

На правах рукописи



Фомина Светлана Викторовна

**Ультразвуковое исследование печени
с использованием эхоконтрастных препаратов
на основе гексафторида серы**

14.01.13 – лучевая диагностика, лучевая терапия

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология
(медицинские науки)

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор Завадовская Вера Дмитриевна,
доктор медицинских наук Чурин Алексей Александрович,

Официальные оппоненты:

Буховец Ирина Львовна, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» Научно-исследовательский институт кардиологии, отделение рентгеновских и томографических методов диагностики, старший научный сотрудник

Мадонов Павел Геннадьевич, доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины, заведующий

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Институт хирургии им. А.В. Вишневского» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Москва).

Защита состоится 07.09.2017 года в 9.00 часов на заседании диссертационного совета Д 002.279.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» по адресу г.Томск, ул.Киевская 111а Научно-исследовательский институт кардиологии

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <http://tnimc.ru/>

Автореферат разослан «___» 05. 2017 года

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор



Ворожцова
Ирина Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Современная лучевая диагностика неразрывно связана с использованием контрастных препаратов – йодсодержащих в рутинной рентгенодиагностике и компьютерной томографии и препаратов, изменяющих магнитные свойства тканей, – парамагнетиков – в магнитно-резонансной томографии. Проникая адекватно кровотоку в исследуемые органы и ткани, эти препараты улучшают визуализацию, что достигается путем повышения плотности тканей при использовании рентгеноконтрастных препаратов или усилением сигнала тканей при использовании парамагнетиков.

Ультразвуковая диагностика не является исключением, и сегодня в мировой клинической практике использование искусственного контрастирования при ультразвуковом исследовании стало обязательным условием исследований больных практически любого клинического профиля при постоянном совершенствовании и разработке новых эхоконтрастных препаратов (ЭКП) (Tang J. et al., 2008; Ripollés T. et al., 2013; Chiorean L., Zdrenghia M., Badea R., 2014; Bartolotta TV. et al., 2016; Dong Y. et al., 2017).

Принцип повышения качества изображения при использовании эхоконтрастного препарата состоит во введении в кровь пациента газосодержащей суспензии, которая усиливает отражение ультразвуковых волн, в результате чего повышается чувствительность метода в регистрации магистрального и органного кровотока (Quasia E., 2007; Lencioni R., 2009; Nanosci J. et al., 2014; Wen Q. et al., 2014; Dong Y. et al., 2017).

Использование эхоконтрастных препаратов необходимо для решения широкого спектра диагностических задач в различных направлениях современной клинической медицины, и в первую очередь для ранней и точной диагностики, а также дифференциальной диагностики очаговых образований печени (Krix M. et al., 2009; Badea A.F., Tamas-Szora A., Clichici S., 2013; Platz Batista da Silva N. et al., 2016; Seitz K., Strobel D., 2016; Zhang X. et al., 2016).

Ультразвуковое исследование является первой модальностью в лучевом диагностическом алгоритме при исследовании печени в выявлении очаговых образований органа. Характер контрастирования патологического субстрата представляет собой существенный дифференциально-диагностический критерий в установлении конкретной нозологической формы поражения печени, что реализуется с йодсодержащими препаратами при КТ и гадолиниевыми комплексами при МРТ (Maruyama H. et al., 2012; Sugimoto K. et al., 2012).

В полной мере это относится и к ультразвуковому контрастному усилению, которое в сравнении с нативным исследованием увеличивает диагностическую точность метода до 92–95% и становится сопоставимым (альтернативным) с томографическими методами исследования – КТ и МРТ (Clin J. et al., 2014; Sporea I. et al., 2014; Takada H. et al., 2016; Smajerova M. et al., 2016).

Распространенным средством для контрастного усиления в ультразвуковой диагностике является препарат на основе гексафторида серы, который представляет собой микропузырьки гексафторида серы диаметром менее 8 мкм (средний размер пузырьков 2,5 мкм), стабилизированные мембраной из поверхностно-активных фосфолипидов (Greis C., 2005; Claudon M. et al., 2013).

Ультразвуковое исследование с контрастным препаратом на основе гексафторида серы имеет широкие показания в современной клинической медицине, и в первую очередь при диагностике очаговых образований в печени – гепатоцеллюлярного рака (ГПЦР) и метастатического поражения.

Литературные данные свидетельствуют об активном изучении возможностей контрастного усиления с SonoVue (Bracco Swiss SA, Швейцария) в гепатологии, в частности в определении характера кровотока ГПЦР, даже в маленьких узелках – до 2 см в диаметре (Lencioni R., 2009; Dong Y. et al., 2017). Существуют данные о том, что определение характера васкуляризации опухолей при УЗИ с контрастным усилением SonoVue (Bracco Swiss SA, Швейцария) сопоставимо с особенностями контрастного усиления при других

модальностях лучевой диагностики – КТ и МРТ (Sporea I. et al., 2014; Takada H. et al., 2016; Smajerova M. et al., 2016).

Однако в отечественной клинической практике эхоконтрастные препараты, и конкретно SonoVue (Bracco Swiss SA, Швейцария), были зарегистрированы только в 2014 году, не имели до этого широкого применения, что обусловило отсутствие важного звена в диагностическом алгоритме исследования больных.

Многочисленные данные об эффективности контрастного усиления (КУ) в выявлении и дифференциальной диагностике патологических образований в печени обосновывают целесообразность дальнейших исследований по разработке и совершенствованию современных ультразвуковых контрастных препаратов.

Степень разработанности

В настоящее время имеется большое количество преимущественно зарубежных публикаций, посвященных использованию контрастного усиления в ультразвуковой диагностике с указанием на высокую информативность в выявлении воспалительных и неопластических процессов. При этом основным объектом исследования является печень (Sporea I. et al., 2014; Wen Q. et al., 2014; Taibbi A. et al., 2016; Ueda N. et al., 2016; Zhang X. et al., 2016; Dong Y. et al., 2017; Seitz K., Strobel D., 2017).

Однако, несмотря на большую проработанность этого вопроса по мере накопления клинического материала определились очевидные не решенные окончательно проблемы. В частности остаются дискуссионными вопросы о характере васкуляризации и отличии контрастного усиления гиперваскулярных и гиповаскулярных метастазов. Остаются сложности дифференциальной диагностики очаговых образований на фоне диффузных изменений печени, проблема одномоментной визуализации очаговых образований в различные фазы контрастного усиления (Moriyasu F., 2009; Hui-Xiong Xu., 2009; Xu H.X. et al., 2006; Bartolotta TV. et al., 2016; Platz Batista da Silva N. et al., 2016).

Несмотря на наличие хорошо зарекомендовавших себя диагностических ЭКП (по типу SonoVue (Bracco Swiss SA, Швейцария)), за рубежом продолжаются исследования по разработке новых эхоконтрастных препаратов, обладающих органоспецифичностью, а также ЭКП с удлинением времени контрастного усиления, что требует поиска для газосодержащих микросфер оптимальной стабилизирующей системы (Quasia E., 2007; Hiraoka A. et al., 2011; Wen Q. et al., 2014; Ueda N. et al., 2016; Smajerova M. et al., 2016; Dong Y. et al., 2017).

В России эхоконтрастный препарат SonoVue (Bracco Swiss SA, Швейцария) зарегистрирован только в 2014 году, а разработки по синтезу отечественных эхоконтрастных препаратов отсутствуют. В то же время наличие доступных и высокоэффективных ЭКП будет способствовать выявляемости широкого спектра заболеваний, снижению инвалидизации и решению тем самым ряда актуальных медико-социальных проблем. Все вышесказанное и определяет необходимость выполнения настоящего исследования.

Цель работы

Повышение диагностической информативности ультразвукового исследования печени путем использования контрастного усиления, включая первый отечественный аналог эхоконтрастного препарата на основе гексафторида серы.

Задачи

1. Оценить диагностическую эффективность эхоконтрастного препарата гексафторида серы, зарегистрированного в РФ, для дифференциальной диагностики очаговых поражений печени у больных онкологического профиля.
2. Оценить характер васкуляризации метастатических очагов печени у пациентов онкологического профиля.
3. Используя биологическую модель очагового поражения печени, обосновать применение отечественного эхоконтрастного препарата для выявления очаговых образований печени.

4. Провести доклиническое исследование общей токсичности и фармакокинетики отечественного эхоконтрастного препарата.

Научная новизна

- Установлены особенности визуализации вторичных очаговых образований печени после контрастного усиления в зависимости от характера васкуляризации и фазы исследования.

- Впервые аргументирована эффективность ультразвукового исследования с использованием отечественного эхоконтрастного препарата на основе гексафторида серы на модели очагового поражения паренхиматозных органов.

- Показано, что новый состав поверхностно-активных веществ, использованных в качестве основы стабилизирующей системы эхоконтрастного препарата, повышает информативность ультразвукового исследования путем получения усиленного и длительного (до 4 мин) контрастного ультразвукового изображения.

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты выполненного исследования свидетельствуют о том, что повышение эффективности ультразвуковой диагностики вторичных очаговых образований печени достигается путем контрастного усиления. Использование эхоконтрастного препарата позволяет оценить характер васкуляризации очаговых образований печени и повысить выявляемость очагов, имеющих изоэхогенную структуру.

На основании выполненного исследования автором предложены методические подходы для одновременного выявления множественных очаговых образований в артериальную фазу исследования.

В условиях экспериментальной модели показано, что разработанный отечественный эхоконтрастный препарат на основе гексафторида серы с новой стабилизирующей системой, распределяясь в органе адекватно кровотоку, повышает контрастность печени, обеспечивает выявление патологических очаговых структур и не оказывает токсического воздействия на ткани и органы экспериментальных животных.

Полученные результаты клинико-экспериментальной работы обосновывают перспективность исследований, направленных на разработку и внедрение в клиническую практику отечественных эхоконтрастных препаратов.

Методология и методы исследования

В основе методологии диссертационной работы – современные теоретические и практические основы отечественной и зарубежной лучевой диагностики и фармакологии.

Диссертационное исследование выполнялось в несколько этапов с использованием клинических, экспериментальных, инструментальных аналитических и статистических методов.

На первом этапе изучалась отечественная и зарубежная литература, посвященная использованию контрастного усиления в ультразвуковой диагностике и применяемых для этого лекарственных средств.

На втором – клинико-инструментальном этапе работы – был выполнен анализ диагностической эффективности контрастного усиления с использованием зарегистрированного в РФ эхоконтрастного препарата в диагностике метастатического поражения печени у больных онкологического профиля.

Установленное при этом повышение диагностической эффективности эхоконтрастного усиления обосновывает третий – экспериментально-инструментальный этап работы, который включал оценку диагностической эффективности первого отечественного эхоконтрастного препарата путем ультразвукового исследования биологической модели очаговых образований печени, а также оценку безопасности при применении у лабораторных животных.

Положения, выносимые на защиту

1. Эхоконтрастный препарат на основе гексафторида серы (SonoVue (Bracco Swiss SA, Швейцария)) повышает диагностическую эффективность ультразвукового исследования печени у больных онкологического профиля.
2. Отечественный эхоконтрастный препарат на основе гексафторида серы и новой стабилизирующей системы повышает контрастность печени, распределяется в очаговых образованиях печени согласно кровотоку.
3. Использование отечественного эхоконтрастного препарата не вызывает токсического воздействия на внутренние органы экспериментальных животных.

Апробация работы

Основные результаты работы доложены и обсуждены на V съезде врачей ультразвуковой диагностики Сибирского Федерального округа (г. Кемерово, 2009); на II съезде врачей лучевой диагностики Сибири (г. Томск, 2012); городском обществе рентгенологов (г. Томск, 2013); на III съезде врачей лучевой диагностики Сибирского Федерального округа (г. Красноярск, 2014); на IX всероссийском национальном конгрессе лучевых диагностов и терапевтов «Радиология-2015» (г. Москва, 2015).

Личное участие

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, формулировании цели и задач работы.

Автором лично разработаны дизайн исследования, методический подход к выполнению диссертации.

Личный вклад соискателя состоит в постановке методики ультразвукового исследования печени с эхоконтрастным препаратом и проведение данного вида исследований 35 пациентам с онкологическими заболеваниями, в оценке результатов контрастного усиления печени у данных больных, заполнении регистрационных карт, создании базы данных, обработке полученного материала. Соискатель лично участвовал в проведении экспериментальной работы, а именно – в разработке дизайна эксперимента, в проведении оперативных вмешательств у экспериментальных животных в качестве ассистента, в разработке химического состава образца контрастного препарата, в проведении ультразвуковых исследований печени животным с использованием отечественного контрастного препарата, в оценке характера контрастного усиления печени, в анализе и обработке полученных результатов, в том числе, полученных при оценке безопасности изученного контрастного препарата.

Обоснованность и достоверность полученных результатов

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным объемом клинического и экспериментального материала (35 пациентов, 77 животных), использованием методик, адекватных поставленным задачам, и применением современных методов статистического анализа.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 13 работ, из них 4 статьи в журналах, рецензируемых ВАК, 1 патент на изобретение.

Внедрение результатов

Результаты исследования применяются в работе отделений ультразвуковой диагностики клиник ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и в учебном процессе кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста, содержит 19 таблиц, иллюстрирована 31 рисунком и состоит из введения, обзора литературы (первая глава), материала и методов исследования (вторая глава), результатов собственных исследований

(третья глава), обсуждения (четвертая глава), выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 139 источников, из которых 24 на русском и 115 на иностранных языках.

Материал и методы исследования

Настоящее клинико-экспериментальное исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 2 от 23.10.2006 г.) с соблюдением норм, провозглашенных Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 266.

Работа выполнялась на базе ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и на базе ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер».

Для достижения поставленной в диссертационной работе цели и решения задач в клиническое исследование было включено 35 больных с верифицированным диагнозом онкологического заболевания и метастатическим поражением печени. Для характеристики онкологического заболевания использовалась рабочая классификация TNM (2009 г.), в которой учитывалось распространенность злокачественного процесса (T), степень распространения по отношению к лимфоузлам (N) и присутствие или отсутствие отдаленных метастазов (M).

Клинические исследования

Основу клинического этапа работы составило исследование 35 пациентов (13 мужчин и 22 женщины; средний возраст $66,1 \pm 12,3$ года), с установленным диагнозом онкологического заболевания, T3-4N0-1M0-1 стадии, по поводу которого пациенты лечились и наблюдались в ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер» в период с 2013 по 2015 гг. Характеристика пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика пациентов по нозологическим формам (n=35)

Характеристика	Пациенты раком молочной железы	Пациенты колоректальным раком	Пациенты раком другой локализации
Число	8/35 (23%)	12/35 (34%)	15/35 (43%)
Мужчины	-	7/35 (20%)	6/35 (17%)
Женщины	8/35 (23%)	5/35 (14%)	9/35 (26%)
Средний возраст	$68,2 \pm 13,4$	$66 \pm 11,4$	$64 \pm 12,1$

Из них у 8 больных диагностирован рак молочной железы (РМЖ) (средний возраст $68,2 \pm 13,4$). Пяти пациенткам было выполнено оперативное лечение в объеме секторальной резекции (n=2) и мастэктомии (n=3), дополненное курсом химиотерапии в адьювантном режиме. Трем больным с обширным лимфогенным метастазированием проведена лучевая терапия, с последующими курсами химиотерапии.

У 12 больных верифицированы различные морфологические варианты колоректального рака (средний возраст $66 \pm 11,4$). Оперативное лечение 7 пациентам выполнено в объеме гемиколонэктомии. В виду наличия у 9 пациентов метастатического поражения печени, им проведена от 2 до 6 курсов химиотерапии. Лучевая терапия проведена 4 пациентам.

Группу пациентов с опухолями других локализаций составили 15 человек (средний возраст $64 \pm 12,1$). У них были морфологически верифицированы: рак желудка (n=5), опухоль поджелудочной железы (n=1), гепатоцеллюлярный рак печени (n=2), рак надпочечников (n=3), рак яичников (n=4). Больные данной группы имели выраженную местную распространенность опухолевого процесса и наличие гематогенных метастазов, получили от 2 до 6 курсов химиотерапии.

Все пациенты находились на динамическом наблюдении, УЗИ лимфатических узлов и органов брюшной полости выполнялось 1 раз в 3 месяца в течении 1 года, 1 раз в 6 месяцев в течении двух лет, 1 раз в год в последующие годы.

Критерии включения в группу:

- больные в возрасте от 45 до 80 лет, с установленным диагнозом рака молочной железы, колоректального рака, рака другой локализации;
- наличие установленного или исключенного по данным МРТ метастатического поражения печени;
- отсутствие противопоказаний к проведению МРТ;
- отсутствие противопоказаний к ЭКП на основе гексафторида серы;
- наличие информированного согласия

Критерии исключения из группы:

- пациенты с отсутствием верифицированного диагноза рака молочной железы, колоректального рака, рака другой локализации;
- неопределенная картина очагового поражения печени по данным МРТ;
- наличие противопоказаний к проведению МРТ;
- наличие противопоказаний к ЭКП на основе гексафторида серы;
- отсутствие информированного согласия.

Пациент считался включенным в исследование после подписания информированного согласия. Информированное согласие подписывалось до сбора какой-либо информации для исследования. Оригинал подписанного согласия хранился у исследователя. Второй экземпляр передавался пациенту. Форма информированного согласия и протокол клинического исследования были утверждены локальным этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета (протокол № 2 от 23.10.2006 г.) в соответствии с местными нормативными требованиями.

Методы исследования

С целью решения поставленной задачи в процессе обследования больных были применены клинические, инструментальные и лабораторные методики.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости проведено всем пациентам. Исследование выполнялось на аппаратах фирмы Toshiba Aplio 300 и Toshiba Aplio 400 конвексным датчиком частотой 3,5–8 МГц в В-режиме и при использовании ЦДК, ЭДК. Допплеровская частота 3,5–5 МГц. В качестве контрастного препарата использовали средство на основе гексафторида серы (SonoVue (Bracco Swiss SA, Швейцария)), приготовленное согласно инструкции производителя. Объем однократно вводимой дозы препарата составлял 2–5 мл. При ультразвуковом исследовании с контрастным препаратом использовали опцию Contrast Harmonic Imaging (CHI).

Первоначально исследование паренхимы печени проводилось в В-режиме. Оценивали контуры, размеры печени, структуру желчных протоков, сосудов, эхогенность ткани печени в сравнении с эхогенностью паренхимы правой почки, структуру ткани на предмет наличия очаговых образований, их размеры, топографическое расположение, четкость и ровность контуров, эхогенность относительно окружающей ткани, однородность структуры, степень васкуляризации, окружающие ткани на предмет их вовлеченности в процесс. Кроме того, проводили оценку структуры желчного пузыря, желчевыводящих путей, сосудистой системы, наличия увеличенных и измененных лимфатических узлов, исследовали структуру поджелудочной железы.

Затем выполняли исследование с использованием контрастного препарата на основе гексафторида серы (SonoVue (Bracco Swiss SA, Швейцария)). Данный препарат относится к неспецифичным контрастным веществам для ультразвуковых исследований. Суспензию контрастного вещества (микропузырьков) готовили путем добавления к содержимому флакона через пробку 5 мл растворителя. После этого флакон энергично встряхивали в

течение нескольких секунд до тех пор, пока лиофилизат полностью не растворился. Необходимый объем суспензии (2 мл) забирали шприцем и вводили пациенту в периферическую вену. В ходе исследования регистрировали три фазы контрастирования: артериальную (10–35 с), портальную (35–120 с) и позднюю (120–360 с). После введения контрастного препарата оценивали общее время контрастирования, полноту окрашивания всех сегментов ткани печени, визуализацию очаговых образований во всех фазах, эхогенность и ее изменение с течением времени (скорость вымывания) относительно неизменной паренхимы, контуры образований, размер, степень вовлеченности окружающих тканей.

Магнитно-резонансная томография

В качестве референтного метода была выполнена магнитно-резонансная томография (МРТ) с контрастным усилением 35 больным. Исследование гепатобилиарной системы пациентов было выполнено на МР-томографах (Excelart Vantage 1,5T; Toshiba Medical Systems Europe) в трех стандартных сечениях — аксиальном, сагиттальном, корональном, толщиной среза 3–5 мм, с использованием последовательностей T1-ВИ, T2-ВИ, T2*-ВИ, FSat с болюсным введением контрастного средства в объеме 15 мл.

Лабораторные методы исследования

Лабораторные исследования проводились всем пациентам при поступлении в стационар или поликлиническое отделение ТООД. Выполнялись общий анализ мочи, гематологический и биохимический анализ крови. Исследование периферической крови проводилось в виде развернутого анализа, определялись такие показатели как лейкоциты, СОЭ, уровень С-реактивного белка.

Методы математической обработки полученных результатов

Для изучения полученных результатов использовались методы статистического и системного анализа. Он проводился с помощью стандартных программ Excel и Statistika 9.0, SPSS 12.0.

Использовались методы статистической обработки качественных и количественных данных. Для описания качественных данных применяли относительные и абсолютные частоты, для их сравнения — критерий хи-квадрат и критерий Фишера с учетом условий применения критериев. Для описания количественных данных использовали 25-й, 75-й процентиля и медиану, для сравнения групп — непараметрические критерии Манна — Уитни и Крускала — Уоллиса с учетом условий применения. Для поиска взаимосвязи проводили корреляционный анализ методом Спирмена. Уровень значимости при анализе $p < 0,05$.

Для оценки эффективности диагностических тестов рассчитывали ряд операционных характеристик: чувствительность, специфичность, диагностическую точность, прогностическую ценность положительного результата и прогностическую ценность отрицательного результата.

Экспериментальные исследования

Экспериментальная часть включала исследование отечественного ЭКП in vitro в стационарной системе и in vivo на животных. Область исследования — ткань печени. Содержание животных и экспериментальное исследование осуществлялись в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986); приказом МЗ РФ № 708 Н от 28 августа 2010 г., Principles on Good Laboratory Practice (OECD, ENV/ MC/ CUEM (98)17, 1997); ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (идентичен GLP OECD); со статьей 11 Федерального закона от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (Собрание законодательства Российской Федерации, 2010, № 16, ст. 1815; № 31, ст. 4161); Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств (Москва, 2012).

Отечественный ЭКП представлял собой гетерогенную систему «газ — жидкость», состоящую из неполимерных микрочастиц, содержащих слаборастворимый газ гексафторид

серы (SF₆), и гибкой, мобильной мембраны из фосфолипидов и полиэтиленгликоля, стабилизирующих микрочастицы. В качестве стерильной среды использовали физиологический раствор. Стандартная препаративная форма – сухой порошок, который перед использованием восстанавливается стерильной средой посредством добавления ее в ампулу или шприц с сухим порошком и встряхивания в течение 10–20 с до образования изотонической или изотонической суспензии микрочастиц. В результате раствор представляет собой гомогенизированную суспензию молочно-белого цвета. Средний размер микрочастиц меньше 8 мкм. Исследуемый ЭКП защищен патентом РФ № 2485976 «Контрастное средство для ультразвуковой диагностики», приоритет от 17 мая 2011 г. Решение о выдаче патента от 14.01.2013.

Экспериментальное исследование ЭКП *in vitro* осуществлялось в стационарной системе, которая представляла собой пластиковый контейнер емкостью 50 мл. Все компоненты исследуемого ЭКП помещали в систему и взбалтывали в течение 20 с. Приготовленный раствор подвергался ультразвуковому исследованию в В-режиме с регистрацией факта повышения эхогенности, оценкой эхоструктуры ЭКП и времени сохранения контрастности.

Для оценки степени эхогенности ЭКП применяли метод построения стандартной гистограммы в программе Image M с фиксированием показателя интенсивности эхогенности. В качестве сравнения использовали воду с добавлением воздуха. Разница интенсивности эхогенности 30% и более считалась нами достоверной.

Экспериментальная часть работы с животными была проведена на белых беспородных крысах – самцах, кроликах – самцах, самках и свиньях – самцах.

Первая группа включала белых беспородных крыс-самцов без очагового поражения печени (n = 23, m = 250–350 г), вторая группа – белых беспородных крыс с очаговым поражением печени (n = 15, m = 250–350 г), третья группа – свиней мясной породы с очаговым поражением печени (n = 3, m = 11–14 кг), четвертая группа – кроликов-самцов (n = 9, m = 1500–1700 г) и самок (n = 9, m = 1500–1700 г) без очагового поражения печени, пятая группа – кроликов-самцов (n = 9, m = 1500–1700 г) и самок (n = 9, m = 1500–1700 г) с очаговым поражением печени. ЭКП белым беспородным крысам вводили в хвостовую вену, кроликам и свиньям мясной породы – в ушную вену (рисунок 1).

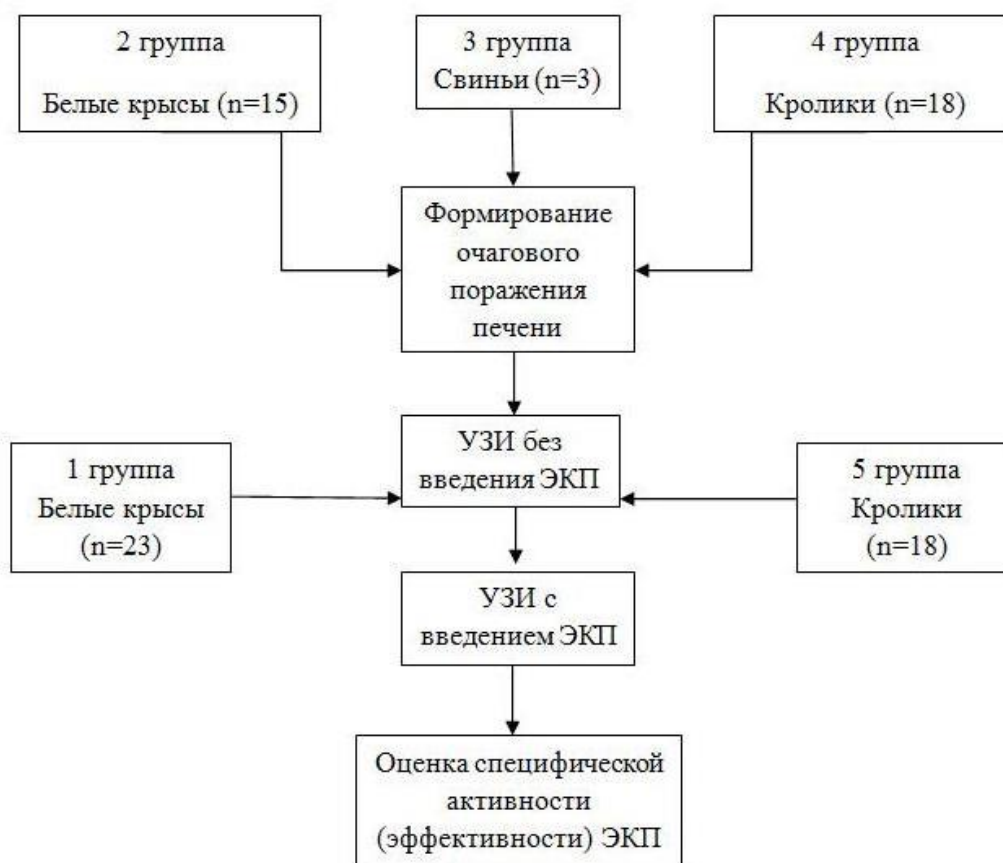


Рисунок 1 – Схема исследования специфической активности (эффективности) отечественного ЭКП

Оперативное вмешательство осуществляли в условиях экспериментальной операционной лаборатории под наркозом с использованием препарата Золетил 100, вводимого из расчета 7–25 мг/кг. Выполнялась верхнесрединная лапаротомия с ревизией органов брюшной полости и травматизацией ткани печени путем внедрения в ткань инородного тела и формированием абсцесса. В качестве способа формирования абсцесса печени за основу нами была взята известная модель (Патент SU 1518827 / М.С. Арикьянц, А.Г. Тышко, А.Ф. Макеев, Л.Н. Волынец). Рана в печени не ушивалась. Передняя брюшная стенка ушивалась послойно наглухо. В качестве инородного тела у крыс использовали деревянную щепку, загрязненную *B. fragilis* в дозе $0,5 \times 10^9$ микробных тел в 1 мл и *E. coli* в дозе $0,5 \times 10^8$ микробных тел в 1 мл. Кроликам внедряли ватный шарик, пропитанный *B. fragilis* в дозе $0,5 \times 10^9$ микробных тел в 1 мл и *E. coli* в дозе $0,5 \times 10^8$ микробных тел в 1 мл.

У свиней моделировали два вида очаговых поражений. В качестве первого варианта внедряли в правую долю печени силиконовый шарик 25x25 мм на глубину 2,5–3 см, заполненный физиологическим раствором. Второе очаговое поражение формировали в правой доле печени на глубине 1,5–2 см путем локальной травматизации ткани острым предметом с введением 2 мл микробной взвеси, содержащей *B. fragilis* в дозе $0,5 \times 10^9$ микробных тел в 1 мл и *E. coli* в дозе $0,5 \times 10^8$ микробных тел в 1 мл. Через 7–14 суток после операции проводили УЗИ зоны оперативных вмешательств.

Ультразвуковое исследование выполняли на сканерах UltraSonix SP, Toshiba Aplio 400 линейным датчиком 9–14 МГц, конвексным датчиком частотой 3,5–8 МГц.

Всем животным проводили нативное УЗИ в В-режиме без введения ЭКП с акустической мощностью 1,6. УЗИ с исследуемым ЭКП проводили в В-режиме с

акустической мощностью 0,6, а также с использованием опции Contrast Harmonic Imaging (СНІ) с акустической мощностью 0,6.

УЗИ в В-режиме включало оценку структуры очага, интенсивности его эхогенности, определяли размеры, место расположения, ровность и четкость контура, самого очага, структуру окружающих тканей. Оценка и регистрацию показателя интенсивности эхогенности ткани проводили путем построения гистограммы в пакете ImageM. В режиме контрастного усиления оценивали общее время контрастного усиления ткани печени, изменения интенсивности контрастного усиления в артериальную, портальную и позднюю фазы, изменение интенсивности контрастного усиления очагового поражения в различные фазы в сравнении с окружающей тканью.

Лабораторные исследования осуществляли всем животным. Выполнялись общий анализ мочи, гематологический и биохимический анализ крови. Исследование периферической крови проводилось в виде развернутого анализа в лаборатории. Определялись показатели, характеризующие степень воспаления, такие как лейкоцитоз, СОЭ, уровень С-реактивного белка.

Животных выводили из эксперимента гуманным методом через 7–14 суток после операции.

Для гистологического исследования забор органов осуществляли после остановки сердца в течение 20–25 мин. Извлекались фрагменты печени в непосредственной близости от инородного тела и на удалении от него, фрагменты ткани легкого и почки брали случайным выбором. Материал фиксировали в 10% формалине, обезжизняли в изопропанол и заливали в парафиновую смесь. Из парафиновых блоков на микротоме готовили срезы толщиной 5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Исследование фармакокинетики лекарственного средства

Доклиническое исследование фармакокинетики нового ультразвукового контрастного средства выполнялось на базе ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России и НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ (согласно ГК № 14.N08.12.0027).

Эксперименты были поставлены на 74 половозрелых конвенциональных аутбредных крысах (возраст 3 месяца, масса тела 290–320 г) стока CD разводки отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга и 6 лабораторных кроликах (возраст 2 месяца, масса тела 2,3–2,5 кг), полученных из ЛПХ (личное подсобное хозяйство) «Барин», Томская область, Кривошеинский район, село Петровка (ветеринарное свидетельство 270 № 0029128 от 13 апреля 2015 г.). Лекарственное средство вводили животным однократно в дозе 15 мкл/кг крысам и 4 мкл/кг кроликам. Кроликам также вводили три уровня доз – 4, 6 и 8 мкл/кг. Лекарственное средство вводили однократно внутривенно двум видам животных – крысам и кроликам, и многократно внутривенно (в течение 7 дней) кроликам.

Исследование безопасности лекарственного средства

Доклиническое исследование острой и хронической токсичности ЛС выполнялось на базе НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ (согласно ГК № 14.N08.12.0027). Исследование проводилось в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств под ред. Миронова (2013).

Изучение острой токсичности было выполнено на 70 аутбредных мышах линии CD-1 и 70 аутбредных крысах линии CD обоего пола. В остром эксперименте ЛС на основе гексафторида серы вводили мышам и крысам однократно. При внутривенном введении мыши получали 5, 10 и 20 мл/кг суспензии, крысы – 2,5, 5 и 10 мл/кг. При внутрибрюшинном введении мыши получали 10, 20 и 40 мл/кг, крысы – 6, 12,5 и 20 мл/кг. Контрольные животные получали физиологический раствор при соответствующем способе введения.

Изучение хронической токсичности проведено на 40 аутбредных крысах линии CD разводки отдела экспериментальных биологических моделей НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга и 24 кроликах породы шиншилла, самцах и самках. Кролики предоставлены ЛПХ

(личное подсобное хозяйство) «Барин», Томская область, Кривошеинский район, село Петровка (ветеринарное свидетельство 270 № 0029128). В хроническом эксперименте ЛС на основе гексафторида серы вводили крысам внутривенно, кроликам внутривенно один раз в день на протяжении 60 дней. Введение препарата осуществлялось утром с 10:00 до 11:00. Крысы получали 0,5, 2,5 и 5 мл/кг (1 терапевтическая доза (ТД), 5 ТД и 10 ТД) исследуемого ЛС внутривенно в виде суспензии на 0,9% растворе натрия хлорида. Кролики получали 0,25 и 1,25 мл/кг (1 и 5 ТД в пересчете с крысы на кролика с учетом коэффициента пересчета доз по Freireich et al., 1966) исследуемого ЛС внутривенно в виде суспензии на 0,9% растворе натрия хлорида. Контрольные животные получали соответствующий объем 0,9% раствора натрия хлорида.

Результаты клинического исследования

Этап клинического исследования заключался в оценке информативности контрастного усиления в визуализации метастазов печени у пациентов онкологического профиля при нативном и постконтрастном ультразвуковом исследовании с применением эхоконтрастного препарата на основе гексафторида серы (SonoVue, Bracco Swiss SA, Швейцария).

В ходе нативного ультразвукового исследования диффузные изменения паренхимы печени в виде неоднородности структуры отмечались практически у всех пациентов. Увеличение размеров печени, повышение эхогенности паренхимы, патология желчевыводящей системы выявлена у малого количества пациентов.

Очаговые образования в виде изо- и гипоехогенных структур были выявлены у 21 пациента из 35 (60%). Размеры образований составляли от 5 до 100 мм. Все очаговые образования изначально были расценены нами как метастатические. Эхогенность очаговых образований была обусловлена количеством стромального компонента, длительностью существования, воздействием агрессивных факторов, таких как гормоно-, химио- и лучевая терапия, от наличием системных заболеваний (Podell S., 1999; Hohmann J. et al. 2003).

Очаговые образования были выявлены при нативном ультразвуковом исследовании у 21 пациента, не было обнаружено очаговых образований у 14 пациентов. При сопоставлении результатов нативного УЗИ с МРТ полученные нами результаты были расценены как 16 ИП, 5 ЛП, 10 ИО и 4 ЛО.

У большинства пациентов было обнаружено менее трех очаговых образований. Преобладали изоэхогенные образования, для которых характерно небольшое количество стромального компонента.

Показатели диагностической эффективности при нативном ультразвуковом исследовании составили: чувствительность – 80%, специфичность – 66%, диагностическая точность – 73%, прогностическая ценность положительного результата – 76% и прогностическая ценность отрицательного результата – 71%.

При этом полученные нами показатели чувствительности мы объясняем преобладанием в нашем исследовании изоэхогенных образований, сложность визуализации которых повышается за счет диффузно неоднородной ткани печени, которая характерна для больных онкологического профиля. Низкие показатели специфичности были обусловлены гипердиагностикой метастазов в результате сложности дифференциальной диагностики метастазов и таких доброкачественных образований, как гемангиома, аденома и фибронодулярная гиперплазия у больных онкологического профиля. Полученные нами показатели диагностической эффективности результатов нативного ультразвукового исследования отражают аналогичные результаты, приводимые в литературных источниках (Greis C., 2005; Burns Peter N. et al., 2014).

Результаты исследования печени на фоне КУ оценивались в реальном времени после парентерального введения (2 мл) SonoVue (Bracco Swiss SA, Швейцария). Эффект контрастирования был зафиксирован, начиная с 5–8 с, и достигал максимума к 30-й с. Общее время контрастирования составило от 360 до 480 с.

Артериальная фаза фиксировалась с 10–35-й с, ткань печени визуализировалась как высококонтрастная структура, портальная фаза длилась с 35-й по 120-ю с и сохраняла

высокую контрастность печени. Поздняя фаза регистрировалась после 120-й с, высокая контрастность ткани печени после 250–300-й с начинала постепенно снижаться.

На фоне КУ ультразвуковая картина печени характеризовалась неоднородностью эхоструктуры органа за счет наличия очаговых образований, отчетливо визуализируемых на фоне возросшей контрастности печени.

В результате КУ очаговые образования были выявлены при ультразвуковом исследовании у 24 пациентов, не было обнаружено очаговых образований у 11 пациентов. При сопоставлении результатов постконтрастного ультразвукового исследования с МРТ полученные нами результаты были расценены как 19 ИП, 1 ЛП, 14 ИО и 1 ЛО.

Показатели диагностической эффективности при постконтрастном ультразвуковом исследовании составили: чувствительность – 95%, специфичность – 93%, диагностическая точность – 94%, прогностическая ценность положительного результата – 95% и прогностическая ценность отрицательного результата – 93%.

Среди 35 больных онкологического профиля ультразвуковая картина изменилась у 13 человек. Эти изменения заключались в увеличении количества вновь выявленных очаговых образований малых размеров (2–5 мм) у 5 человек, выявлении доброкачественных образований у 5 человек и обнаружении метастазов, не видимых при нативном ультразвуковом исследовании, у 3 человек.

Таким образом, после введения ЭКП и ультразвукового исследования в артериальную, портальную и позднюю фазы выявлено значимое преобладание больных с множественными ($p=0,041$) образованиями до 30 мм ($p=0,053$).

Основной особенностью УЗ-картины печени после КУ было повышение контрастности печени и изменение характеристики очаговых образований, экзогенность которых определяется фазой исследования и состоянием сосудистой архитектоники печени и патологических образований, поскольку органом-мишенью данного препарата являются сосуды циркуляторного русла различного порядка (Westwood M. et al., 2013).

Метастазы характеризуются хаотичностью сосудистого строения и незавершенностью формирования слоев сосудистой стенки, наличием множества анастомозов, артериовенозных шунтов. Вторичные очаговые образования подразделяются на гипervasкулярные и гиповаскулярные. Гипervasкулярные метастазы имеют богатую сеть незрелых сосудов, что приводит к быстрому поступлению контрастного препарата и быстрому его вымыванию относительно неизменной ткани печени. Гиповаскулярные метастазы имеют обедненный кровоток, контраст в них поступает хуже, чем в окружающую паренхиму (Hohmann J. et al., 2003; Liu L.N. et al., 2013).

Как известно, возможности КТ и МРТ с использованием йодсодержащих и гадолиниевых препаратов позволяют дифференцировать гипер- и гиповаскулярные метастазы (Cokkinos D. et al., 2012). В нашем исследовании использование КУ обеспечило получение аналогичных данных.

У двух больных с гипervasкулярными образованиями в артериальную фазу (10–35-я с) регистрировали высокую контрастность образований на фоне поступления контраста в окружающую ткань печени. В портальную фазу (35–120-я с) контрастность очагов снижалась на фоне высокой контрастности окружающей ткани печени – эффект раннего вымывания. В позднюю фазу (более 120 с) контрастное усиление в очаговых образованиях отсутствовало в сочетании со снижением контрастности печени.

В противоположность подобной закономерности контрастирования гиповаскулярные образования у 17 больных в артериальную фазу (10–35-я с) имели слабую визуализацию на фоне быстро возникающего контрастирования паренхимы печени. В портальную фазу (35–120-я с) нарастало контрастное усиление печени и визуализация очагов в виде гиповаскулярных образований на этом фоне улучшалась. В течение 120–360-й с (поздняя фаза) была отмечена отчетливая визуализация очагов в виде гиповаскулярных образований на фоне медленного снижения контрастирования печени (рисунок 2).

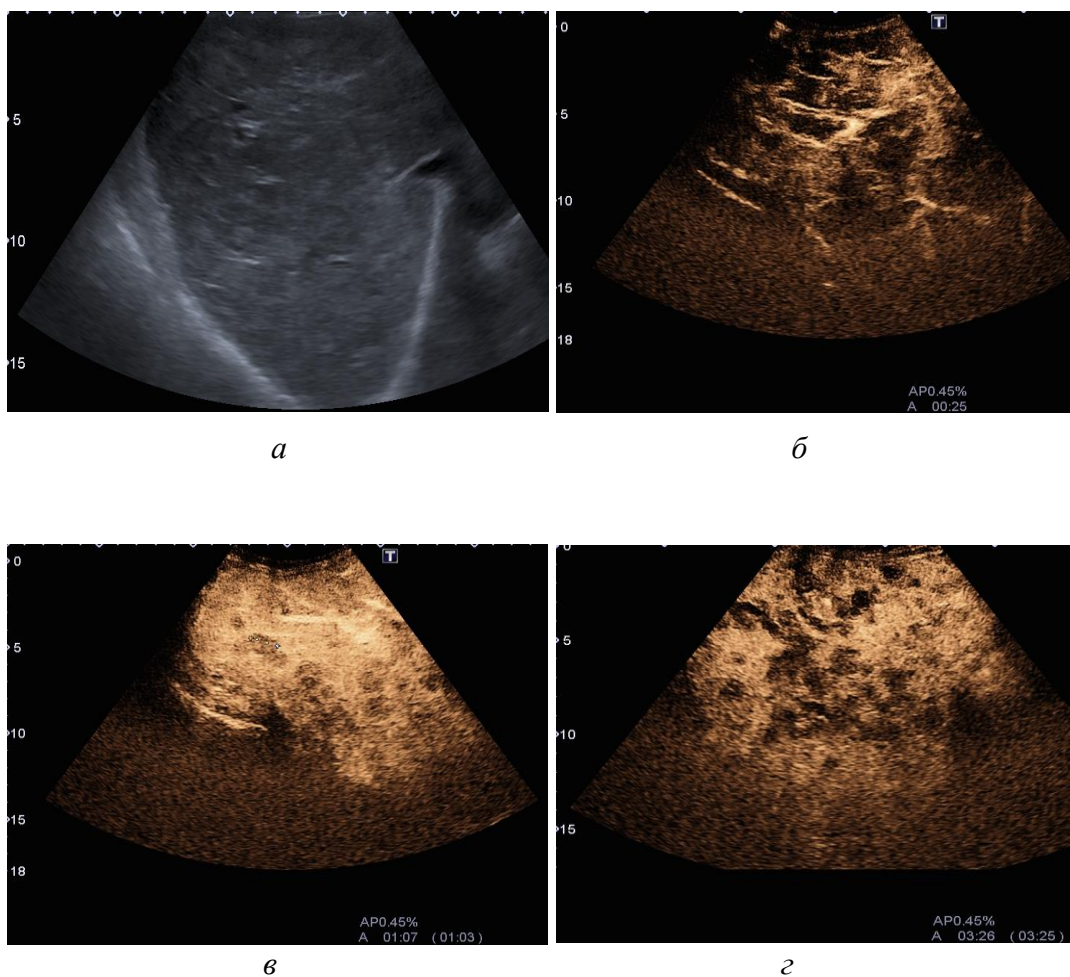


Рисунок 2 – Эхограммы множественных гиповаскулярных метастазов печени в В-режиме (*а*) и после КУ в артериальную (*б*), портальную (*в*), позднюю (*г*) фазы исследований: *а* – множественные изоэхогенные образования; *б* – артериальная фаза (0:25) – множественные гипоэхогенные участки неправильной формы на фоне поступления контрастного вещества; *в* – портальная фаза (01:03) – множественные гипоэхогенные округлые образования на фоне повышенной контрастности печени; *г* – поздняя фаза (03:26) – множественные гипоэхогенные округлые очаги на фоне снижения контрастности печени

Полученные нами данные о возможностях ультразвукового контрастного усиления в установлении характера васкуляризации вторичных очаговых образований печени полностью согласуются с достаточно большим количеством зарубежных публикаций (Quaia E., 2003; Correas J.M., 2003; Hiraoka1 A., 2010; Smajerova M. et al., 2016; Dong Y. et al., 2017).

Анализ характера васкуляризации метастатических образований показал значительное преобладание гиповаскулярных метастазов ($p=0,005$) в исследуемой группе больных. О подобных же закономерностях сообщается и в публикациях Quaia E. (2003), Burns Peter N. (2014), Bartolotta TV. (2016).

В литературе большое значение придается возможностям ультразвукового исследования с контрастным усилением в выявлении очаговых образований печени малых размеров (Correas J.M., 2003; Lencioni R., 2009; Hiraoka1 A., 2010; Burns Peter N., 2014; Dong Y. et al., 2017).

Полученные нами данные не противоречат информации, приведенной в опубликованных работах по исследуемой теме, о чем свидетельствует визуализация у 5 больных внутрипеченочных очагов маленьких размеров – до 5 мм.

Чрезвычайно важным представляется тот факт, что методика КУ в ультразвуковой диагностике превосходит КТ и МРТ в получении изображения в артериальную фазу в силу определенных технических проблем (Quaia E., 2003; Brannigan M., 2004; Takada H. et al., 2016).

Однако, мы столкнулись с проблемой одновременной визуализации всех очаговых образований в артериальную фазу при множественности поражения печени в связи с короткой продолжительностью артериальной фазы и невозможностью осмотра одномоментно всех сегментов печени.

В то же время результаты КУ в ультразвуковой диагностике аналогичны возможностям КТ и МРТ в визуализации и дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных новообразований печени, в чем мы могли убедиться на примере визуализации гемангиом (n=2), кист (n=2) и фиброnodулярной гиперплазии (n=1).

Полученные нами данные убедительно показали повышение эффективности ультразвуковой диагностики метастатических образований печени после выполнения контрастного усиления, что было обусловлено возможностью оценки характера васкуляризации доброкачественных и злокачественных образований (табл. 2).

Таблица 2 – Характеристика диагностической эффективности УЗИ при нативном исследовании и КУ

Методы исследования	Показатели диагностической эффективности, %				
	Se	Sp	De	PV+	PV-
УЗИ в В-режиме	80	66	73	76	71
УЗИ с ЭКП на основе гексафторида серы	95	93	94	95	93

Использование ЭКП повысило чувствительность на 15%, специфичность на 27%, диагностическую точность на 21%, прогностическую ценность положительного результата на 19% и прогностическую ценность отрицательного результата на 22%, что согласуется с литературными данными последних лет.

Так, по данным Sporea I.(2014) и Spârchez Z., Radu P.(2014) диапазон диагностической точности контрастного усиления в обнаружении доброкачественных и злокачественных образований печени и желчевыделительной системы с использованием SonoVue (Bracco Swiss SA, Швейцария) составил от 89% до 94%.

Shu-Guang Zheng, Hui-Xiong Xu, Lin-Na Liu (2014) и Tae Kyoung Kim, Hyun-Jung Jang (2014) приводят данные о том, что в результате проведенных ультразвуковых исследований печени при выявлении очаговых образований печени с использованием КУ получили чувствительность и специфичность метода 88%, 89% и 96%, 98% соответственно.

Таким образом, данные диссертационной работы подтверждают опубликованные материалы о повышении диагностической эффективности ультразвукового исследования при контрастном усилении, что должно привести к востребованности этого метода в широкой клинической практике, доступности ультразвуковых контрастных агентов и созданию отечественных ЭКП.

Результаты экспериментальных исследований

При исследовании *in vitro* в стационарной системе тестируемый ЭКП представлял собой гомогенную суспензию мелкодисперсной структуры высокой эхогенности, медиана показателя интенсивности эхогенности составила 90%. Факт контрастного усиления сохранялся на протяжении 3–4 мин с последующим снижением. В качестве сравнения использовали смесь воды и атмосферного воздуха, полученную взбалтыванием в контейнере, время контрастирования составило 1–1,5 мин.

При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости животных 1, 2 и 3-й групп в В-режиме после введения ЭКП наблюдалось повышение эхогенности печени с нарастанием медианы ее интенсивности от 69 до 89%, от 66 до 102%, от 63 до 93%

соответственно. Было отмечено улучшение детализации трабекулярных структур печени (за счет визуализации сосудов печени мелкого калибра) до 3–4-го порядка по сравнению с трабекулярным рисунком до 2-го порядка на нативных сонограммах. Общее время контрастирования составило в среднем от 3 до 4 мин. Очаговые образования на фоне контрастного вещества у животных 2-й группы визуализировались как гиперэхогенные структуры (инородные тела) с анэхогенной полоской и зоной сниженной эхогенности по периферии толщиной до 3–4 мм, что характерно для отека. У животных 3-й группы после введения ЭКП первые очаговые образования (искусственные кисты) визуализировались как анэхогенные структуры диаметром 2–2,5 см шаровидной формы, с однородным содержимым, с ровными, четкими контурами; вторые образования (абсцессы) визуализировались как изоэхогенные, неправильной формы, с неоднородной структурой, с жидкостным компонентом, с неровными, четкими контурами.

При ультразвуковом исследовании органов брюшной полости животных 4-й и 5-й групп в режиме Contrast Harmonic Imaging после введения ЭКП с 4-й отмечалось появление сосудистого рисунка с постепенным повышением эхогенности паренхимы и достижением максимальной интенсивности к 20-й с. В ходе исследования визуализировались артериальная (10–35 с), портальная (35–120 с) и поздняя (более 120 с) фазы. Общее время контрастирования составило 3–4 мин. Очаговые образования у животных 5-й группы при введении ЭКП визуализировались гипоехогенными (неконтрастными) на фоне нарастающей контрастности печени в артериальную фазу, высокой контрастности печени в портальную фазу и снижающейся контрастности печени в позднюю фазу. Размер образований составил 15–31 мм. По периферии образований визуализировался гиперэхогенный ободок, зона грануляции. Контур образований приобрели более четкий характер, контрастность образования повысилась (рисунок 3).

У всех животных с очаговыми поражениями печени введение ЭКП обеспечило высокую визуализацию (по сравнению с В-режимом) образований, позволяющую четко определить их размеры и границы относительно окружающих тканей.

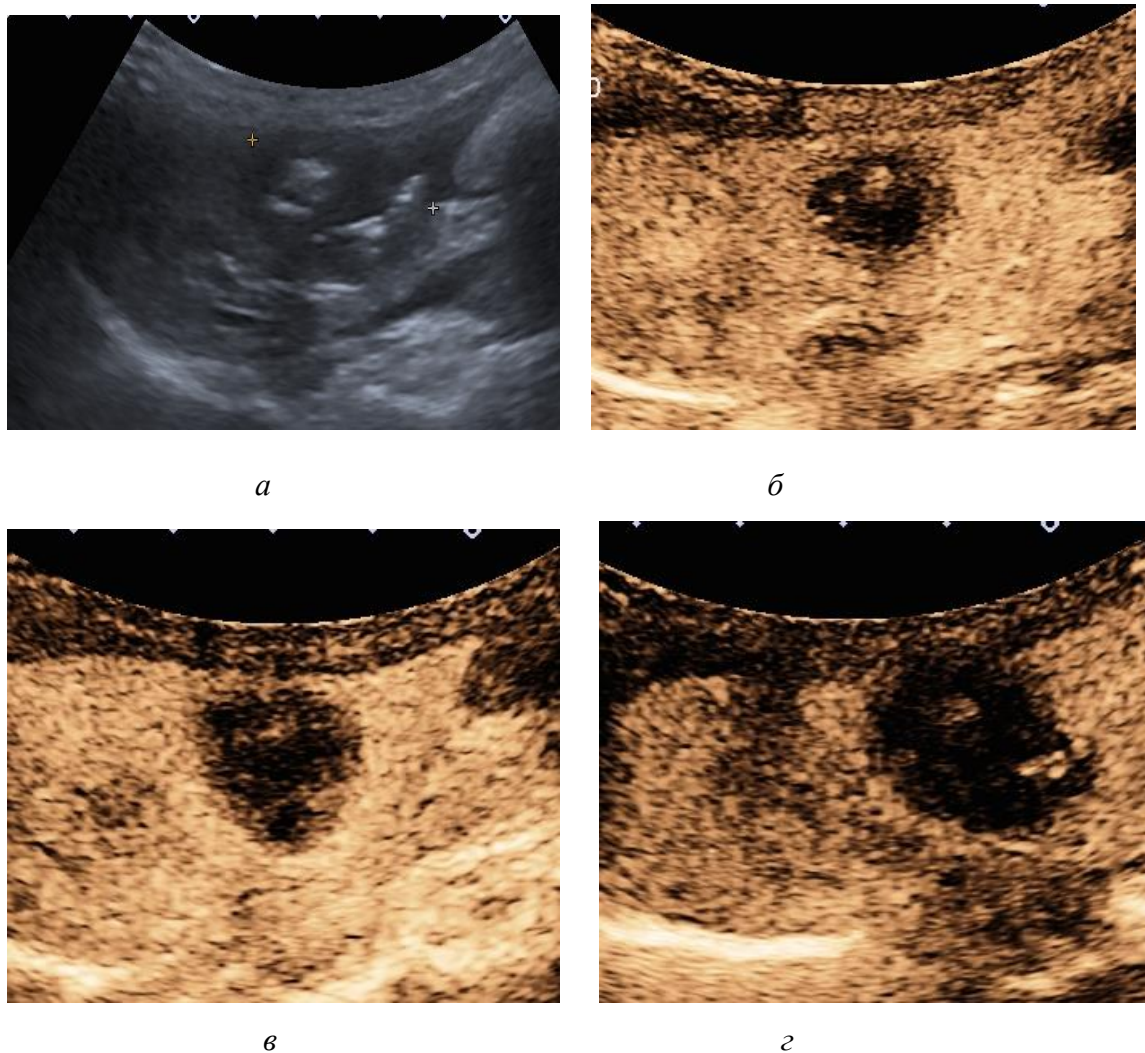


Рисунок 3 – Эхограммы ткани печени кролика в В-режиме (а) и после КУ в артериальную (б), портальную (в), позднюю (г) фазы исследований: а – изоэхогенное образование с неоднородной структурой, с неровными нечеткими контурами; б – артериальная фаза (0:15) – гипоехогенное образование на фоне поступления контрастного вещества; в – портальная фаза (00:50) – гипоехогенное образование на фоне повышенной контрастности печени; г – поздняя фаза (03:30) – гипоехогенное образование на фоне снижения контрастности печени

Гистологическая картина смоделированных очаговых поражений печени у всех животных верифицировала зоны некроза и воспалительную инфильтрацию прилежащих тканей.

При математическом анализе было получено статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение интенсивности эхогенности от 24 до 37% у трех групп животных (крысы, свиньи). Эффект контрастирования фиксировался с 4-й с, максимальная интенсивность достигалась к 20-й с. Общее время контрастирования составляло 3–4 мин.

Результаты исследования фармакокинетики лекарственного средства

После однократного внутривенного введения в плазме крови кроликов среднее время удерживания лекарственного средства MRT составило 3,4 мин, что свидетельствует о его быстром выведении из организма (таблица 3).

Таблица 3 – Параметры фармакокинетики гексафторида серы у кроликов после внутривенного введения в дозе 4 мкл/кг

	C ₀ , нл/мл	AUC _{0-∞} , нл·ч/мл	V _d , мл/кг	CL, мл/(кг·ч)	MRT, мин	k _{el} , ч ⁻¹	T _{1/2} , мин
Mean	367,74	22,68	10,88	176,36	3,40	17,66	2,35
SD	5,29	0,22	0,16	1,74	0,03	0,14	0,02
CV%	1,43	0,98	1,44	0,99	0,80	0,79	0,80

После однократного внутривенного введения в плазме крови крыс оценки концентраций ГС показали одну фазу быстро снижения в течении 10 минут, полупериод элиминации составил 5,8 минут, значение среднего времени удерживания MRT составило 8,42 мин, что свидетельствует о быстром выведении его из организма (таблица 4).

Таблица 4 – Параметры фармакокинетики гексафторида серы у крыс после внутривенного введения в дозе 15 мкл/кг

	C ₀ , нл/мл	AUC _{0-∞} , нл·ч/мл	V _d , мл/кг	CL, мл/(кг·ч)	MRT, мин	k _{el} , ч ⁻¹	T _{1/2} , мин
Mean	12,18	1,36	1231,63	11007,38	8,42	7,12	5,84

После многократного внутривенного введения в плазме крови кроликов количественная оценка концентрации лекарственного средства показала отсутствие эффекта возможной кумуляции (таблица 5).

Таблица 5 – Концентрации гексафторида серы в плазме крови кроликов после многократного болюсного внутривенного введения в дозе 4 мкл/кг

	Время, ч						
	0,050	0,083	0,167	0,250	0,333	0,500	0,750
Mean	180,73	66,25	20,72	4,40	0,00	0,00	0,00
SD	2,28	3,20	0,39	0,21	0,00	0,00	0,00
CV%	1,28	5,04	1,83	4,65			

Основываясь на показателях фармакокинетики, установили эффект быстрого выведения после однократной внутривенной инъекции в эффективной дозе у кроликов и крыс. После многократного внутривенного введения у кроликов зарегистрировано отсутствие эффекта кумуляции.

Результаты исследования безопасности лекарственного средства

В результате изучения острой токсичности было показано, что введение ЛС на основе гексафторида серы в максимально допустимом для данного пути введения объеме не приводит к гибели и не оказывает токсического действия на организм животных при наблюдении за ними в течение 14 дней. Введение ЛС крысам и мышам в максимально возможном объеме не привело к гибели животных, что не позволило применить пробит-анализ для вычисления ЛД₅₀. Макроскопическое исследование при вскрытии всех выживших животных на 14-е сутки после введения ЭКП не выявило какой-либо патологии внутренних органов.

Изучение хронической токсичности ЛС на основе гексафторида серы показало, что тестируемый препарат при внутрибрюшинном введении крысам и внутривенном введении кроликам в течение 60 дней не оказывает какого-либо токсического действия на функциональное состояние их органов и систем.

Таким образом, в результате проведенной работы показана высокая эффективность и безопасность отечественного ЭКП, использование которого повышает диагностическую информативность ультразвукового исследования.

ВЫВОДЫ

1. Эхоконтрастное ультразвуковое исследование повышает диагностическую эффективность ультразвуковой диагностики очаговых образований печени у больных онкологического профиля с возрастанием чувствительности с 80 до 95% и специфичности с 66 до 93% при нативном и постконтрастном исследовании соответственно.

2. Постконтрастное ультразвуковое исследование повышает эффективность выявления у пациентов очаговых образований печени средних размеров – до 30 мм ($p=0,053$), в количестве больше 3 ($p=0,041$).

3. Характер распределения эхоконтрастного препарата в зависимости от фазы контрастирования свидетельствует о достоверном преобладании гиповаскулярных метастазов ($p=0,005$) в общей группе пациентов по сравнению с гиперваскулярными образованиями.

4. Особенностью ультразвуковой картины печени при контрастном усилении в артериальную фазу (10–35 с) является сложность объективной оценки количества метастатических (очаговых) образований в реальном масштабе времени в силу малой длительности артериальной фазы.

5. Сформированный в экспериментальной модели абсцесс печени, изоэхогенный при нативном исследовании, отчетливо визуализируется за счет повышения эхогенности печени после введения эхоконтрастного препарата.

6. Исследование общей токсичности и фармакокинетики отечественного эхоконтрастного препарата показало, что изученное лекарственное средство быстро выводится из организма без эффекта кумуляции и не оказывает токсического действия на функциональное состояние органов и систем экспериментальных животных.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для повышения информативности ультразвукового исследования в выявлении очаговых образований печени необходимо использовать контрастное усиление. Введение эхоконтрастного препарата позволяет получить контрастное усиление печени в артериальную (10-35 с), портальную (35-120 с) и позднюю (> 120 с) фазы исследования. Оценка контрастного усиления в артериальную, портальную и позднюю фазы исследования позволит провести дифференциальную диагностику злокачественных и доброкачественных образований.

2. Очаговые образования печени низкой эхогенности в артериальную, портальную и позднюю фазы следует расценивать как гиповаскулярные метастазы. Очаговые образования печени высокой эхогенности в артериальную фазу и низкой эхогенности в портальную, позднюю фазы исследования следует расценивать как гиперваскулярные метастазы.

3. Определение васкуляризации и точного количества метастазов при множественном метастатическом поражении печени требует болюсного введения препарата при сканировании каждой доли печени по заранее определенной схеме с выделением приоритетных зон.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Фомина С.В. Контрастные препараты для ультразвукового исследования / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, М.С. Юсубов, Л.А. Дрыгунова, В.Д. Филимонов // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 10, № 6. – С. 137–141.
2. Фомина С.В. Модель очагового поражения печени для тестирования контрастных препаратов при ультразвуковом исследовании / С.В. Фомина, И.В. Суходоло, В.Д. Завадовская, И.В. Мильто, Л.В. Борисова // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – Т. 11, № 5. – С. 35–38.
3. Фомина С.В. Экспериментальная апробация образца отечественного ультразвукового контрастного препарата / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, М.С. Юсубов, Н.Г. Завьялова, Т.Б. Перова, В.Д. Филимонов, И.В. Суходоло, И.В. Мильто, Л.А. Дрыгунова, М.Ю. Грищенко, М.М. Ларионов // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2014. – №5. – С.110-118.
4. Фомина С.В. Экспериментальная апробация эхоконтрастного препарата на основе гексафторида серы в диагностике очаговых образований печени воспалительного генеза / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, А.А. Чурин, М.С. Юсубов// Бюллетень сибирской медицины. – 2017. – Т. 16, № 1. – С. 100-106.
5. Пат. 2485976 Российская Федерация, МПК А 61К 49/22. Контрастное средство для ультразвуковой диагностики / Завадовская В.Д., Юсубов М.С., Дрыгунова Л.А., Фомина С.В.; заявитель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации (RU). – № 2011119851; заяв. 17.05.2011; опубл. 27.06.13, Бюл.№18. – 6 с.: ил.
6. Фомина С.В. Отечественные эхоконтрастные препараты / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, В.Д. Филимонов, И.В. Мильто, И.В. Суходоло // Ультразвуковая и функциональная диагностика : тезисы V съезда врачей ультразвуковой диагностики Сибирского Федерального округа, г. Кемерово. – 2009. – № 5. – С. 129–130. – ISSN 1607-0771.
7. Фомина С.В. Эхоконтрастные препараты в клинической практике / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, Д.А. Горлушко, В.Д. Филимонов // Сб. тезисов Невского радиологического форума / под ред. В.И. Амосова. – СПб. : Издательство СПбГМУ, 2009. – С. 567–569.
8. Фомина С.В. Контрастные средства для ультразвукового исследования / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, Л.А. Дрыгунова, М.С. Юсубов, В.Д. Филимонов // Современные методы медицинской визуализации и интервенционной радиологии : сб. тр. VIII науч.-практ. конф. радиологов Узбекистана с международным участием / под ред. А.И. Икрамова. – Ташкент, 2010. – С. 284.
9. Фомина С.В. Разработка отечественного эхоконтрастного препарата в эксперименте / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, Л.А. Дрыгунова, М.С. Юсубов, В.Д. Филимонов // Материалы Невского радиологического форума. – СПб.: ЭлбиСПб, 2011. – С. 412–413.
10. Фомина С.В. Разработка образца эхоконтрастного препарата для ультразвуковой диагностики на основе гетерогенной системы газ – жидкость / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, Л.А. Дрыгунова, М.С. Юсубов, В.Д. Филимонов // Материалы II съезда врачей лучевой диагностики Сибири / под ред. В.Д. Завадовской, О.Ю. Килиной, М.А. Зоркальцева, Е.И. Федоровой. – Томск: ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава, 2012. – С. 179–182.
11. Фомина С.В. Первый образец отечественного эхоконтрастного препарата (экспериментальное исследование) / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, Л.А. Дрыгунова, М.С. Юсубов, В.Д. Филимонов // Материалы III съезда врачей лучевой диагностики Сибирского Федерального округа, г. Красноярск, 2–3 октября 2014 г. / под ред. заслуж. врача РФ д-ра мед. наук, проф. С.И. Жестовской. – Красноярск: КрасГМУ; М.: МИК, 2014. – С.251.
12. Фомина С.В. Опыт визуализации метастазов печени при ультразвуковом исследовании с контрастным препаратом / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, Н.Г. Завьялова,

О.Ю. Бородин, М.С. Юсубов, Л.А. Дрыгунова // Материалы Невского радиологического форума / под ред. В.Е. Савелло. – СПб. : Элби-СПб, 2015. – С. 744-745.

13. Фомина С.В. Возможности ультразвукового исследования с контрастным препаратом в диагностике метастазов печени / С.В. Фомина, В.Д. Завадовская, Н.Г. Завьялова, М.С. Юсубов, Л.А. Дрыгунова // Медицинская диагностика-2015 : материалы VII научно-образовательного форума с международным участием и IX всероссийского национального конгресса лучевых диагностов и терапевтов «Радиология-2015» // Российский электронный журнал лучевой диагностики (Russian Electronic Journal of Radiology (REJR)). – 2015. – Т. 5, № 2. – С.52-53. – www.rejr.ru.

Список сокращений

ГПЦК	– гепатоцеллюлярная карцинома
ГС	– гексафторид серы
КРР	– колоректальный рак
КТ	– компьютерная томография
КУ	– контрастное усиление
ЛС	– лекарственное средство
МРТ	– магнитно-резонансная томография
СОЭ	– скорость оседания эритроцитов
СРБ	– С-реактивный белок
УЗИ	– ультразвуковое исследование
ЦДК	– цветное доплеровское картирование
ЭДК	– энергетическое доплеровское картирование
ЭКП	– эхоконтрастный препарат
ИП	– истинноположительный результат
ИО	– истинноотрицательный результат
ЛП	– ложноположительный результат
ЛО	– ложноотрицательный результат

Научное издание

Фомина Светлана Викторовна

**Ультразвуковое исследование печени с использованием эхоконтрастных препаратов на
основе гексафторида серы**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Подписано в печать 27.04.2017. Формат 60×90/16.

Усл. печ. л. 1,37. Уч.-изд. л. 1,0.

Тираж 120 экз. Заказ № 178

Томский государственный университет
систем управления и радиоэлектроники

634050, г. Томск, пр. Ленина, 40.

Тел. (3822) 533018.