield EH, Muraszko K, Shawker TH, Patronas NJ. Pathophysiology of syringomyelia associated with Chiari I malformation of the cerebellar tonsils. Implications for diagnosis and treatment. J Neurosurg. 1994 Jan; 80 (1): 3–15.
- Mozhaev SV, Sterlikova NV, Skoromets AA, Kostyukevich AV. Operativnoe lechenie anomalii Kiari I tipa. Neurokhirurgiya. 2007; (1): 14–8. Russian.
- Blagodatskii MD. Khirurgicheskoe lechenie soobshchayushcheysya formy siringomielii. Vopr Neurokhir. 1985; (2): 20–2. Russian.

17. Blagodatskii MD, Larionov SN. Rezul'taty lecheniya progressiruyushchikh form siringomieli. *Vopr Neurokhir.* 1993; (2): 8–10. Russian.
18. Nishikawa M, Ohata K, Baba M, Terakawa Y, Hara M. Chiari I malformation associated with ventral compression and instability: one-stage posterior decompression and fusion with a new instrumentation technique. *Neurosurgery.* 2004 Jul; 54 (6): 1430–4; discussion 1434–5.
19. Hurlbert RJ, Crawford NR, Choi WG, Dickman CA. A biomechanical evaluation of occipitocervical instrumentation: screw compared with wire fixation. *J Neurosurg.* 1999 Jan; 90 (1 Suppl): 84–90.
20. Nemirovskii AM. Sindrom asepticheskogo meningita u bol'nykh s opukholyami golovnogo mozga v rannem posleoperatsionnom periode [dissertation]. St. Petersburg: Rossiiskii nauchno-issledovatel'skii neirokhirurgicheskii institut imeni professora A. L. Polenova; 2008. Russian.
21. Sekula RF Jr, Jannetta PJ, Casey KF, Marchan EM, Sekula LK, McCrady CS. Dimensions of the posterior fossa in patients symptomatic for Chiari I malformation but without cerebellar tonsillar descent. *Cerebrospinal Fluid Res.* 2005 Dec 18; 2: 1–11.
22. Garland EM, Anderson JC, Black BK, Kessler RM, Konrad PE, Robertson D. No increased herniation of the cerebellar tonsils in a group of patients with orthostatic intolerance. *Clin Auton Res.* 2002 Dec; 12 (6): 472–6. doi: 10.1007/s10286-002-0051-9.
23. Karagöz F, Izgi N, Kapıçıoğlu Sencer S. Morphometric measurements of the cranium in patients with Chiari type I malformation and comparison with the normal population. *Acta Neurochir (Wien).* 2002 Feb; 144 (2): 165–71; discussion 171. doi: 10.1007/s007010200020.
24. Golubev VL, Vein AM. *Nevrologicheskie sindromy. Rukovodstvo dlya vrachei.* Moscow: Eidos Media; 2002. 832 p. Russian.
25. Bikmullin TA, Bariev ER, Anisimov VI. Sravnitel'nyi analiz razlichnykh metodov khirurgicheskogo lecheniya anomalii Arnol'da–Kiari. *Prakticheskaya meditsina.* 2015; 4 (89): 28–30. Russian.
26. Slyn'ko EI, Verbv VV, Pastushin AI, Ermolaev AA. Rezul'taty khirurgicheskogo lecheniya anomalii Kiari u vzroslykh. *Ukrainskii neirokhirurgicheskii zhurnal.* 2006; (2): 77–89. Russian.
27. Mutchnick IS, Janjua RM, Moeller K, Moriarty TM. Decompression of Chiari malformation with and without duraplasty: morbidity versus recurrence. *J Neurosurg Pediatr.* 2010 May; 5 (5): 474–8.

## ТРОФИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЫ КРЫС ПОСЛЕ ФАРМАКОТЕРАПИИ СИЛДЕНАФИЛОМ И ЦЕРЕБРОЛИЗИНОМ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ИШЕМИИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

А. С. Белоус<sup>1,2</sup>, Ю. К. Бирюкова<sup>1</sup>, М. А. Затолокина<sup>2</sup>, К. И. Лавриненко<sup>2</sup>, Е. А. Лойко<sup>2</sup>✉, Г. С. Маль<sup>2</sup>, А. Б. Шевелев<sup>1</sup>, Е. В. Трубникова<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательская лаборатория «Генетика»,  
Курский государственный университет, Курск

<sup>2</sup> Курский государственный медицинский университет, Курск

Ишемия нижних конечностей — заболевание, в большом числе случаев не поддающееся хирургическому лечению. Нами была исследована эффективность комбинированной фармакотерапии силденафилом (Viagra, Pfizer, Франция) и «Церебролизин» (EVER Neuro Pharma, Австрия). Ишемию мышц голени моделировали на крысах линии Wistar. Сформировали 6 групп животных по 20 особей: интактные; ложноперирированные; с ишемией и без лечения (контрольная группа); с ишемией и монотерапией силденафилом (перорально 2,2 мг/кг в течение 28 дней); с ишемией и монотерапией «Церебролизин» (внутримышечно 0,005 мл в течение 20 дней); с ишемией и комбинированной терапией (силденафил — перорально 2,2 мг/кг в течение 7 дней, «Церебролизин» — внутримышечно 0,005 мл в течение 10 дней). Измеряли уровень микроциркуляции крови в мышцах голени на 21-е и 28-е сутки. В эти же сроки выводили из эксперимента путем передозировки наркоза по 10 животных и готовили гистологические препараты мышц голени. Уровень регионарного кровотока достоверно ( $p < 0,05$ ) повышался в трех опытных группах по сравнению с контрольной, однако при этом комбинированная терапия была значительно эффективнее монотерапии независимо от препарата. Макроскопически мышцы животных опытных групп не отличались от мышц интактных животных, микроскопически — наблюдалось отсутствие некротических участков, характерных для ишемизированных мышц крыс, не получавших лечения, а также новообразование сосудов.

**Ключевые слова:** ишемия нижних конечностей, коррекция ишемии, силденафил, церебролизин, фармакотерапия, комбинированная терапия, ФДЭ-5

**Благодарности:** профессору Виктору Лазаренко из Курского государственного медицинского университета и профессору Александру Худину из Курского государственного университета за возможность выполнения эксперимента на базе научно-исследовательских лабораторий их университетов.

✉ **Для корреспонденции:** Лойко Екатерина Анатольевна  
305025, г. Курск, 19-ый Степной переулок, д. 14; katryn.moon@yandex.ru

Статья поступила: 20.08.2016 Статья принята к печати: 27.08.2016

## TROPHIC CHANGES IN THE SKELETAL MUSCLES OF RATS AFTER THERAPY WITH SILDENAFIL AND CEREBROLYSIN IN THE LOWER LIMB ISCHEMIA MODEL

Belous AS<sup>1,2</sup>, Biryukova YuK<sup>1</sup>, Zatolokina MA<sup>2</sup>, Lavrinenko KI<sup>2</sup>, Loyko EA<sup>2</sup>✉, Mal GS<sup>2</sup>, Shevelev AB<sup>1</sup>, Trubnikova EV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Laboratory “Genetics”,  
Kursk State University, Kursk

<sup>2</sup> Kursk State Medical University, Kursk

For many patients with lower limb ischemia, surgical treatment is not beneficial. We have studied the efficacy of combination therapy with sildenafil (Viagra) by Pfizer, France, and cerebrolysin (Ever Neuro Pharma, Austria) for lower limb ischemia in the Wistar rat model. The animals were divided into 6 groups (20 rats each): intact animals; sham-operated animals; rats with ischemia and no treatment administered (controls); rats with ischemia who received a 28-day monotherapy with sildenafil (2.2 mg/kg orally); rats with ischemia who received a 28-day monotherapy with 0.005 ml cerebrolysin; rats with ischemia who received a combination therapy with 2.2 mg/kg sildenafil for 7 days and 0.005 ml i. m. cerebrolysin for 10 days. Microcirculation in shin muscles was evaluated on days 21 and 28 of the experiment. On the same days, rats were overdosed with anesthetics and sacrificed in tens. Then, histological sections of shin muscles were prepared. Regional blood flow was significantly higher ( $p < 0.05$ ) in three experimental groups, compared to the controls; however, the combination therapy was far more effective than monotherapy, regardless of the medication used. Macroscopically, the muscles of the animals included into the experimental groups did not differ from the muscles of the intact animals; microscopically, no necrotic lesions were observed in the experimental groups that were typical for the ischemized rats who had received no treatment. Neovascularization was also observed in the experimental groups.

**Keywords:** lower limb ischemia, ischemia treatment, sildenafil, cerebrolysin, pharmacotherapy, combination therapy

**Acknowledgements:** authors thank professor Victor Lazarenko (Kursk State Medical University) and professor Alexandr Khudin (Kursk State University) for providing research facilities for the experiment.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina Loyko  
19 Stepnoy pereulok, d. 14, Kursk, Russia, 305025; katryn.moon@yandex.ru

Received: 20.08.2016 Accepted: 27.08.2016

Ишемия нижних конечностей — хроническое окклюзирующее поражение ног, причинами которого являются атеросклероз, облитерирующий эндартериит и диабет [1, 2]. Разработаны хирургические методы лечения заболелания: операции через разрез кожи (шунтирование, эндартерэктомия) и различные малоинвазивные техники (рентгенхирургическая ангиопластика, стентирование), — которые позволяют восстановить проходимость артерии, если она закупорена полностью, или улучшить кровоток при ее неполной закупорке. Однако оперативное лечение показано лишь половине пациентов [3–6].

Решением проблемы служит медикаментозная терапия. Наибольшую эффективность при лечении критической ишемии ног показал препарат «Вазапостан» (UCB Pharma, Германия), действующим веществом которого является алпростадил — синтетический аналог естественного простагландина E1. Но действие препарата направлено не на расширение сосудов и, как следствие, увеличение кровотока в периферических сосудах, а на изменение биохимического состава крови при длительной циркуляции «Вазапостана» в крови [7].

Существует также ряд препаратов, воздействующих на липидный обмен, состояние периферического сосудистого русла, реологические свойства крови, но они не устраняют ключевой фактор развития критической ишемии ног — ангиоспазм. Надежды возлагаются на класс препаратов, которые облегчают дилатацию сосудов за счет действия эндогенного оксида азота (NO), выделяемого нервными окончаниями и эндотелиальными клетками и усиливающего синтез внутриклеточного алармона — циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ). Такой же эффект дает применение силденафила — специфического ингибитора фосфодиэстеразы 5-го класса (ФДЭ-5), фермента, гидролизующего цГМФ [1, 2, 8–10].

Все больший интерес вызывает «Церебролизин» (EVER Neuro Pharma, Австрия) — препарат для лечения инсульта, болезни Альцгеймера и травматических повреждений головного мозга. Было показано, что он уменьшает ферментативную активность супероксиддисмутазы и каталазы — двух основных ферментов, активирующихся при окислительном (оксидативном) стрессе. Однако делает он это не прямо, а за счет снижения уровня образования супероксид-аниона и перекиси водорода, являющихся субстратами указанных ферментов. Кроме того, была продемонстрирована способность «Церебролизина» снижать уровень образования гидроксильных радикалов [11–13]. Также в исследованиях, выполненных *in vitro* и *in vivo*, было показано, что препарат уменьшает активность кальпаина примерно на 60 %, и значительно меньшее число клеток гибнет от апоптоза [14].

Целью нашей работы являлась оценка эффективности фармакотерапии силденафилом (Viagra, Pfizer, Франция) и «Церебролизином» ишемии нижних конечностей, смоделированной у крыс.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на крысах линии Wistar в возрасте 4 мес. и массой 230–260 г, прошедших карантинирование в условиях вивария НИИ экологической медицины Курского государственного медицинского университета. Для исследования были взяты здоровые животные. Их содержали в стандартной экспериментальной биологически чистой комнате с температурой воздуха 22–24 °C

и при циклическом освещении (по 12 ч света и темноты). Все крысы получали гранулированный корм и фильтрованную водопроводную воду. Манипуляции проводили в одно и то же время во второй половине дня. Наркотизацию животных осуществляли внутривенным введением водного раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг веса, выведение из эксперимента — его передозировкой. В исследовании соблюдали принципы, изложенные в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Животных распределили по группам путем стратифицированной рандомизации со стратификацией по массе тела, а также по проводимым операциям и манипуляциям. Были сформированы следующие группы:

- 1) интактные животные (n = 20),
- 2) ложноперирированные животные (n = 20);
- 3) животные с ишемией мышц голени, не получавшие лечения (контрольная группа, n = 20),
- 4) животные с ишемией мышц голени, получавшие силденафил (n = 20),
- 5) животные с ишемией мышц голени, получавшие «Церебролизин» (n = 20),
- 6) животные с ишемией мышц голени, получавшие силденафил и «Церебролизин» (n = 20).

Группу ложноперирированных животных сформировали из крыс, которым под наркозом разрезали кожу вдоль бедра по внутренней поверхности, выделяли сосудисто-нервный пучок бедра и ушивали рану непрерывным швом.

Ишемию мышц голени моделировали под наркозом, фиксируя животное в положении «на спине». Шерсть на внутренней поверхности бедра тщательно выстригали, кожу обрабатывали 70 % раствором спирта. Разрез осуществляли вдоль бедра по внутренней поверхности. Выделяли элементы сосудисто-нервного пучка бедра. Артерию отделяли от вены и нерва, лигатуру накладывали у ее начала до отхождения *arteria saphena* (под паховой связкой), которая является аналогом глубокой бедренной артерии человека [15]. Перевязывали и пересекали *a. saphena*. Выделяли подколенную артерию и начальные отделы артерий голени (передняя и задняя большеберцовые артерии), которые пересекали, не перевязывая. Затем пересекали бедренную артерию на 3 мм ниже наложенной ранее лигатуры. Участок магистрального сосуда, включающий бедренную и подколенную артерии и начальные отделы передней и задней большеберцовых артерий, удаляли. Ретроградного кровотока из артерий голени не наблюдалось. Рану ушивали непрерывным швом [16].

Животным 4 и 6-й групп перорально вводили силденафила цитрат в дозе 2,2 мг/кг в течение 28 и 7 дней соответственно. Животным 5 и 6-й групп инъецировали внутримышечно церебролизин в дозе 0,005 мл в течение 20 и 10 дней соответственно [17]. Уровень микроциркуляции крови в мышцах голени определяли на 21 и 28-е сутки при помощи оборудования производства компании Biopac Systems (США): полиграфа MP100 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и инвазивного игольчатого датчика TSD144. Регистрацию и обработку результатов ЛДФ производили с помощью программы AcqKnowledge 3.8.1 (Biopac Systems), значения микроциркуляции выражали в перфузионных единицах (ПЕ). Запись кривой уровня микроциркуляции осуществляли в пяти точках (середина длины мышцы, точки на 3–5 мм выше и ниже, латеральное и медиальное первой точки) в течение 30 с в каждой точке.

Животных выводили из эксперимента на 21 и 28-е сутки (по 10 крыс в каждый срок) путем передозировки наркотика. В каждом случае производили аутопсию с дальнейшей подготовкой препарата мышц голени. Гистологический материал фиксировали в 10 % формалине в течение 7 сут. Парафиновые блоки и микропрепараты изготавливали по стандартной методике. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Ван Гизону, а затем изучали с помощью микроскопа Levenhuk 320 (Levenhuk, США). Для морфометрической оценки фотографировали препараты с использованием цифровой насадки Levenhuk C310 и программы ScopeTek ScopePhoto 3.1.268 (Hangzhou Scopetek Opto-Electronic Co., Китай). На микрофотографиях при увеличении  $4 \times 20 \times 6$  изучали количественные изменения кровеносных сосудов в поле зрения.

Учитывая литературные данные о возможности компенсаторного восстановления регионарного кровообращения в выбранной нами модели, наиболее информативными считали данные, полученные на 28-е сутки. Данные, полученные на 21-е сутки, рассматривали как промежуточные [18].

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel 10.0. Рассчитывали средние значения (M) показателей и ошибки среднего (m). Использовали двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями для сравнения показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Среднее значение уровня микроциркуляции в мышцах голени интактных животных на 21-е сутки составило  $527 \pm 13$  ПЕ. Гистологическое исследование показало, что миоциты образовывали плотные пучки, в толще которых проходили полнокровные венулы и артериолы, содержавшие единичные эритроциты. Просветы сосудов были широкими, эндотелиальные клетки — без патологических изменений (рисунок, А).

В группе ложнооперированных животных средние значения уровня микроциркуляции не отличались достоверно от таковых в группе интактных животных:  $519 \pm 13$  ПЕ — на 21-е сутки ( $p = 0,66$ ) и  $521 \pm 16$  ПЕ — на 28-е сутки ( $p = 0,77$ ). Отличий в строении мышечной ткани также не выявили (рисунок, Б).

В группе животных с ишемией мышц голени, не получавших лечения, средние значения уровня микроциркуляции были достоверно ниже в сравнении со значениями показателя в группе интактных крыс:  $325 \pm 3$  ПЕ — на 21-е сутки ( $p < 0,05$ ) и  $371 \pm 2$  ПЕ — на 28-е сутки ( $p < 0,05$ ). На 21-е сутки пораженные мышцы выглядели набухшими, имелись крупные участки серовато-коричневого цвета. Гистологическое исследование показало, что это крупные очаги организующегося некроза с резорбцией некротических волокон и разрастанием грануляционной ткани. На 28-е сутки цвет мышц нормализовался, но они выглядели несколько гипотрофичными. Участки резорбируемого некроза были значительно мельче. В микроциркуляторном русле отмечались полнокровие и новообразование единичных капилляров. Вблизи участков некроза встречались пучки атрофированных мышечных волокон (рисунок, В).

Коррекция силденафилом способствовала достоверному повышению уровня регионарного кровотока в ише-

мизированных мышцах голени крыс по сравнению с 3-й группой на соответствующем сроке:  $425 \pm 4$  ПЕ — на 21-е сутки ( $p < 0,05$ ) и  $803 \pm 10$  ПЕ — на 28-е сутки ( $p < 0,05$ ). Уровень микроциркуляции в 4-й группе на 21-е сутки приближался к значению этого показателя в группе интактных животных, а на 28-е сутки значительно превосходил его. Макроскопически ишемизированные мышцы не отличались по общему виду и цвету от мышц интактных крыс. При микроскопии некротических изменений также не обнаружили, однако в некоторых участках встречали мелкие очаги атрофирующихся миоцитов с пролиферацией клеток (рисунок, Г).

В группе животных с ишемией мышц голени, получавших «Церебролизин», был отмечен достоверный рост уровня микроциркуляции в сравнении с 3-й группой:  $429 \pm 12$  ПЕ — на 21-е сутки ( $p < 0,05$ ) и  $767 \pm 8$  ПЕ — на 28-е сутки ( $p < 0,05$ ). На 21-е сутки в мышцах имелись отдельные участки серовато-коричневого цвета, представлявшие собой крупные очаги организующегося некроза с резорбцией некротических волокон и разрастанием грануляционной ткани. На 28-е сутки мышцы не отличались по общему виду и цвету от мышц интактных крыс. При микроскопии некротические изменения в мышцах не обнаруживались. В микроциркуляторном русле отмечались полнокровие и новообразование капилляров (рисунок, Д).

При комбинированной коррекции ишемии силденафилом и «Церебролизин» на 21-е сутки среднее значение уровня микроциркуляции составило  $754 \pm 9$  ПЕ ( $p < 0,05$  в сравнении с контрольной группой животных), а на 28-е сутки оно возросло до  $1004 \pm 13$  ПЕ ( $p < 0,05$ ). Морфологическая картина была идентична картине при коррекции силденафилом (рисунок, Е).

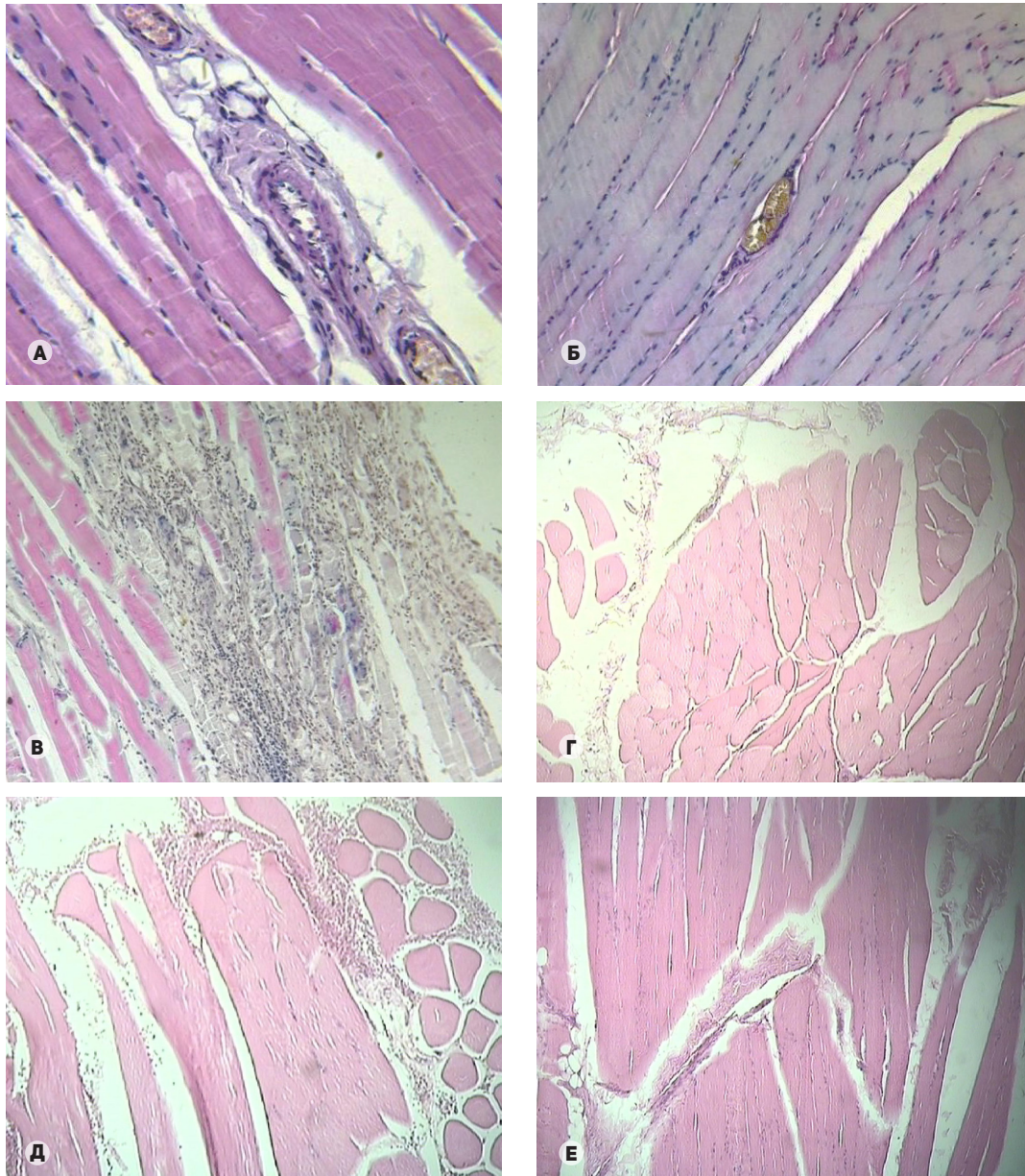
## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наши результаты говорят о том, что фармакологическая коррекция ишемии мышц голени крыс как при терапии силденафилом и «Церебролизин» так и при монотерапии данными препаратами способствует достоверному повышению уровня регионарного кровотока. Однако совместное применение силденафила и «Церебролизина» эффективнее стимулирует развитие коллатералей сосудистого русла.

Силденафил — ингибитор ФДЭ-5, фермента, вовлеченного во многие биохимические процессы в клетке. Открытия последних десятилетий показали возможность применения ингибиторов ФДЭ-5 для лечения различных патологических состояний [19]. Силденафил запускает каскад, который активирует протеинкиназу С и повышает внутриклеточный уровень цГМФ в кардиомиоцитах за счет активации индуцибельной и эндотелиальной NO-синтазы. В результате достигается эффект кардиопротекции, опосредованный открытием митохондриальных АТФ-чувствительных калиевых каналов (mitoKATP-channels) [20]. Открытие mitoKATP-каналов увеличивает электрохимический потенциал на мембране клеток миокарда, скорость синтеза АТФ и транспорта  $Ca^{2+}$  через мембрану. Происходит расслабление гладкомышечных клеток, расширяется просвет артерий, увеличивается приток крови [21].

Именно mitoKATP-каналы играют главную роль в реализации антиишемической защиты. Они обнаружены в клетках многих органов, в том числе сосудистой сети. Первоначально их активность была выявлена в сарколемме (sarcoKATP-channels), а затем — в митохондриях. Активность тех и других ингибируются физиологическими





Морфологическое исследование мышц голени крыс. (А) Мышцы голени интактных крыс (группа 1). (Б) Мышцы голени ложнооперированных крыс (группа 2). (В) Мышцы голени крыс контрольной группы (группа 3). (Г) Ишемизированные мышцы голени крыс, получавших силденафил (группа 4). (Д) Ишемизированные мышцы голени крыс, получавших «Церебролизин» (группа 5). (Е) Ишемизированные мышцы голени крыс, получавших силденафил и «Церебролизин» (группа 6). Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 140$

внутриклеточными концентрациями АТФ, т. е. каналы открываются при существенном снижении концентрации АТФ или общего пула адениновых нуклеотидов, являясь таким образом сенсорами (датчиками) наличия достаточного количества кислорода и глюкозы (источников АТФ). Можно предположить, что цитопротекторное свойство силденафила объясняется работой КАТР-каналов [21].

Вероятно, силденафил также стимулирует в ишемизированной мышце голени крысы неоваскулогенез. Свидетельством этого являются полученные нами результаты ЛДФ и морфологического исследования: на 28-е сутки происходило компенсаторное восстановление и затем усиление регионарного кровотока в ишемизированных мышцах животных опытных групп за счет новообразования сосудов.

Ранее нами было упомянуто, что «Церебролизин» уменьшает ферментативную активность супероксид-

дисмутазы и каталазы (антиоксидантный эффект) и обладает антиапоптотическим действием. Однако, кроме того, препарату свойствен противовоспалительный эффект [22, 23]. Таким образом, «Церебролизин» создает благоприятные условия для стимуляции естественных механизмов ангиогенеза силденафилом.

## ВЫВОДЫ

Показана высокая эффективность терапии ишемии нижней конечности, смоделированной на крысах, комбинацией силденафила и «Церебролизина». Уровень микроциркуляции крови в пораженных мышцах голени животных соответствующей опытной группы на 28-е сутки был достоверно практически в два раза выше (в перфузионных единицах), чем у животных контрольной группы.

Литература

1. Кириченко А. А., Новичкова Ю. Н. Хроническая ишемическая болезнь ног. М.; 1998. 24 с.
2. Покровский М. В., Колесник И. М., Ходов С. В., Покровская Т. Г., Должиков А. А., Ефременкова Д. А. и др., авторы; Курский государственный медицинский университет, патентообладатель. Способ фармакологической коррекции ишемии скелетной мышцы силденафилом, в том числе при L-name-индуцированном дефиците оксида азота. Патент РФ RU 2497203 от 27.10.2013.
3. Князев В. В. Микроскопическое исследование репаративной регенерации нервных волокон после химической десимпатизации. В сб.: Университетская наука: Взгляд в будущее. Сборник трудов 72-й научной конференции КГМУ и сессии Центрально-Черноземного научного центра РАМН. Российский симпозиум «Закономерности интеграции физиологических функций в норме и их дезинтеграция в патологии»; 1–2 февраля 2007 г.; Курск. Т. 1. Курск: КГМУ; 2007. с. 116–9.
4. Коваленко В., Калитко И., Темрезов М., Чемурзиев Р., Петров А. Возможности лечения больных с атеротромботическим поражением артерий нижних конечностей. Врач. 2010; (3): 55–8.
5. Сепиашвили Р. И., Шубич М. Г., Карпюк В. Б. Оксид азота при астме и различных формах иммунопатологии. Астма. 2009; 2 (2): 5–14.
6. Червяков Ю. В., Староверов И. Н., Нерсесян Е. Г., Исаев А. А., Деев Р. В. Терапевтический ангиогенез в лечении больных с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий нижних конечностей. Ближайшие и отдаленные результаты. Ангиол. и сосуд. хир. 2012. 18 (3): 19–27.
7. Rowe VL, Lee W, Weaver FA, Etzioni D. Patterns of treatment for peripheral arterial disease in the United States: 1996–2005. J Vasc Surg. 2009 Apr; 49 (4): 910–7.
8. Горчаков В. Д., Сергиенко В. И., Владимиров В. Г. Селективные гемосорбенты. М.: Медицина: 1989. 221 с.
9. Покровская Т. Г., Чулюкова Т. Н., Покровский М. В. Эндотелиопротективные эффекты силденафила и тадалафила при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота. Кубанский науч. мед. вест. 2009. 4: 136–9.
10. Покровская Т. Г., Чулюкова Т. Н., Покровский М. В., Филиппенко Н. Г. Эндотелиопротективные дозозависимые эффекты силденафила в комбинациях с L-аргинином при экспериментальном моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота. Биомедицина. 2010. 1 (5): 118–20.
11. Masliah E, Díez-Tejedor E. The pharmacology of neurotrophic treatment with Cerebrolysin: brain protection and repair to counteract pathologies of acute and chronic neurological disorders. Drugs Today (Barc.). 2012. 48 Suppl A: 3–24.
12. González ME, Francis L, Castellano O. Antioxidant systemic effect of short-term Cerebrolysin administration. J Neural Transm Suppl. 1998. 53: 333–41.
13. Sugita Y, Kondo T, Kanazawa A, Itou T, Mizuno Y. [Protective effect of FPF 1070 (cerebrolysin) on delayed neuronal death in the gerbil-detection of hydroxyl radicals with salicylic acid]. No To Shinkei. 1993. 45 (4): 325–31. Japanese.
14. EVER Neuro Pharma. Cerebrolysin — product monograph. 2010. 84 p.
15. Гамбарян П. П., Дукельская Н. М. Крыса. М.: Советская наука; 1955. 254 с.
16. Артюшкова Е. Б., Пашков Д. В., Покровский М. В., Файтельсон А. В., Гудырев О. С., Покровская Т. Г. и др. Возможности фармакологической коррекции хронической ишемии конечности в эксперименте. Экспер. и клин. фармакол. 2008; 71 (3): 23–5.
17. Young W, Keck WM. Церебролизин: обзор клинических и экспериментальных исследований. Практ. ангиол. [Интернет]. 2009 [дата обращения: 1 сентября 2016 г.]; 8 (27): [ок. 8 стр.]. Доступно по ссылке: <http://angiology.com.ua/ru-issue-article-273>.
18. Колесник И. М., Лазаренко В. А., Покровский М. В. Влияние фармакологического прекондиционирования силденафилом и варденафилом на состояние микроциркуляторного русла в ишемизированной скелетной мышце. Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». 2015; (1): 83–6.
19. Beyer S, Speich R, Fischler M, Maggiorini M, Ulrich S. Long-term experience with oral or inhaled vasodilator combination therapy in patients with pulmonary hypertension. Swiss Med Wkly. 2006 Feb 18; 136 (7–8): 114–8.
20. Das S, Maulik N, Das DK, Kadowitz PJ, Bivalacqua TJ. Cardioprotection with sildenafil, a selective inhibitor of cyclic 3',5'-monophosphate-specific phosphodiesterase 5. Drugs Exp Clin Res. 2002; 28 (6): 213–9.
21. Верткин А. Л. Клиническая фармакология ингибиторов ФДЭ 5: взгляд клинического фармаколога. Consilium medicum. 2004; 6 (7): 502–5.
22. Alvarez XA, Lombardi VR, Fernández-Novoa L, Garcíá M, Sampedro C, Cagiao A, et al. Cerebrolysin reduces microglial activation in vivo and in vitro: a potential mechanism of neuroprotection. J Neural Transm. Suppl. 2000; 59: 281–92.
23. Lombardi VR, Windisch M, García M, Cacabelos R. Effects of Cerebrolysin on in vitro primary microglial and astrocyte rat cell cultures. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 1999; 21 (5): 331–8.

References

1. Kirichenko AA, Novichkova N. Khronicheskaya ishemicheskaya bolezhn' nog. Moscow; 1998. 24 p. Russian.
2. Pokrovsky MV, Kolesnik IM, Chodov SV, Intercession TG, Dolzhikov AA, Ephremenkova DA, et al., inventors; Kursk State Medical University, assignee. Sposob farmakologicheskoy korrektsii ishemii skeletnoy myshtsy sildenafilom, v tom chisle pri l-name-indutsirovannom defitsite oksida azota. Patent RU 2497203. 2013 Oct 27. Russian.
3. Knyazev VV. Mikroskopicheskoe issledovanie reпаратivnoy regeneratsii nervnykh volokon posle khimicheskoy desimpatizatsii. In: Universitetskaya nauka: Vzglyad v budushchee. Sbornik trudov 72 nauchnoy konferentsii KGMU i sessii Tsentral'no-Chernozemnogo nauchnogo tsentra RAMN. Rossiyskiy simpozium «Zakonovernosti integratsii fiziologicheskikh funktsiy v norme i ikh dezintegratsiya v patologii»; 2007 Feb 1–2; Kursk, Russia. Vol. 1. Kursk: KGMU; 2007. p. 116–9. Russian.
4. Kovalenko V, Kalitko I, Temrezov M, Chemurziev R, Petrov A. Vozmozhnosti lecheniya bol'nykh s aterotromboticheskim porazheniem arteriy nizhnikh konechnostey. Vrach. 2010; (3): 55–8. Russian.
5. Sepiashvili RI, Shubich MG, Karpuk VB. Oksid azota pri astme i razlichnykh formakh immunopatologii. Aстма. 2009; 2 (2): 5–14. Russian.
6. Chervyakov YuV, Staroverov IN, Nersisyan EG, Isaev AA, Deev RV. [Therapeutic angiogenesis in treatment of patients with chronic obliterating diseases of lower limb arteries]. Angiology and Vascular Surgery. 2012. 18 (3): 19–27. Russian.
7. Rowe VL, Lee W, Weaver FA, Etzioni D. Patterns of treatment for peripheral arterial disease in the United States: 1996–2005. J Vasc Surg. 2009 Apr; 49 (4): 910–7.
8. Gorchakov VD, Sergienko VI, Vladimirov VG. Selektivnye gemosorbenty. Moscow: Meditsina; 1989. 221 p. Russian.
9. Pokrovskaja TG, Chuljukova TN, Pokrovskii TV [Endotheliotective effects of sildenafil and tadalafil at experimental model of the l-name-induced deficiency of nitric oxide]. Kubanskiy nauchnyi meditsinskiy vestnik. 2009. 4: 136–9. Russian.
10. Pokrovskaya TG, Chulyukova TN, Pokrovskiy MV, Filippenko

- NG. Endotelioprotektivnye dozozavisimye efekty sildenafilu v kombinatsiyakh s L-argininom pri eksperimental'nom modelirovani L-NAME-indutsirovannogo defitsita oksida azota. *Biomedicine*. 2010. 1 (5): 118–20. Russian.
11. Masliah E, Díez-Tejedor E. The pharmacology of neurotrophic treatment with Cerebrolysin: brain protection and repair to counteract pathologies of acute and chronic neurological disorders. *Drugs Today (Barc.)*. 2012. 48 Suppl A: 3–24.
  12. González ME, Francis L, Castellano O. Antioxidant systemic effect of short-term Cerebrolysin administration. *J Neural Transm Suppl*. 1998. 53: 333–41.
  13. Sugita Y, Kondo T, Kanazawa A, Itou T, Mizuno Y. [Protective effect of FPF 1070 (cerebrolysin) on delayed neuronal death in the gerbil-detection of hydroxyl radicals with salicylic acid]. *No To Shinkei*. 1993. 45 (4): 325–31. Japanese.
  14. EVER Neuro Pharma. Cerebrolysin — product monograph. 2010. 84 p.
  15. Gambaryan PP, Dukelskaya NM. Krysa. Moscow: Sovetskaya nauka; 1955. 254 p. Russian.
  16. Artyushkova EB, Pashkov DV, Pokrovsky MV, Faitelson AV, Gudyrev OS, Pokrovskaya TG, et al. [Possibilities of pharmacological correction of experimental chronic limb ischemia]. *Éksperimentalnaya i Klinicheskaya Farmakologiya*. 2008; 71 (3): 23–5. Russian.
  17. Young W, Keck WM. Tserebrolozin: obzor klinicheskikh i eksperimental'nykh issledovaniy. *Prakticheskaya angiologiya* [Internet]. 2009 [cited 2016 Sep 1]; 8 (27): [about 8 p.]. Available from: <http://angiology.com.ua/ru-issue-article-273>. Russian.
  18. Kolesnik IM, Lasarenko VA, Pokrovskiy MV. [The influence of pharmacological preconditioning with sildenafil and vardenafil on condition of microvasculature in the ischemic skeletal muscle]. *Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health"*. 2015; (1): 83–6. Russian.
  19. Beyer S, Speich R, Fischler M, Maggiorini M, Ulrich S. Long-term experience with oral or inhaled vasodilator combination therapy in patients with pulmonary hypertension. *Swiss Med Wkly*. 2006 Feb 18; 136 (7–8): 114–8.
  20. Das S, Maulik N, Das DK, Kadowitz PJ, Bivalacqua TJ. Cardioprotection with sildenafil, a selective inhibitor of cyclic 3',5'-monophosphate-specific phosphodiesterase 5. *Drugs Exp Clin Res*. 2002; 28 (6): 213–9.
  21. Vertkin AL. Klinicheskaya farmakologiya inhibitorov FDE 5: vzglyad klinicheskogo farmakologa. *Consilium medicum*. 2004; 6 (7): 502–5. Russian.
  22. Alvarez XA, Lombardi VR, Fernández-Novoa L, Garcíá M, Sampedro C, Cagiao A, et al. Cerebrolysin reduces microglial activation in vivo and in vitro: a potential mechanism of neuroprotection. *J Neural Transm. Suppl*. 2000; 59: 281–92.
  23. Lombardi VR, Windisch M, Garcíá M, Cacabelos R. Effects of Cerebrolysin on in vitro primary microglial and astrocyte rat cell cultures. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1999; 21 (5): 331–8.