

DOI:10.35401/2500-0268-2020-18-2-46-50

А.В. Поморцев^{1,2*}, Ю.Ю. Дьяченко¹, М.А. Матосян¹

ДОПЛЕРОМЕТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ТРОФОБЛАСТИЧЕСКОГО КРОВОТОКА ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА БЕРЕМЕННОСТИ

¹ ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, Краснодар, Россия

² ГБУЗ «Краевая клиническая больница №2» Министерства здравоохранения Краснодарского края, Краснодар, Россия
✉ *А.В. Поморцев, Кубанский государственный медицинский университет, 350063, Краснодар, ул. Седина, д. 4, e-mail: pomor-av@mail.ru

Поступила в редакцию 7 апреля 2020 г. Исправлена 14 мая 2020 г. Принята к печати 15 мая 2020 г.

Цель	Определить диагностическую значимость параметров доплерометрии трофобластического кровотока для прогнозирования неблагоприятного исхода беременности.
Материал и методы	Проведен ретроспективный анализ результатов обследования 218 беременных в сроках гестации с 8-й по 11-ю неделю. Женщины были разделены на 4 клинические группы в зависимости от исхода беременности для прогноза неблагоприятного исхода родов. Всем исследуемым выполнялось ультразвуковое исследование с использованием аппаратов Voluson S8, Voluson E8, работающих в режиме реального времени, имеющих качественную серую шкалу, режимы цветового доплеровского картирования и импульсно-волновой доплерометрии. Использовалась программа для акушерского исследования со следующими настройками прибора: частота доплеровского фильтра 100 МГц, TI < 1, MI = 1. Время исследования не превышало 20 минут. Лучевая нагрузка отсутствовала. Применялись методики трансвагинального и трансабдоминального сканирования.
Результаты	Для формирования группы риска неблагоприятного исхода беременности для плода, обусловленного фетоплацентарной недостаточностью, необходимо выявление ультразвуковых маркеров неадекватной плацентарной перфузии путем доплерометрического исследования фетоплацентарного кровотока. Для достижения поставленной цели – определения диагностической значимости различных параметров: индекса резистентности, пульсационного индекса, систоло-диастолического отношения и коэффициента васкуляризации хориона (к, %) – было обследовано 218 (100%) беременных сроком с 8-й по 11-ю неделю гестации. По клиническим группам получены результаты, доказывающие высокую чувствительность (76,9%) и специфичность (89,7%) коэффициента васкуляризации хориона (к, %), а также низкую специфичность (54,7%) и высокую чувствительность (81,5%) индекса резистентности трофобластического кровотока.
Заключение	Таким образом, коэффициент васкуляризации хориона (к, %) имеет высокую диагностическую значимость для прогнозирования неблагоприятного исхода беременности для плода.
Ключевые слова:	трофобласт, хорион, трофобластический кровоток, коэффициент васкуляризации, доплерометрия.
Цитировать:	Поморцев А.В., Дьяченко Ю.Ю., Матосян М.А. Доплерометрические характеристики трофобластического кровотока для прогнозирования неблагоприятного исхода беременности. <i>Инновационная медицина Кубани</i> . 2020;18(2):46–50. doi:10.35401/2500-0268-2020-18-2-46-50

Alexey V. Pomortsev^{1,2*}, Julia Yu. Dyachenko¹, Mariam A. Matosyan¹

DOPPLER ASSESSMENT OF TROPHOBLASTIC BLOOD FLOW TO PREDICT ADVERSE PREGNANCY OUTCOME

¹ Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

² Regional Clinical Hospital #2, Krasnodar, Russia

✉ *Alexey V. Pomortsev, Kuban State Medical University, 4, Sedina str., Krasnodar, 350063, e-mail: pomor-av@mail.ru

Received 7 April 2020. Received in revised form 14 May 2020. Accepted 15 May 2020.

Objective	To evaluate the diagnostic utility of trophoblastic blood flow Doppler parameters in predicting an adverse pregnancy outcome.
Material and methods	This was a retrospective study of 218 pregnancies of women between 8 and 11 weeks' gestation. Depending on the pregnancy outcome, patients were divided into 4 clinical groups. All women underwent an ultrasound examination using Voluson S8, Voluson E8 with high-quality grey scale, color flow mapping and pulsed-wave Doppler modes. We used a program for obstetric research with the following instrument settings: 100 MHz Doppler frequency, thermal index (TI) was <1, mechanical index (MI) was 1. The examination time did not exceed 20 minutes. There was no radiation exposure. Transvaginal and transabdominal sonographies were performed.
Results	To form a risk group for an adverse fetal outcome due to fetoplacental insufficiency, it is necessary to identify ultrasound markers of inadequate placental perfusion by means of a Doppler study of fetoplacental blood flow. For this purpose, we examined 218 pregnancies of women between 8

and 11 weeks' gestation to determine the diagnostic utility of various parameters: resistivity index, pulsatility index, systolic/diastolic ratio and chorionic vascularization index (k, %). We received results proving high sensitivity (76.9%) and specificity (89.7%) of the chorionic vascularization index (k, %), as well as low specificity (54.7%) and high sensitivity (81.5%) of trophoblastic blood flow resistivity index.

Conclusion

Thus, the chorionic vascularization index (k, %) is of high diagnostic utility for predicting an adverse fetal outcome.

Keywords:

trophoblast, chorion, trophoblastic blood flow, vascularization index, Doppler sonography.

Cite this article as:

Pomortsev A.V., Dyachenko J.Yu., Matosyan M.A. Dopplerometric characteristics of trophoblastic blood flow to predict adverse pregnancy outcome. *Innovative Medicine of Kuban*. 2020;18(2):46–50. doi:10.35401/2500-0268-2020-18-2-46-50

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время пренатальной диагностике принадлежит огромная роль в профилактике врожденной и наследственной патологии у детей, снижении перинатальной заболеваемости и смертности [1]. Формирование внутриутробного неблагополучия начинается на ранних этапах развития фетоплацентарной системы.

Фетоплацентарная недостаточность – это патологическое состояние, обусловленное морфофункциональными изменениями в плаценте, при прогрессировании которых развивается внутриутробная задержка развития плода, нередко сочетающаяся с гипоксией. Плацента начинает свое развитие с дифференцировки хориона в 7 недель беременности и завершает в 16 недель формированием маточно-плацентарного комплекса, который морфологически представлен слоем клеток эндотелия сосудов плода, их базальной мембраной, слоем рыхлой перикапиллярной соединительной ткани, базальной мембраной трофобласта, слоями цитотрофобласта и синцитиотрофобласта [2, 3]. Сосуды плода, разветвляясь в плаценте до мельчайших капилляров, образуют маточно-хориальный кровоток, который впоследствии определяет все функции плода [4]. При нарушении процесса формирования плаценты нарушается васкуляризация, уменьшается количество сосудистой сети трофобласта, плаценты, и, как следствие, данный механизм приводит к неблагоприятному исходу родов для плода [5, 6]. В связи с этим особую актуальность приобретает ультразвуковое доплерометрическое исследование маточно-хориального комплекса в сроки гестации с 8-й по 11-ю неделю для прогнозирования неблагоприятного исхода родов для плода.

ЦЕЛЬ

Определить диагностическую значимость параметров доплерометрии трофобластического кровотока для прогнозирования неблагоприятного исхода беременности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведен ретроспективный анализ результатов обследования 218 беременных в сроках гестации с

8-й по 11-ю неделю. Критериями исключения являлись наличие отягощенного генетического анамнеза, тяжелой экстрагенитальной патологии, многоплодные беременности, случаи отслойки плаценты, преждевременные роды до 28-й недели беременности, родовой травматизм новорожденного. Набор клинического материала осуществлялся на базе ГБУЗ «Краевая клиническая больница №2» Министерства здравоохранения Краснодарского края, а также ООО «Клиника Екатерининская».

Всем исследуемым выполнялось ультразвуковое исследование с использованием ультразвуковых аппаратов Voluson S8, Voluson E8, работающих в режиме реального времени, имеющих качественную серую шкалу, режимы цветового доплеровского картирования (ЦДК) и импульсно-волновой доплерометрии. Использовалась программа для акушерского исследования с настройками прибора: частота доплеровского фильтра 100 МГц, TI < 1, MI = 1. Время исследования не превышало 20 минут. Лучевая нагрузка отсутствовала. Применялись методики трансвагинального и трансабдоминального сканирования.

В зависимости от исхода беременности для плода женщины были разделены на 4 клинические группы. Критерием их включения была беременность с гестационным сроком 8–11 недель.

В **I клинической группе** (n = 65) средняя масса тела новорожденных составила $3495,26 \pm 494,89$ г с индивидуальными колебаниями от 2950 до 3940 г. Длина новорожденных в среднем равнялась $51,66 \pm 0,54$ см. Оценка по шкале Апгар – 8–9 баллов. Течение раннего неонатального периода без особенностей. Неврологический статус новорожденного, включая данные нейросонографии, соответствовал статусу здорового ребенка.

Во **II клинической группе** (n = 115) средние весовые показатели были $3425,23 \pm 575,49$ г, индивидуальные – от 2850 до 4000 г при средней длине $51,45 \pm 0,45$ см. Оценка по шкале Апгар – 8–9 баллов. Ранний неонатальный период протекал без особенностей. Неврологический статус новорожденного соответствовал статусу здорового ребенка. Эхографическая картина структур головного мозга без особенностей у 100 (87%) новорожденных, в 15 (13%) случаях имел

место незначительно выраженный перивентрикулярный отек, который при контрольной эхографии перед выпиской из родильного дома не визуализировался.

В III клинической группе (n = 25) средняя масса тела новорожденных составила $2751,15 \pm 690,44$ г, индивидуальные колебания – от 2900 до 3950 г при средней длине $50,55 \pm 0,96$ см. Оценка по шкале Апгар у 5 новорожденных составляла 6–7 баллов (20%), у 7 (28%) новорожденных отмечалась задержка внутриутробного развития I степени, у 25 (100%) по заключению невролога отмечались психоневрологические нарушения в раннем неонатальном периоде (тремор подбородка, снижение мышечного тонуса, дистония). По результатам нейросонографии имели место следующие проявления постгипоксических осложнений: у 16 (64%) новорожденных выявлен перивентрикулярный отек, в 3 (19%) случаях он сочетался с общим отеком головного мозга. Кроме того, данная патология сочеталась с субэпендимальным кровоизлиянием в 2 (12%) случаях, кровоизлиянием в сосудистое сплетение в 9 (56%) случаях и внутрижелудочковым кровоизлиянием в 1 (6%) наблюдении. При оценке сосудистого тонуса (пульсации) она была умеренной у 14 (56%), усилена – у 10 (40%) и снижена – у 1 (4%). Однако при динамическом наблюдении неврологический статус и данные нейросонографии имели положительную динамику.

В IV клинической группе (n = 13) в 3 случаях (23%) было проведено прерывание беременности до 20 недель (15–20-я неделя гестации) в связи с выявленными структурными аномалиями развития плода. Средняя масса новорожденных – в пределах $2359,24 \pm 450,33$ г с индивидуальными колебаниями от 2750 до 4100 г. Длина новорожденных в среднем равнялась

$50,31 \pm 0,85$ см. У 6 (60%) оценка по шкале Апгар составила 4–5 баллов, у 4 (40%) – 0–4 балла. Проводились реанимационные мероприятия. Ранний неонатальный период протекал с явлениями явной дезадаптации, из неврологической симптоматики преобладало состояние общего угнетения. По результатам нейросонографии в первые сутки после рождения у 10 (100%) новорожденных имел место отек головного мозга, у 8 (80%) сочетающийся с перивентрикулярным отеком. У 6 (60%) новорожденных имела место перивентрикулярная лейкомаляция, у 5 (50%) отмечалось внутрижелудочковое кровоизлияние с расширением боковых желудочков головного мозга. При оценке сосудистого тонуса у 8 (80%) новорожденных он был снижен, у 1 (10%) – повышен и у 1 (10%) – без особенностей. При динамическом наблюдении неврологический статус и данные нейросонографии без положительной динамики.

Доплерометрическое исследование маточно-хориального комплекса проводилось в следующих сосудах: в маточной артерии, сосудах трофобласта. С использованием ЦДК в режиме реального времени маточная артерия легко обнаруживается в области соединения шейки и тела матки [7, 8]. По стандартным методикам определяется систоло-диастолическое отношение (СДО), индекс резистентности (ИР) маточных артерий [9].

Кроме того, наряду со стандартными доплерометрическими методами исследования с помощью двухмерной эхографии определяют состояние трофобластического кровотока по коэффициенту васкуляризации (k, %) в период с 8-й по 11-ю неделю и 6 дней как отношение площадей суммы всех участков хориона (S_n , см²) в зоне сосудистых локусов к общей



Рисунок 1. На эхограмме представлен срок гестации 8 недель, адекватная васкуляризация хориона. Определение васкуляризации хориона методом определения индекса васкуляризации (k, %)

Figure 1. The echogram shows 8 weeks' gestation, there is an adequate chorion vascularization. We determine the chorion vascularization by assessing the vascularization index (k, %)



Рисунок 2. На эхограмме представлен срок гестации 9 недель, сниженное васкуляризации хориона. Определение васкуляризации хориона методом определения индекса васкуляризации (k, %)

Figure 2. The echogram shows 9 weeks' gestation, there is a decrease in chorion vascularization. We determine the chorion vascularization by assessing the vascularization index (k, %)



Рисунок 3. На эхограмме представлен срок гестации 9 недель, неадекватная васкуляризация хориона. Определение васкуляризации хориона методом определения индекса васкуляризации (k, %)

Figure 3. The echogram shows 9 weeks' gestation, there is an inadequate chorion vascularization. We determine the chorion vascularization by assessing the vascularization index (k, %)

площади хориона (S_0 , cm^2) по ультразвуковому исследованию в автоматическом режиме ЦДК – на максимальном увеличении изображения функции ЦДК: окно аппарата ультразвукового исследования располагают на хорионе с захватом базальной части миометрия методом ручной трассировки (рис. 1–3).

Для обработки полученных данных и решения поставленных задач использовались методы дискриминантного и корреляционного анализа, сравнительный и качественный анализ данных, ROC-анализ.

С целью разработки методики дифференциальной диагностики для формирования групп риска по неблагоприятному исходу беременности для плода использовался метод пошагового дискриминантного анализа. В ходе анализа выявлялись наиболее значимые признаки, которые можно использовать для дискриминации пациентов по клиническим подгруппам. Достоверность различия между группами показателей оценивалась на уровне значимости $p = 0,001$ (если не указано иное) с помощью t-критерия Стьюдента. Эффективность диагностического теста оценивалась посредством построения характерологической кривой – ROC-анализа, в процессе которого вычислялись показатели чувствительности и специфичности для количественных УЗ-признаков, определялись их пороговые значения для выявления точки разграничения нормы и патологии. Информативность показателей оценивалась по величине площади под кривой ROC (AUC).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для формирования группы риска неблагоприятного исхода беременности для плода, обусловленного фетоплацентарной недостаточностью, необходимо выявление ультразвуковых маркеров неадекватной

плацентарной перфузии путем доплерометрического исследования фетоплацентарного кровотока. Для достижения поставленной задачи – определения диагностической значимости различных параметров: ИР, пульсационного индекса (ПИ), СДО и коэффициента васкуляризации хориона (k) было обследовано 218 (100%) беременных сроком с 8-й по 11-ю неделю гестации.

По клиническим подгруппам получены следующие результаты:

1) в I клинической группе ($n = 65$) показатель СДО маточных артерий – $1,56 \pm 0,16$; ИР васкуляризации хориона – $0,38 \pm 0,18$; ИР маточных артерий – $0,73 \pm 0,15$; ПИ васкуляризации хориона – $1,42 \pm 0,16$; коэффициент васкуляризации хориона (k , %) – $68 \pm 0,26$;

2) во II клинической группе ($n = 115$) показатель СДО маточных артерий – $1,60 \pm 0,20$; ИР васкуляризации хориона – $0,39 \pm 0,25$; ИР маточных артерий – $0,74 \pm 0,25$; ПИ васкуляризации хориона – $1,50 \pm 0,25$; коэффициент васкуляризации хориона (k , %) – $63 \pm 0,58$;

3) в III клинической группе ($n = 25$) показатель СДО маточных артерий – $1,72 \pm 0,29$; ИР васкуляризации хориона – $0,46 \pm 0,35$; ИР маточных артерий – $0,76 \pm 0,29$; ПИ васкуляризации хориона – $1,65 \pm 0,25$; коэффициент васкуляризации хориона (k , %) – $30 \pm 0,26$;

4) в IV клинической группе ($n = 13$) показатель СДО маточных артерий – $1,85 \pm 0,42$; ИР васкуляризации хориона – $0,51 \pm 0,11$; ИР маточных артерий – $0,77 \pm 0,39$; ПИ васкуляризации хориона – $1,70 \pm 0,38$; коэффициент васкуляризации хориона (k , %) – $23 \pm 0,25$.

Данные показатели представлены в таблице 1.

Таблица 1
Доплерометрические показатели в клинических группах
Table 1
Doppler parameters in clinical groups

Показатель	Клиническая группа				Достоверность разницы (p) [*]
	I ($n = 65$)	II ($n = 115$)	III ($n = 25$)	IV ($n = 13$)	
СДО маточных артерий	$1,56 \pm 0,16$ (a1)	$1,60 \pm 0,20$ (a2)	$1,72 \pm 0,29$ (a3)	$1,85 \pm 0,42$ (a4)	
ИР васкуляризации хориона	$0,38 \pm 0,18$ (b1)	$0,39 \pm 0,25$ (b2)	$0,46 \pm 0,35$ (b3)	$0,51 \pm 0,11$ (b4)	$b1:b4 < 0,05$
ИР маточных артерий	$0,73 \pm 0,15$ (c1)	$0,74 \pm 0,25$ (c2)	$0,76 \pm 0,29$ (c3)	$0,77 \pm 0,39$ (c4)	
ПИ васкуляризации хориона	$1,42 \pm 0,16$	$1,50 \pm 0,25$	$1,65 \pm 0,25$	$1,70 \pm 0,38$	
Коэффициент васкуляризации хориона (k , %)	$68 \pm 0,26$ (d1)	$63 \pm 0,58$ (d2)	$30 \pm 0,26$ (d3)	$23 \pm 0,25$ (d4)	$d1:d3 \leq 0,01$ $d2:d3 \leq 0,01$ $d1:d4 \leq 0,01$ $d2:d4 \leq 0,01$

Примечание. СДО – систоло-диастолическое отношение; ИР – индекс резистентности; ПИ – пульсационный индекс.

* Разница между группами достоверна ($p < 0,05$).

Note. SDR – systolic/diastolic ratio; RI – resistivity index; PI – pulsativity index. * The difference between groups is significant ($p < 0.05$).

Таблица 2

Эффективность параметров трофобластического кровотока в клинических группах с помощью ROC-анализа

Table 2

Efficacy of trophoblastic blood flow parameters in clinical groups by ROC analysis

Признак	Площадь под кривой ROC (AUC ± m)	p	Пороговое значение	Чувствительность	Специфичность
Коэффициент васкуляризации хориона (к, %)	0,733 ± 0,033	0,001	>0	76,9	89,7
Индекс резистентности хориона	0,658 ± 0,037	0,004	>0	85,1	54,7

Таким образом, коэффициент васкуляризации (к, %) показывает высокую чувствительность (76,9%) и специфичность (89,7%). ИР васкуляризации хориона имеет высокую чувствительность (85,1%) и низкую специфичность (54,7%) (табл. 2).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании определения диагностической значимости параметров доплерометрии трофобластического кровотока была показана высокая чувствительность (76,9%) и специфичность (89,7%) коэффициента васкуляризации хориона (к, %), а также низкая специфичность (54,7%) и высокая чувствительность (81,5%) индекса резистентности хориона. Таким образом, коэффициент васкуляризации хориона (к, %) имеет высокую диагностическую значимость для прогнозирования неблагоприятного исхода беременности для плода.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Syngelaki A, Guerra L, Ceccacci I, Efturk T, Nicolai des KH. Impact of holoprosencephaly, exomphalos, megacystis and increased nuchal translucency on first-trimester screening for chromosomal abnormalities. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;50:45–8. PMID: 27558969. doi:10.1002/uog.17286
2. Aupont JE, Akolekar R, Illian A, Neonakis S, Nicolai des KH. Prediction of stillbirth from placental growth factor at 19–24 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;48:631–5. PMID: 27854395. doi:10.1002/uog.17229
3. Акушерство: учебник. Под ред. В.Е. Радзинского, А.М. Фукса. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2016. 1040 с. [Radzinsky VE, Fuks AM, eds. *Obstetrics: Study Guide.* Moscow: GEOTAR-Media; 2016. 1040 p. (In Russ.)]
4. Akolekar R, Machuca M, Mendes M, Paschos V, Nicolaides KH. Prediction of stillbirth from placental growth factor at 11–13 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;48:618–23. PMID: 27854388. doi:10.1002/uog.17288
5. Радзинский В.Е. Акушерская агрессия. М.: Status Praesens; 2012. 687 с. [Radzinsky VE. *Obstetric Violence.* Moscow: Status Praesens; 2012. 687 p. (In Russ.)]
6. Экстраэмбриональные и околоплодные структуры при нормальной и осложненной беременности. Под ред. В.Е. Радзинского, А.П. Милованова. М.: Мед. информ. агентство; 2004. 393с. [Radzinsky VE, Milovanov AP, eds. *Extraembryonic and Amniotic Structures in Normal and Complicated Pregnancy.* Moscow: Med. inform. agentstvo; 2004. 393 p. (In Russ.)]

7. Милованов А.П. Патология системы «мать – плацента – плод». М.: Медицина; 1999. 448 с. [Milovanov AP. *Pathology of the 'Mother – Placenta – Fetus' system.* Moscow: Meditsina; 1999. 448 p. (In Russ.)]

8. Внутритробное развитие человека. Под ред. А.П. Милованова, С.В. Савельева. М.: МДВ, 2006. 382 с. [Milovanov AP, Savelyev SV, eds. *Intrauterine Human Development.* Moscow: MDV; 2006. 382 p. (In Russ.)]

9. Медведев М.В. Пренатальная эхография. Дифференциальный диагноз и прогноз. 3-е изд., доп. и перераб. М.: Реал Тайм; 2012. 464 с. [Medvedev MV. *Prenatal Echography. Differential Diagnosis and Prognosis.* 3rd ed. Moscow: Real Taim; 2012. 464 p. (In Russ.)]

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Поморцев Алексей Викторович, д. м. н., профессор, заведующий кафедрой лучевой диагностики, Кубанский государственный медицинский университет; руководитель центра лучевой диагностики, Краевая клиническая больница №2 (Краснодар, Россия). ORCID ID: 0000-0003-4129-3930. E-mail: pomor-av@mail.ru

Дьяченко Юлия Юрьевна, ассистент кафедры лучевой диагностики, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). ORCID ID: 0000-0003-2957-9100

Матосян Мариам Альбертовна, ассистент кафедры лучевой диагностики, Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар, Россия). ORCID ID: 0000-0002-9576-6724

Финансирование

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

AUTHOR CREDENTIALS

Pomortsev Alexey V., Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Diagnostic Radiology Department, Kuban State Medical University; Head of the Center for Radiation Diagnostics, Regional Clinical Hospital #2 (Krasnodar, Russia). ORCID ID: 0000-0003-4129-3930. E-mail: pomor-av@mail.ru

Dyachenko Julia Yu., Assistant Professor, Diagnostic Radiology Department, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russia). ORCID ID: 0000-0003-2957-9100

Matosyan Mariam A., Assistant Professor, Diagnostic Radiology Department, Kuban State Medical University (Krasnodar, Russia). ORCID ID: 0000-0002-9576-6724

Funding: the study did not have sponsorship.

Conflict of interest: none declared.