

Вахрушев Александр Дмитриевич

ГЕМОДИНАМИЧЕСКИЕ И ЛОКАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ РАСШИРЕННОЙ КАТЕТЕРНОЙ
АБЛАЦИИ ПОЧЕЧНЫХ АРТЕРИЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЛАЗЕРНОЙ ЭНЕРГИИ ДЛЯ ПЕРИВАСКУЛЯРНОЙ ДЕНЕРВАЦИИ

3.1.15 – Сердечно-сосудистая хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Михайлов Евгений Николаевич, доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Сухов Валентин Константинович – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра сердечно-сосудистой хирургии, профессор кафедры

Мамчур Сергей Евгеньевич – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», отдел диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, заведующий отделом

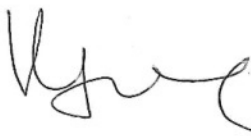
Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

Защита состоится «20» декабря 2021 г. в 15:30 на заседании диссертационного совета 21.1.028.02 (Д 208.054.04) на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России (197341, Санкт–Петербург, ул. Аккуратова, д.2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России (197341, Санкт–Петербург, ул. Аккуратова, д.2) и на сайте <http://www.almazovcentre.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2021 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
21.1.028.02 (Д 208.054.04)
доктор медицинских наук, профессор



Недошивин Александр Олегович

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Дисфункция автономной нервной системы вносит значительный вклад в механизмы развития сердечно-сосудистых заболеваний. При таких состояниях, как артериальная гипертензия (АГ), легочная артериальная гипертензия (ЛАГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), хроническая сердечная недостаточность (ХСН), отмечена избыточная активация симпатической нервной системы и/или снижение парасимпатической активности. Имеются экспериментальные и клинические доказательства того, что симпатическая гиперактивация играет важную роль в развитии как АГ, так и ЛАГ [Vaillancourt M., et al. 2017].

В настоящее время распространенность АГ среди населения РФ составляет около 40%. Попытки хирургического лечения АГ были предприняты в середине XX века, когда Smithwick R.H. предложил метод билатеральной люмбодорсальной симпатэктомии и спланхникэктомии с резекцией симпатических ганглиев в нижнегрудном отделе. Однако впоследствии от данного метода в качестве лечения эссенциальной АГ отказались, ввиду частого развития осложнений со стороны внутренних органов и ортостатической гипотензии, а также в связи с появлением эффективных антигипертензивных лекарственных средств.

Ренальная денервация (симпатическая денервация почечных артерий (ПА)) была предложена в качестве малоинвазивного подхода, альтернативного хирургической неселективной симпатэктомии. Процедура катетерной ренальной денервации (РД) представляет собой абляцию периваскулярных симпатических нервов почечных артерий путем нанесения повреждающего воздействия со стороны эндотелиальной выстилки. При этом для деструкции нервных волокон применяются как физические методы (радиочастотный ток с униполярной или биполярной конфигурацией рабочих электродов, сфокусированный ультразвук, бета-излучение), так и локальное введение химических веществ-нейротоксинов. Различаются также варианты расположения повреждающего элемента на стенке почечных артерий: на управляемых и неуправляемых моно- и многополосных, баллонных катетерах, в просвете артерии. Наибольшее распространение получили методы радиочастотной абляции, несмотря на ряд известных ограничений (неоднородность глубины повреждения) [Fontes M., et al. 2020]. В последнее время в некоторых работах показаны преимущества альтернативных методов воздействия и источников энергии, таких как, например, ультразвуковая абляция [Torii S, et al. 2018].

Хотя результаты клинического исследования SYMPPLICITY HTN-3 оказались нейтральными и не продемонстрировали преимущества РД для снижения артериального давления в сравнении ложноперированной группой, ряд недостатков протокола и выполнения исследования способствовали сохранению интереса специалистов к РД. Такие модификации

подхода к РД, как абляция всех доступных ветвей почечных артерий и использование катетеров специальной конструкции, позволяющей достигать более надежного контакта с сосудистой стенкой, в новых многоцентровых рандомизированных исследованиях позволили доказать эффективность РД для коррекции артериального давления при наблюдении от 6 до 12 месяцев [Kandzari D.E., et al. 2018; Bohm M., et al. 2020].

Кроме снижения артериального давления, уменьшение симпатической нервной активности после РД приводит к другим положительным эффектам. К ним относятся уменьшение гипертрофии левого желудочка (ЛЖ), увеличение скорости клубочковой фильтрации, улучшение гликемического профиля и т.д. В ретроспективных исследованиях показана положительная роль РД при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка в отношении обратного ремоделирования миокарда и толерантности к физической нагрузке [McArdle M.J., 2015].

Отрицательное влияние симпатической гиперактивации было продемонстрировано также в патогенезе ЛАГ [Velez-Roa S., et al. 2004]. ЛАГ – патофизиологическое и гемодинамическое состояние, возникающее при ряде заболеваний и характеризующееся ремоделированием лёгочных артерий с гипертрофией меди, фиброзом интимы и адвентиции, сопровождающееся увеличением лёгочного сосудистого сопротивления (ЛСС), недостаточностью правого желудочка (ПЖ) и приводящее к преждевременной смерти. В настоящее время активно изучаются подходы к снижению активности симпатической нервной системы (СНС) при ЛАГ, включая транскатетерную или хирургическую денервацию лёгочной артерии (ЛА), а также электростимуляцию блуждающего нерва.

Несмотря на интенсивное изучение эффектов РД у пациентов с АГ, систематического анализа влияния РД на гемодинамику малого круга кровообращения не проводилось. В одном экспериментальном исследовании на собаках было показано влияние хирургической РД на обратное ремоделирование ПЖ и сосудов малого круга кровообращения (МКК) при монокроталиновой ЛАГ [Qingyan Z., et al. 2015]. Течение ЛАГ может усугубляться генерализованной активацией эфферентных симпатических волокон, приводящей к вазоконстрикции, задержке натрия и активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [Maron V.A., et al. 2014]. В этих условиях деактивация афферентных нервных волокон, проходящих в составе почечных нервов, может модулировать общую активность СНС и оказывать положительное воздействие на гемодинамику малого круга кровообращения при ЛАГ.

Таким образом, актуальным является изучение влияния РД на гемодинамику малого круга кровообращения в экспериментальных исследованиях на нормотензивных животных и на модели острой ЛАГ. Также необходим поиск альтернативных методов катетерной денервации

ПА, обладающих повышенной эффективностью и безопасностью в сравнении с применяющимися способами.

Цель исследования

Изучить влияние расширенной (дистальной и проксимальной) денервации почечных артерий на гемодинамические параметры большого и малого кругов кровообращения в норме и при индуцированной лёгочной артериальной гипертензии, а также оценить безопасность ренальной денервации с применением катетерной лазерной абляции.

Задачи исследования

1. Изучить влияние расширенной (дистальной и проксимальной) многоэлектродной денервации почечных артерий на гемодинамические параметры малого круга кровообращения у нормотензивных свиней в эксперименте.
2. Изучить эффекты расширенной денервации почечных артерий на индуцируемость лёгочной артериальной гипертензии в экспериментальной модели у свиней.
3. Изучить безопасность расширенной денервации почечных артерий в остром эксперименте путем оценки прижизненных ангиографических изменений артерий и последующего анализа аутопсийного материала.
4. Изучить безопасность применения лазерной энергии для катетерной абляции почечных нервов в пилотном эксперименте.

Научная новизна

1. Определены краткосрочные эффекты денервации почечных артерий на лёгочную гемодинамику в условиях нормотензии и на модели обратной лёгочной артериальной гипертензии. Выявлено снижение уровня диастолического давления в лёгочной артерии, а также лёгочного сосудистого сопротивления у нормотензивных свиней после ренальной денервации.
2. Установлено, что катетерная лазерная абляция сопровождается более обширным повреждением как сосудистой стенки, так и околососудистой ткани с периваскулярными нервами. При этом риск тромбообразования ниже, чем при радиочастотной абляции.

Теоретическая и практическая значимость

1. Выявленные краткосрочные эффекты ренальной денервации на системную и лёгочную гемодинамику следует учитывать при проведении экспериментальных и клинических исследований у нормо- и гипотензивных субъектов, в которых изучаются эффекты снижения активности симпатической нервной системы.

2. Отсутствие ангиографических изменений почечных артерий не исключает повреждение сосудистой стенки и формирование пристеночных тромбов в почечных артериях после радиочастотной абляции на фоне гепаринизации.
3. Экспериментально обосновано применение катетерной лазерной абляции для ренальной денервации; необходима титрация мощности воздействия для безопасного воздействия.

Методология и методы исследования

Набор использованных методов исследования соответствует современному уровню экспериментальных исследований. Методы статистической обработки данных являются современными и отвечают поставленной цели и задачам исследования.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Расширенная ренальная денервация оказывает влияние на системную и лёгочную гемодинамику, в частности, снижая систолическое системное артериальное давление и снижая сопротивление лёгочных сосудов.
2. В условиях тромбоксановой модели транзиторной лёгочной артериальной гипертензии, применение ренальной денервации не сопровождается положительными гемодинамическими эффектами.
3. Катетерная ренальная денервация сопровождается травмой стенки артерии в виде микродиссекций; лазерная абляция не характеризуется тромбообразованием на эндотелии, в отличие от радиочастотной абляции
4. Лазерная катетерная абляция может рассматриваться как перспективный метод денервации артериальных сосудов при условии обеспечения управляемой титрации энергии.

Степень достоверности и апробация результатов

Объём экспериментального материала позволяет сделать основные выводы. Эксперименты разделены на четыре фазы, в каждой из которых рассчитан объём необходимой выборки при мощности 80%. Количество экспериментальных животных было минимизировано, где это возможно, в соответствии с рекомендациями «3-R» для исследований на животных.

Материалы диссертации были представлены в виде докладов на научных конференциях: «Национальный медицинский инновационный форум», Санкт-Петербург, 2019 г; «IX Всероссийский съезд аритмологов», Санкт-Петербург, 2021 г; конгресс Европейского Кардиологического Общества 2020 года (ESC congress 2020 - онлайн конгресс), конгресс Европейского Кардиологического Общества 2021 года (ESC congress 2021 - онлайн конгресс).

По результатам диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 7 статей в журналах, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата наук», 7 статей в изданиях, индексируемых в базах Web of Science и/или Scopus.

Результаты исследования внедрены в экспериментальную практику Центра доклинических и трансляционных исследований ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, а также клиническую практику отделения рентген-хирургического лечения сложных нарушений ритма и электрокардиостимуляции ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (Санкт-Петербург), а также в образовательные программы кафедры сердечно-сосудистой хирургии Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России (Санкт-Петербург).

Результаты исследования применялись в реализации клинической апробации метода радиочастотной абляции симпатических нервов, расположенных в адвентиции почечных артерий, у пациентов с резистентной артериальной гипертензией в 2018-2020 гг (номер апробации 2018-12-11).

Личное участие автора

Автор принимал непосредственное участие в разработке концепции исследования, а также самостоятельно проводил экспериментальные операции по денервации почечных артерий. Также автор выполнял научный и статистический анализ полученных данных.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 99 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа содержит 8 таблиц и 23 рисунка. Указатель литературы включает 106 источников, из них 3 отечественных и 103 иностранных.

Содержание работы

Материалы и методы исследования

Дизайн исследования

В экспериментальную работу было включено 34 свиньи породы Ландрас возрастом около 3 месяцев. Исследование состояло из 4 фаз: (I) исследование влияния расширенной денервации почечных артерий на гемодинамику большого и малого кругов кровообращения – рандомизированное экспериментальное исследование в двух группах животных: группа расширенной билатеральной радиочастотной денервации ПА (n=7) и «ложнооперированная». группа, группа контроля (n=6); (II) апробация модели транзитной лёгочной гипертензии с

использованием синтетического аналога тромбоксана A2: подбор доз и режима введения препарата для безопасной индукции гипертензии с целевым значением среднего давления в лёгочной артерии 40 мм. рт. ст. (n=7); (III) изучение влияния денервации почечных артерий на гемодинамику малого круга кровообращения при моделировании лёгочной артериальной гипертензии – рандомизированное экспериментальное исследование в двух группах животных (n=10): двукратное моделирование лёгочной гипертензии – до и после ренальной денервации в первой группе и моделирование до и после ложной процедуры – ЛО группа; (IV) катетерная лазерная денервация почечных артерий с оценкой микроскопических изменений стенки артерий и периваскулярных нервов (n=4).

Все этапы исследования были одобрены комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных (IACUC).

Работа выполнена в рамках гранта Министерства науки и высшего образования №075-15-2020-800 «Разработка новых технологий профилактики и лечения сердечной недостаточности на основе нейромодуляции».

Условия проведения эксперимента

Фаза I – расширенная ренальная денервация у нормотензивных животных

Эксперименты проводились на свиньях линии Ландрас (вес животных составил от 35 до 42 кг) на базе Центра доклинических и трансляционных исследований ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России. Все экспериментальные исследования были острыми, т.е. животные выводились из эксперимента в конце процедуры.

После введения животного в наркоз и интубации налаживалась регистрация электрокардиограммы и пульсоксиметрии. Затем осуществлялся доступ к бедренной вене и бедренной артерии под контролем рентгеноскопии (рентген аппарат Philips BV Endura, Нидерланды), после чего выполнялось измерение уровня системного артериального давления, давления заклинивания легочных капилляров (ДЗЛК), давления в лёгочной артерии (ДЛА), давления в правом желудочке (ДПЖ) и центрального венозного давления (ЦВД). Также выполнялся забор венозной и артериальной крови для исследования следующих параметров: парциальное давление кислорода (pO₂), парциальное давление углекислого газа (pCO₂), уровень сатурации гемоглобина кислородом (SO₂), уровень гемоглобина (Hb) на портативном клиническом анализаторе i-STAT (Abbott Laboratories, США).

Через многоцелевой длинный интродьюсер (Preface, Biosense Webster, США), установленный в бедренную артерию, выполнялось контрастирование брюшного отдела аорты с визуализацией ПА. Затем, в просвет ПА вводился многоэлектродный баллонный абляционный электрод Vessix (Boston Scientific, США) с диаметром баллона 5 – 6 мм в зависимости от диаметра артерий.

В группе денервации под контролем флюороскопии проводилось позиционирование многоэлектродного баллонного абляционного электрода поочередно в почечные артерии, где выполнялась денервация в стволе и дистальных ветвях ПА (расширенная РД) путем подачи радиочастотной энергии на биполярные контакты электродов, расположенных на поверхности баллона (4 пары контактов на баллоне) мощностью 0,6-1.0 Вт. Затем выполнялась селективная ангиография ПА с целью визуализации дефектов контура сосудистой стенки в местах абляции.

В ЛО группе выполнялся доступ к правой бедренной вене и правой бедренной артерии, после чего проводился тот алгоритм, который был описан выше за исключением проведения радиочастотной денервации ПА. Выполнялась исключительно инфляция баллона в просвете ПА без нанесения радиочастотного воздействия.

После выполнения основного этапа оперативного вмешательства повторно проводилось измерение параметров гемодинамики, а также забор венозной и артериальной крови.

Фаза II – моделирование транзиторной лёгочной артериальной гипертензии

Подготовка животных и катетеризация выполнялись таким же образом, как в фазе I. ЛАГ индуцировалась путём непрерывной инфузии агониста рецептора тромбосана А₂ U46619 (10 мг/мл; Tocris, США) через левую наружную яремную вену; каждые 5 минут доза U46619 увеличивалась до достижения целевого среднего давления в ЛА (срДЛА) 40 мм рт. ст. Показатели гемодинамики и газы крови регистрировались до инфузии U46619 и после ее начала с записью каждые 5 минут непосредственно перед очередным увеличением дозировки U46619, а также по достижении устойчивого срДЛА 40 мм рт. ст. После завершения эксперимента все животные были подвергнуты эвтаназии.

Фаза III – индукция лёгочной артериальной гипертензии до и после расширенной ренальной денервации

После введения животного в наркоз и установки центральных венозных и артериальных доступов выполнялась инвазивная манометрия. Затем выполнялось внутривенное болюсное введение U46619 до достижения целевого уровня срДЛА 40 мм рт. ст. в соответствии с выработанным в фазе II протоколом. По достижении целевого уровня срДЛА проводилась фиксация дозы и времени развития целевой ЛАГ, затем проводилось измерение параметров гемодинамики, остановка введения U46619. После спонтанной нормализации давления в ЛА проводилась рандомизация животных с распределением в одну из двух групп – группа РД с повторной индукцией ЛАГ; группа ложной процедуры с повторной индукцией ЛАГ.

В группе РД выполнялась билатеральная расширенная РД по описанной в фазе I методике. После периода ожидания (30 минут) выполнялось измерение параметров

гемодинамики. Затем проводилась повторная индукция ЛАГ с внутривенным болюсным введением U46619 с оценкой гемодинамических параметров.

В ЛО группе выполнялся доступ к правой бедренной вене и правой бедренной артерии, после чего проводился тот алгоритм, который был описан выше за исключением проведения радиочастотной денервации ПА. Выполнялась исключительно инфляция баллона в просвете ПА без нанесения радиочастотного воздействия.

Фаза IV – лазерная катетерная абляция почечных артерий

Подготовка и введение в наркоз животных проводилась, как в фазе I. После введения животного в наркоз и интубации налаживалась регистрация электрокардиограммы и пульсоксиметрии. Затем осуществлялся доступ к бедренной артерии под контролем рентгеноскопии (рентген аппарат Philips BV Endura).

Животным в данной группе РД проводилась с использованием источника лазерного излучения с длиной волны 1064 нм (Medilas D, Dornier Medtech, Wessling, Германия) и неуправляемого орошаемого фиброоптического катетера (RhythmoLas, LasCor GmbH, Taufkirchen, Германия). Через многоцелевой длинный интродьюсер (Preface, Biosense Webster, США), установленный в бедренную артерию, выполнялось контрастирование брюшного отдела аорты с визуализацией ПА. Затем в просвет ПА вводился лазерный абляционный катетер и под контролем флюороскопии позиционировался поочередно в почечные артерии, где выполнялась денервация в стволе и дистальных ветвях ПА. Расстояние между точками абляции составляло 5-10 мм. Затем выполнялась селективная ангиография ПА с целью визуализации дефектов контура сосудистой стенки в местах абляции.

Эвтаназия, забор материала, патоморфологическое исследование

В конце экспериментальных исследований во всех группах проводилась эвтаназия животного с помощью внутривенного введения раствора калия хлорида. После наступления биологической смерти выполнялось изъятие почек единым блоком с целью дальнейшего патоморфологического и гистологического исследования.

Почки с почечными артериями извлекались и фиксировались в 10% растворе формалина. Далее материал направлялся на патоморфологическое исследование. Проводилась визуальная оценка стенок ПА, выявленные области воздействия выделялись из макропрепаратов в пределах здоровой ткани. Далее образцы фиксировались в парафиновые блоки и проводилась их серийная секция толщиной слоя 3 мкм.

Макропрепараты описывались и фотографировались. Для гистологического и иммуногистохимического исследования осуществлялся забор фрагментов артерий из зон, подвергшихся абляции и из зон с макроскопически видимыми повреждениями (диссекции, кровоизлияния и т.д.). Гистологическое исследование проводилось по стандартным протоколам

с использованием окрашивания парафиновых срезов гематоксилином и эозином. Для точной идентификации нервных структур использовалось иммуногистохимическое исследование с антителами к S100.

Статистический анализ

База данных была создана в программе MS Excel. Статистический анализ проводился с использованием статистического пакета STATISTICA 12 (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, США). Категориальные показатели представлены частотами и процентами от общего числа наблюдений. Количественные показатели проверялись на нормальность с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Данные описаны в виде среднего значения \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$) в случае нормального распределения; медианы и 25% и 75% квартилей в случае ненормального распределения. Для анализа различий показателей с распределением, отличным от нормального, применялся тест Манна-Уитни или Вилкоксона, для показателей с нормальным распределением t-критерий. Для категориальных переменных проводился анализ Хи-квадрат. Различия считались значимыми при значении $P < 0,05$. Расчет объема экспериментальной выборки проводился для каждой фазы исследования в отдельности с учетом стремления к включению минимально возможного количества животных для соответствия рекомендациям «3-R» для исследований на животных [Russell WMS et al. 1959].

Результаты

Фаза I – расширенная ренальная денервация у нормотензивных животных

Схема проведения экспериментов и количество животных, участвующих в этапах, представлены на рисунке 1.

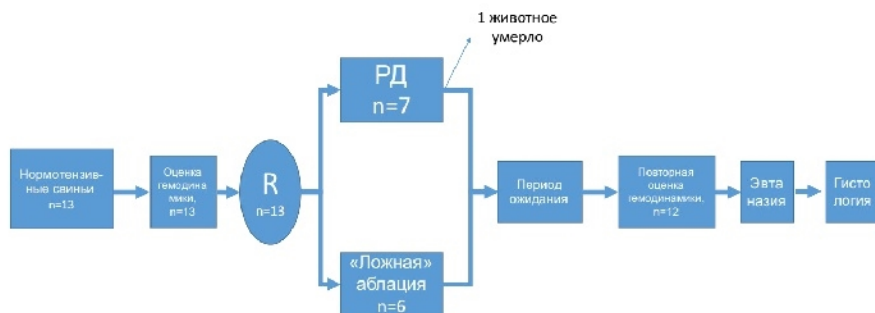


Рисунок 1 – Схема выполнения исследования в фазе I

Данные, полученные у одного животного в группе расширенной РД, были изъяты из анализа, поскольку при повторной катетеризации была диагностирована массивная

тромбозомболия левой лёгочной артерии (ТЭЛА) с нестабильностью гемодинамики. Поэтому анализ параметров гемодинамики проводился на 12 животных, по 6 в каждой группе. Изменения параметров гемодинамики в группах РД и ЛО представлены в таблице 1.

При сравнении гемодинамических параметров между группами после процедур (денервации или ложной, в соответствии с распределением) были выявлены статистически значимые различия следующих параметров: уровня систолического АД (сАД), среднего АД (срАД) и систолического давления в ПЖ (сПЖ) (таблица 1).

Также при сравнении параметров гемодинамики в группе расширенной денервации до и после проведения аблации было выявлено статистически значимое снижение уровня диастолического давления в лёгочной артерии (дДЛА) ($13,0 \pm 4,4$ против $10,0 \pm 3,0$ мм рт. ст.; $P=0,04$). У пяти из шести животных в группе расширенной денервации было выявлено значительное снижение уровня срАД. Был проведён анализ параметров гемодинамики данных животных. Было выявлено статистически значимое снижение средних показателей следующих параметров гемодинамики: уровня сАД по сравнению с исходными значениями ($98,8 \pm 17,8$ против $90,2 \pm 12,6$ мм.рт.ст., $P=0,04$), снижение срАД ($74,2 \pm 14,2$ против $65,2 \pm 10,6$ мм.рт.ст., $P=0,04$), и уровня лёгочно-сосудистого сопротивления (ЛСС) ($291,0 \pm 77,4$ против $228,5 \pm 63,8$ дин*сек*см⁻⁵, $P=0,03$), см. рисунок 2. В группе животных, которым выполнялась ложная процедура, не было выявлено изменений гемодинамики.

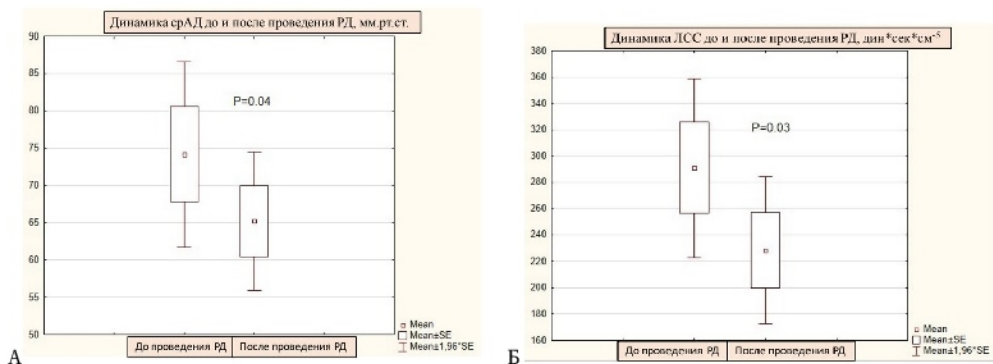
Таблица 1 – Изменение параметров гемодинамики в группах РД и ЛО

Параметр	Группа расширенной РД, (N=6)		ЛО группа (sham) (N=6)		Р, при сравнении между подгруппами	Выборка животных, у которых было выявлено значительное снижение уровня срАД после аблации, дельта параметров: медиана [1-й, 3-й квартили], N=5	Р, выборка животных, у которых было выявлено значительное снижение уровня срАД после аблации, сравнение параметров до и после денервации N=5
	До проведения РД, (M±SD)	После проведения РД, (M±SD)	До проведения sham, (M±SD)	После проведения sham, (M±SD)			
ЧСС, уд/мин	116.7±15.1	118.2±21.8	95.8±11.7	102.2±19.1	0.24	3 [-2; 12]	0.34
сАД, мм рт. ст.	97±16.5	90.8±11.4	88.3±7.5	93.2±8	0.03	-6 [-14; -6]	0.04
дАД, мм рт. ст.	60.3±11.6	56±8.2	54.5±6.4	60.2±6	0.05	-7 [-9; -4]	0.14
срАД, мм рт. ст.	72.7±13.2	66±9.6	65.7±6.4	71.2±6.6	0.04	-7 [-10; -6]	0.04
сДЛА, мм рт. ст.	19.5±4.3	18.3±5.2	15.7±4	15±3.4	0.24	-1 [-1; 0]	0.27
дДЛА, мм рт. ст.	13±4.4	10±3	11.8±3.8	10.7±2.4	0.82	-2 [-5; -1]	0.06
срДЛА, мм рт. ст.	15.1±4.1	13.3±2.9	13±3.9	12.2±2.9	0.48	-1 [-4; 0]	0.11
сПЖ, мм рт. ст.	18.5±6.6	19.3±5.2	13.8±4.3	13.3±3.1	0.04	-1 [-3; 3]	0.89

Продолжение таблицы 1

дПЖ, мм рт. ст.	5±2.6	4.5±2.6	6.5±3.3	6±1.3	0.48	0 [-1; 0]	0.18
срПЖ, мм рт. ст.	9.3±2.8	9.3±2.2	8.8±3.7	8.2±1.7	0.31	-1 [-1; -1]	0.22
ДЗЛК, мм рт. ст.	4.7±1.8	4±1.1	5±2.4	4.7±1.9	0.39	-1 [-2; 0]	0.47
ДПП, мм рт. ст.	3.8±2.7	2±1.7	4.4±2.4	3.2±1.6	0.24	-3 [-3; -2]	0.07
ОПСС, дин*сек*см-5	1747.7±726.1	1544.9±725.8	1113.4±520.3	1193.1±589.7	0.24	-252.9 [-591.7; 96.0]	0.22
ЛСС, дин*сек*см- 5	261.9±99.3	215.1±65.9	136.9±58.5	133.7±86.3	0.06	-88.0 [-92.4; -36.5]	0.03
МОК, л/мин	3.6±1.5	3.7±1.2	5±1.8	5.4±2.3	0.24	0.2 [-0.3; 0.5]	0.68

ЧСС – частота сердечных сокращений, сАД – систолическое артериальное давление, дАД – диастолическое артериальное давление, срАД – среднее артериальное давление, сДЛА – систолическое давление в лёгочной артерии, дДЛА – диастолическое давление в лёгочной артерии, срДЛА – среднее давление в лёгочной артерии, сПЖ – систолическое давление в правом желудочке, дПЖ – диастолическое давление в правом желудочке, срПЖ – среднее давление в правом желудочке, ДЗЛК – давление заклинивания лёгочных капилляров, ДПП – давление в правом предсердии, ОПСС – общее периферическое сосудистое сопротивление, ЛСС – лёгочное сосудистое сопротивление, МОК – минутный объём кровообращения



А: Уровень срАД до и после аблации. Б: уровень ЛСС до и после аблации.

Рисунок 2 – Изменение параметров гемодинамики до и после проведения РД у пяти животных в группе денервации

РД – ренальная денервация, ЛСС – лёгочно-сосудистое сопротивление.

Фаза II – отработка моделирования обратимой лёгочной артериальной гипертензии

Титрация дозы U46619 до достижения целевого срДЛА осуществлялась с повышением дозировки на $0,05 \text{ мкг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ каждые 5 минут (0,05, 0,1, 0,15, 0,2 $\text{мкг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$), уровень системного АД поддерживался с помощью введения фенилэфрина при необходимости.

Во время инфузии U46619 достигнуто целевое срДЛА при сохранении стабильной гемодинамики у свиней №3, 4, 5, 6, 7 без потребности в вазопрессорных агентах. Во всей группе (n=7) инфузия U46619 сопровождалась достоверным приростом ЧСС, срАД, ДПП и срДЛА за счёт увеличения ЛСС ($p = 0,021; 0,008; 0,008; 0,008; 0,02$, соответственно, табл. 3). Не было зарегистрировано значимого изменения ДЗЛК и СВ. После прекращения инфузии U46619 регистрировалось полное возвращение показателей гемодинамики к исходному уровню в среднем через 10-15 минут.

Фаза III – индукция лёгочной артериальной гипертензии до и после расширенной ренальной денервации

Схема проведения экспериментов и количество животных, участвующих в этапах, представлены на рисунке 3.

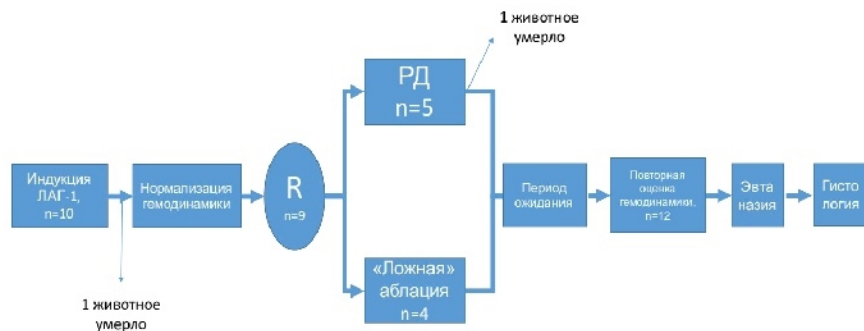


Рисунок 3 – Схема выполнения исследования в фазе III

Два из десяти животных умерли во время процедуры и были исключены из анализа. Таким образом, анализ результатов проводился у 8 животных.

Целевой уровень срДЛА (40 мм рт. ст.) был достигнут у всех 8 животных до и после проведения денервации или инфляции баллона в обеих группах. Гемодинамические параметры в обеих группах представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Параметры гемодинамики до и после проведения процедур с индукцией острой ЛАГ

Параметр	Группа расширенной РД, (N=4)				ЛО группа, sham (N=4)			
	Нормальная гемодинамика		Индукция острой ЛАГ		Нормальная гемодинамика		Индукция острой ЛАГ	
	До РД, этап 1	После РД, этап 2	До РД, этап 1	После РД, этап 2	До sham, этап 1	После sham, этап 2	До sham, этап 1	После sham, этап 2
ЧСС, уд/мин	82.5±1.6	90±18.4	101.7±21.1	105±18.8	98.75±9.1	102.25±1.9	110.25±8.2	115.75±4.9
сАД, мм рт. ст.	96±7.6	103.5±18.2	109.75±9.425	94.25±27.8	99.75±13.6	105.75±6.9	103±6.9	104±36.5
дАД, мм рт. ст.	64.5±2.1	65±10.5	80±26.3	63.75±14.2	53.25±13.7	59.25±8.1	61.5±3.4	62.25±24.3
срАД, мм рт. ст.	74.75±4.1	78±12.6	90.25±28.1	74±18.7	68.75±14.3	73±8.8	75.5±4.2	76±27.9

Продолжение таблицы 2

сДЛА, мм рт. ст.	18.5±3. 3	20±2.6	48.25±9. 6	47.5±6. 2	17.25±2. 6	15.75±2 .9	44.25±2 .5	42.75±0 .9
дДЛА, мм рт. ст.	11.5±3. 1	11.5±3	34.75±8. 8	34.5±5. 7	12.75±4. 3	12.5±3	39±0.8	38±0.8
срДЛА, мм рт. ст.	14±2.9	14.5±3	40.5±7.3	39±5.3	14.5±4.1	13.5±3	41.25±1 .25	39.75±0 .5
ДЗЛК, мм рт. ст.	6±2.4	4.25±3	8.25±1	8.25±2. 7	4.75±1.7	4.6±0.6	7±1.8	6.75±0. 9
ДПП, мм рт. ст.	5.5±2.6	2.75±1. 7	7.75±2.6	5.25±2. 1	4±3.1	4.3±1.5	6.25±2. 6	5.25±2. 2
ОПСС, дин*се к*см-5	1424.1± 559.8	1439.6± 114.8	2433.7± 1176.7	1995.3± 494.3	1576.54 ±328.9	1657.1± 356.1	2272.6± 917.6	2373.7± 692.8
ЛСС, дин*се к*см-5	161.9±5 1.3	199.1±4 7.7	1086.2± 361.8	978.8±3 10.1	1086.2± 361.8	978.8±3 10.1	1121.2± 456.3	1228.9± 524.3

Данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение. В каждой группе при индукции ЛАГ было выявлено значительное изменение всех параметров гемодинамики.

Между группами расширенной РД и ложной процедуры $P > 0,05$ по всем параметрам при нормальной гемодинамике.

$P > 0,05$ между группами РД и с ложной процедурой по всем параметрам при сравнении при индукции ЛАГ.

ЧСС – частота сердечных сокращений, сАД – систолическое артериальное давление, дАД – диастолическое артериальное давление, срАД – среднее артериальное давление, сДЛА – систолическое давление в лёгочной артерии, дДЛА – диастолическое давление в лёгочной артерии, срДЛА – среднее давление в лёгочной артерии, сПЖ – систолическое давление в правом желудочке, дПЖ – диастолическое давление в правом желудочке, срПЖ – среднее давление в правом желудочке, ДЗЛК – давление заклинивания лёгочных капилляров, ДПП – давление в правом предсердии, ОПСС – общее периферическое сосудистое сопротивление, ЛСС – лёгочное сосудистое сопротивление, МОК – минутный объём кровообращения – общее периферическое сосудистое сопротивление, ЛСС – лёгочно-сосудистое сопротивление

При индукции острой ЛАГ до и после проведения расширенной РД (1 и 2 этап соответственно) было отмечено статистически незначимое снижение среднего уровня срАД (90,25±28,1 против 74±18,7 мм рт. ст., $P=0,28$). Также уровень ОПСС имел тенденцию к снижению после проведения аблации (2433,7±1176,7 против 1995,3±494,3 дин*сек*см-5) при

индуцированной острой ЛАГ, однако, статистически незначимо ($P=0,46$). Также не было выявлено статистически значимых изменений гемодинамических параметров в группе ЛО при сравнении параметров гемодинамики до и после процедуры. Не было статистически значимой разницы доз U46619 между группами ни при первоначальном введении, ни во время повторной индукции острой ЛАГ. В каждой группе дозы U46619 при первой и второй индукции острой ЛАГ были статистически эквивалентны (таблица 3).

Таблица 3 – Дозы и продолжительность введения U46619 до достижения целевого уровня срДЛА

Показатель	Группа расширенной РД, (N=4)		P	ЛО группа (N=4)		P	P, между группами, до абляции или инфляци и баллона	P, между группами, после абляции или инфляци и баллона
	До РД	После РД		До sham	После sham			
Доза U46619, мкг/мин (средн±SD; median [IQR])	0.1±0.0 2	0.09±0.0 1	0.5 8	0.12±0.0 3	0.11±0.0 4	0.5 9	0.56	1.0
	0.11 [0.08; 0.12]	0.1 [0.08; 0.1]		0.12 [0.09; 0.13]	0.875 [0.07; 0.13]			
Доза U46619, мкг (средн±SD; median [IQR])	23.9±5.1	21.5±2.6	0.4 6	22.6±6.2	20.5±8.4	0.5 9	0.66	0.47
	25.1 [20.3; 27.5]	22.2 [19.9; 23.2]		22.84 [18.4; 26.8]	16.95 [15.2; 25.9]			
Время достижения целевого уровня срДЛА 40 мм.рт.ст (средн±SD; median [IQR])	17.5±2.9	17.2±3.2	0.7 9	16.7±6.7	15.7±7.1	0.7 1	0.88	0.56
	17.5 [15; 20]	17.5 [14.5; 20]		19.0 [12.5; 21]	13.5 [11; 20.5]			

Фаза IV – лазерная катетерная абляция почечных артерий

Общее количество воздействий составило 28 у четырёх животных (7 [6,5; 7,5] на 1 животное; 3,5 [3; 4] в одной ПА). Параметры абляций с использованием лазерной энергии, а также выявленные осложнения представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Параметры абляций с использованием лазерной энергии, выявленные осложнения

№ животного	Мощность (Вт)	Время (сек)	Количество аппликаций		Повреждения интимы ПА		Повреждение паренхимы почки
			Правая ПА	Левая ПА	Правая ПА	Левая ПА	
1	20	20	3	3	1	2	1
2	20	20	4	3	2	1	1
3	10	20	3	4	1	1	0
4	10	20	4	4	1	0	0

Проводился подбор оптимальной мощности и времени воздействия при лазерной абляции для более безопасной денервации. Так, выявлено, что уменьшение мощности воздействия с 20 до 10 Ватт при времени воздействия 20 секунд не приводит к уменьшению глубины повреждения ПА и повреждению околососудистых структур.

Результаты пагоморфологического исследования

Выявлено значительно большее количество повреждений стенок ПА в группах с расширенной денервацией ПА по сравнению с группами ложных процедур.

Так, в группе расширенной денервации ПА у нормотензивных свиней фазы I исследования, было обнаружено 23 диссекции интимы ПА (4 [2; 5] на 1 животное; 2 [1; 2,5] на 1 артерию: в стволе 2 [1; 3] и в ветвях 1,5 [1; 3], $P > 0,05$). Тонкие тромботические массы, прикрепленные к стенкам ПА, идентифицированы на 9 срезах (1,5 [0; 3] на 1 животное). Выявлен один случай кровоизлияния в паренхиму почки и одна париегальная гематома ПА. Также выявлен один случай тотального тромбоза ствола левой ПА.

В группе расширенной РД у животных с индуцированной острой ЛАГ фазы III исследования также было выявлено значительно большее количество диссекций ПА по сравнению с группой ложной процедуры: 17 (4 [3; 4] на 1 животное) в группе расширенной РД и 3 (1 [1; 1] на 1 животное) в группе ложной процедуры, $P < 0,05$. Форма диссекций также была различной между группами: точечные разрезы в группе ложной процедуры и более крупные разрезы в группе расширенной РД длиной от 2 до 5 мм. Пример диссекции после расширенной РД представлен на рисунке 4.

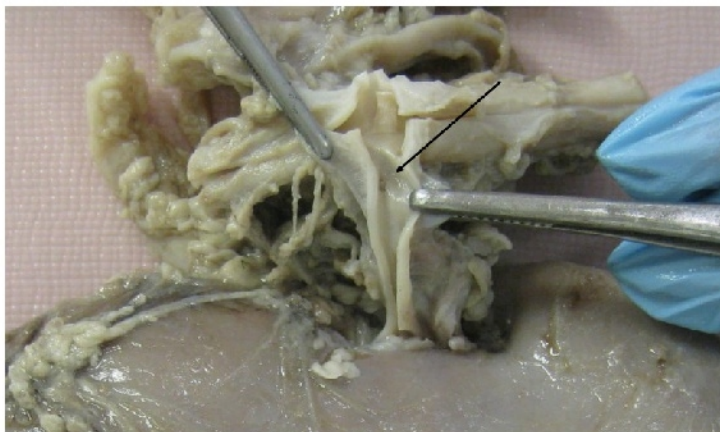


Рисунок 4 – Точечная диссекция ствола левой ПА, свинья № 15

При объединении группы животных фаз I и III исследования, было обнаружено, что доля поврежденных нервных волокон превалировала у животных с радиочастотной РД (n=11) в сравнении с теми, где выполнялась ложная процедура (n=10): 34% нервных волокон на препарат против 3%, $P < 0.01$. Пример неповрежденного и разрушенного нервных волокон представлен на рисунке 5 (А и Б).

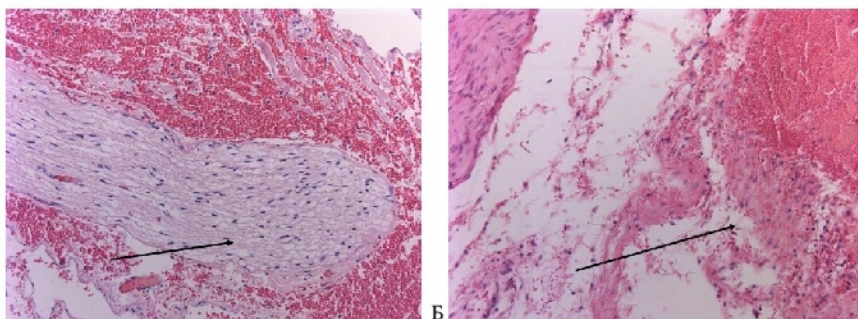


Рисунок 5 – Гистологическая оценка повреждения периваскулярных нервов. Стрелки указывают на неповрежденное (А) в ЛО группе и разрушенное нервные волокна в группе расширенной РД (Б). Свиньи №5 и №12. Гематоксилин-эозин, 200x

В группе лазерной абляции (фаза IV) были выявлены диссекции почечных артерий у всех животных (размер диссекций составлял от 2 до 5 мм), а также повреждение паренхимы почек у двух животных размерами 4x3 и 10x7 мм. (Рисунок 6).

На гистологическом уровне, кроме диссекций под острым углом к току крови, у всех 4 животных были выявлены перпендикулярные к току крови диссекции на всю толщину стенки

(рисунок 7) с кровоизлияниями в адвентиции и периваскулярной жировой клетчатке. В одном случае также наблюдалась отслойка меди на 1/3 окружности сосуда с расслоением мышечных волокон. Примечательно, что в микропрепаратах не были выявлены повреждённые нервные волокна, что может объясняться мозаичностью повреждения. Однако повреждение адвентиции и периваскулярной клетчатки было выраженным и характеризовалось максимальной градацией изменений, соответствующей радиочастотной абляции.

Таким образом, при лазерной абляции отмечались следующие особенности морфологической картины почечной артерии: участки перпендикулярной ходу сосуда диссекции стенки, более глубокое повреждение адвентиции и периваскулярной жировой ткани, содержащей нервные волокна, а также отсутствие тромбов на эндотелиальной поверхности. Воздействия мощностью 10 В не приводили к повреждению паренхимы почек при абляции в дистальных отделах ПА, однако наблюдался некроз периваскулярной жировой ткани.



Рисунок 6 – Почка после лазерной абляции ПА у свиньи №1 (мощность 20 Вт), некроз участка почки на разрезе (очаг указан стрелками)

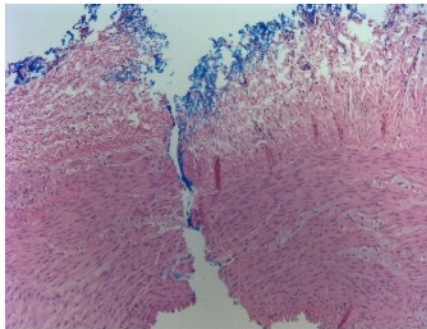


Рисунок 7 – поперечная ходу сосуда диссекция стенки ПА у свиньи №1 (мощность 20 Вт) (отмечены синим красителем). Гематоксилин-эозин, x100

Заключение

У нормотензивных свиней расширенная ренальная денервация приводит в большинстве случаев к быстрому и значительному снижению артериального давления и лёгочного сосудистого сопротивления. В то же время, не наблюдается существенной динамики общего периферического сосудистого сопротивления. Расширенная ренальная денервация часто ассоциирована с диссекцией стенки почечных артерий и образованием пристеночных тромбов.

Инфузия U46619 позволяет моделировать контролируемое стабильное и полностью обратимое повышение давления в лёгочной артерии за счёт значительного увеличения лёгочного сосудистого сопротивления без изменения давления заклинивания лёгочных капилляров и системного сосудистого сопротивления. Начальную дозу U46619 следует подбирать индивидуально для конкретной когорты свиней породы ландрас, начиная с самой низкой дозы (0,025, 0,05, 0,075, 0,1, 0,12, 0,15, 0,175 мкг × кг⁻¹ × мин⁻¹).

В то же время, ренальная денервация не приводит к значительным гемодинамическим изменениям на животной модели острой U46619- индуцированной лёгочной артериальной гипертензии.

Лазерная абляция является потенциальной альтернативой радиочастотной абляции для денервации почечных артерий. При условии титрации энергии абляции с ограничением мощности излучения возможны аппликации в просвете артерий с минимальным повреждением интимы и обширной областью периваскулярного повреждения.

Выводы

1. У нормотензивных свиней проведение расширенной ренальной денервации приводит к быстрому и значительному снижению уровня систолического артериального давления (медиана – 7 мм рт ст), диастолического давления в лёгочной артерии (медиана – 2 мм рт ст) и лёгочного сосудистого сопротивления (медиана – 88 дин*сек*см⁻⁵). При этом не выявлено значимой динамики общего периферического сосудистого сопротивления в остром периоде после расширенной ренальной денервации.
2. На экспериментальной модели лёгочной артериальной гипертензии расширенная ренальная денервация не приводит к изменению режима индукции гипертензии.
3. Расширенная радиочастотная катетерная денервация почечных артерий ассоциирована с развитием диссекции стенки сосудов (медиана – 2 случая на 1 артерию), а также формированием пристеночных тромбов. Данные повреждения не визуализируются при проведении интраоперационной инвазивной контрастной ангиографии.
4. Катетерная лазерная денервация почечных артерий с применением излучения длиной волны 1064 нм принципиально возможна. Характер лазерного повреждения стенки сосуда имеет существенные отличия от радиочастотного повреждения и не сопровождается

тромбообразованием. Уменьшение мощности воздействия с 20 до 10 Ватт при времени воздействия 20 секунд не приводит к уменьшению глубины повреждения почечной артерии и, в то же время, не сопровождается нежелательным повреждением околососудистых структур.

Практические рекомендации

1. При проведении экспериментов с ренальной денервацией необходимо проводить оценку параметров гемодинамики и большого, и малого кругов кровообращения, поскольку эффекты процедуры не органичиваются изменением только системной гемодинамики.
2. При катетерной лазерной аблации периваскулярных нервов почечных артерий с применением источника энергии с длиной волны 1064 нм максимально безопасная мощность воздействия составляет 10 Ватт.

Перспективы дальнейшей разработки темы исследования

Результаты экспериментального исследования дают основание для дальнейшего изучения эффектов расширенной ренальной денервации на лёгочное кровообращение на моделях хронической лёгочной артериальной гипертензии.

Разработанный режим введения и дозирования синтетического аналога тромбксана А2 может использоваться в дальнейших экспериментальных исследованиях с моделированием обратной лёгочной артериальной гипертензией.

Лазерная катетерная аблация будет изучаться в последующих экспериментах по денервации сосудов на моделях хронических сердечно-сосудистых заболеваний. Необходимы дальнейшие совершенствования технологии катетерной лазерной аблации для процедур денервации, в том числе модификация дистальной части оптоволоконного катетера с созданием технического решения для измерения импеданса.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Extended renal artery denervation is associated with artery wall lesions and acute systemic and pulmonary hemodynamic changes: a sham-controlled experimental study / A.D. Vakhrushev, H.I. Condori Leandro, N.S. Goncharova, L.E. Korobchenko, L.B. Mitrofanova, D.S. Lebedev, E.N. Mikhaylov // Cardiovascular Therapeutics. – V. 2020. – 8859663.**
2. **An ovine model for percutaneous pulmonary artery laser denervation: perivascular innervation and ablation lesion characteristics / H. I. Condori Leandro, E. G. Koshevaya, L. B. Mitrofanova, A. D. Vakhrushev, N. S. Goncharova, L. E. Korobchenko, E. M. Andreeva, D. S. Lebedev, E. N. Mikhaylov // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V. 22. – N. 16. - 8788.**

3. Modeling of acute pulmonary arterial hypertension in pigs using a stable thromboxane A2 analogue (U46619): dose adjustment and assessment of hemodynamic reactions / N. S. Goncharova, E. M. Andreeva, A. D. Vakhrushev, H. I. Condori Leandro, L. A. Murashova, S. E. Voronin, L. E. Korobchenko, L. B. Mitrofanova, Y. A. Skorik, M. M. Galagudza, O. M. Moiseeva, E. N. Mikhaylov // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2020. – N. 170. – V. 6. – P. 729–733.
4. Perivascular innervation of the pulmonary artery in human and swine: a comparative study for the development of an experimental model of denervation / E. G. Koshevaya, L. B. Mitrofanova, N. S. Goncharova, H. I. Condori Leandro, A. D. Vakhrushev, L. E. Korobchenko, L. A. Murashova, M. M. Galagudza, A. A. Perminova, O. M. Moiseeva, E. N. Mikhaylov // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2020. – V.170. – N. 2. – P. 279-282.
5. Stimulation mapping of the pulmonary artery for denervation procedures: an experimental study / H. I. Condori Leandro, A. D. Vakhrushev, N. S. Goncharova, L. E. Korobchenko, E. G. Koshevaya, L. B. Mitrofanova, E. M. Andreeva, O. M. Moiseeva, D. S. Lebedev, E. N. Mikhaylov // *Journal of Cardiovascular Translational Research*. – 2021. – V.14. – N. 3. – P. 546-555.
6. Радиочастотная ренальная денервация: технические аспекты различных методов и безопасность / А. Д. Вахрушев, И. В. Емельянов, Д. С. Лебедев, А. С. Алиева, Е. Н. Михайлов // *Артериальная гипертензия*. - 2020. - Т. 26. – N. 5. - С. 543-551.
7. Острые эффекты лазерной абляции миокарда в эксперименте ex-vivo и in vivo / Кондори Леандро Э.И., Вахрушев А.Д., Коробченко Л.Е., Кошечая Е.Г., Митрофанова Л.Б., Гончарова Н.С., Андреева Е.М., Михайлов Е.Н., Лебедев Д.С. // *Вестник аритмологии*. – 2021. – Т. 28. – N. 1. – С. 47-54.
8. Виды повреждений легочной артерии, нервных структур и окружающей жировой клетчатки в зоне бифуркации у свиней при циркулярной радиочастотной абляции / Е. Г. Кошечая, Л. Б. Митрофанова, Э. И. Кондори Леандро, А. Д. Вахрушев, Е. Н. Михайлов, Н. С. Гончарова // *Medline.RU*. – 2020. – Т. 21. – С. С. 55-74.
9. Перспективные подходы к нейромодуляции в современной кардиологии // *Трансляционная медицина* / Е. Н. Михайлов, Н. С. Гончарова, А. Д. Вахрушев, и др. – Санкт-Петербург: Принт 24, 2020. – С. 475-498.
10. Fiber-optic laser energy for pulmonary artery denervation: results of an experimental study / H. I. Condori Leandro, A. D. Vakhrushev, N. S. Goncharova, L. E. Korobchenko, E. G. Koshevaya, L. B. Mitrofanova, E. M. Andreeva, O. M. Moiseeva, D. S. Lebedev, E. N. Mikhaylov // *European Heart Journal*. - 2021. - Suppl – 105114.