

ВЕСТНИК  
РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ  
МЕДИЦИНСКИХ  
НАУК

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY  
OF MEDICAL SCIENCES



5

# ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

*Научно-теоретический журнал. Выходит один раз в два месяца. Основан в 1946 г.*

Входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК.  
Индексируется в базах данных Scopus, Embase, EBSCO,  
РИНЦ (Russian Science Citation Index на платформе Web of Science).

**Учредители:**

- Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российская академия наук»
- Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**РИНЦ:**

- Impact Factor (5 лет) — 0,985
- Рейтинг SCIENCE INDEX (Медицина и здравоохранение) — 4

**SCOPUS:**

- CiteScore 2021 — 0,6 (Q3)
- SJR 2021 — 0,12 (Q4)

**Главный редактор:** В.И. Стародубов

**Заместитель главного редактора:** В.В. Береговых

**Научные редакторы:** А.А. Кубанов, И.В. Маев

**Ответственный секретарь:** Л.С. Коков

**Редакционная коллегия:**

В.Г. Акимкин, А.И. Арчаков, А.А. Баранов, Ю.В. Белов, С.А. Бойцов, Н.И. Брико, Е.К. Гинтер, П.В. Глыбочко, В.М. Говорун, Е.З. Голухова, А.М. Дыгай, А.М. Егоров, А.А. Камалов, А.Д. Каприн, А.В. Караулов, Р.С. Козлов, С.И. Колесников, А.А. Кубатиев, С.И. Куцев, А.В. Лисица, А.Д. Макацария, А.И. Мартынов, Г.А. Мельниченко, Л.С. Намазова-Баранова, Е.Л. Насонов, М.А. Пирадов, Н.В. Пятигорская, В.И. Сергиенко, Г.Т. Сухих, Д.А. Сычев, В.А. Тутельян, В.П. Чехонин, М.В. Шестакова

**Зарубежные члены редакционной коллегии:**

Д. Видера, В-Д. Гримм, М. Мюллер, Д. Риццо, Н.С. Сердюченко, В.Л. Фейгин, А. Хаверих, К. Шен, И. Шенфельд

## 2022/ТОМ 77/№5

Печатное периодическое издание «Вестник Российской академии медицинских наук» зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 16 сентября 1992 г. (Свидетельство о регистрации № 01574), перерегистрировано 27 марта 2020 г. (Свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-78060).

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов.

Воспроизведение или использование другим способом любой части издания без согласия редакции является незаконным и влечет за собой ответственность, установленную действующим законодательством РФ

Тираж 1000 экз. Подписной индекс: в агентстве ООО «Урал-Пресс Округ» — 71488. Свободная цена.

Знаком информационной продукции не маркируется.

Адрес редакции: 127254, г. Москва, ул. Добролюбова, 11

Издательство «ПедиатрЪ»: 117335, г. Москва, ул. Вавилова, д. 81, корп. 1, этаж 2, помеш. № XLIX, офис 2–8,

Тел.: +7 (499) 132-02-07, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>, e-mail: [vramn@spr-journal.ru](mailto:vramn@spr-journal.ru)

Отпечатано в ООО «Объединенный полиграфический комплекс»

115114, Москва, Дербеневская наб., д. 7 с. 2, тел.: +7(499) 130-60-19, [www.opk.bz](http://www.opk.bz).

---

# ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

---

*Published bimonthly since 1946.*

The journal is indexed in Scopus, Embase, EBSCO,  
Russian Science Citation Index (Web of Science).

**Founders:**

- Russian Academy of Sciences
- Federal Research Institute for Health Organization and Informatics of Ministry of Health of the Russian Federation

**SCOPUS:**

- CiteScore 2021 — 0,6 (Q3)
- SJR 2021 — 0,12 (Q4)

**Editor-in-chief:** V.I. Starodubov

**Deputy editor-in-chief:** V.V. Beregovykh

**Scientific editors:** A.A. Kubanov, I.V. Maev

**Editorial secretary:** L.S. Kokov

**Editorial board:**

V.G. Akimkin, A.I. Archakov, A.A. Baranov, Yu.V. Belov, S.A. Boytsov, N.I. Briko, A.M. Dygai, A.M. Egorov, V.L. Feigin, E.K. Ginther, P.V. Glybochko, V.M. Govorun, E.Z. Golukhova, W-D. Grimm, A. Haverih, A.A. Kamalov, A.D. Kaprin, A.V. Karaulov, S.I. Kolesnikov, R.S. Kozlov, A.A. Kubatiev, S.I. Kutsev, A.V. Lisitsa, A.D. Makatsariy, A.I. Martynov, G.A. Melnichenko, M. Müller, L.S. Namazova-Baranova, E.L. Nasonov, M.A. Piradov, N.V. Pyatigorskaya, G. Rizzo, N.S. Serdyuchenko, V.I. Sergienko, K. Shen, Y. Shoenfeld, G.T. Sukhikh, D.A. Sychev, V.A. Tutelyan, V.P. Chekhonin, M.V. Shestakova, D. Widera

---

## 2022/ 77 (5)

---

Mass media registration certificate dated March, 27, 2020. Series ПИИ № ФС77-78060. Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media.

Editorial office takes no responsibility for the contents of advertising material.

No part of this issue may be reproduced without permission from the publisher. While reprinting publications one must make reference to the journal «Annals of The Russian Academy of Medical Sciences»

Edition 1000 copies. Subscription indices are in the catalogue Ural-Press Okrug — 71488. Free price. Not marked with content sign.

Editorial Office: 11, Dobrolubov str., Moscow, 127254

Publisher «Paediatrician»: Office 2–8, Unit № XLIX, 81-1 Vavilova Str., 2nd floor, 117335, Moscow, Russian Federation,

Phone: +7 (499) 132-02-07, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>, e-mail: [vramn@spr-journal.ru](mailto:vramn@spr-journal.ru)

Printed at LLC United Printing Complex

7/2 Derbenevskaya nab., 115114, Moscow, tel.: +7(499) 130-60-19, [www.opk.bz](http://www.opk.bz).

## СОДЕРЖАНИЕ

## CONTENTS

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
АКУШЕРСТВА И ГИНЕКОЛОГИИ***И.И. Крукиер, В.В. Авруцкая, М.А. Левкович, А.В. Галусьяк,  
А.А. Григорьяни, А.А. Никашина*

Влияние продукции коллагена, активности коллагеназы и уровня аминокислот на формирование задержки роста плода у женщин с плацентарной недостаточностью

313

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИИ***Г.Г. Кармазановский, А.В. Чжао, Х.А. Айвазян,  
А.Б. Гончаров, В.А. Сараева, С.А. Трифонов*

Диагностические возможности магнитно-резонансной панкреатохолангиографии с внутривенным контрастированием гадооксетовой кислотой при заболеваниях желчных протоков

320

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ИММУНОЛОГИИ***В.К. Ильин, З.О. Соловьева, М.П. Рыкова,  
М.А. Скедина, А.А. Ковалева, А.М. Носовский,  
А.С. Шеблаева, В.Н. Царев, М.С. Подпорин, О.В. Быстрова,  
О.А. Гизингер, С.М. Ловцевич, Д.В. Комиссарова*

Взаимосвязь изменения орального микробиоценоза и мукозального иммунитета в условиях 14-суточной изоляции человека в гермообъекте с искусственной средой обитания

326

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
КЛЕТочНОЙ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ  
И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ***И.В. Майбородин, Р.В. Маслов, М.Е. Рязузов,  
В.И. Майбородина, М.И. Воевода*

Состав и возможность применения в практической медицине экзосом/экстрацеллюлярных везикул мультипотентных стромальных клеток

336

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ОНКОЛОГИИ***Н.С. Сергеева, Т.А. Кармакова, М.А. Поляк,  
И.И. Алентов, А.Д. Каприн*

Системная воспалительная реакция как фактор прогноза при раке молочной железы. Часть I. Опухоль-промотирующее воспаление. Сывороточные маркеры воспаления

345

**OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY:  
CURRENT ISSUES***I.I. Krukier, V.V. Avrutskaya, M.A. Levkovich,  
A.V. Galusyak, A.A. Grigoryants, A.A. Nikashina*

Influence of Collagen Production, Collagenase Activity and Amino Acids Level on Formation of Fetal Growth Restriction in Women with Placental Insufficiency

**GASTROENTEROLOGY:  
CURRENT ISSUES***G.G. Karmazanovsky, A.V. Chzhao, Kh.A. Ayvazyan,  
A.B. Goncharov, V.A. Saraeva, S.A. Trifonov*

Diagnostic Possibilities of Magnetic Resonance Cholangiography with Intravenous Contrast in Diseases of the Bile Ducts

311

**IMMUNOLOGY:  
CURRENT ISSUES***V.K. Ilyin, Z.O. Solovieva, M.P. Rykova, M.A. Skedina,  
A.A. Kovaleva, A.M. Nosovsky, A.S. Sheblaeva, V.N. Tsarev,  
M.S. Podporin, O.V. Bystrova, O.A. Gizinger,  
S.M. Lovtsevich, D.V. Komissarova*

The Relationship of Changes in Oral Microbiocenosis and Mucosal Immunity in the Conditions of 14-Day Isolation of a Person in a Hermetic Object with an Artificial Habitat

**CELL TRANSPLANTOLOGY  
AND TISSUE ENGINEERING:  
CURRENT ISSUES***I.V. Maiborodin, R.V. Maslov, M.E. Ryaguzov,  
V.I. Maiborodina, M.I. Voevoda*

Composition and Possibility of Application in Practical Medicine of Exosome/Extracellular Vesicles from Multipotent Stromal Cells

**ONCOLOGY:  
CURRENT ISSUES***N.S. Sergeeva, T.A. Karmakova, M.A. Polyak,  
I.I. Alentov, A.D. Kaprin*

Systemic Inflammatory Response as a Prognostic Factor in Breast Cancer. Part I. Tumor-Promoting Inflammation. Serum Inflammatory Markers

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ПЕДИАТРИИ**

*А.Б. Бухарина, А.О. Федулкина, К.Н. Демидова,  
А.В. Пенто, Л.Д. Мальцева, Я.О. Симановский,  
С.М. Никифоров, О.Л. Морозова*

Омиксные технологии в скрининге повреждения  
почек у детей с врожденными уропатиями

**PEDIATRICS:  
CURRENT ISSUES**

*A.B. Bukharina, A.O. Fedulkina, K.N. Demidova,  
A.V. Pento, L.D. Maltseva, Y.O. Simanovsky,  
S.M. Nikiforov, O.L. Morozova*

Omics Technologies in Screening for Kidney Disease  
in Children with Congenital Uropathy

**354****АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ЭНДОКРИНОЛОГИИ**

*Е.И. Ким, Ю.А. Крупинова, П.В. Белоусов,  
К.А. Трутнева, Н.Г. Мокрышева*

Лечение рака околощитовидных желез: текущее  
состояние и ближайшие перспективы

**ENDOCRINOLOGY:  
CURRENT ISSUES**

*E.I. Kim, J.A. Krupinova, P.V. Belousov, K.A. Trutneva,  
N.G. Mokrysheva*

Treatment of Parathyroid Cancer: Current Status  
and Near-Term Prospects

**362****ЮБИЛЕИ**

*И.В. Решетов, Н.В. Сергеева, А.А. Сериков*

К 85-летию академика РАН Виктора Кузьмича  
Гостищева

**JUBILEE**

*I.V. Reshetov, N.V. Sergeeva, A.A. Serikov*

To the 85<sup>th</sup> Anniversary of Academician of the Russian  
Academy of Sciences Viktor Kuzmich Gostischev

**371**

*И.В. Решетов, Н.В. Сергеева, А.А. Сериков*

К 75-летию академика РАН Александра Ивановича  
Кириенко

*I.V. Reshetov, N.V. Sergeeva, A.A. Serikov*

To the 75<sup>th</sup> Anniversary of Academician of the Russian  
Academy of Sciences Alexander Ivanovich Kiriyenko

**373****312**

И.И. Крукиер<sup>1</sup>, В.В. Авруцкая<sup>1</sup>, М.А. Левкович<sup>1</sup>,  
А.В. Галусьяк<sup>1</sup>, А.А. Григорьянц<sup>2</sup>, А.А. Никашина<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

<sup>2</sup>Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Российская Федерация

# Влияние продукции коллагена, активности коллагеназы и уровня аминокислот на формирование задержки роста плода у женщин с плацентарной недостаточностью

**Обоснование.** Согласно данным ВОЗ, в мире ежегодно рождается около 21 млн детей, имеющих малую массу тела. В настоящее время проблемы этиологии, диагностики и лечения задержки роста плода (ЗРП) весьма актуальны для акушерства и перинатологии. **Цель исследования** — изучить уровень коллагена, активность коллагеназы, а также содержание пролина, орнитина у пациенток с плацентарной недостаточностью в сыворотке крови матери, околоплодных водах, плаценте, пуповинной крови и показать их роль в формировании риска задержки роста плода (ЗРП). **Методы.** Обследовано 150 женщин, составивших две группы — контрольную (с неосложненным течением беременности,  $n = 105$ ) и основную (с ЗРП,  $n = 45$ ). Все исследования проводили в сыворотке крови, околоплодных водах, пуповинной крови и плаценте женщин указанных групп. Содержание коллагена и активности коллагеназы определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа, используя наборы ELISA, USA. Определение аминокислот (пролина, орнитина) проводили методом капиллярного электрофореза на приборе «Капель-105» (Санкт-Петербург). **Результаты.** По итогам проведенного корреляционного анализа во всех изученных биожидкостях методом Спирмена с расчетом коэффициента ранговой корреляции ( $r$ ) в группе женщин с задержкой роста плода были выявлены значимые корреляционные взаимосвязи между продукцией коллагена и активностью коллагеназы. Наиболее сильные взаимозависимости ( $r = 0,85$ ;  $p < 0,05$ ) обнаружены в сыворотке крови матери. **Заключение.** Установлена взаимосвязь между изученными показателями (коллагеном, коллагеназой, пролином, орнитинем) в сыворотке крови, околоплодных водах, пуповинной крови и плаценте женщин с плацентарной недостаточностью и установлена их роль в формировании ЗРП.

**Ключевые слова:** задержка роста плода, коллаген, коллагеназа, пролин, орнитин

**Для цитирования:** Крукиер И.И., Авруцкая В.В., Левкович М.А., Галусьяк А.В., Григорьянц А.А., Никашина А.А. Влияние продукции коллагена, активности коллагеназы и уровня аминокислот на формирование задержки роста плода у женщин с плацентарной недостаточностью. Вестник РАМН. 2022;77(5):313–319. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2104>

313

I.I. Krukier<sup>1</sup>, V.V. Avrutskaya<sup>1</sup>, M.A. Levkovich<sup>1</sup>, A.V. Galusyak<sup>1</sup>, A.A. Grigoryants<sup>2</sup>, A.A. Nikashina<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>2</sup>Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

## Influence of Collagen Production, Collagenase Activity and Amino Acids Level on Formation of Fetal Growth Restriction in Women with Placental Insufficiency

**Rationale.** According to WHO, about 21 million children are born annually in the world with low body weight. Currently, the problems of etiology, diagnosis and treatment of fetal growth retardation (FGR) are very relevant for obstetrics and perinatology. **Purpose** — to study the level of collagen (COL1) collagenase activity (MMP1), and content of proline, ornithine in the maternal blood serum, amniotic fluid, placenta and cord blood of patients with placental insufficiency, and to identify their role in the formation of fetal growth restriction (FGR) during early pregnancy. **Methods.** 150 women were examined, which made up 2 groups — control (with uncomplicated pregnancy,  $n = 105$ ) and main (with IUGR,  $n = 45$ ). All measurements were performed in maternal blood serum, amniotic fluid, placenta and cord blood of women of both groups. Collagen content and collagenase activity are determined by ELISA kits, USA. Determination of amino acids (proline, ornithine) was carried out by capillary electrophoresis on the device “Capel-105” (St. Petersburg). **Results.** As a result of the correlation analysis in the study of all biofluids by the Spearman method with the calculation of the rank correlation coefficient ( $r$ ) in the group of women with FGR, significant correlations between collagen production and collagenase activity were revealed. The most pronounced interdependence ( $r = 0.85$ ;  $p < 0.05$ ) was found in the maternal blood serum. **Conclusions.** A relationship was found between the studied parameters (collagen, collagenase, proline, ornithine) in blood serum, amniotic fluid, cord blood and placenta of women with placental insufficiency and their role in the formation of fetal growth retardation was established.

**Keywords:** fetal growth retardation, collagen, collagenase, proline, ornithine

**For citation:** Krukier II, Avrutskaya VV, Levkovich MA, Galusyak AV, Grigoryants AA, Nikashina AA. Influence of Collagen Production, Collagenase Activity and Amino Acids Level on Formation of Fetal Growth Restriction in Women with Placental Insufficiency. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2022;77(5):313–319. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2104>

## Обоснование

Рост плода — это сложные процессы, прежде всего зависящие от правильного взаимодействия компонентов системы «мать—плацента—плод». В ранние сроки беременности происходит инвазия ворсин, образованных цитотрофобластом, через децидуальный слой, что обеспечивает прикрепление плаценты к матке и создает условия для коммуникации между материнской кровью и межворсинчатым пространством.

Согласно данным ВОЗ, в мире ежегодно рождается около 21 млн детей, имеющих малую массу тела. Проблема этиологии, диагностики и лечения задержки роста плода (ЗРП) актуальны для акушерства и перинатологии. Кроме задержки физического развития отмечаются также особенности становления многих органов и систем новорожденного. Частота неврологических нарушений, по данным различных исследователей, варьирует от 10 до 45% [1, 2].

Разноречивость данных о частоте ЗРП обусловлена и тем, что до настоящего времени нет единого мнения относительно определения этого осложнения. Высокая доля частоты ЗРП зарегистрирована у авторов, которые включали в это понятие все случаи рождения маловесных детей, не исключая конституционально и генетически обусловленные [3], а ее диагностика является одной из наиболее сложных в акушерстве. Несмотря на достаточно широкий спектр этиологических факторов, ретроспективный анализ свидетельствует, что почти в 50% случаев ЗРП фактор риска выявить не удастся, что позволяет рекомендовать всем беременным проходить тщательное клиническое, инструментальное и лабораторное обследование.

Установлено, что наиболее частой причиной нарушения состояния плода во время беременности, в том числе и главной причиной ЗРП, является плацентарная недостаточность (ПН). От 20 до 30% всех случаев ЗРП развивается на фоне этого осложнения [4].

Известно, что из трех основных типов коллагена более 90% составляет именно 1 тип (COL1), представленный в сосудах, сердце, коже и т.д. Значимость ранней диагностики и профилактики ЗРП при наличии нарушений в работе функциональной системы коллагенообразования очевидна. При продолжительном воздействии повреждающих факторов нарастает активация металлопротеиназ с разрушением эластических свойств сосудов, повышением периферического сопротивления [5].

Таким образом, ферментативно-морфологические особенности формируются и распространяются на все капиллярно-соединительнотканые структуры или клеточно-биохимические комплексы соединительной ткани, роль которых многообразна. Их значимость состоит в том, что через них осуществляется контроль над состоянием коллагенообразующей системы и биосинтезом коллагенового белка.

Не вызывает сомнения, что в различные периоды индивидуального развития и при различных физиологических состояниях организма меняется и потребность в аминокислотах. Аминокислоты выполняют жизненно необходимую для организма роль «строительного материала» в биосинтезе специфических тканевых белков, ферментов, пептидных гормонов и т.д. Важная роль аминокислот как незаменимых субстратов в метаболических процессах неразрывно связана с их функцией как регуляторов многих биохимических и физиологических реакций (пластического, энергетического обмена и др.). Так,

пролин играет определенную роль в составе основного белка соединительной ткани — коллагена, а также влияет на развитие плаценты и плода за счет усиления плацентарного транспорта питательных веществ, ангиогенеза и синтеза белка [6].

При беременности важное значение имеет орнитин, принимающий участие в синтезе соматотропного гормона и отвечающий за рост плода, а также пролиферацию, стимуляцию биосинтеза ДНК и РНК [7].

**Цель исследования** — изучить уровень коллагена (COL1), активность коллагеназы (ММП1), а также содержание пролина и орнитина у пациенток с ПН в сыворотке крови матери, околоплодных водах, плаценте, пуповинной крови и показать их роль в формировании ЗРП.

## Методы

### Дизайн исследования

Нами было проведено одноцентровое, одномоментное, контролируемое, рандомизированное исследование. В результате простой рандомизации из 960 наблюдавшихся беременных женщин путем случайной выборки было отобрано 150 пациенток, из которых сформированы две группы — основная и контрольная. В контрольную группу вошли 105 пациенток с неосложненным течением беременности и в основную — 45 женщин с ЗРП (рис. 1).

### Критерии соответствия

**Критерий включения в основную группу** — беременность, осложненная ПН и задержкой роста плода в III триместре беременности.

### Критерии исключения:

- эндокринная патология и инфекционные процессы органов малого таза в стадии декомпенсации;
- пороки развития плода;
- отслойка нормально расположенной плаценты;
- оболочечное прикрепление пуповины;
- обвитие пуповиной плода;
- аномалии пуповины;
- многоплодная беременность.

### Условия проведения

Исследование выполнялось на базе клинических и научных подразделений Научно-исследовательского института акушерства и педиатрии Ростовского государственного медицинского университета Минздрава России (НИИАП).

### Продолжительность исследования

Исследование проводилось с 2020 по 2022 г.

### Описание медицинского вмешательства

Все исследования были проведены в соответствии с приказом Минздрава России от 20.11.2020 №1130н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю “акушерство и гинекология” (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)» и включали клинические, клинико-лабораторные и клинико-инструментальные методы обследования. Наблюдение за беременными осуществлялось в поликлиническом отделении НИИАП.

Роды в группе женщин с ЗРП (основная) через естественные родовые пути происходили в сроках 37–38 нед. Плановое оперативное родоразрешение проведено у 5 пациенток (11,1%) в связи с заключением смежных специ-

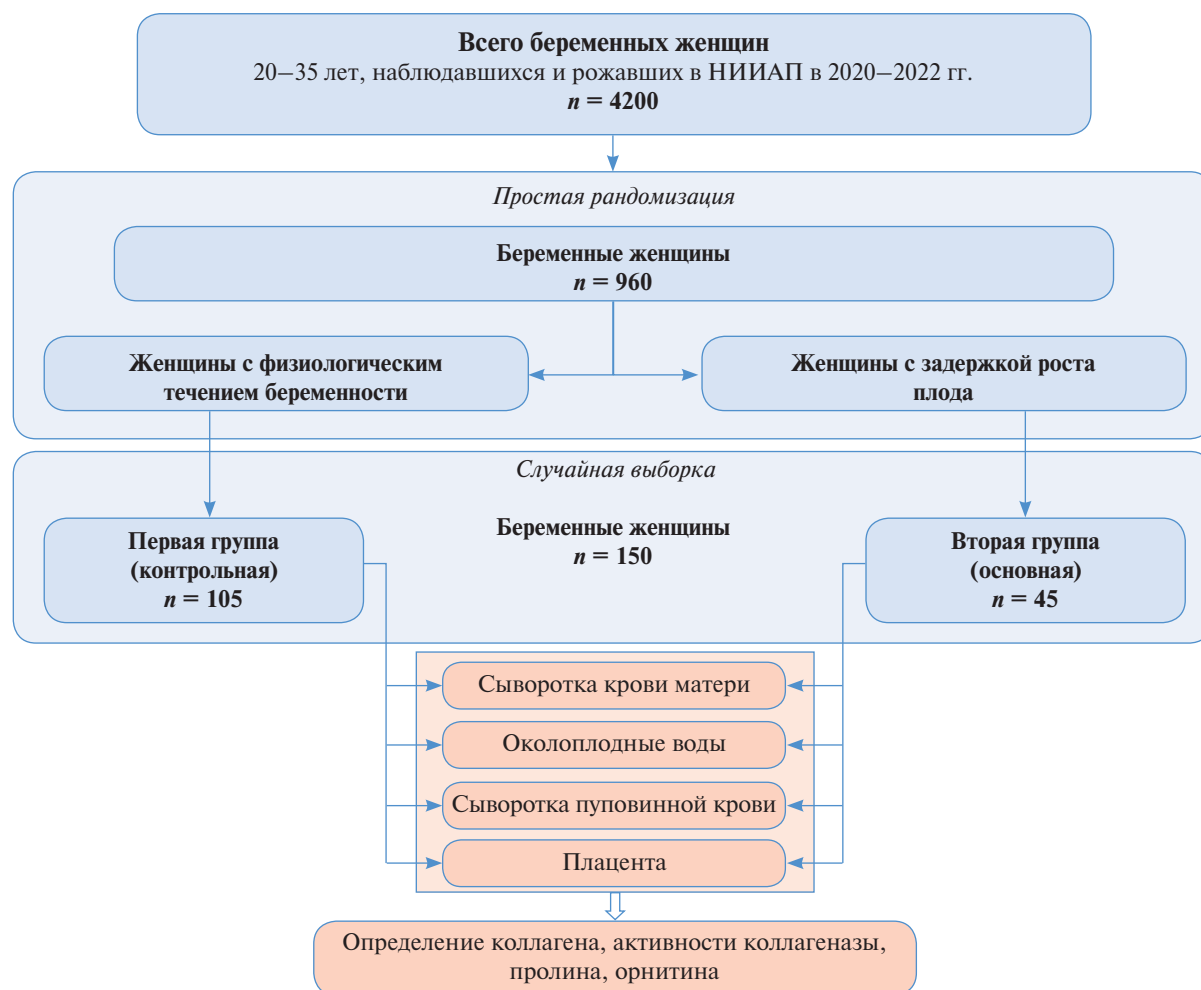


Рис. 1. Дизайн исследования

алистов. Экстренное кесарево сечение по показаниям со стороны плода проведено у 12 (26,6%) женщин из-за нарушений фетоплацентарной гемодинамики.

Были также обследованы новорожденные от женщин представленных групп. В обследование входили оценка физического, неврологического статуса, оценка по шкале Апгар, КЩС пуповинной крови.

### Исходы исследования

**Основной исход исследования.** Основным исходом исследования явилось установление взаимосвязи между изученными показателями (коллагеном, коллагеназой, пролином, орнитином) в сыворотке крови, околоплодных водах, пуповинной крови и плаценте женщин с неосложненной беременностью и ПН и установление их роли в формировании задержки роста плода.

**Анализ в подгруппах.** Обследовано 150 женщин, разделенных на две группы — контрольную и основную. В основную включены беременные женщины с ПН ( $n = 45$ ). Контрольную группу составили первородящие первобеременные женщины ( $n = 105$ ).

### Методы регистрации исходов

Материалом для исследования служили сыворотка крови, взятой у пациенток накануне родов, амниотическая жидкость (взятая в родах), пуповинная кровь новорожденных (взятая сразу после рождения из плодового конца пуповины системой для забора пуповинной крови), а также ткань плаценты, полученная после родов. Все действия проходили при соблюдении холодового режима,

образцы для исследования хранились в морозильной камере (Sanyo, Япония) при температуре ( $-80^{\circ}\text{C}$ ).

Содержание коллагена 1 типа (COL1) и активность металлопротеиназы MMP-1 (коллагеназы) определяли иммуноферментными наборами ELISA, USA. Данные наборы имеют высокую чувствительность и специфичность для определения COL1 и MMP-1. Не обнаружено значимой кросс-реактивности и интерференции с аналогами. Все исследования проводили в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

Количественное определение аминокислот (пролина, орнитина) проводили методом капиллярного электрофореза на приборе «Капель-105» (Санкт-Петербург) с переменной полярностью. В работе нами был использован немодифицированный кварцевый капилляр с внешней полиамидной пленкой общей длиной 60 см и внутренним диаметром 75 мкм. Получение электронных спектров поглощения выполнено на спектрофотометре Cary 50 Scan. Сбор и обработку данных осуществляли, применяя программу IBM PC «Мультихром», АО «Амперсенд» [8].

### Этическая экспертиза

Данные исследования одобрены этическим комитетом НИИАП ФГБОУ ВО РостГМУ МЗ РФ (протокол №3 от 11 февраля 2020 г.).

### Статистический анализ

**Принципы расчета размера выборки.** Размер выборки предварительно не рассчитывался.



**Методы статистического анализа данных.** Статистическую обработку данных осуществляли с помощью лицензионного пакета программ Statistica (версия 6.0, фирма StatSoft, Inc.) и «Мегастат». Достоверность различий между сравниваемыми показателями определяли по *t*-критерию Стьюдента (при нормальном распределении по Хи-квадрату). Результаты оценивали как статистически значимые при  $p < 0,05$ .

### Результаты

#### Объекты (участники) исследования

Всего было обследовано 150 пациенток, составивших две группы. Основную группу составили 45 беременных с диагнозом ПН, родоразрешенных в сроки 37–38 нед. В контрольную группу вошли 105 пациенток с неосложненным течением беременности и родов в 38–40 нед. Средний возраст рожениц был сопоставим в обеих группах —  $22,5 \pm 0,5$  года ( $p < 0,05$ ).

#### Основные результаты исследования

С целью определения состояния плода при установлении диагноза ЗРП беременным женщинам проводились контроль доплерометрии фетоплацентарного кровотока (ДПМ) и кардиотокография (КТГ) каждые 2 нед. Нарушение маточно- и фетоплацентарной гемодинамики отмечалось у 65% беременных.

На основании результатов ультразвуковой фетометрии определяли степень ЗРП.

В нашем исследовании отставание показателей фетометрии от нормативных составляло 2–3 нед. Полученные результаты исследования продукции коллагена, активности коллагеназы, а также содержания пролина и орнитина в околоплодных водах и сыворотке крови матери представлены на рис. 2.

Следует отметить, что в сыворотке крови уровень коллагена был снижен на 87% ( $p < 0,01$ ), а активность коллагеназы повышалась на 36% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем. В околоплодных водах наблюдалась противоположная ситуация: уровень коллагена увеличивался на 34% ( $p < 0,01$ ), а активность коллагеназы уменьшалась на 63% ( $p < 0,01$ ). Можно предполагать, что активирован-

ная форма коллагеназы (ММП1), которая была увеличена в сыворотке крови, расщепляет коллаген I типа (COL1) и ведет к его деградации [9, 10].

В плаценте и пуповинной крови уровень коллагена и активность коллагеназы имели противоположную динамику по сравнению с сывороткой крови матери (рис. 3). Содержание коллагена в плацентарной ткани увеличивалось на 57% ( $p < 0,01$ ) и 25% ( $p < 0,05$ ) соответственно, а активность коллагеназы снижалась на 42% ( $p < 0,01$ ) и 48% ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контрольными данными. Аномальное отложение коллагена в плаценте ведет к снижению экспрессии ММП1, что способствует возникновению фиброза данной ткани [11].

Что касается динамики содержания аминокислот, то продукция пролина и орнитина во всех изучаемых биожидкостях и ткани плаценты была снижена. Так, уровень пролина снижался в сыворотке крови матери на 42% ( $p < 0,05$ ), в околоплодных водах — на 64% ( $p < 0,01$ ), в пуповинной крови — на 74% ( $p < 0,01$ ) и в большей степени в плаценте (снижение составило 100%) по сравнению с группой контроля.

Продукция орнитина, как и пролина, более всего уменьшалась также в ткани плаценты (на 52%,  $p < 0,01$ ), далее следуют околоплодные воды (на 45%,  $p < 0,01$ ) и пуповинная кровь (на 27%,  $p < 0,05$ ).

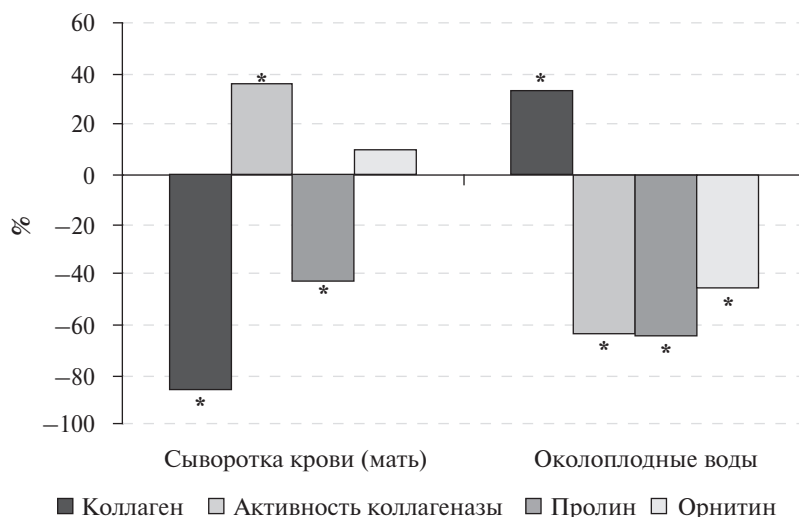
Изменение содержания аминокислот при ЗРП может регулироваться различными путями: скоростью образования их в самой плацентарной ткани, путем поступления из крови матери, а также в различных реакциях обмена (между плацентой и околоплодной средой).

Имеется ряд работ, в которых указывается на активный транспорт аминокислот через гемохориальную плаценту с помощью специфических транспортных систем, находящихся в плазматических мембранах синцитиотрофобласта [12].

Не вызывает сомнения, что потребность растущего организма в указанных аминокислотах очень высока, поэтому такая низкая концентрация в хорионе пролина и орнитина приводит, очевидно, к развитию ЗРП.

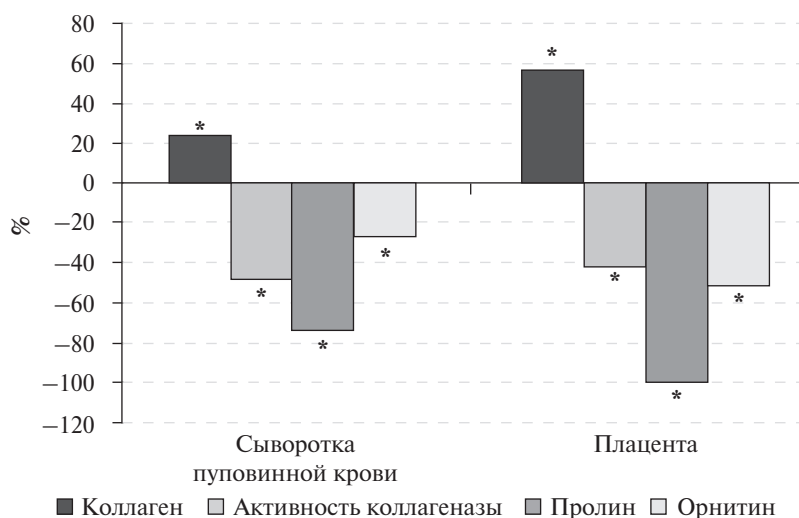
#### Дополнительные результаты исследования

Оценка по шкале Апгар у новорожденных на 1–5-й мин в группе контроля составила в среднем 8–9 баллов.



**Рис. 2.** Динамика коллагена, активности коллагеназы, содержания пролина и орнитина в сыворотке крови и околоплодных водах у женщин с ЗРП, %

*Примечание.* \* — достоверность отличий от показателей при физиологической беременности ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 3.** Динамика коллагена, активности коллагеназы, содержания пролина и орнитина в пуповинной крови и плаценте у женщин с ЗРП, %

*Примечание.* \* — достоверность отличий от показателей при физиологической беременности ( $p < 0,05$ ).

В группе женщин с ЗРП оценка новорожденных составила на 1-й мин — 6–7 баллов, на 5-й мин — 7–8 баллов за счет снижения мышечного тонуса и рефлексов, а также цвета кожных покровов. Масса тела новорожденных детей контрольной группы составила  $3600 \pm 220$  г, длина —  $52,0 \pm 1,0$  см. Показатели роста-весовых параметров в группе с ЗРП —  $2500 \pm 210$  г и  $45,0 \pm 1,5$  см.

У новорожденных от матерей с ЗРП по данным кислотно-щелочного состояния пуповинной крови выявлено снижение парциального давления и сатурации кислорода, а также показателей рН крови пуповины, что, вероятно, свидетельствовало о наличии выраженных изменений гипоксически-метаболического характера.

Все родильницы и их новорожденные контрольной группы выписаны на 3–4-е сут в удовлетворительном состоянии.

В отделение патологии новорожденных было переведено 13 (28,9%) новорожденных основной группы на второй этап выхаживания.

### Нежелательные явления

Нежелательных явлений, возникших в результате проведения исследования, не отмечено.

## Обсуждение

### Резюме основного результата исследования

На основании изученных показателей расширены представления о механизмах формирования ЗРП у пациенток с ПН, что даст возможность разработки алгоритма оптимального ведения беременных женщин с данной патологией.

### Обсуждение основного результата исследования

Следует отметить, что коллаген продуцируется на материнско-плодовой поверхности. Высокая экспрессия коллагена на границе раздела матери и плода может регулировать дифференцировку и иммунную функцию клеток в децидуальной оболочке, что способствует успешной имплантации [13].

Плацента является важным органом для роста и развития плода. В период раннего развития плаценты инвазия вневорсинчатого трофобласта в плацентарное ложе недо-

статочна. В этой ишемической и бескислородной среде ворсинки претерпевают ряд изменений, таких как отложение коллагена.

Известно, что аномальная экспрессия коллагена в ткани плаценты может наблюдаться у пациенток с преэклампсией. Известно также, что выработка коллагена I типа (COL1) увеличивается в условиях гипоксии, что приводит к снижению экспрессии коллагеназ ММП1 [14].

У наблюдаемых нами пациенток с ПН также имеет место гипоксия. Наличие последней и выявленный нами дисбаланс в продукции коллагена и активности коллагеназы, очевидно, могут привести к ЗРП.

Метаболизм пролина и коллагена играет решающую роль в поддержании клеточного гомеостаза. Нарушение регуляции обмена пролина лежит в основе механизма некоторых заболеваний соединительной ткани. Обнаруженный нами низкий уровень пролина, вероятно, связан с дефицитом пролидазы (фермента, гидролизующего пролин), что может нарушать функцию глутаматергических нейронов. Во многих случаях дефицит этого фермента сопровождается развитием умственной отсталости у детей [15].

Пролин играет важную роль в регуляции экспрессии генов, факторов транскрипции, клеточных окислительно-восстановительных реакций, синтеза орнитина, аргинина и коллагена.

В результате проведенного корреляционного анализа методом Спирмена с расчетом коэффициента ранговой корреляции ( $r$ ) и вычислением его средней ошибки в группе женщин с ЗРП на фоне ПН выявлены следующие взаимосвязи. Наиболее значимые коэффициенты корреляций обнаружены между коллагеном и активностью коллагеназы: в сыворотке крови он составил  $r = -0,85$  ( $p < 0,05$ ), в околоплодных водах —  $r = -0,75$  ( $p < 0,05$ ), в пуповинной крови —  $r = 0,72$  ( $p < 0,05$ ), в плаценте —  $r = -0,78$  ( $p < 0,05$ ).

Между аминокислотами пролином и орнитином, напротив, была обнаружена менее значимая корреляционная взаимосвязь. Так, в околоплодных водах и плаценте она была положительной и составила  $r = 0,61$  ( $p < 0,05$ ), в плаценте —  $r = 0,68$  ( $p < 0,01$ ), а в пуповинной крови ее уровень был отрицательный ( $r = -0,46$ ).

Можно полагать, что выявленные нами изменения в уровне изученных аминокислот приводят к нарушению процессов имплантации и плацентации. Регуляция

этих процессов происходит в результате сложнейших взаимодействий большого количества белков, аминокислот и других биоактивных веществ, которые опосредуют в маточно-плацентарном комплексе адгезию, инвазию и пролиферацию клеток [16]. Резкое нарушение инвазии трофобласта, модификация формирования первичных и вторичных ворсин ведут к нарушению становления гемохориального кровообращения и, по-видимому, могут закончиться формированием ПН и ЗРП.

### Ограничения исследования

Следует констатировать, что ограничениями исследований можно считать то, что все пациентки находились под наблюдением в НИИАП и представляли Южный федеральный округ, т.е. полученные результаты могут быть значимыми на региональном уровне.

### Заключение

Осложненная плацентарной недостаточностью и задержкой роста плода беременность сопровождается значительными сдвигами в продукции изученных показателей.

Проанализировав полученные результаты с применением корреляционного анализа, можно судить об участии изученных биоактивных веществ в гестационном процессе, более глубоко вникнуть в механизм этого участия и сделать определенные выводы.

Выявленные нами взаимозависимости, приводящие к дисбалансу регуляторных процессов и компенсаторных механизмов, определяют осложнения течения беременности и в дальнейшем состояние новорожденного.

Проведенные исследования показывают, что метаболические изменения у беременных с ПН возникают на различных уровнях (системном и локальном) и приводят к развитию ЗРП.

На основании изученных показателей расширены представления о механизмах формирования ЗРП у па-

циенток с ПН, что обусловит возможность разработки алгоритма оптимального ведения беременных женщин с данной патологией.

Следует отметить, что ведущее место в проведении лечебных мероприятий данной патологии беременности занимает лечение основного заболевания или осложнения, на фоне которого сформировалась ЗРП. Ранняя диагностика ЗРП, проведение терапии согласно клиническому протоколу, определение оптимальных сроков родоразрешения, адекватное наблюдение и коррекция предсказуемых постнатальных осложнений позволят существенно улучшить показатели заболеваемости и смертности новорожденных с ЗРП.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Исследование выполнено в рамках НИР «Биохимические и иммунологические аспекты формирования нарушений в репродуктивной системе “мать–плацента–плод” и выявление предикторов акушерской патологии» (2021–2023), финансирование за счет средств госзадания №121070200066-7 от 02.07.2021.

**Конфликт интересов.** Авторы данной статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов, связанных с публикацией.

**Участие авторов.** И.И. Крукиер — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, написание текста статьи; В.В. Авруцкая — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, написание текста статьи; М.А. Левкович — анализ полученных данных, написание текста статьи; А.В. Галусяк — сбор и обработка материала; А.А. Григорьянц — сбор и обработка материала; А.А. Никашина — статистическая обработка данных. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Радзинский В.Е. Большие решения для маленького плода // *Status Praesens. Гинекология, акушерство, бесплодный брак.* — 2021. — Т. 77. — № 3. — С. 7–9. [Radzinsky VE. Big solutions for a small fetus. *Status Praesens. Ginekologiya, akusherstvo, besplodnyuybrak.* 2021;3(77):7–9. (In Russ.)]
2. Игнатко И.В., Денисова Ю.В., Филиппова Ю.А., и др. Дифференциальная диагностика ранней и поздней форм синдрома задержки развития плода // *Уральский медицинский журнал.* — 2020. — Т. 12. — № 195. — С. 91–97. [Ignatko IV, Denisova YV, Filippova YA, et al. Differential diagnosis of early and late forms of fetal development delay syndrome. *Ural Medical Journal.* 2020;12(195):91–97. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.25694/URMJ.2020.12.22>
3. Ганичкина М.Б., Мантрова Д.А., Кан Н.Е., и др. Ведение беременности при задержке роста плода // *Акушерство и гинекология.* — 2017. — № 10. — С. 5–11. [Ganichkina MB, Mantrova DA, Kan NE, et al. Pregnancy management complicated by untrauterine growth restriction. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2017;10:5–11. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.18565/aig.2017.10.5-11>
4. Стрижаков А.Н., Мирющенко М.М., Игнатко И.В., и др. Прогнозирование синдрома задержки роста плода у беременных высокого риска // *Акушерство и гинекология.* — 2017. — № 7. — С. 34–44. [Strizhakov AN, Miryushchenko MM, Ignatko IV, et al. Prediction of fetal growth restriction syndrome in high-risk pregnant women. *Akusherstvo i ginekologiya.* 2017;7:34–44. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.18565/aig.2017.7.34-44>
5. Кац Я.А., Пархонюк Е.В., Акимова Н.С. Жесткость сосудистой стенки с позиций повреждения соединительной ткани при сердечно-сосудистых заболеваниях // *Фундаментальные исследования.* — 2013. — № 5. — С. 189–195. [Kats YA, Parkhonyuk EV, Akimova NS. The stiffness of the vascular wall as the damage of the connective tissue in cardiovascular diseases. *Fundamental'nyye issledovaniya.* 2013;5:189–195. (In Russ.)]
6. Liu N, Dai Z, Zhang Y, et al. Maternal L-proline supplementation enhances fetal survival, placental development, and nutrient transport in mice. *Biol Reprod.* 2019;100(4):1073–1081. doi: <https://doi.org/10.1093/biolre/iy240>
7. Saviano F, Lovato T, Russo A, et al. Ornithine-derived oligomers and dendrimers for in vitro delivery of DNA and ex vivo transfection of skin cells via saRNA. *J Mater Chem B.* 2020;8(22):4940–4949. doi: <https://doi.org/10.1039/d0tb00942c>
8. Нарезная Е.В., Аскалепова О.И., Крукиер И.И., и др. Количественное определение L-пролина в биологическом материале методом капиллярного зонного электрофореза // *Клиническая лабораторная диагностика.* — 2011. — № 1. — С. 7–9. [Narezhnaya EV, Askalepova OI, Krukier II, et al. L-proline assay in biological material by capillary zone electrophoresis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2011;1:7–9. (In Russ.)]

9. Lin C, He H, Cui N, et al. Decreased uterine vascularization and uterine arterial expansive remodeling with reduced matrix metalloproteinase-2 and -9 in hypertensive pregnancy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2020;318(1):H165–H80. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00602.2019>
10. Cui N, Hu M, Khalil RA. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2017;147:1–73. doi: <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.02.005>
11. Ducray JF, Naicker T, Moodley J. Pilot study of comparative placental morphometry in pre-eclamptic and normotensive pregnancies suggests possible maladaptations of the fetal component of the placenta. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011;156:29–34. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2010.12.038>
12. Погорелова Т.Н., Линде В.А., Крукиер И.И., и др. Молекулярные механизмы регуляции метаболических процессов в плаценте при физиологически протекающей и осложненной беременности. — СПб.: Гиппократ, 2012. — 304 с. [Pogorelova TN, Linde VA, Krukiyer II, et al. *Molekulyarnyye mekhanizmy regulyatsii metabolicheskikh protsessov v platsente pri fiziologicheskoy i oslozhnennoy beremennosti.* — СПб.: Гиппократ, 2012. — 304 с. (In Russ.)]
13. Shi J-W, Lai Z-Z, Yang H-L, et al. Collagen at the maternal-fetal interface in human pregnancy. *Int J Biol Sci.* 2020;16(12):2220–2234. doi: <https://doi.org/10.7150/ijbs.45586>
14. Li W, Cui N, Mazzuca MQ, et al. Increased vascular and uteroplacental matrix metalloproteinase-1 and -7 levels and collagen type I deposition in hypertension in pregnancy: role of TNF-alpha. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2017;313(3):H491–H507. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00207.2017>
15. Karna E, Szoka L, Huynh TYL, et al. Proline-dependent regulation of collagen metabolism. *Cell Mol Life Sci.* 2020;77(10):1911–1918. doi: <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03363-3>
16. Авруцкая В.В., Крукиер И.И., Погорелова Т.Н., и др. Амниотическая жидкость и ее роль в оценке состояния внутриутробного плода. — М.: Медицина, 2022. — 160 с. [Avrutskaya VV, Krukiyer II, Pogorelova TN, et al. *Amniotic fluid and its role in assessing the state of the intrauterine fetus.* Moscow: Meditsina; 2022. 160 s. (In Russ.)]

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Крукиер Ирина Ивановна**, д.б.н. [Irina I. Krukiyer, PhD in Biology]; адрес: 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, д. 29 [address: 29, per. Nakhichevanskiy, 344022, Rostov-on-Don, Russia]; e-mail: [biochem@niiar.ru](mailto:biochem@niiar.ru), SPIN-код: 4975-1350, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4570-6405>

**Авруцкая Валерия Викторовна**, д.м.н., доцент [Valeriya V. Avrutskaya, MD, PhD, Associate Professor]; e-mail: [v.avrutskaya@niiar.ru](mailto:v.avrutskaya@niiar.ru), SPIN-код: 9495-9702, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6399-5007>

**Левкович Марина Аркадьевна**, д.м.н., доцент [Marina A. Levkovich, MD, PhD, Associate Professor]; e-mail: [xlma@mail.ru](mailto:xlma@mail.ru), SPIN-код: 2964-0480, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8047-7148>

**Галусьяк Алина Васильевна**, аспирант [Alina V. Galusyak, PhD Student]; e-mail: [galusyak.alina@list.ru](mailto:galusyak.alina@list.ru), ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2338-6375>

**Григорьянц Армен Александрович**, к.м.н. [Armen A. Grigoriants, MD, PhD]; e-mail: [mr.vanhelsink@mail.ru](mailto:mr.vanhelsink@mail.ru), SPIN-код: 6945-4464, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9333-2578>

**Никашина Анастасия Александровна**, к.б.н. [Anastasiya A. Nikashina, PhD in Biology]; e-mail: [laigash@yandex.ru](mailto:laigash@yandex.ru), SPIN-код: 6693-3430, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8099-9093>

Г.Г. Кармазановский, А.В. Чжао, Х.А. Айвазян,  
А.Б. Гончаров, В.А. Сараева, С.А. Трифонов

Национальный медицинский исследовательский центр хирургии имени А.В. Вишневского,  
Москва, Российская Федерация

# Диагностические возможности магнитно-резонансной панкреатохолангиографии с внутривенным контрастированием гадоксетовой кислотой при заболеваниях желчных протоков

С каждым годом неуклонно возрастает число операций на гепатобилиарной зоне в связи заболеваниями желчных протоков. На фоне этого возникает потребность в точной диагностике осложнений данных вмешательств, классическая магнитно-резонансная панкреатохолангиография (МРХПГ) имеет ограниченное применение. С внедрением гепатотропного контрастного вещества (гадоксетовой кислоты) расширилась возможность диагностики заболеваний желчных протоков. В данном клиническом обзоре мы рассматриваем технические аспекты и преимущество МРХПГ с гепатотропным контрастированием. Подробно освещаются различные виды контрастных веществ, способы их применение при МРТ, зависимость интенсивности сигнала в желчных протоках от времени введения вещества, наличие хронических заболеваний печени. Отдельно приводятся исследования по диагностике заболеваний желчных протоков при измененной билиарной анатомии, желчных свищах после хирургических вмешательств. В заключение приводятся данные о перспективных исследованиях функционального состояния печени на основе применения МРТ с гепатотропным контрастированием.

**Ключевые слова:** магнитно-резонансная холангиография, гадоксетовая кислота, стриктуры желчных протоков, билиодигестивные анастомозы

**Для цитирования:** Кармазановский Г.Г., Чжао А.В., Айвазян Х.А., Гончаров А.Б., Сараева В.А., Трифонов С.А. Диагностические возможности магнитно-резонансной панкреатохолангиографии с внутривенным контрастированием гадоксетовой кислотой при заболеваниях желчных протоков. *Вестник РАМН.* 2022;77(5):320–325. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2064>

## Введение

Магнитно-резонансная холангиопанкреатография (МРХПГ) основана на последовательности магнитного резонанса, которая изображает медленно движущуюся или неподвижную жидкость в виде структуры с высокой интенсивностью сигнала на фоне плотного орга-

на с низкой интенсивностью сигнала (так называемые T2\*-взвешенные изображения). Эта последовательность идентифицирует любые структуры, содержащие жидкость, через которые проходит сканирование, например кишечник, выделительная система почек, спинномозговая жидкость, окружающая спинной мозг, поджелудочная железа, кисты почек и печени. Что касается

G.G. Karmazanovsky, A.V. Chzhao, Kh.A. Ayvazyan, A.B. Goncharov,  
V.A. Saraeva, S.A. Trifonov

Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery, Moscow, Russian Federation

## Diagnostic Possibilities of Magnetic Resonance Cholangiography with Intravenous Contrast in Diseases of the Bile Ducts

Every year the number of operations on the hepatobiliary zone is steadily increasing due to diseases of the bile ducts. Against this background, there is a need for an accurate diagnosis of complications of these interventions; classical magnetic resonance cholangiopancreatography (MRCP) is of limited use. With the introduction of a liver-specific contrast agent (Gd-EOB-DTPA), the possibility of diagnosing diseases of the bile ducts has expanded. In this clinical review, we review the technical aspects and benefits of Gd-EOB-DTPA-enhanced MR cholangiography. Various types of contrast agents, methods of their use in MRI, the dependence of the signal intensity in the bile ducts on the time of administration of the substance, the presence of chronic liver diseases are covered in detail. Separately, studies are given on the diagnosis of diseases of the bile ducts with altered biliary anatomy, biliary fistulas after surgical interventions. In conclusion, data are presented on promising studies of the functional state of the liver based on the use of MRI with hepatotropic contrast enhancement.

**Keywords:** MR cholangiography, Gd-EOB-DTPA, biliary strictures, biliary-enteric anastomosis

**For citation:** Karmazanovsky GG, Chzhao AV, Ayvazyan KhA, Goncharov AB, Saraeva VA, Trifonov SA. Diagnostic Possibilities of Magnetic Resonance Cholangiography with Intravenous Contrast in Diseases of the Bile Ducts. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2022;77(5):320–325. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2064>

гепатопанкреатобилиарной системы, МРХПГ позволяет детализировать панкреатические протоки поджелудочной железы, вне- и внутрипеченочные желчные протоки и получать проекционные изображения, аналогичные холангиографическим изображениям при эндоскопической ретроградной холангиопанкреатографии (ЭРХПГ) или чрескожной чреспеченочной холангиостомии (ЧЧХС) [1–5].

Преимущество МРХПГ заключается в том, что эти изображения получают неинвазивно и без введения перорального или внутривенного контрастного вещества, лучевой нагрузки, что делает это исследование абсолютно безопасными. Большинство МРХПГ завершается за 10–15 мин и редко требует седации, поэтому немногим пациентам требуется наблюдение после процедуры, как это необходимо после ЭРХПГ [6, 7].

В отличие от других процедур визуализации, таких как ультразвуковое исследование или ЭРХПГ, МРХПГ относительно независима от оператора. Рентгенологу требуется глубокое знание анатомии и патологии желчевыводящих путей, но используемая импульсная последовательность несложна, так что опыт МРТ-лаборанта редко влияет на диагностическую точность или чувствительность исследования. Однако при оценке предполагаемой патологии внутрипеченочных желчных протоков, которая впоследствии может потребовать чрескожного или эндоскопического вмешательства, или у пациентов с подозрением на стриктуры билиодигестивных анастомозов важно, чтобы опытный абдоминальный рентгенолог оценивал исследование во время его выполнения, при необходимости можно было получить дополнительные изображения [8].

Основным недостатком МРХПГ является ее непригодность для сканирования пациентов с ферромагнитными имплантатами или кардиостимуляторами. Некоторые операционные скрепки, особенно после предыдущей операции на желчных путях, могут привести к появлению артефактов, фрагментарному падению сигналов, которые, в свою очередь, могут обусловить плохую визуализацию протоков. Кроме того, сигнальные пустоты в желчном дереве относительно неспецифичны и могут быть вызваны не только камнями, но и пневмобилией, сладжем, опухолью или сгустком крови [1]. Псевдообструкция желчных протоков может быть вызвана пульсацией правой печеночной артерией [9]. Также следует учитывать артефакты, связанные с дыханием пациента. Соответствующий клинический контекст обычно проясняет полученные результаты. Клаустрофобией страдают около 5% пациентов, однако скорость обследования часто помогает устранить это препятствие. Пространственное разрешение МРХПГ в настоящее время ограничено 3 мм, что, в свою очередь, ограничивает обнаружение мелких камней и оценку вторичных протоков поджелудочной железы [4]. Диагностическая эффективность МРХПГ при выявлении обструктивных поражений, таких как камни или стриктуры, повышается при наличии расширенных протоков [10]. Несмотря на широкое использование МРТ брюшной полости с гепатоспецифическим контрастным препаратом при дифференциальной диагностике заболеваний печени, в настоящий момент остается малоизученным диагностическая значимость желчевыводящей фазы исследования, не нашли широкого применения контрастные препараты в диагностике доброкачественных заболеваний желчных протоков, желчных свищей [11].

## Диагностика при измененной билиарной анатомии

Билиодигестивный анастомоз (БДА) является распространенной хирургической процедурой, выполняемой для лечения различных доброкачественных и злокачественных заболеваний. Эта процедура обуславливает высокий риск развития осложнений, таких как несостоятельность анастомоза с формированием желчного свища, стриктуры, кровотечения, холангит, конкремент, которые возникают в 3–43% случаях [12, 13].

Хотя биохимические маркеры крови чувствительны, повышение уровня щелочной фосфатазы выступает неспецифическим показателем обструкции желчных протоков [14]. Методы визуализации, которые традиционно используются для оценки БДА, включают ультразвуковое исследование, ЭРХПГ, ЧЧХС, сцинтиграфию печени и T2-взвешенную магнитно-резонансную холангиографию (T2Ви МРХПГ). Поскольку эндоскопический доступ к желчевыводящим путям, как правило, исключается в данных условиях, неинвазивные методы визуализации играют важную роль в динамическом наблюдении за этими пациентами и выявлении возможных осложнений. При диффузионно-взвешенной визуализации (ДВИ) ишемизированные желчные протоки могут демонстрировать высокую интенсивность сигнала, что особенно важно в дифференциальной диагностике анастомотических и неанастомотических стриктур [15].

Известно, что ультразвуковое исследование менее информативно у пациентов с БДА, потому что газ в желчных протоках может скрывать камни и создавать артефакты, которые скрывают детали [16]. Кроме того, стойкое послеоперационное расширение желчных протоков крайне трудно отличить от расширения из-за текущей обструкции. Из неинвазивных методов визуализации сцинтиграфия печени используется для оценки БДА при подозрении на обструкцию, поскольку она предоставляет функциональную информацию, однако она не имеет достаточного пространственного разрешения и не позволяет идентифицировать уровень обструкции [17]. Однофотонная эмиссионная томография обладает лучшим пространственным разрешением, но исследование сопряжено с повышенной лучевой нагрузкой [18]. В связи с этим МРХПГ в качестве неинвазивной и высокочувствительной альтернативы прямой холангиографии играет решающую роль в оценке изменений в желчевыводящих путях после хирургических вмешательств [19]. Недавняя разработка многих трехмерных (3D) последовательностей существенно расширила качество изображений МРХПГ, в том числе при оценке БДА [20]. У некоторых пациентов может наблюдаться умеренное расширение протока, несмотря на проходимость анастомоз, и данные следует рассматривать как стеноз только в том случае, если есть клинические проявления — холангит, кожный зуд или желтуха [21].

Недостатки традиционной МРХПГ заключаются в том, что отсутствует функциональная информация, поэтому дифференциальная диагностика между обструктивной и необструктивной дилатацией желчных протоков часто чрезвычайно затруднена [22, 23]. Особенно сложна визуализация поврежденных и стриктур при нерасширенных желчных протоках, при наличии множественных внутрипеченочных стриктур; кроме того, биломы и желчные свищи могут накладываться на изображение желчных протоков и скрывать их анатомию [24]. Следовательно, существует необходимость

в неинвазивном способе визуализации, который может предоставить надежную анатомическую, а также функциональную информацию.

### МРХПГ с гепатотропными контрастными веществами

МР-холангиография с контрастным усилением, внутривенным введением гепатобилиарных контрастных агентов, таких как Mn-DPDP, Gd-ВОРТА (мультиханс) и Gd-ЕОВ-ДТРА (примовист), — недавно разработанная методика, которая может предоставить анатомическую и функциональную информацию о желчевыводящих путях [25]. Эти вещества поглощаются функционирующими гепатоцитами и выводятся в желчевыводящую систему (3–5% — для Gd-ВОРТА, 20% — для Mn-DPDP, 50% — для Gd-ЕОВ-ДТРА).

Mn-DPDP — контрастный агент (магнафодипир), состоящий из парамагнитных ионов марганца (II) и хелатобразующего агента фодипир. Ионы марганца в основном захватываются нормальной паренхимой печени, что и позволяет получать усиление контрастирования на границах между поврежденной и здоровой тканями печени. В исследовании 13 пациентов с БДА N. Hottat et al. было показано, что T1-взвешенная МРХПГ с внутривенным введением Mn-DPDP предоставляет полезную анатомическую и функциональную информацию у пациентов с подозрением на обструкцию желчевыводящих путей по сравнению с обычной T2-взвешенной МРХПГ [22]. Однако Mn-DPDP (тесласкан) в настоящее время недоступен в Европе и Российской Федерации из-за отмены государственной регистрации по коммерческим причинам [26].

В серии из 21 пациента, у которых подозревалась стриктура БДА, D. Kandasamy et al. [24] сообщалось, что МРХПГ, взвешенная по T2, по-прежнему является методом выбора при обследовании пациентов со стриктурой БДА и использование МРХПГ, усиленной Gd-ВОРТА, в данной ситуации неэффективно. Кроме того, выделительная фаза Gd-ВОРТА у пациента без холестаза составляет от 1 до 2 ч после введения контрастного вещества, и этот факт увеличивает сроки обследования.

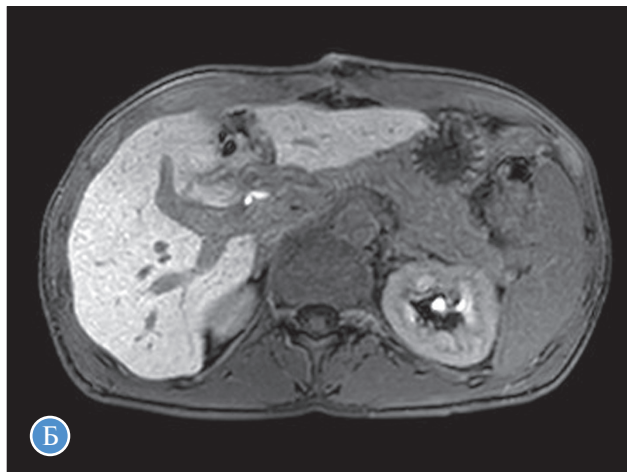
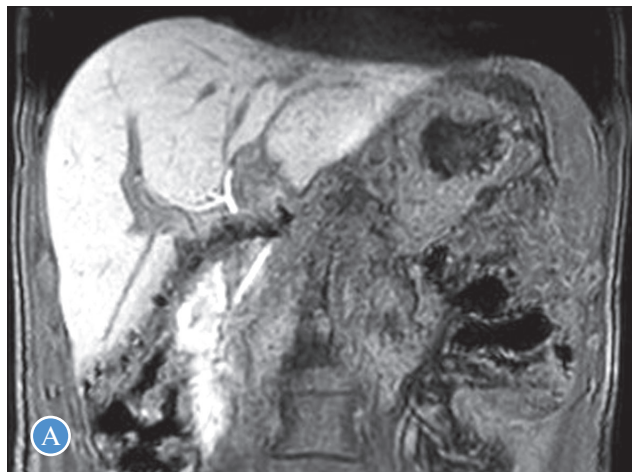
Gd-ЕОВ-ДТРА (гадолиний этоксibenзилдиэтилтриамин пентауксусная кислота, или гадоксетовая

кислота) является новым гепатоспецифическим контрастным веществом для МРТ и в последние годы широко используется для выявления заболеваний печени. В отличие от внеклеточных МР-контрастных веществ, гадоксетовая кислота после внутривенной инъекции 50% Gd-ЕОВ-ДТРА специфически поглощается клетками печени и выводится через желчевыводящую систему. Таким образом, Gd-ЕОВ-ДТРА может быть использована не только для диагностики заболеваний печени, но также и для улучшения МР-холангиографии.

Исследования H. Takao et al. [27] показали, что хронические заболевания печени (такие как цирроз печени) могут влиять на интенсивность сигнала Gd-ЕОВ-ДТРА в желчевыводящей системе на МР-холангиограммах. Сообщалось, что интенсивность сигнала желчи в общем желчном протоке повышается уже через 10 мин после введения контрастного вещества у здоровых добровольцев, а на 20-й мин — после инъекции Gd-ЕОВ-ДТРА — выполнение МР-холангиограмм достаточно для адекватной оценки желчевыводящих путей (рис. 1).

Поскольку поглощение Gd-ЕОВ-ДТРА опосредуется транспортером, который отвечает за транспорт билирубина, у пациентов со сниженной выделительной функцией можно заподозрить обструкцию желчевыводящих путей или снижение функции гепатоцитов. В случаях стриктуры желчевыводящих путей требуется отсроченная визуализация, и изображения гепатобилиарной фазы должны быть получены через 40–60 и 90–180 мин после введения контрастного вещества [26, 27]. F.T. Tschirch et al. обнаружили, что у пациентов с общим уровнем билирубина в сыворотке крови более 30 мкмоль/л или с показателями MELD (Model for End-Stage Liver Disease) более 11 через 20 мин после введения Gd-ЕОВ-ДТРА была недостаточная визуализация желчного дерева [28]. Эти данные могут повысить надежность МРТ-исследования или уменьшить вероятность двоякого толкования данных. Однако необходима выработка единого метода определения функции печени с помощью МРТ, а это требует дальнейших исследований [29]. Перспективно исследование функционального резерва печени с помощью МРТ перед обширными резекциями печени и изучение роли МРТ с гадоксетовой кислотой в оценке функционального резерва печени [30].

При наличии БДА часто необходимы неинвазивные средства оценки желчного дерева после операции, что-



**Рис. 1.** МР-холангиограммы в E-thrive, аксиальных, коронарных фазах через 30 мин после введения гепатоконтрастного агента (примовист). Состояние после резекции IV, V сегментов печени. Желчные протоки состоятельны, данных за экстравазацию контрастного вещества в брюшную полость нет, свободная эвакуация в двенадцатиперстную кишку. А — фронтальная проекция. Б — аксиальная проекция.

бы исключить осложнения, в первую очередь стриктуру анастомоза. МР-холангиография показывает расширение билиарной системы, но может быть ограничена визуализация внепеченочной билиарной системы, места БДА и анастомотической петли тощей кишки, а также возможной причины обструкции. МРХПГ в сочетании с контрастированием Gd-ЕОВ-ДТРА позволяет получить изображение с более высоким разрешением и лучшей визуализацией в области анастомоза, оценить протяженность стриктуры анастомоза, ее диаметр, вовлеченность в стриктуру долевых и секторальных протоков [31]. Высокая концентрация Gd-ЕОВ-ДТРА в желчных протоках дает возможность проводить функциональную визуализацию выделения желчи; используя интенсивность контрастирования Gd-ЕОВ-ДТРА для выделения желчи, можно получить представление о типе стриктуры — является она клинически значимой или нет, полной или частичной. Основное условие — чтобы контрастное вещество проходило через стриктуру менее чем за 20 мин после инъекции. Результаты такого исследования позволят отказаться от необоснованных инвазивных вмешательств [32, 33]. Кроме того, визуализация контрастного препарата в отводящей петле тонкой кишки БДА дает возможность с уверенностью судить об проходимости БДА [34].

### МРХПГ с Gd-ЕОВ-ДТРА у больных желчными свищами

У пациентов с БДА точная и быстрая установка источника желчного свища из-за несостоятельности БДА играет важную роль в определении хирургического подхода. Это, в свою очередь, может заметно сократить длительность лечения. Для выявления желчных свищей могут быть использованы УЗИ, компьютерная томография и МРТ. Как правило, эти методы, хотя и дают весьма убедительные результаты для диагностики желчных свищей в соответствующих клинических условиях, не позволяют обнаружить источник. Точность диагностики локализации экстравазации желчи с помощью традиционной МРХПГ находится в диапазоне 70–74% [31]. Для подтверждения диагноза требуется дальнейшее исследование с использованием инвазивных методов, таких как ЧЧХС или реже ЭРХПГ, путем выявления активной экстравазации контрастного вещества из желчного дерева. МРХПГ с контрастным усилением добавляет функциональную информацию в отношении выделения желчи и может быть особенно полезна для определения источника желчного свища [34]. Благодаря высокому пространственному разрешению, доступному с помощью МРХПГ с Gd-ЕОВ-ДТРА, можно установить тип повреждения протоков,

наличие дополнительных желчных протоков или протоков Люшка [36]. Кроме того, имеет важное значение контрастирование сосудов при МРТ-исследовании, так как в 12–47% случаев встречается сочетание поврежденных сосудов и желчных протоков [37].

### Заключение

Т1-взвешенная контрастная МРХПГ с использованием гадоксетовой кислоты — недавно разработанный метод, который важен для определения анатомии БДА и выявления осложнений, таких как анастомотические стриктуры и желчные свищи. Кроме того, этот метод позволяет получить функциональную информацию, которая необходима для оценки обструкции желчевыводящих путей и функционального состояния печени. Основные недостатки МРХПГ с Gd-ЕОВ-ДТРА — высокая стоимость, относительная трудоемкость исполнения, а также ограничения в изображении желчного дерева у пациентов с гепатобилиарной дисфункцией. Тем не менее МР-визуализация с внутривенным введением Gd-ЕОВ-ДТРА может использоваться в качестве дополнительного инструмента для повышения диагностической точности при выявлении осложнений у отдельных пациентов с БДА, множественными внутрипеченочными стриктурами.

323

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Работа подготовлена и опубликована за счет финансирования по месту работы авторов.  
**Конфликт интересов.** Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

**Участие авторов.** Г.Г. Кармазановский — методическое руководство в реализации исследования, анализ результатов, редактирование текста; А.В. Чжао — анализ результатов, редактирование текста; Х.А. Айвазян — анализ результатов исследования и источников литературы, редактирование текста; А.Б. Гончаров — анализ результатов исследования и источников литературы, редактирование текста; В.А. Сараева — анализ результатов исследования и источников литературы, редактирование текста; С.А. Трифонов — автор исследования, разработка дизайна, анализ результатов исследования и источников литературы, участие во всех этапах реализации исследования. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Barish MA, Soto JA, Yucel EK. Magnetic resonance cholangiopancreatography of the biliary ducts: techniques, clinical applications, and limitations. *Top Magn Reson Imaging*. 1996;8(5):302–311.
2. Barish MA, Soto JA. MR cholangiopancreatography: techniques and clinical applications. *AJR Am J Roentgenol*. 1997;169(5):1295–1303. doi: <https://doi.org/10.2214/ajr.169.5.9353445>
3. Reinhold C, Bret PM, Guibaud L, et al. MR cholangiopancreatography: potential clinical applications. *Radiographics*. 1996;16(2):309–320. doi: <https://doi.org/10.1148/radiographics.16.2.8966289>
4. Reinhold C, Bret PM. MR cholangiopancreatography. *Abdom Imaging*. 1996;21(2):105–116. doi: <https://doi.org/10.1007/s002619900025>
5. Reinhold C, Bret PM. Current status of MR cholangiopancreatography. *AJR Am J Roentgenol*. 1996;166(6):1285–1295. doi: <https://doi.org/10.2214/ajr.166.6.8633434>
6. Zimmon DS, Falkenstein DB, Riccobono C, et al. Complications of endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Analysis of 300 consecutive cases. *Gastroenterology*. 1975;69(2):303–309.
7. Bilbao MK, Dotter CT, Lee TG, et al. Complications of endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP). A study of 10,000 cases. *Gastroenterology*. 1976;70(3):314–320.
8. Van Hoe L, Gryspeerdt S, Vanbeckvoort D, et al. Normal Vaterian sphincter complex: evaluation of morphology and



- contractility with dynamic single-shot MR cholangiopancreatography. *AJR Am J Roentgenol.* 1998;170(6):1497–1500. doi: <https://doi.org/10.2214/ajr.170.6.9609161>
9. Watanabe Y, Dohke M, Ishimori T, et al. Pseudo-obstruction of the extrahepatic bile duct due to artifact from arterial pulsatile compression: a diagnostic pitfall of MR cholangiopancreatography. *Radiology.* 2000;214(3):856–860. doi: <https://doi.org/10.1148/radiology.214.3.r00mr09856>
  10. Guibaud L, Bret PM, Reinhold C, et al. Bile duct obstruction and choledocholithiasis: diagnosis with MR cholangiography. *Radiology.* 1995;197(1):109–115. doi: <https://doi.org/10.1148/radiology.197.1.7568807>
  11. Кармазановский Г.Г., Шантаревич М.Ю., Сташків В.И. *Гепатоспецифическое МР-контрастное средство гадоксетовая кислота и результаты его клинического применения.* — М.: Видар-М, 2022. — 168 с. [Karmazanovskij GG, Shantarevich MYu, Stashkiv VI. *Gepatospezificheskoe MR-kontrastnoe sredstvo gadoksetovaya kislota i rezul'taty ego klinicheskogo primeneniya.* Moscow: Vidar-M; 2022. 168 s. (In Russ.)]
  12. Sicklick JK, Camp MS, Lillemo KD, et al. Surgical management of bile duct injuries sustained during laparoscopic cholecystectomy: perioperative results in 200 patients. *Ann Surg.* 2005;241(5):786–792. doi: <https://doi.org/10.1097/01.sla.0000161029.27410.71>
  13. Laasch HU, Martin DF. Management of benign biliary strictures. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2002;25(6):457–466. doi: <https://doi.org/10.1007/s00270-002-1888-y>
  14. Zeman RK, Lee C, Stahl RS, et al. Ultrasonography and hepatobiliary scintigraphy in the assessment of biliary-enteric anastomoses. *Radiology.* 1982;145(1):109–115. doi: <https://doi.org/10.1148/radiology.145.1.6812157>
  15. Alabdulghani F, Healy GM, Cantwell CP. Radiological findings in ischaemic cholangiopathy. *Clin Radiol.* 2020;75(3):161–168. doi: <https://doi.org/10.1016/j.crad.2019.10.017>
  16. Cronan JJ. Biliary obstruction: ultrasound and beyond. *Appl Radiol.* 1987;16:55–63.
  17. Lucas MH, Elgazzar AH, Cummings DD. Positional biliary stasis: scintigraphic findings following biliary-enteric bypass surgery. *J Nucl Med.* 1995;36(1):104–106.
  18. Thomas S, Jahangir K. Noninvasive Imaging of the Biliary System Relevant to Percutaneous Interventions. *Semin Intervent Radiol.* 2016;33(4):277–282. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0036-1592328>
  19. Hoeffel C, Azizi L, Lewin M, et al. Normal and pathologic features of the postoperative biliary tract at 3D MR cholangiopancreatography and MR imaging. *Radiographics.* 2006;26(6):1603–1620. doi: <https://doi.org/10.1148/rg.266055730>
  20. Tang Y, Yamashita Y, Arakawa A, et al. Pancreaticobiliary ductal system: value of half-Fourier rapid acquisition with relaxation enhancement MR cholangiopancreatography for postoperative evaluation. *Radiology.* 2000;215(1):81–88. doi: <https://doi.org/10.1148/radiology.215.1.r00ap0281>
  21. Soto JA, Alvarez O, Lopera JE, et al. Biliary obstruction: findings at MR cholangiography and cross-sectional MR imaging. *Radiographics.* 2000;20(2):353–366. doi: <https://doi.org/10.1148/radiographics.20.2.g00mc06353>
  22. Hottat N, Winant C, Metens T, et al. MR cholangiography with manganese dipyridoxyl diphosphate in the evaluation of biliary-enteric anastomoses: preliminary experience. *AJR Am J Roentgenol.* 2005;184(5):1556–1562. doi: <https://doi.org/10.2214/ajr.184.5.01841556>
  23. Bridges MD, May GR, Harnois DM. Diagnosing biliary complications of orthotopic liver transplantation with mangafodipir trisodium-enhanced MR cholangiography: comparison with conventional MR cholangiography. *AJR Am J Roentgenol.* 2004;182(6):1497–1504. doi: <https://doi.org/10.2214/ajr.182.6.1821497>
  24. Kandasamy D, Sharma R, Seith Bhalla A, et al. MR evaluation of biliary-enteric anastomotic stricture: does contrast-enhanced T1W MRC provide additional information? *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2011;35(8–9):563–571. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2011.05.008>
  25. Schneider G, Grazioli L, Saini S (eds). *MRI of the liver: imaging techniques, contrast enhancement, differential diagnosis.* 2nd ed. New York: Springer; 2006. 412 p.
  26. European Medicines Agency [Electronic resource]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/teslascan> (accessed: 02.08.2012).
  27. Takao H, Akai H, Tajima T, et al. MR imaging of the biliary tract with Gd-EOB-DTPA: effect of liver function on signal intensity. *Eur J Radiol.* 2011;77(2):325–329. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2009.08.008>
  28. Lee NK, Kim S, Lee JW, et al. Biliary MR imaging with Gd-EOB-DTPA and its clinical applications. *Radiographics.* 2009;29(6):1707–1724. doi: <https://doi.org/10.1148/rg.296095501>
  29. Tschirch FT, Struwe A, Petrowsky H, et al. Contrast-enhanced MR cholangiography with Gd-EOB-DTPA in patients with liver cirrhosis: visualization of the biliary ducts in comparison with patients with normal liver parenchyma. *Eur Radiol.* 2008;18(8):1577–1586. doi: <https://doi.org/10.1007/s00330-008-0929-6>
  30. Арутюнянц Д.Э., Ховрин В.В., Галян Т.Н., и др. Определение функции печени с помощью магнитно-резонансной томографии. Современная объективная реальность // *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* — 2021. — Т. 6. — № 2. — С. 89–94. [Arutyunyan DE, Khovrin VV, Galyan TN, et al. Magnetic resonance imaging in liver function analysis. Modern objective reality. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova.* 2021;6(2):89–94. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17116/hirurgia202106289>
  31. Мнацакян М.К., Рубцова Н.А., Кабанов Д.О., и др. Роль магнитно-резонансной томографии с гадоксетовой кислотой в оценке функционального резерва печени // *Российский электронный журнал лучевой диагностики.* — 2022. — Т. 12. — № 1. — С. 43–55. [Mnatsakanyan MK, Rubtsova N., Kabanov DO, et al. The role of magnetic resonance imaging with gadoxetic acid in the assessment of the functional reserve of the liver. *REJR.* 2022;12(1):43–55. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.21569/2222-7415-2022-12-1-43-55>
  32. Sheppard D, Allan L, Martin P, et al. Contrast-enhanced magnetic resonance cholangiography using mangafodipir compared with standard T2W MRC sequences: a pictorial essay. *J Magn Reson Imaging.* 2004;20(2):256–263. doi: <https://doi.org/10.1002/jmri.20114>
  33. Carlos RC, Branam JD, Dong Q, et al. Biliary imaging with Gd-EOB-DTPA: is a 20-minute delay sufficient? *Acad Radiol.* 2002;9(11):1322–1325. doi: [https://doi.org/10.1016/s1076-6332\(03\)80565-2](https://doi.org/10.1016/s1076-6332(03)80565-2)
  34. Ribeiro BJ, Alves AMA, de Oliveira RS, et al. The role of gadoxetic acid-enhanced magnetic resonance cholangiography in the evaluation of postoperative bile duct injury: pictorial essay. *Radiol Bras.* 2019;52(6):403–407. doi: <https://doi.org/10.1590/0100-3984.2018.0089>
  35. Vosshenrich J, Boll DT, Zech CJ. Passive and active magnetic resonance cholangiopancreatography: Technique, indications, and typical anatomy. *Radiologe.* 2019;59(4):306–314. doi: <https://doi.org/10.1007/s00117-019-0507-8>
  36. Aduna M, Larena JA, Martín D, et al. Bile duct leaks after laparoscopic cholecystectomy: value of contrast-enhanced MRCP. *Abdom Imaging.* 2005;30(4):480–487. doi: <https://doi.org/10.1007/s00261-004-0276-2>
  37. Petrillo M, Ierardi AM, Tofanelli L, et al. Gd-EOB-DTPA-enhanced MRC in the preoperative percutaneous management of intra and extrahepatic biliary leakages: does it matter? *Gland Surg.* 2019;8(2):174–183. doi: <https://doi.org/10.21037/gs.2019.03.09>
  38. Strasberg SM, Helton WS. An analytical review of vasculobiliary injury in laparoscopic and open cholecystectomy. *HPB (Oxford).* 2011;13(1):1–14. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1477-2574.2010.00225.x>

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Трифонов Сергей Александрович**, врач-хирург [*Sergey A. Trifonov*, MD]; **адрес:** 115093, Москва, ул. Большая Серпуховская, д. 27 [**address:** 27, Bol. Serpukhovskaya str., 115093, Moscow, Russia]; **e-mail:** trifonov@ixv.ru, **SPIN-код:** 7877-1999, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-1176-1203>

**Кармазановский Григорий Григорьевич**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН [*Grigoriy G. Karmazanovsky*, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the RAS]; **e-mail:** karmazanovsky@ixv.ru, **SPIN-код:** 5964-2369, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9357-0998>

**Чжао Алексей Владимирович**, д.м.н., профессор [*Alexey V. Chzhao*, MD, PhD, Professor]; **e-mail:** chzhao@ixv.ru, **SPIN-код:** 1101-6874, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0204-8337>

**Айвазян Хачатур Акопович**, научный сотрудник [*Khachatur A. Ayvazyan*, Researcher Associate]; **e-mail:** ayvazyan@ixv.ru, **SPIN-код:** 3954-7051, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4115-6963>

**Гончаров Антон Борисович**, научный сотрудник [*Anton B. Goncharov*, Researcher Associate]; **e-mail:** goncharov@ixv.ru, **SPIN-код:** 1749-7490, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-3528-036X>

**Сараева Вероника Анатольевна**, аспирант [*Veronika A. Saraeva*, PhD Student]; **e-mail:** saraeva@ixv.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-4273-171X>

В.К. Ильин<sup>1</sup>, З.О. Соловьева<sup>1</sup>, М.П. Рыкова<sup>1</sup>,  
М.А. Скедина<sup>1</sup>, А.А. Ковалева<sup>1</sup>, А.М. Носовский<sup>1</sup>,  
А.С. Шеблаева<sup>1</sup>, В.Н. Царев<sup>2</sup>, М.С. Подпорин<sup>2</sup>, О.В. Быстрова<sup>3</sup>,  
О.А. Гизингер<sup>4</sup>, С.М. Ловцевич<sup>3</sup>, Д.В. Комиссарова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт медико-биологических проблем Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup>Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова,  
Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup>Институт аналитической токсикологии, Красногорск, Московская область, Российская Федерация

<sup>4</sup>Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация

## Взаимосвязь изменения орального микробиоценоза и мукозального иммунитета в условиях 14-суточной изоляции человека в гермообъекте с искусственной средой обитания

326

**Обоснование.** Изменение состава микроорганизмов в полости рта человека является адаптационным процессом организма. Инфекции будут особенно сильно манифестироваться в экстремальных условиях, в особенности во время длительного пребывания в условиях космического полета, где космонавт подвергается различным неспецифическим нагрузкам. **Цель исследования** — комплексная оценка влияния условий 14-суточной изоляции человека в гермообъекте с искусственной средой обитания и после изоляционного периода на состояние естественных барьеров колонизации тканей пародонта. **Методы.** В ходе эксперимента 6 испытуемых-добровольцев (4 мужчин и 2 женщины) в возрасте от 24 до 45 лет в течение 14 сут находились в замкнутом герметичном пространстве, имитирующем капсулу космического корабля. Затем с 6-х по 18-е сут после выхода из эксперимента опытная группа (4 человека) принимала аутопробиотики на основе *Lactobacillus spp.* 1 раз в день утром натощак. В этот период контрольная группа (2 человека) принимала препарат Линекс (Лебенин®: *Lactobacillus acidophilus* (species *L.gasseri*) — 300 мг, *Bifidobacterium infantis* — 300 мг, *Enterococcus faecium* — 300 мг, лактоза — 50 мг). Для оценки состояния пародонта были использованы следующие методы: традиционный бактериологический анализ (БАК), газовая хроматография масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ), ультразвуковая доплеровская флоуметрия (УЗДФ), иммуноферментный анализ (ИФА). Фиксировались качественные и количественные изменения микробиоты полости рта, концентрация иммуноглобулинов (sIgA, IgM) и цитокинов (IL-6, IL-8, IL-1β, IL-4, INFγ, TNFα) в пробах пародонта. Исследовали количество пародонтопатогенов и региональный кровоток в периодонте в условиях длительного нахождения в герметично замкнутом пространстве. **Результаты.** По сравнению с фоновым периодом на 14-е сут пребывания в условиях изоляции у испытуемых наблюдался количественный рост облигатных пародонтопатогенов. Впоследствии существовала тенденция к оптимизации микробиоценоза за счет использования про- и аутопробиотических средств. Анализ параметров и особенностей мукозального иммунитета выявил на заключительном этапе экспериментального воздействия повышение уровня иммуноглобулинов (IgM, sIgA) и провоспалительного цитокина TNFα. Отмечалось увеличение кровотока в артериоло-венулярном звене микроциркуляторного русла тканей пародонта после выхода из изоляции. **Заключение.** Проведенные исследования выявили нарушения колонизационной резистентности организма обследуемых на уровне барьеров, формируемых протективной микрофлорой, формируемых покровными тканями (изменение капиллярного кровотока) и на уровне факторов гуморального иммунитета.

**Ключевые слова:** пародонт, иммуноглобулины, цитокины, микроциркуляция, дисбиотические состояния, метод масс-спектрометрии микробных маркеров, метод бактериологического анализа

**Для цитирования:** Ильин В.К., Соловьева З.О., Рыкова М.П., Скедина М.А., Ковалева А.А., Носовский А.М., Шеблаева А.С., Царев В.Н., Подпорин М.С., Быстрова О.В., Гизингер О.А., Ловцевич С.М., Комиссарова Д.В. Взаимосвязь изменения орального микробиоценоза и мукозального иммунитета в условиях 14-суточной изоляции человека в гермообъекте с искусственной средой обитания. *Вестник РАМН.* 2022;77(5):326–335. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2117>

### Обоснование

Изменение микробиоты полости рта человека — адаптационный процесс организма. Бактериальный симбиоз может нарушаться при воздействии неблагоприятных факторов, таких как хронический стресс, курение, скудное, несбалансированное питание, недостаточная гигиена полости рта, наличие некачественных протезов и пломб, злоупотребление лекарственными препаратами, наличие соматических заболеваний [1, 2].

Изменение соотношения представителей нормальной микрофлоры со снижением числа или исчезновением некоторых видов микроорганизмов за счет увеличения количества других и появлением представителей патогенной микрофлоры, которые обычно встречаются в незначительном количестве или совсем не определяются, называется дисбактериозом [3]. Однако, учитывая тот важный факт, что микробиоценоз как в норме, так и при патологии представлен не только бактериями, но и вирусами, грибами, бактероидами, споровыми фор-

мами микроорганизмов и пр., в клиническую практику был введен другой термин, наиболее адекватно отражающий патофизиологическую сущность нарушений экологии ротовой полости, — «дисбиоз» [4].

Основными индукторами дисбиоза полости рта, приводящими к заболеваниям пародонта, являются микроорганизмы, формирующие биопленку в ротовой полости — *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* [5–7], *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces* spp., *Candida* spp., а также условно патогенные представители — *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Corynebacterium* spp., *Fusobacterium* spp., *Propionibacterium* spp., *Prevotella* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Actinomyces viscosus*, *Candida glabrata* [8].

Инфекции, вызванные представителями данного биоценоза, будут особенно сильно манифестироваться в экстремальных условиях, особенно во время длительного пребывания в условиях космического полета, где космонавт подвергается различным неспецифическим нагрузкам, таким как искусственная среда обитания, нахождение в герметизированном объекте, эмоциональное напряжение, изменение гравитации, рациона питания и т.д. В условиях космического полета в герметичной кабине корабля с поверхности кожи и полости рта постоянно выделяются и загрязняют среду обитания продукты жизнедеятельности микроорганизмов: эпителиальные клетки, чешуйки эпидермиса, микроорганизмы, капли слюны.

При этом человек сам подвергается воздействию вредных веществ, накапливающихся в замкнутой воздушной среде [9]. Своевременная диагностика и поддержание гомеостаза полости рта являются одним из ключевых моментов во время космических полетов.

Поддержанию гомеостаза полости рта способствуют особенности состава и свойств ротовой жидкости. Играя ведущую роль в системе мукозального иммунитета, ротовая жидкость обеспечивает нормальное функциональное состояние зубов, слизистой оболочки полости рта и пародонта. Особое место в ее составе занимают иммуноактивные пептиды [10]. Накопленные на сегодняшний день данные обоснованно связывают возникновение инфекционной патологии полости рта с уровнем секреторного иммуноглобулина А (sIg A) [11]. Не менее важным представляется изучение продукции цитокинов, возрастающий интерес к которым проявляется на современном этапе развития представлений о роли провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-17A в патогенезе воспаления при заболеваниях десен — гингивите и пародонтите, в том числе в условиях стресса [12, 13].

Важными задачами исследований в области пародонтологии следует считать изучение реакции микроциркуляторного русла (МЦР).

**Цель исследования** — комплексная оценка влияния условий 14-суточной изоляции человека в гермообъекте с искусственной средой обитания и после изоляционного периода на состояние естественных барьеров колонизации тканей пародонта.

V.K. Ilyin<sup>1</sup>, Z.O. Solovieva<sup>1</sup>, M.P. Rykova<sup>1</sup>, M.A. Skedina<sup>1</sup>,  
A.A. Kovaleva<sup>1</sup>, A.M. Nosovsky<sup>1</sup>, A.S. Sheblaeva<sup>1</sup>, V.N. Tsarev<sup>2</sup>, M.S. Podporin<sup>2</sup>, O.V. Bystrova<sup>3</sup>,  
O.A. Gizinger<sup>4</sup>, S.M. Lovtsevich<sup>3</sup>, D.V. Komissarova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup>Institute of Analytical Toxicology, Krasnogorsk, Moscow Region, Russian Federation

<sup>4</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

## The Relationship of Changes in Oral Microbiocenosis and Mucosal Immunity in the Conditions of 14-Day Isolation of a Person in a Hermetic Object with an Artificial Habitat

**Background.** Changes in the human oral microbiota is an adaptive process. Infections will be particularly manifest in extreme conditions, especially during a long stay in space flight, where the astronaut is exposed to various nonspecific stresses. **Aim** — the aim of the work is to estimate the complex influence of 14-day isolation conditions of human being in sealed environment on the state of natural barriers of periodontal colonization.

**Methods.** During the experiment 6 volunteer subjects (4 men and 2 women) aged 24 to 45 years old were confined for 14 days to an air-tight space simulating a spaceship capsule. Then from 6 to 18 days after leaving the experiment the experimental group (4 people) received *Lactobacillus* spp. autoprobiotics once a day on an empty stomach in the morning. During this period the control group (2 persons) took Linex (*Lebenin*®: *Lactobacillus acidophilus* (species *L. gasserii*) — 300 mg, *Bifidobacterium infantis* — 300 mg, *Enterococcus faecium* — 300 mg, lactose — 50 mg). Qualitative and quantitative changes of oral microbiota, concentration of immunoglobulins (sIgA, IgA, IgM) and cytokines (IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , IL-4, INF $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) in periodontal samples were recorded. The number of periodontopathogens and regional blood flow in the periodontium under conditions of prolonged confinement and hypokinesia were studied. **Results.** In comparison with the background period during the time of isolation, a quantitative growth of obligate periodontopathogens was observed in the subjects. This was accompanied by increased levels of immunoglobulins (IgM, IgA, sIgA) and pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL-6, IL-8). There was an increase in blood flow in the arteriolo-venular part of the microcirculatory channel of periodontal tissues after leaving isolation. Subsequently, there was a tendency to optimize microbiocenosis through the use of probiotic and autoprobiotic agents. Along with this, there was a decrease of anti-inflammatory interleukin IL-4 practically to the initial values on the 18th day.

**Keywords:** periodontium, immunoglobulins, cytokines, microcirculation

**For citation:** Ilyin VK, Solovieva ZO, Rykova MP, Skedina MA, Kovaleva AA, Nosovsky AM, Sheblaeva AS, Tsarev VN, Podporin MS, Bystrova OV, Gizinger OA, Lovtsevich SM, Komissarova DV. The Relationship of Changes in Oral Microbiocenosis and Mucosal Immunity in the Conditions of 14-Day Isolation of a Person in a Hermetic Object with an Artificial Habitat. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2022;77(5):326–335. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2117>

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено одноцентровое нерандомизированное неконтролируемое проспективное исследование

### Условия проведения

Работа была проведена на базе ИМБП РАН в марте-апреле 2021 г.

### Описание вмешательства

Исследование было включено в научную программу 14-суточного изоляционного эксперимента, проведенного на базе ИМБП РАН.

В ходе эксперимента 6 испытуемых-добровольцев (4 мужчины и 2 женщины) в возрасте от 24 до 45 лет в течение 14 сут находились в замкнутом, герметичном пространстве, имитирующем капсулу космического корабля. Взятие проб проводилось за 7 сут до эксперимента (фон), сразу по выходу из эксперимента, спустя 6 и 18 сут после окончания эксперимента.

Затем с 6-х по 18-е сут после выхода из эксперимента опытная группа (4 человека) принимала аутопробиотики на основе *Lactobacillus* spp. 1 раз в день утром натощак. В этот период контрольная группа (2 человека) принимала препарат Линекс (Лебенин®: *Lactobacillus acidophilus* (species *L. gasseri*) — 300 мг, *Bifidobacterium infantis* — 300 мг, *Enterococcus faecium* — 300 мг, лактоза — 50 мг). В ходе всего эксперимента проводилась комплексная оценка состояния тканей пародонта, включающая клинические, микроциркуляторные, микробиологические и иммунологические исследования.

В экспериментальном комплексе поддерживались следующие условия:

- температура воздуха в гермообъекте — от 20 до 25 °С;
- содержание кислорода в гермообъекте — от 18 до 21%;
- содержание углекислого газа в гермообъекте — от 0,3%.

Питание по основным пищевым ингредиентам — 2790–2800 кКал/сут.

Гигиена полости рта проводилась 2 раза сутки (утром и вечером) с помощью двухфазной зубной пасты «РемарсГель» (Россия). Все исследования проводились натощак, перед чисткой зубов.

### Методы регистрации исходов

В качестве комплексной оценки состояния пародонта были использованы следующие методы: традиционный бактериологический анализ (БАК), газовая хроматография масс-спектрометрии микробных маркеров (МСММ), ультразвуковая доплеровская флоуметрия (УЗДФ), иммуноферментный анализ (ИФА), рН-метрия.

Для проведения бактериологического анализа выполняли посевы на питательных средах (HiCrome Candida Agar, Staphylococcus Agar No. 10, Columbia Blood Agar Base, Columbia Blood Agar Base + Staph Strepto Supplement, Columbia Blood Agar + on Spore Anaerobic Supplement — среды производства HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия).

Для исследования МСММ проводилось взятие нестимулированной слюны в течение 2 мин с помощью стандартной стерильной пробирки для забора слюны. Исследование МСММ проводилось по стандартной процедуре по Г.А. Осипову [14–16] на специализированной модификации газового хроматографа масс-спектрометра — микробиологический анализатор «МАЭСТРО» (ООО «Интерлаб», Россия).

Отбор ротовой жидкости производился между 12/11, 21/22, 31/32, 41/42 резцами, вне приема пищи, в первой половине дня.

Концентрация иммуноглобулинов (sIgA, IgM) и цитокинов (IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , I-L4, INF $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) в ротовой жидкости определялась методом ИФА с помощью наборов реагентов ЗАО «Вектор-Бест», Россия. Взятие проб ротовой жидкости выполнялось снаружи между 1-м и 2-м резцами справа, слева, на верхней и нижней челюсти. Пробы отбирались стерильными тампонами, которые прикладывались к месту отбора на 2 мин. Взятие проб безболезненно и нетравматично. Эта методика была применена при определении иммуноглобулинов в ротовой жидкости космонавтов непосредственно в условиях длительного космического полета. Были получены данные об изменении концентрации иммуноглобулинов до, во время и по окончании полета [17].

Оценка кровотока в тканях пародонта проводилась методом УЗДФ. Для этого применяли ультразвуковой высокочастотный доплерограф «Минимакс Допплер-К» (Санкт-Петербург, Россия) с ультразвуковым датчиком непрерывного излучения, рабочая частота которого составляла 20 МГц.

### Этическая экспертиза

Исследование рассмотрено и одобрено Комиссией по биомедицинской этике ИМБП РАН (протокол № 573 от 1 апреля 2021 г.). Все участники эксперимента дали информированное согласие на участие в нем.

### Статистический анализ

Для анализа бактериологических данных использовали однофакторный дисперсионный анализ при помощи пакета прикладных программ Statistica 12.5. Для оценки на нормальность выборки использовали W-тест Шапиро–Уилка. Проверку на однородность дисперсий проводили по критерию Levene test. При нарушении условий применения дисперсионного анализа использовали непараметрический критерий Вилкоксона для связанных групп с принятым уровнем значимости  $p < 0,05$ .

Статистический анализ для оценки скорости кровотока в тканях пародонта был проведен при помощи пакета прикладных программ Statistica 7.0, с использованием непараметрического критерия Вилкоксона для связанных групп с принятым уровнем значимости  $p = 0,05$ .

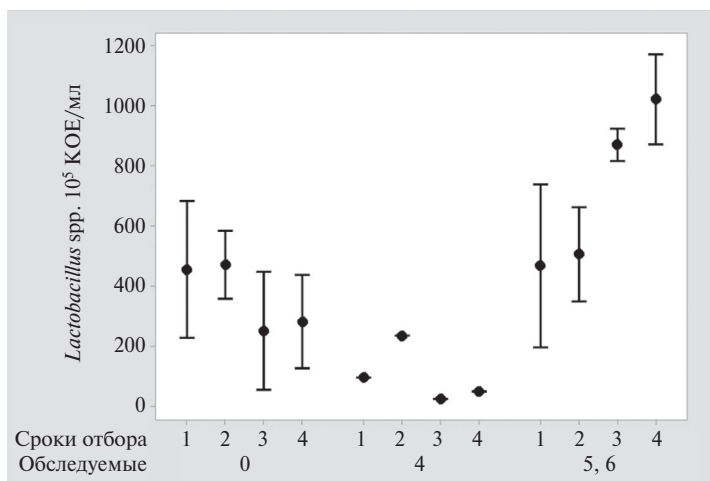
## Результаты

### Основные результаты исследования

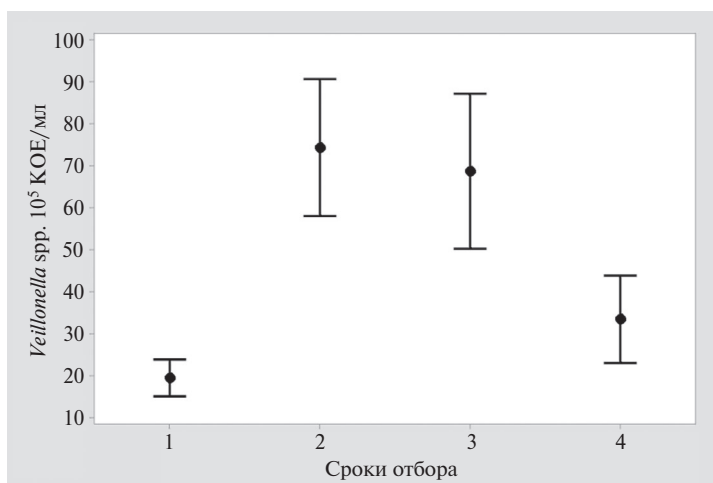
Использование дисперсионного анализа при обработке экспериментальных бактериологических данных показано на примере анализа проб ротовой жидкости. Первоначально были получены однородные выборки, к которыми затем применялся статистический анализ.

Методом МСММ была выявлена следующая микроорганизмы: *Lactobacillus* spp., *Veillonella* spp., *Porphyromonas* spp., *Candida* spp. Из данных, представленных на рис. 1–4, видно, как на выходе из эксперимента у всех участников идет рост показателей, что также подтверждается предыдущими исследованиями в этой области [18–21], с постепенным снижением на 6-е и 18-е сут, приближенные к фоновым значениям (показатели на входе в эксперимент).

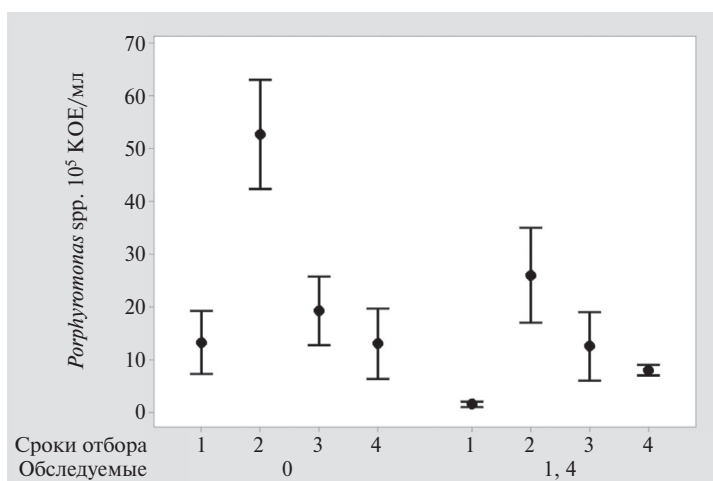
Бактериологический метод выявил наличие следующих микроорганизмов: рост *Streptococcus mutans*,



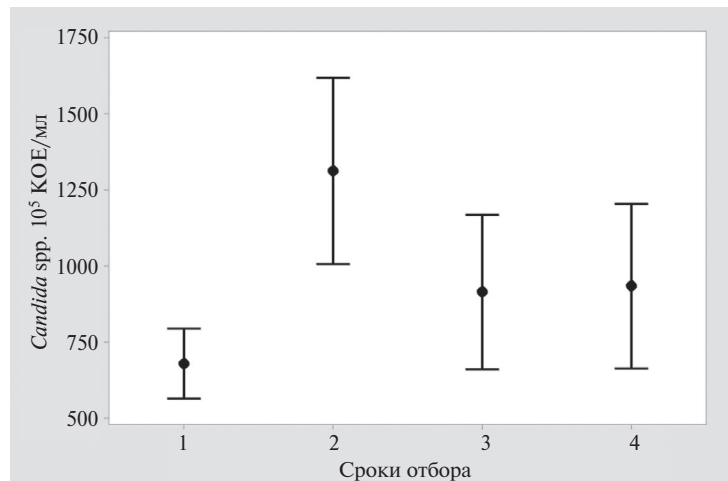
**Рис. 1.** Содержание *Lactobacillus* spp. в ротовой жидкости у обследуемых по результатам исследования методом МСММ. Сроки отбора проб: 1 — на входе в эксперимент; 2 — на выходе из эксперимента; 3 — спустя 6 дней после окончания эксперимента; 4 — спустя 18 дней после окончания эксперимента. Группы: 0 — участники от 1 до 3-го; 4 — четвертый участник; 5, 6 — соответствует номерам участников. По вертикальной оси — уровень содержания *Lactobacillus* spp. (10<sup>5</sup> КОЕ/мл)



**Рис. 2.** Содержание *Veillonella* spp. в ротовой жидкости у всех участников по результатам исследования методом МСММ. По горизонтальной оси — сроки отбора проб: 1 — на входе в эксперимент; 2 — на выходе из эксперимента; 3 — спустя 6 дней после окончания эксперимента; 4 — спустя 18 дней после окончания эксперимента. По вертикальной оси — уровень содержания *Veillonella* spp. (10<sup>5</sup> КОЕ/мл)



**Рис. 3.** Содержание *Porphyromonas* spp. в ротовой жидкости у обследуемых по результатам исследования методом МСММ. По горизонтальной оси — сроки отбора проб и группы. Сроки отбора проб: 1 — на входе в эксперимент; 2 — на выходе из эксперимента; 3 — спустя 6 дней после окончания эксперимента; 4 — спустя 18 дней после окончания эксперимента. Группы: 0 — участники 2, 3, 5, 6; 1, 4 — первый и четвертый участники. По вертикальной оси — уровень содержания *Porphyromonas* spp. (10<sup>5</sup> КОЕ/мл)



**Рис. 4.** Содержание *Candida* spp. в ротовой жидкости у всех участников по результатам исследования методом МСММ. По горизонтальной оси — сроки отбора проб: 1 — на входе в эксперимент; 2 — на выходе из эксперимента; 3 — спустя 6 дней после окончания эксперимента; 4 — спустя 18 дней после окончания эксперимента. По вертикальной оси — уровень содержания *Candida* spp. (10<sup>5</sup> КОЕ/мл)

*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*. Как видно из графиков на рис. 5–7, максимально высокие значения показателей получены на выходе из эксперимента, с дальнейшим их нормированием до фоновых (перед входом в эксперимент).

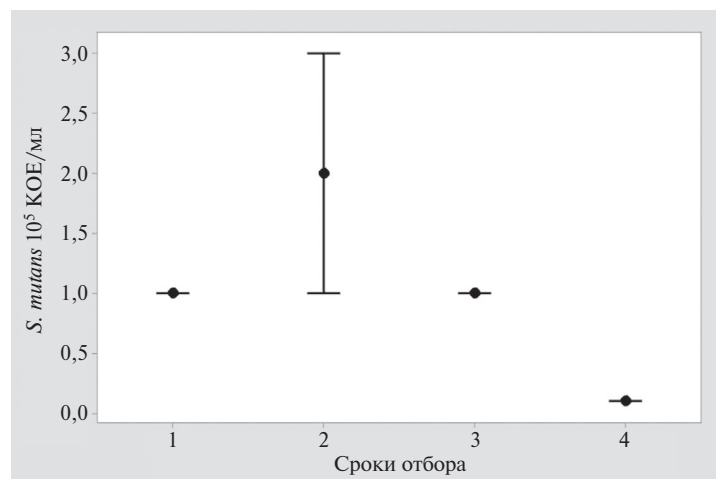
Важный результат проведенного исследования — достоверное повышение содержания IgM и sIgA в ротовой жидкости на 14-е сут эксперимента, причем концентрация последнего достоверно превышала фоновые значения и на 18-е сут после завершения экспериментального воздействия (табл. 1).

Исследование содержания цитокинов в ротовой жидкости позволило отметить ярко выраженный индивидуальный характер изменений. Однако следует отметить, что на 14-е сут пребывания в условиях изоляции происходило статистически значимое повышение уровня TNFα (табл. 2). Интересно, что концентрация этого провоспалительного цитокина на 6-е сут после окончания экспериментального воздействия оставалась выше исходного уровня, а на 18-е сут — даже значительно превышала его. Содержание в ротовой жидкости IFNγ значимо снижалось на 6-е сут после завершения периода изоляции по сравнению с фоном и восстанавливалось до исходных

значений к 18-м сут. Концентрации IL-1β, IL-6, IL-8, IL-4 достоверно не изменялись на протяжении всего эксперимента, однако при этом присутствовали выраженные индивидуальные флуктуации в сторону как увеличения, так и снижения концентрации по сравнению с фоновыми значениями.

По результатам ультразвуковой доплерографии у испытуемых наблюдалось изменение параметров кровотока в микроциркуляторном русле (МЦР) тканей пародонта. Статистически достоверные изменения получены для показателей, характеризующих артериоло-венулярный кровоток (рис. 8). Для максимальной средней скорости ( $V_m$ ) отмечается достоверное увеличение относительно фона на 7-е сут после завершения эксперимента на 33% ( $p = 0,0425$ ), для максимальной диастолической скорости ( $V_d$ ) — для всех исследований после завершения изоляции (на 65,6%,  $p = 0,0126$ ; 69%,  $p = 0,006$  и 61,4%,  $p = 0,009$  относительно фона соответственно сразу после выхода, на +7-е сут и +18-е сут). Вероятно, данные изменения могут быть связаны с общей реакцией организма на 14-суточную изоляцию в малом объеме. Максимальная диастолическая скорость может косвенно характеризовать общее снижение тонуса сосудов в ходе изоляции

330



**Рис. 5.** Содержание *Streptococcus mutans* в ротовой жидкости у всех участников. По горизонтальной оси — сроки отбора проб: 1 — на входе в эксперимент; 2 — на выходе из эксперимента; 3 — спустя 6 дней после окончания эксперимента; 4 — спустя 18 дней после окончания эксперимента. По вертикальной оси — уровень содержания *Streptococcus mutans* (10<sup>5</sup> КОЕ/мл)

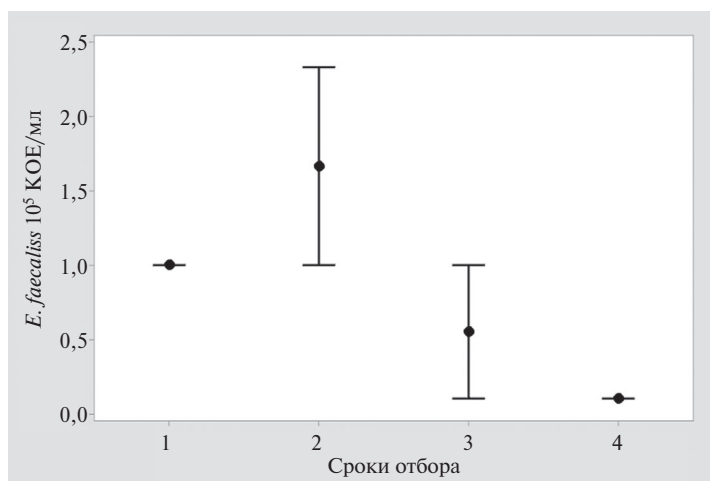


Рис. 6. Содержание *Enterococcus faecalis* в ротовой жидкости у всех участников. По горизонтальной оси — сроки отбора проб: 1 — на входе в эксперимент; 2 — на выходе из эксперимента; 3 — спустя 6 дней после окончания эксперимента; 4 — спустя 18 дней после окончания эксперимента. По вертикальной оси — уровень содержания *Enterococcus faecalis* (10<sup>5</sup> КОЕ/мл)

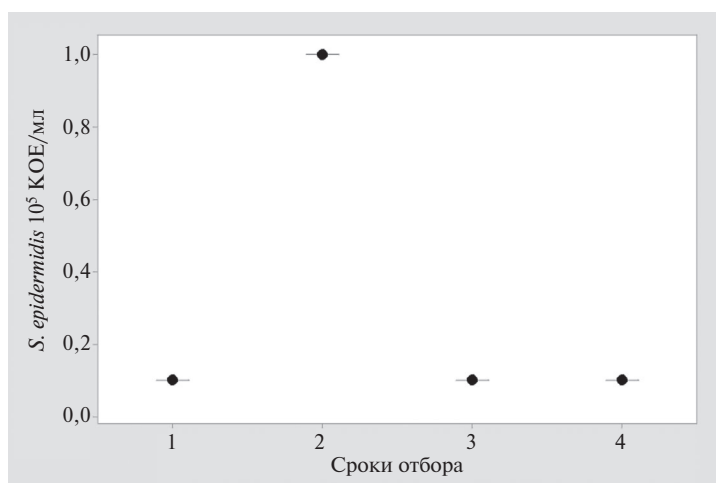


Рис. 7. Содержание *Staphylococcus epidermidis* в ротовой жидкости у всех участников. По горизонтальной оси — сроки отбора проб: 1 — на входе в эксперимент; 2 — на выходе из эксперимента; 3 — спустя 6 дней после окончания эксперимента; 4 — спустя 18 дней после окончания эксперимента. По вертикальной оси — уровень содержания *Staphylococcus epidermidis* (10<sup>5</sup> КОЕ/мл)

Таблица 1. Содержание иммуноглобулинов в ротовой жидкости испытуемых-добровольцев в условиях 14 сут изоляции

| Сроки отбора проб | Концентрация иммуноглобулино, г/л |                |
|-------------------|-----------------------------------|----------------|
|                   | sIgA                              | IgM            |
| Фон (–7 сут)      | 0,032 ± 0,005                     | 0,017 ± 0,002  |
| Выход (14 сут)    | 0,124 ± 0,078*                    | 0,034 ± 0,011* |
| +6 сут            | 0,038 ± 0,010                     | 0,020 ± 0,003  |
| +18 сут           | 0,075 ± 0,031*                    | 0,020 ± 0,003  |

\* — статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2. Содержание цитокинов в ротовой жидкости испытуемых-добровольцев в условиях 14 сут изоляции

| Сроки отбора проб | Концентрация цитокинов, пкг/мл |               |                      |                |               |               |
|-------------------|--------------------------------|---------------|----------------------|----------------|---------------|---------------|
|                   | IL-8                           | IL-6          | IFN $\gamma$ , пг/мл | TNF $\alpha$   | IL-1 $\beta$  | IL-4          |
| Фон (–7 сут)      | 3,397 ± 0,698                  | 0,413 ± 0,138 | 0,991 ± 0,165        | 0,356 ± 0,062  | 0,673 ± 0,138 | 5,169 ± 0,604 |
| Выход (14 сут)    | 6,963 ± 1,253                  | 1,402 ± 1,112 | 1,015 ± 0,145        | 0,566 ± 0,124* | 1,015 ± 0,257 | 4,773 ± 0,352 |
| +6 сут            | 3,237 ± 0,666                  | 0,262 ± 0,069 | 0,718 ± 0,089*       | 0,579 ± 0,058* | 1,095 ± 0,282 | 6,244 ± 0,525 |
| +18 сут           | 3,921 ± 1,193                  | 0,196 ± 0,049 | 1,084 ± 0,131        | 0,933 ± 0,065* | 0,979 ± 0,207 | 5,213 ± 0,260 |

\* — статистически значимые различия по сравнению с соответствующим показателем фона ( $p < 0,05$ ).



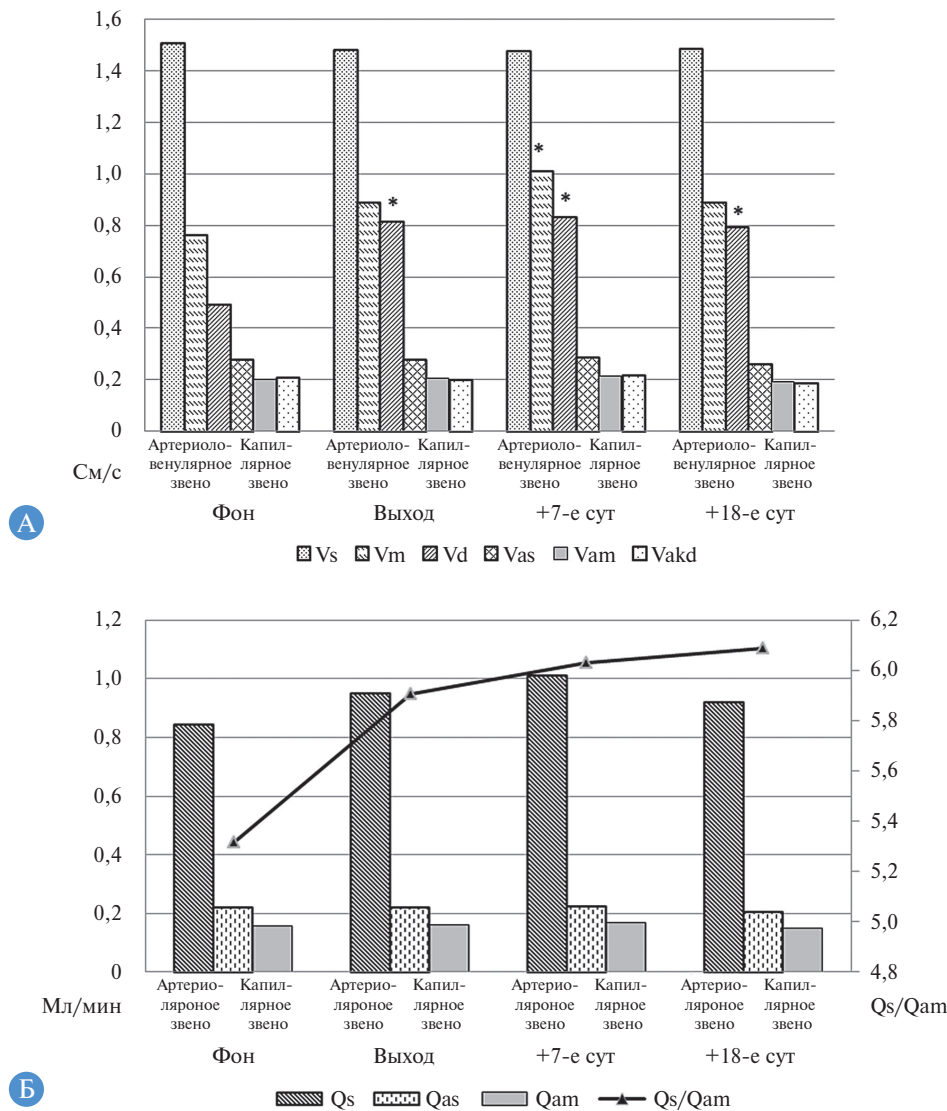


Рис. 8. Динамика линейных (А) и объемных (Б) скоростей кровотока в тканях пародонта

с последующим его реактивным ростом после увеличения объема движения, что подтверждается статистически достоверным увеличением сосудистых индексов (PI, RI) после изоляции на 7-е сут на 21% ( $p = 0,0397$ ) и 8,4% ( $p = 0,0487$ ) и на 18-е сут — на 15% ( $p = 0,002$ ) и 9,2% ( $p = 0,0027$ ) соответственно.

Для максимальной систолической скорости ( $V_s$ ), а также линейных скоростей, характеризующих кровотоки в капиллярном звене МЦР ( $V_{as}$  — средней систолической скорости,  $V_{am}$  — средней скорости и  $V_{akd}$  — конечной диастолической скорости), статистически значимых изменений не выявлено.

Отмечаются незначительные колебания показателей, характеризующих капиллярный кровоток в МЦР ( $V_{as}$ ,  $V_{am}$ ,  $V_{akd}$ ), со снижением на +18-е сут ниже фонового уровня.

Характеристики объемного кровенаполнения тканей пародонта — систолическая объемная ( $Q_s$ ), средняя систолическая ( $Q_{as}$ ) и средняя ( $Q_{am}$ ) скорости. Они отражают кровотоки через артериолярное и капиллярное звенья МЦР. Соотношение кровенаполнения артериолярного и капиллярного звеньев микроциркуляторного русла ( $Q_s/Q_{am}$ ) позволяет оценить, происходит ли обеднение капиллярного русла при увеличении потока крови через артериолы (см. рис. 8, Б). После завершения эксперимента

отмечается увеличение доли артериолярного кровотока в МЦР ( $Q_s/Q_{am}$ ). Учитывая замедление кровотока в капиллярах по данным линейных скоростей и постоянство уровня кровенаполнения в капиллярах, наблюдаемая динамика может быть обусловлена изменением двигательной активности испытуемых.

### Обсуждение

#### Обсуждение основного результата исследования

В связи с растущей потребностью по исследованию космоса, разработкой планирования планетарных полетов вопросы устойчивости человеческого организма к агрессивным факторам космической среды весьма актуальны. Это касается в том числе и состояния естественных процессов колонизации патогенной микрофлорой, включая слизистые и ротоглотку [18–21]. Обнаруженные изменения в процессе 14-суточной изоляции участников наглядно показывают редуцирование организмом защитных групп микроорганизмов, что весьма наглядно иллюстрируется с помощью двух методов — БАК и МСММ. Оба метода показали статистически достоверные значения (различия считали достоверными при уровне значимости

$p < 0,05$ ) и существенный динамический рост микробиоты у участников на выходе из эксперимента с постепенным снижением всех значений до изначальных.

По результатам обоих методов виден явный количественный рост облигатно-анаэробной пародонтопатогенной микрофлоры на выходе из эксперимента (14-е сут), что указывает на реальный риск развития хронического генерализованного пародонтита [22].

При этом в ротовой жидкости наблюдалось повышение содержания sIgA и IgM, провоспалительного цитокина TNF $\alpha$ . С нашей точки зрения, заслуживают внимания результаты определения ряда показателей гуморального иммунитета, в частности повышение уровня IgA и TNF $\alpha$  после завершения экспериментального воздействия при применении пробиотических препаратов. Ранее представлены исследования, которые продемонстрировали, что пробиотики стимулируют врожденный и приобретенный иммунный ответ, вызывают секреторную и системную секрецию IgA, поддерживают гомеостаз активности Th1 и Th2 путем усиления ответов Th1 и ослабления ответов Th2. Например, *L. casei* служат мощным стимулятором продукции IL-6, IL-12, TNF $\alpha$  [23–26]. Клинические исследования выявили индукцию sIgA- и IgA-секретирующих клеточ штаммами *Lactobacillus* или *Bifidobacterium* [27, 28].

Снижение скорости течения капиллярного кровотока в период изоляции говорит также о факторе угнетения функции кровеносного слоя тканей пародонта, что согласуется с известными литературными данными [29]. В то же время увеличение кровотока в артериоло-венулярном звене после выхода из эксперимента, по-видимому, может быть связано с увеличением общей двигательной активности после изоляции.

### Заключение

Проведенные исследования выявили нарушения колонизационной резистентности организма обследуемых на уровне трех барьеров:

- барьер, формируемый протективной микрофлорой (угнетение протективной и рост пародонтопатогенной микрофлоры);
- барьер, формируемый покровными тканями (изменение капиллярного кровотока);
- факторы гуморального иммунитета (увеличение иммуноглобулинов и провоспалительных цитокинов).

Все это свидетельствует об актуальности работы по укреплению естественных барьеров колонизации пробиотиками и аутопробиотиками.

### Дополнительная информация

Работа выполнена при поддержке базовой тематики РАН № 64.2 «Исследование функции желудочно-кишечного

тракта при адаптации организма человека к искусственной среде обитания и способы коррекции дисбактериозов с помощью аутопробиотиков».

**Конфликт интересов.** Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

**Участие авторов.** В.К. Ильин — проведение поисково-аналитической работы, написание статьи, оформление статьи в печать, внесение правок при редактировании, одобрение направления рукописи к публикации; З.О. Соловьева — существенный вклад в проведение исследования, поисково-аналитическую работу, анализ полученных результатов, написание статьи, оформление статьи в печать; М.П. Рыкова — существенный вклад в проведение исследования, поисково-аналитическую работу, анализ полученных результатов, написание и оформление статьи в печать; М.А. Скедина — существенный вклад в проведение исследования, поисково-аналитическую работу, анализ полученных результатов, написание и оформление статьи в печать; А.А. Ковалева — существенный вклад в проведение исследования, поисково-аналитическую работу, анализ полученных результатов, написание и оформление статьи в печать; А.М. Носовский — существенный вклад в проведение исследования, поисково-аналитическую работу, анализ полученных результатов, написание и оформление статьи в печать; А.С. Шеблаева — существенный вклад в проведение исследования, поисково-аналитическую работу, анализ полученных результатов, написание и оформление статьи в печать, внесение правок при редактировании; В.Н. Царев — существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы при написании статьи, написание и оформление статьи в печать, внесение правок при редактировании, одобрение направления рукописи к публикации; М.С. Подпорин — существенный вклад в проведение исследования, поисково-аналитическую работу, анализ полученных результатов, написание и оформление статьи в печать; О.А. Гизингер — существенный вклад в проведение исследования, поисково-аналитическую работу, анализ полученных результатов, написание и оформление статьи в печать, внесение правок при редактировании; С.М. Ловцевич — существенный вклад в проведение исследования, поисково-аналитическую работу, анализ полученных результатов, написание и оформление статьи в печать; Д.В. Комиссарова — существенный вклад в проведение исследования, поисково-аналитическую работу, анализ полученных результатов, написание и оформление статьи в печать. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Князева Э.Б., Туркутюков В.Б. Эпидемиология и этиология воспалительных заболеваний пародонта у работников железнодорожного транспорта // *Тихоокеанский медицинский журнал*. — 2014. — Т. 57. — № 3. — С. 29–31. [Knyazeva EB, Turkutyukov VB. Epidemiology and etiology of parodontal inflammatory diseases at railway workers. *Pacific Medical Journal*. 2014;57(3):29–31. (In Russ.)]
2. Кузьмина Э.М., Янушевич О.О. *Профилактическая стоматология: учебник для медицинских вузов*. — М.: Практическая медицина, 2016. — 544 с. [Kuz'mina EM, Yanushevich OO. *Profilakticheskaya stomatologiya: uchebnik dlya medicinskih vuzov*. Moscow: Prakticheskaya medicina; 2016. 544 s. (In Russ.)]
3. Ефимович О.И. *Клинико-лабораторное обоснование терапии дисбактериоза слизистой оболочки рта*: автореф. дис. ... канд.

- мед. наук. — М., 2002. 19 с. [Efimovich OI. *Kliniko-laboratorное obosnovanie terapii disbakterioza slizistoj obolochki rta*: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Moscow; 2002. 19 s. (In Russ.)]
4. Чернин В.В., Парфенов А.И., Бондаренко В.М., и др. *Симбионтное пищеварение человека*: монография. — Тверь: Триада, 2013. — 232 с. [Chernin VV, Parfenov AI, Bondarenko VM, i dr. *Symbiontnoe pishchevarenie cheloveka*: monografiya. Tver': Triada; 2013. 232 s.]
  5. Burt BA. Periodontitis and aging: reviewing recent evidence. *J Am Dent Assoc.* 1994;125(3):273–279. doi: <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1994.0034>
  6. Cafiero C, Matarasso S. Predictive, preventive, personalised and participatory periodontology: “the 5Ps age” has already started. *EPMA J.* 2013;4(1):16. doi: [10.1186/1878-5085-4-16](https://doi.org/10.1186/1878-5085-4-16).
  7. Червинец В.М., Червинец Ю.В., Леонтьева А.В., и др. Микробиом полости рта у больных пародонтитом, адгезивные и биопленкообразующие свойства // *Клиническая лабораторная диагностика*. — 2021. — Т. 66. — № 1. — С. 45–51. [Chervinets VM, Chervinets YuV, Leont'eva AV, et al. The microbiome of oral cavity patients with periodontitis, adhesive and biofilm forming properties. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021;66(1):45–51. (In Russ.)] doi: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-45-51>
  8. Ушаков Р.В., Царев В.Н. *Антимикробная терапия в стоматологии. Принципы и алгоритмы*. — М.: Практическая медицина, 2019. — 240 с. [Ushakov RV, Carev VN. *Antimikrobnaya terapiya v stomatologii. Principy i algoritmy*. Moscow: Prakticheskaya medicina; 2019. 240 s. (In Russ.)]
  9. Дубинин Д.М. *Влияние факторов космического полета на состояние полости рта и кожи людей*: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1985. 25 с. [Dubinin DM. *Vliyaniye faktorov kosmicheskogo poleta na sostoyaniye polosti rta i kozhi lyudej*: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Moscow; 1985. 25 s. (In Russ.)]
  10. Amado F, Lobo MJC, Domingues P, et al. Salivary peptidomics. *Expert Rev Proteomics.* 2010;7(5):709–721. doi: <https://doi.org/10.1586/epr.10.48>
  11. Агаева Н.А. Роль секреторного IgA в патологии челюстно-лицевой области // *Фундаментальные исследования*. — 2010. — № 4. — С. 11–16. [Agaeva NA. Rol' sekretornogo IgA v patologii chelyustno-licevoj oblasti. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2010;4:11–16. (In Russ.)] Available from: <https://fundamental-research.ru/ru/article/view?id=6753> (accessed: 09.11.2022).
  12. Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A. Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol.* 2003;30(2):145–153. doi: <https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.2003.300201.x>
  13. Ertugrul AS, Sahin H, Dikilitas A, et al. Comparison of CCL28, interleukin-8, interleukin-1β and tumor necrosis factor-α in subjects with gingivitis, chronic periodontitis and generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol Res.* 2013;48(1):44–51. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01500.x>
  14. Осипов Г.А., Федосова Н.Ф., Лядов К.В. Количественный *in situ* микробиологический анализ по липидным маркерам в биологических жидкостях с использованием метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии // *Здравоохранение и медицинские технологии*. — 2007. — № 5. — С. 20–23. [Osipov GA, Fedosova NF, Lyadov KV. Kolichestvennyj in situ mikrobiologicheskij analiz po lipidnym markeram v biologicheskikh zhidkostyakh s ispol'zovaniem metoda gazovoj hromatografii-mass-spektrometrii. *Zdravooxraneniye i medicinskie tekhnologii*. 2007;5:20–23. (In Russ.)]
  15. Осипов Г.А. Хромато-масс-спектрометрический анализ микроорганизмов и их сообществ в клинических пробах при инфекциях и дисбиозах // *Химический анализ в медицинской диагностике*. — М.: Наука, 2010. — С. 293–368. [Osipov GA. Hromato-mass-spektrometricheskiy analiz mikroorganizmov i ih soobshchestv v klinicheskikh probah pri infekciyakh i disbiozakh. *Himicheskij analiz v medicinskoj diagnostike*. Moscow: Nauka; 2010. — С. 293–368.]
  16. Годков М.А., Осипов Г.А., Федосова Н.Ф., и др. Возможности масс-спектрометрии микробных маркеров в лабораторном мониторинге дисбиозов и инфекций // *Справочник заведующего КДЛ*. — 2011. — № 7. — С. 35–44. [Godkov MA, Osipov GA, Fedosova NF, i dr. Vozmozhnosti mass-spektrometrii mikrobnih markerov v laboratornom monitoringe disbiozov i infekcij. *Spravochnik zaveduyushchego KDL*. 2011;7:35–44. (In Russ.)]
  17. Ильин В.К., Шумилина Г.А., Соловьева З.О. Исследование состояния полости рта и зубов космонавтов при полетах на МКС (Космический эксперимент «Пародонт-2»). ГНЦ РФ – ИМБП РАН [Il'in VK, Shumilina GA, Solov'eva ZO. Issledovaniye sostoyaniya polosti rta i zubov kosmonavtov pri poletah na MKS (Kosmicheskij eksperiment “Parodont-2”). GNC RF – IMBP RAN. (In Russ.)]
  18. Шумилина Г.А., Зарубина К.В. Оценка функционального состояния полости рта космонавтов в условиях космического полета // *Космическая биология и авиакосмическая медицина: материалы XII Конференции*. — М., 2002. — С. 361–362. [Shumilina GA, Zarubina KV. Ocenka funkcional'nogo sostoyaniya polosti rta kosmonavtov v usloviyakh kosmicheskogo poleta. *Kosmicheskaya biologiya i aviakosmicheskaya medicina: materialy XII Konferencii*. Moscow; 2002. S. 361–362. (In Russ.)]
  19. Мальнева Н.С. *Изменение состояния тканей пародонта при воздействии некоторых экстремальных факторов*: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1997. — 18 с. [Mal'neva NS. *Izmeneniye sostoyaniya tkanej parodonta pri vozdeystvii nekotoryh ekstremal'nyh faktorov*: avtoref. dis. ... kand. med. nauk. Moscow; 1997. 18 s. (In Russ.)]
  20. Шумилина Г.А. Личная гигиена космонавтов // *Орбитальная станция «Мир»*. — М., 2001. — Т. 1. — С. 104–113. [Shumilina GA. Lichnaya gigiena kosmonavtov. *Orbital'naya stanciya “Mir”*. Moscow; 2001. T. 1. S. 104–113. (In Russ.)]
  21. Шумилина Г.А. Принципы санитарно-гигиенического обеспечения экипажей Международной космической станции // *Авиакосмическая и экологическая медицина*. — 2008. — Т. 42. — № 6-1. — С. 56–58. [Shumilina GA. Principy sanitarno-gigienicheskogo obespecheniya ekipazhej Mezhdunarodnoj kosmicheskoy stancii. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya medicina*. 2008;42(6–1):56–58. (In Russ.)]
  22. Lamont RJ, Koo H, Hajishengallis G. The oral microbiota: dynamic communities and host interactions. *Nat Rev Microbiol.* 2018;16(12):745–759. doi: <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0089-x>
  23. Guarner F, Malagelada J-R. Gut flora in health and disease. *Lancet.* 2003;361(9356):512–519. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12489-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12489-0)
  24. McNaught CE, MacFie J. Probiotics in clinical practice: a critical review of the evidence. *Nutr Res.* 2001;21(1–2):343–353. doi: [https://doi.org/10.1016/S0271-5317\(00\)00286-4](https://doi.org/10.1016/S0271-5317(00)00286-4)
  25. Isolauri E, Sütas Y, Kankaanpää P, et al. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr.* 2001;73(2 Suppl):444S–450S. doi: <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.444s>
  26. Hardy H, Harris J, Lyon E, et al. Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: Homeostasis and immunopathology. *Nutrients.* 2013;5(6):1869–1912. doi: <https://doi.org/10.3390/nu5061869>
  27. Gill HS. Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2003;17(5):755–773. doi: [https://doi.org/10.1016/s1521-6918\(03\)00074-x](https://doi.org/10.1016/s1521-6918(03)00074-x)
  28. De Vrese M, Rautenberg P, Laue C, et al. Probiotic bacteria stimulate virus-specific neutralizing antibodies following a booster polio vaccination. *Eur J Nutr.* 2005;44(7):406–413. doi: <https://doi.org/10.1007/s00394-004-0541-8>
  29. Янушевич О.О., Васюк Ю.А., Арутюнов С.Д., и др. Клинико-инструментальные взаимосвязи показателей суточного

мониторирования артериального давления и регионарного кровотока при заболеваниях пародонта. Часть 1 // *Российская стоматология*. — 2018. — Т. 11. — № 4. — С. 22–27. [Yanushevich OO, Vasiuk YuA, Arutiunov SD, et al. Clinical and

instrumental interrelations between the indicators of 24-hour blood pressure monitoring and regional blood flow in di-seases of periodontal tissue. *Russian Stomatology*. 2018;11(4):22–27. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17116/rosstomat20181104122>

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

- Гизингер Оксана Анатольевна**, д.б.н., профессор [*Oksana A. Gizinger*, PhD in Biology, Professor]; адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6 [address: 6, Miklukho-Maklaya str., 117198, Moscow, Russia]; e-mail: OGizinger@gmail.com, SPIN-код: 7205-1836, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9302-0155>
- Ильин Вячеслав Константинович**, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН [*Vyacheslav K. Ilyin*, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the RAS]; e-mail: piton2004@bk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3896-5003>
- Соловьева Зоя Олеговна**, к.б.н., с.н.с. [*Zoya O. Solovieva*, PhD in Biology, Senior Researcher]; e-mail: soloviova@imbp.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6159-1313>
- Рыкова Марина Петровна**, д.м.н., в.н.с. [*Marina P. Rykova*, MD, PhD, Lead Researcher]; e-mail: rykova@imbp.ru, SPIN-код: 4476-6300, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9121-5351>
- Скедина Марина Анатольевна**, к.м.н., в.н.с. [*Maria A. Skedina*, MD, PhD, Lead Researcher]; e-mail: skedina@imbp.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4369-966X>
- Ковалева Анна Александровна**, н.с. [*Anna A. Kovaleva*, Researcher]; e-mail: aakovaleva@imbp.ru, SPIN-код: 1404-2500, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3697-1007>
- Носовский Андрей Максимович**, д.б.н., в.н.с. [*Andrey M. Nosovskiy*, MD, PhD, Lead Researcher]; e-mail: nam@imbp.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2657-2723>
- Шеблаева Анна Сргеевна**, н.с. [*Anna S. Sheblaeva*, Researcher]; e-mail: anna@sheblaeva.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4083-9612>
- Царев Виктор Николаевич**, д.м.н., профессор [*Victor N. Tsarev*, MD, PhD, Professor]; e-mail: Nikola777@rambler.ru, SPIN-код: 8180-4941, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3311-0367>
- Подпорин Михаил Сергеевич**, к.м.н., н.с. [*Mikhail S. Podporin*, MD, PhD, Researcher]; e-mail: podporin.mikhail@yandex.ru, SPIN-код: 1937-4996, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6785-0016>
- Быстрова Ольга Витальевна**, к.х.н., с.н.с. [*Olga V. Bystrova*, PhD in Chemical Sciences, Senior Researcher]; e-mail: olga.v.bystrova@gmail.com, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6829-8147>
- Ловцевич Сергей Михайлович**, к.м.н., с.н.с. [*Sergey M. Lovtsevich*, MD, PhD, Senior Researcher]; e-mail: savin.sergei@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8090-5851>
- Комиссарова Дарья Валентиновна**, н.с. [*Daria V. Komissarova*, Researcher]; e-mail: d.komisarova@yandex.ru, SPIN-код: 2800-9048

И.В. Майборodin<sup>1,2</sup>, Р.В. Маслов<sup>1</sup>,  
М.Е. Рягузов<sup>1</sup>, В.И. Майбородина<sup>1</sup>, М.И. Воевода<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины,  
Новосибирск, Российская Федерация

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины, Новосибирск,  
Российская Федерация

# Состав и возможность применения в практической медицине экзосом/экстрацеллюлярных везикул мультипотентных стромальных клеток

Терапевтический эффект мультипотентных стволовых/стромальных клеток (МСК) в значительной степени опосредован секрецией экзосом/экстрацеллюлярных везикул (ЭМСК), которые отражают биофизические особенности МСК-продуцентов и считаются более эффективными. Применение ЭМСК может помочь в преодолении практических и этических проблем, ограничивающих клеточную терапию. Важность ЭМСК признана также из-за их способности переносить различные белки, ДНК и РНК к клеткам-мишеням и изменять поведение их и соседних клеток. ЭМСК вносят вклад в клеточные процессы, такие как транскрипция, пролиферация, адгезия, миграция и дифференцировка, участвуют в индукции ангиогенеза, ингибировании фиброза, стимуляции ремоделирования внеклеточного матрикса, отмене местного воспалительного ответа, а также в регуляции активности иммунных клеток. Более глубокое понимание содержания различных компонентов в ЭМСК и их динамики в различных условиях может повлиять на изучение и лечение различных заболеваний. Однако ЭМСК, даже полученные из МСК одного происхождения и культивированных в одних и тех же условиях, могут значительно различаться по своим компонентам и, соответственно, эффективности. Определенное значение имеет модификация, в том числе генетическая, исходных клеточных элементов для целенаправленного и, значит, предсказуемого изменения содержимого ЭМСК, но этот подход также не решает проблему достаточной стандартизации их компонентов. Возможно, что более перспективно искусственное создание экзосомоподобных структур с заранее определенным составом и вследствие этого точным и предсказуемым эффектом.

**Ключевые слова:** мультипотентные стромальные клетки, экзосомы, состав экзосом, регенерация

**Для цитирования:** Майборodin И.В., Маслов Р.В., Рягузов М.Е., Майбородина В.И., Воевода М.И. Состав и возможность применения в практической медицине экзосом/экстрацеллюлярных везикул мультипотентных стромальных клеток. *Вестник РАМН*. 2022;77(5):336–344. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2076>

I.V. Maiborodin<sup>1,2</sup>, R.V. Maslov<sup>1</sup>, M.E. Ryaguzov<sup>1</sup>, V.I. Maiborodina<sup>1</sup>, M.I. Voevoda<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>2</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russian Federation

## Composition and Possibility of Application in Practical Medicine of Exosome/Extracellular Vesicles from Multipotent Stromal Cells

The therapeutic effect of multipotent stem cells (MSCs) is largely mediated by the secretion of exosomes/extracellular vesicles (EMSCs), which reflect the biophysical characteristics of MSC-producers and are considered more effective. The use of EMSCs can help overcome practical and ethical issues that limit cell therapy. The importance of EMSCs is also recognized because of their ability to transfer various proteins, DNA and RNA to target cells and change the behavior of them and neighboring cells. EMSCs contribute to cellular processes such as transcription, proliferation, adhesion, migration and differentiation. EMSCs are involved in the induction of angiogenesis, inhibition of fibrosis, stimulation of extracellular matrix remodeling, abolition of the local inflammatory response, and also in the regulation of immune cell activity. A deeper understanding of the content of EMSC and its dynamics may affect the study and treatment of various diseases. However, EMSCs, even obtained from MSCs of the same origin and cultivated under the same conditions, can differ significantly in their components and, accordingly, in efficiency. Modification, including genetic modification, of the initial cellular elements is of certain importance for purposeful and, therefore, predictable changes in the content of EMSCs, but this approach also does not solve the problem of sufficient standardization of their components. Perhaps more promising is the artificial creation of exosome-like structures with a predetermined composition and, as a result, an accurate and predictable effect.

**Keywords:** multipotent stem cells, exosomes, composition of exosomes, regeneration

**For citation:** Maiborodin IV, Maslov RV, Ryaguzov ME, Maiborodina VI, Voevoda MI. Composition and Possibility of Application in Practical Medicine of Exosome/Extracellular Vesicles from Multipotent Stromal Cells. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2022;77(5):336–344. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2076>

## Введение

Мультипотентные стволовые/стромальные клетки (МСК) обладают большим потенциалом в лечении ряда заболеваний благодаря их способности к дифференцировке и иммуномодуляции, а также возможности легко культивировать и манипулировать ими. Не исключено, что терапевтический эффект МСК в значительной степени опосредован секрецией паракринных факторов, включая экстрацеллюлярные везикулы, которые отражают биофизические особенности МСК и считаются более эффективными, чем сами клетки-продуценты [1–3].

Внеклеточные везикулы обычно делят в зависимости от их биогенеза на подгруппы [4], такие как экзосомы (диаметром 40–100 нм, образующиеся из эндосомальных мультивезикулярных телец в результате их слияния с поверхностной мембраной клетки [5]), эктосомы (диаметром 150–1000 нм, почкующиеся микровезикулы [6]) и апоптотические тельца (диаметром 50–2000 нм, являющиеся производными апоптотической разборки клеток на субклеточные фрагменты [7]).

Несколько групп исследователей сравнили положительные эффекты клеточной терапии с использованием МСК и бесклеточного лечения на основе экзосом/экстраклеточных везикул, полученных из МСК (ЭМСК). Применение МСК жировой ткани мышей по сравнению с их кондиционной средой оказывало одинаковый эффект на симптомы и степень повреждения тканей при экспериментальном хроническом колите у мышей [8]. Введение ЭМСК (200 мкг), полученных из МСК пуповины, привело к аналогичному результату в процессе лечения колита, относительно результатов применения самих МСК ( $1 \times 10^6$  клеток) [9]. Была продемонстрирована большая эффективность ЭМСК, чем МСК, при восстановлении сердца на модели острого инфаркта миокарда у крыс [10]. Исследование регенерации кожной раны у кроликов в эксперименте показало, что внутрикожная инъекция ЭМСК, полученных из МСК жировой ткани и костного мозга, превосходит по результативности применение МСК *in vivo* [11]. Внутривенное введение ЭМСК, выделенных из МСК костного мозга человека, показало такую же эффективность, как и эти МСК, при лечении острого повреждения почек у крыс через ингибирование апоптоза и стимуляцию пролиферации эпителиоцитов канальцев [12]. В модели рассеянного склероза, индуцированного экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом у мышей, как МСК плаценты человека, так и их ЭМСК проявляли сходные регенеративные эффекты и предотвращали деградацию олигодендроглии и демиелинизацию [13]. Было продемонстрировано, что через 28 дней после начала лечения группы мышей, получавшие 10 мкг ЭМСК или  $1 \times 10^6$  МСК, продемонстрировали одинаковые положительные эффекты в виде улучшения нейрогенеза и когнитивных функций при моделировании болезни Альцгеймера [14].

Альтернативные подходы, основанные на ЭМСК, могут предложить значительные перспективы в преодолении практических и этических проблем, ограничивающих клеточную терапию [2], недостатки которой связаны с инфузионной токсичностью живых МСК, неконтролируемым их делением и возможностью образования опухоли. МСК, полученные из различных тканей, различаются экспрессией генов, активностью пролиферации и потенциалом дифференцировки. Кроме того, имеются сообщения о некоторых вариациях экспрессии поверхностных антигенов, отличающихся от требований минимальных

критериев. Существующие различия указывают на специфические особенности МСК из разных тканей и органов или связаны с протоколами выделения и культивирования [15]. ЭМСК не способны ни мутировать, ни пролиферировать, ни индуцировать метастазирование. Также применение ЭМСК позволяет обойти этическое неприятие некоторыми группами населения трансплантации, каковой по своей сути является введение МСК.

Необходимо отметить, что большинство трансплантированных МСК обычно задерживается в печени, селезенке и легких, и лишь менее 1% МСК достигает и участвует в регенерации поврежденных тканей [16, 17]. ЭМСК преодолевают фильтрационный барьер капилляров и в большем количестве достигают цели. Нановезикулы, полученные из МСК выделением в градиенте плотности вследствие разрушения клеточных элементов последовательными экструзиями, меченые Су7 (цианиновый флюоресцентный краситель) и введенные в дозе  $2 \times 10^9$  мышам внутривенно, распространялись по всему телу животных и локализовались в легких, печени и почках через 6 ч [18]. Маркированные везикулы из МСК человека вводили внутривенно мышам с индуцированным глицирином поражением почек, а также здоровым животным. Было обнаружено, что меченые везикулы накапливаются специфически в поврежденных почках по сравнению со здоровым контролем. Через 5 ч внеклеточные везикулы были обнаружены на изображениях всего тела и срезах почек [19]. Все это также подчеркивает важность разработки бесклеточных методов лечения [20].

Литература содержит результаты многочисленных исследований белкового и РНК-состава ЭМСК. Важность экзосом давно признана также из-за их способности переносить белки, ДНК, матричные, транспортные, короткие интерферирующие и микро-РНК (мРНК, тРНК siРНК и miR соответственно) к клеткам-мишеням и изменять поведение их и соседних клеток. Последние данные свидетельствуют о том, что экзосомы участвуют как в нормальных физиологических функциях, так и при патологических состояниях. Происходящие из эмбриональных стволовых клеток экзосомы содержат большое количество мРНК для множества факторов транскрипции, рецепторов и цитокинов. ЭМСК вносят вклад в клеточные процессы, такие как транскрипция, пролиферация, адгезия, миграция и дифференцировка. Более глубокое понимание состава компонентов ЭМСК и их динамики в различных условиях может повлиять на изучение и лечение различных заболеваний [2, 3, 21]. Имеется мнение, что ЭМСК решают проблемы безопасности, такие как генные мутации, неконтролируемое деление клеток и тканевая несовместимость, обычно проявляющиеся через некоторое время после начала клеточной терапии [22], но при оценке этого утверждения необходимо принимать во внимание работы, сообщающие о выраженном прокоагулянтном действии ЭМСК (их внутривенное введение в некоторых случаях может быть даже сопряжено с тромбозом [23, 24]), провоспалительном эффекте [25], а также способности модулировать опухолевый рост [26, 27]. Экзосомы захватываются клеткой-мишенью посредством прямого связывания с плазматической мембраной вследствие взаимодействия лиганд–рецептор или посредством фагоцитоза и пиноцитоза [28, 29].

Экзосомы могут передавать огромное количество биоактивных молекул клеткам-реципиентам, которые, в свою очередь, вызывают фенотипические изменения, а затем модулируют регенеративные программы различных органов [30]. Эти фенотипические изменения воз-

никают в результате нескольких механизмов, начиная от предотвращения апоптоза в реципиентных клетках, индукции их пролиферации, стимуляции иммуномодулирующих реакций и снижения окислительного стресса до нормализации поступления кислорода [31]. ЭМСК участвуют в индукции ангиогенеза, ингибировании фиброза, повышении выживаемости и дифференцировки нейронов, стимуляции ремоделирования внеклеточного матрикса, отмене местного воспалительного ответа, а также в регуляции активности иммунных клеток [32].

Для изучения результатов исследований состава ЭМСК проведен литературный поиск в базах данных PubMed и PubMed Health (www.ncbi.nlm.nih.gov) по комбинации ключевых слов «exosome» + «composition» + «stem cells» за последние 10 лет. В результате поиска найден 161 источник, из которых выбраны самые, на наш взгляд, интересные и презентативные.

### Общее строение ЭМСК

Текущие исследования структуры и состава экзосом, имеющие важное значение, еще продолжаются.

Липидный бислой оболочки экзосом содержит холестерин, сфингомиелин, фосфатидилсерин, фосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин, фосфатидилинозитол и моносиалотетрагекс-осилганглиозид, гексозилцерамиды, фосфатидилсерин и простагландины, которые аналогичны составу плазматической мембраны клетки и обеспечивают ключевые функции и активность экзосом, такие как сохранение формы, экзосомальный эндоцитоз, мембранный перенос и передача сигналов. Учитывая эндосомное происхождение, в составе экзосом есть белки, участвующие в мембранном транспорте и слипании (например, annexins, Rab, flotillin, GTPases), биогенезе (например, ALIX, TSG101), а также белки, связанные с липидными микродоменами (интегрины и тетраспанины). Кроме того, другие часто определяемые белки связаны с цитоскелетом (например, тубулин, миозин, актин) и метаболизмом (например, GADPH). В качестве маркеров экзосом рассматриваются тетраспанины (CD9, CD63, CD81 и CD82), которые локализуются на поверхности экзосом и участвуют в клеточных взаимодействиях, и белки теплового шока HSP70, HSP90 и ALIX [33–44].

ЭМСК содержат все пять ферментов, участвующих в синтезе АТФ при гликолизе, а именно глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу, фосфоглицераткиназу, фосфоглюкомутазу, энлазу и изоформу m2 пируваткиназы. В ЭМСК присутствует ферментативно активный CD73, ответственный за образование внеклеточного аденозина из высвобожденных адениновых нуклеотидов. Экзосомы способны активировать аденозиновые рецепторы и таким образом генерировать затрагиваемое аденозином фосфорилирование ERK1/2 и Akt в кардиомиоцитах H9C2 [45, 46].

Экзосомы МСК костного мозга мыши содержат иммуномодулирующие белки, такие как лиганд запрограммированной смерти-1 (PD-L1), галектин-1 и трансформирующий фактор роста-бета (TGF-β). Кроме того, экзосомы костномозговых МСК имеют более высокие уровни циклооксигеназы-2 (COX-2) и простагландина E2 (PGE2), способствующие негативному регулированию провоспалительных цитокиновых эффектов спленоцитов [47].

Экзосомы состоят из различных макромолекул, включающих уникальные липидные и белковые структуры.

Другие преобладающие части экзосомальной композиции, нуклеиновые кислоты, включают мРНК, miR (большинство из которых находится в виде pre-miR, которые не активны до их превращения в зрелые формы miR), тРНК, рибосомную РНК, ядрышковую РНК, длинную некодирующую РНК (днРНК) и фрагменты ДНК, ответственные за посттранскрипционное поддержание экспрессии генов в акцепторных клетках, и участвуют в физиологических и патологических процессах. Важно отметить, что РНК передает генетическую информацию, которая, в свою очередь, влияет на экспрессию белка и биологическую активность в клетках-реципиентах [34, 39, 40, 48, 49]. Несомненно, одним из наиболее важных компонентов экзосом являются miR из-за их способности вызывать многогранные изменения в поврежденных или злокачественных тканях, воздействуя на мириады молекул и осей. Экспрессия miR-21 и miR-15, участвующих в регуляции сердечных функций, была значительно ниже в ЭМСК по сравнению с самими МСК [10, 50].

Различные физиологические или патологические состояния могут влиять на механизм упаковки биомолекул в ЭМСК, а также на их биологическую функцию. Например, экзосомы, полученные из МСК, подвергшихся гипоксии, содержат более высокие уровни ангиогенных белков, таких как фактор роста тромбоцитов (PDGF), фактор роста фибробластов (FGF) и эпидермальный фактор роста (EGF), и обладают большей ангиогенной активностью, чем экзосомы, полученные из МСК, культивируемых в условиях нормоксии [51].

Идентификация конкретных эффекторных молекул, участвующих во взаимодействии МСК с клетками-мишенями, позволит целенаправленно модифицировать МСК, применять и усиливать терапевтические эффекты клеточной терапии [52].

### Применение ЭМСК в регенеративной медицине

Экзосомы, продуцируемые МСК разного происхождения, содержат существенно разные функциональные молекулы и обладают гетерогенными характеристиками [53–55]. Экзосомы из МСК костного мозга в значительной степени стимулируют регенерацию за счет индукции ангиогенеза, а экзосомы МСК жировой ткани демонстрируют максимальную секреторную активность и регуляцию иммунного ответа по сравнению с экзосомами, полученными из МСК другого происхождения, в то время как экзосомы МСК пуповины в основном участвуют в восстановлении тканей [56].

К. Wang et al. [57] сравнивали паракринные функции *in vivo* и экзосомальные профили МСК, происходящих из эндометрия, костного мозга и жировой ткани, на модели инфаркта миокарда на крысах. Анализ экзосомальных miR этих МСК показал, что экспрессия miR-21 была более выражена в экзосомах, полученных из МСК эндометрия. Возможно, что различия экзосом, выделенных от МСК разного происхождения, оказывают существенное влияние на их клиническую эффективность.

Большое количество исследователей предполагает, что экзосомы вносят вклад в регенерацию поврежденных тканей с помощью нескольких механизмов, включая: 1) поддержание эндогенных стволовых клеток за счет активации их пролиферации, самообновления и дифференцировки [21, 58]; 2) индукцию собственно регенерации через стимулирование пролиферации клеток, ангиогенеза и прорастания нервов [59–61]; 3) защиту клеток от апо-

птоза и уменьшение повреждения тканей [47]; 4) ослабление окислительного стресса и регулировку иммунного ответа за счет доставки иммуномодулирующих медиаторов в поврежденную ткань [62, 63].

### Эффект ЭМСК при патологии почек

Соединение провоспалительного цитокина CCL2 с его рецептором, экспрессируемым на экзосомах МСК костномозгового происхождения, может уменьшать активность воспаления и способствовать восстановлению после острого повреждения почек путем ингибирования активации макрофагов [64].

МСК-генерируемая miR-22 защищает почки от острого ишемического реперфузионного повреждения за счет противовоспалительного эффекта. Кроме того, miR-22 ингибирует потенциал дендритных клеток к секреции провоспалительных цитокинов, а также снижает повреждение эпителиальных клеток млекопитающих, обеспечивая восстановление при остром повреждении почек [65]. X. Zou et al. [66] обнаружили, что экзосомы МСК из Вартонова студия улучшали функцию почек у крыс с ишемическим реперфузионным повреждением этих органов вследствие ингибции апоптоза почечных клеток и усиления их пролиферации одновременно с супрессией воспалительных реакций за счет уменьшения количества макрофагов в поврежденных участках.

Оценивали, способствуют ли клубочковые МСК или их экстрацеллюлярные везикулы восстановлению почек при остром повреждении, вызванном ишемией-реперфузией у мышей SCID. Кроме того, эффекты этих МСК и везикул сравнивали с действием клеток-предшественников CD133+, выделенных из канальцев кортикальной ткани почек и их внеклеточных пузырьков. Было обнаружено, что МСК и их внеклеточные пузырьки улучшают функцию почек и уменьшают ишемию после ишемического реперфузионного повреждения за счет активации пролиферации эпителиальных клеток канальцев. Инактивированные РНКазой внеклеточные везикулы не оказывали эффекта. Кроме того, клетки CD133+, но не их везикулы также значительно способствовали восстановлению почек после ишемии-реперфузии по сравнению с контролем. МСК из почечных клубочков могут способствовать выздоровлению мышей с острой почечной недостаточностью, индуцированной ишемическим реперфузионным повреждением, в первую очередь за счет высвобождения экстрацеллюлярных везикул [60].

Микровезикулы, продуцируемые МСК, могут объяснять паракринный механизм защитного эффекта клеточной терапии при остром повреждении почек за счет горизонтального переноса матричной РНК и miR. Такие микровезикулы вводили внутривенно крысам (30 мкг на животное) сразу после монолатеральной нефрэктомии и окклюзии артерии и вены оставшейся почки в течение 45 мин. Было обнаружено, что однократное введение микровезикул сразу после ишемии-реперфузии защищает почки крыс от острого повреждения, подавляя апоптоз и стимулируя пролиферацию эпителиальных клеток канальцев, также значительно уменьшились нарушения функций органов. Более того, микровезикулы за счет уменьшения острого повреждения также защищали от более позднего хронического заболевания почек. Предварительная обработка микровезикул РНКазой аннулировала защитные эффекты из-за инактивации РНК [12].

Фактически МСК высвобождают экстраклеточные везикулы, содержащие соответствующие биомолекулы, такие как мРНК, miR, биоактивные липиды и сигнальные рецепторы, способные восстанавливать физиологические условия или в случае необходимости регенеративных или противовоспалительных эффектов. Большинство доклинических исследований были успешными, сообщая о защитной роли ЭМСК не только при остром повреждении почек после ишемической реперфузии, но и о модуляции как врожденных, так и адаптивных иммунных ответов при реакции «трансплантат против хозяина» и при аутоиммунных заболеваниях [67].

Внеклеточные везикулы, происходящие из эндотелия и канальцев почек, играют важную роль при трансплантации почки, также экзосомы могут вызывать отторжение, инициируя как аллоиммунные, так и аутоиммунные реакции. Однако другие везикулы, в том числе из МСК, в экспериментальных моделях отторжения и ишемического реперфузионного повреждения трансплантированной почки защищают канальцевые и эндотелиальные клетки (подавляя апоптоз и воспаление с фиброгенезом или вызывая аутофагию) и стимулируют регенерацию тканей (запуская ангиогенез, пролиферацию и миграцию клеток) [68].

### Защитное действие ЭМСК при заболеваниях легких

S.Y. Ahn et al. [69] обнаружили, что VEGF играет важную роль в защитной роли ЭМСК при гипероксических повреждениях легких, развивающихся при длительной искусственной вентиляции с повышенным содержанием кислорода, например, в процессе лечения COVID-19. Соответственно, экзосомы МСК пуловины человека обладают значительной эффективностью, восстанавливая нарушенную функцию альвеол, оказывая ангиогенные эффекты, уменьшая апоптоз клеток и подавляя макрофагальные и провоспалительные реакции при гипероксических повреждениях легких новорожденных в эксперименте на крысах.

J.W. Li et al. [70] отметили, что интратрахеальное введение ЭМСК имело защитный эффект при лечении экспериментального ишемического реперфузионного повреждения легких у мышей из-за доставки miR-21-5p, о чем свидетельствует ингибирование отека легких и улучшение регенерации тканей. ЭМСК также смещают поляризацию альвеолярных макрофагов с фенотипа M1 на фенотип M2, что вызывает супрессию провоспалительных ответов. Отличия в эффективности свежих и старых ЭМСК при влиянии на процесс острого повреждения легких обусловлены разницей в содержании miR [71].

A. Monsel et al. [72] описали уменьшение выраженности острого повреждения легких мышей при пневмонии, вызванной E. coli, посредством влияния ЭМСК на секрецию фактора роста кератиноцитов (KGF) и связывания его с рецептором CD44 на поверхности моноцитов и альвеолярных эпителиальных клеток. Внутривенное введение ЭМСК оказывало иммуномодулирующие эффекты при бактериальной пневмонии за счет улучшения фагоцитозного потенциала моноцитов и снижения секреции воспалительных цитокинов. В частности, ЭМСК восстанавливали метаболизм клеток альвеолярного эпителия II типа благодаря повышению внутриклеточного уровня АТФ в них.

Фактор роста гепатоцитов (HGF), полученный из ЭМСК, снижает проницаемость эндотелия микро-



судов легких, парацеллюлярную и трансклеточную проницаемость при остром повреждении легких [73]. Защитный эффект ЭМСК *in vivo* при остром повреждении легких может быть опосредован переносом митохондрий, что, в свою очередь, ингибировало продукцию воспалительных цитокинов и увеличивало содержание альвеолярных макрофагов 2-го фенотипа [74].

ЭМСК облегчают легочную артериальную гипертензию у мышей за счет понижения среднего давления в легочной артерии и правом желудочке, предотвращения гипертрофии правого желудочка и восстановления функций легких. ЭМСК *in vitro* предотвращали апоптоз эндотелиальных клеток, повышали экспрессию IL-10 и уменьшали экспрессию IL-6 в среде для культивирования эндотелиальных клеток посредством HGF-зависимого действия [75].

Исследование безопасности и эффективности экзосом (ExoFlo™), полученных из аллогенных МСК костного мозга, у 24 пациентов с тяжелой формой коронавирусной болезни (COVID-19) показало, что системная инъекция ExoFlo™ привела к стабилизации клинического состояния и оксигенации у пациентов без каких-либо серьезных последствий в течение 2 нед наблюдения. Возможно, что ЭМСК являются подходящим терапевтическим кандидатом для лечения тяжелой формы COVID-19 [76].

### Перспективы клинического применения ЭМСК

В качестве обобщения литературных данных по компонентам ЭМСК, которые могут иметь значение в расширении клинического использования данного раздела клеточных технологий, можно отметить следующее:

- оболочка ЭМСК содержит холестерин, сфингомиелин, фосфатидилсерин, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол и моносиалотетрагекс-осилганглиозид, гексозилцерамиды, фосфатидилсерин и простагландины, которые аналогичны составу плазматической мембраны клетки и обеспечивают ключевые функции и активность микровезикул, такие как сохранение формы, экзосомальный эндоцитоз, мембранный перенос и передача сигналов. Учитывая эндосомное происхождение, в составе ЭМСК есть белки, участвующие в мембранном транспорте и слиянии (например, annexins, Rab, flotillin, GTPases), биогенезе (например, ALIX, TSG101), а также белки, связанные с липидными микродоменами (интегрины и тетраспанины). Кроме того, другие часто определяемые белки связаны с цитоскелетом (например, тубулин, миозин, актин) и метаболизмом (например, GADPH) [33–46]. S. Mardrou et al. [77] инкапсулировали экзосомы в гидрогелях полиэтиленгликоля (ПЭГ). Опосредованная гидрогелем доставка вызывает усиленное накопление экзосом в фиброзной ткани в течение продолжительных периодов времени, обеспечивая превосходную антиапоптотическую, антифиброзную и регенеративную способность по сравнению с результатами применения свободных экзосом. *Важно для накопления в месте повреждения и интернализации акцепторными клетками;*
- ЭМСК содержат все пять ферментов, участвующих в синтезе АТФ при гликолизе, а именно глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу, фосфоглицераткиназу, фосфоглюкомутазу, эналазу и изоформу m2 пируваткиназы. В ЭМСК присутствует фермен-

тативно активный CD73, ответственный за образование внеклеточного аденозина из высвобожденных адениновых нуклеотидов [45, 46]. *Важно для лечения сердечной патологии;*

- ЭМСК содержат miR-221 и miR-19a, которые оказывают сильное защитное действие на кардиомиоциты, а также на регенерацию тканей после ишемической травмы. Mir-21 улучшает выживаемость миоцитов при ишемическом повреждении, miR-19a предотвращает апоптоз клеток в ишемизированном миокарде [78]. *Важно для лечения сердечной патологии;*
- ЭМСК содержат галектин-1, трансформирующий фактор роста-бета (TGF-β), фактор роста кератиноцитов (KGF), циклооксигеназу-2 (COX-2), простагландин E2 (PGE2), miR-22 и miR-223, способствующие негативному регулированию провоспалительных цитокиновых эффектов [47]. *Важно для иммуномодуляции и коррекции ишемически-реперфузионных расстройств;*
- ЭМСК содержат ангиогенные протеины, такие как фактор роста тромбоцитов (PDGF), фактор роста фибробластов (FGF), эпидермальный фактор роста (EGF), фактор стромальных клеток (SDF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), трансформирующий фактор роста-β (TGF-β), ангиогенин и костный морфогенетический белок-7 (BMP-7). Кроме того, ЭМСК содержат большое количество miR-210, которая может снижать экспрессию эфрина-A3, молекулы-супрессора ангиогенеза в эндотелиальных клетках, в результате активируется ангиогенез [10, 47, 50, 51]. *Важно для ангиогенеза, регенерации большинства органов и тканей, а также лечения сердечной патологии;*
- ЭМСК содержат антиапоптотическую miR-125b-5p, подавляющую окислительный стресс глутатионпероксидазу-1 (GPX1), каталазы [70, 79]. *Важно для регенерации большинства органов и тканей;*
- ЭМСК содержат let-7f, miR-145, miR-199a и miR-221, подавляющие репликацию РНК вируса гепатита С в печени [80]. *Важно для лечения вирусных гепатитов;*
- ЭМСК содержат miR-133b, которая способствует улучшению регенерации нервной ткани [81]. *Важно для лечения патологии центральной и периферической нервной системы;*
- ЭМСК содержат miR let7c с сильной антифиброзной активностью [82]. *Важно для регенерации большинства органов и тканей и снижения уровня фиброза;*
- ЭМСК содержат фактор роста гепатоцитов (HGF) и miR-21-5p [70]. *Важно для снижения уровня отека (проницаемость сосудов, парацеллюлярная и трансклеточная проницаемость) и коррекции ишемически-реперфузионных расстройств;*
- ЭМСК содержат галектин-1, трансформирующий фактор роста-бета (TGF-β), фактор роста кератиноцитов (KGF), циклооксигеназу-2 (COX-2), простагландин E2 (PGE2), miR-22 и miR-223, способствующие негативному регулированию провоспалительных цитокиновых эффектов [47]. *Важно для иммуномодуляции и коррекции ишемически-реперфузионных расстройств.*

### Заключение

На основании литературных данных можно заключить, что важность ЭМСК общепризнана из-за их способности переносить различные белки, ДНК и РНК

к клеткам-мишеням и изменять поведение их и соседних клеток. ЭМСК вносят вклад в клеточные процессы, такие как транскрипция, пролиферация, адгезия, миграция и дифференцировка, участвуют в индукции ангиогенеза, ингибировании фиброза, стимуляции ремоделирования внеклеточного матрикса, отмене местного воспалительного ответа, а также в регуляции активности иммунных клеток. Более глубокое понимание содержания различных компонентов в ЭМСК и их динамики в различных условиях может повлиять на изучение и лечение различных заболеваний. Однако ЭМСК, даже полученные из МСК одного происхождения и культивированных в одних и тех же условиях, могут значительно различаться по своим компонентам и, соответственно, эффективности. Определенное значение имеет модификация, в том числе генетическая, исходных клеточных элементов для целенаправленного и, значит, предсказуемого изменения содержимого ЭМСК, но этот подход также не решает проблему достаточной стандартизации их компонентов.

Возможно, более перспективно искусственное создание экзосомоподобных структур с заранее определенным составом и вследствие этого точным и предсказуемым эффектом. Необходимо отметить, что работы в этом направлении уже ведутся. Так, G.F. Liang et al. [83] использовали сконструированные экзосомы для совместной доставки химиотерапевтического препарата 5-фторурацила и оли-

гонуклеотида — ингибитора химиорезистентности miR-21 для снижения лекарственной устойчивости клеток колоректальной карциномы и, таким образом, для повышения эффективности лечения рака.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Рукопись подготовлена и опубликована за счет финансирования по месту работы авторов.

**Конфликт интересов.** Авторы данной статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

**Участие авторов.** И.В. Майборodin — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, анализ полученных данных, написание текста, редактирование; Р.В. Маслов — сбор и обработка материала, анализ полученных данных, написание текста; М.Е. Рязузов — сбор и обработка материала, анализ полученных данных, написание текста; В.И. Майбородина — сбор и обработка материала, редактирование; М.И. Воевода — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, редактирование. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

### ЛИТЕРАТУРА

- Zhou Y, Yamamoto Y, Xiao Z, et al. The immunomodulatory functions of mesenchymal stromal/stem cells mediated via paracrine activity. *J Clin Med*. 2019;8(7):1025. doi: <https://doi.org/10.3390/jcm8071025>
- Janockova J, Slovinska L, Haranova D, et al. New therapeutic approaches of mesenchymal stem cells-derived exosomes. *J Biomed Sci*. 2021;28(1):39. doi: <https://doi.org/10.1186/s12929-021-00736-4>
- Hassanzadeh A, Rahman HS, Markov A, et al. Mesenchymal stem/stromal cell-derived exosomes in regenerative medicine and cancer; overview of development, challenges, and opportunities. *Stem Cell Res Ther*. 2021;12(1):297. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02378-7>
- Heldring N, Mäger I, Wood MJA, et al. Therapeutic potential of multipotent mesenchymal stromal cells and their extracellular vesicles. *Hum Gene Ther*. 2015;26(8):506–517. doi: <https://doi.org/10.1089/hum.2015.072>
- Février B, Raposo G. Exosomes: endosomal-derived vesicles shipping extracellular messages. *Curr Opin Cell Biol*. 2004;16(4):415–421. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2004.06.003>
- Théry C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2009;9(8):581–593. doi: <https://doi.org/10.1038/nri2567>
- Caruso S, Poon IKH. Apoptotic cell-derived extracellular vesicles: more than just debris. *Front Immunol*. 2018;9:1486. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01486>
- Heidari M, Pouya S, Baghaei K, et al. The immunomodulatory effects of adipose-derived mesenchymal stem cells and mesenchymal stem cells-conditioned medium in chronic colitis. *J Cell Physiol*. 2018;233(11):8754–8766. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.26765>
- Jie Z, Wang YH, Li ZG, et al. Immunosuppressive effect of exosomes from mesenchymal stromal cells in defined medium on experimental colitis. *Int J Stem Cells*. 2019;12(3):440–448. doi: <https://doi.org/10.15283/ijsc18139>
- Shao L, Zhang Y, Lan B, et al. MiRNA-Sequence Indicates That Mesenchymal Stem Cells and Exosomes Have Similar Mechanism to Enhance Cardiac Repair. *Biomed Res Int*. 2017;2017:4150705. doi: <https://doi.org/10.1155/2017/4150705>
- Pelizzo G, Avanzini MA, Cornaglia AI, et al. Extracellular vesicles derived from mesenchymal cells: perspective treatment for cutaneous wound healing in pediatrics. *Regen Med*. 2018;13(4):385–394. doi: <https://doi.org/10.2217/rme-2018-0001>
- Gatti S, Bruno S, Deregibus MC, et al. Microvesicles derived from human adult mesenchymal stem cells protect against ischaemia-reperfusion-induced acute and chronic kidney injury. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26(5):1474–1483. doi: <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr015>
- Clark K, Zhang S, Barthe S, et al. Placental mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles promote myelin regeneration in an animal model of multiple sclerosis. *Cells*. 2019;8(12):1497. doi: <https://doi.org/10.3390/cells8121497>
- Reza-Zaldivar EE, Hernandez-Sapiens MA, Gutierrez-Mercado YK, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote neurogenesis and cognitive function recovery in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neural Regen Res*. 2019;14(9):1626–34. doi: <https://doi.org/10.4103/1673-5374.255978>
- Kern S, Eichler H, Stoeve J, et al. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells*. 2006;24(5):1294–1301. doi: <https://doi.org/10.1634/stemcells.2005-0342>
- Майборodin И.В., Маслов Р.В., Михеева Т.В., и др. Распределение мультипотентных мезенхимных стромальных клеток и их детрита по организму после подкожного введения // *Журнал общей биологии*. — 2020. — Т. 81. — № 2. — С. 96–197. [Maiborodin IV, Maslov RV, Mikheeva TV, et al. The distribution of multipotent mesenchymal stromal cells and their detritus throughout the organism after subcutaneous introduction. *Journal of General Biology*. 2020;81(2):96–107. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.31857/S0044459620020050>
- Maiborodin I, Lushnikova E, Klinnikova M, et al. Some Special Aspects of Liver Repair after Resection and Administration of Multipotent Stromal Cells in Experiment. *Life (Basel)*. 2021;11(1):66. doi: <https://doi.org/10.3390/life11010066>
- Park KS, Svennerholm K, Shelke GV, et al. Mesenchymal stromal cell-derived nanovesicles ameliorate bacterial outer membrane

- vesicle-induced sepsis via IL-10. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):231. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1352-4>
19. Grange C, Tapparo M, Bruno S, et al. Biodistribution of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in a model of acute kidney injury monitored by optical imaging. *Int J Mol Med.* 2014;33(5):1055–1063. doi: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1663>
  20. Phinney DG, Prockop DJ. Concise review: mesenchymal stem/multipotent cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair—current views. *Stem Cells.* 2007;25(11):2896–2902. doi: <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0637>
  21. Ratajczak J, Miekus K, Kucia M, et al. Embryonic stem cell-derived microvesicles reprogram hematopoietic progenitors: evidence for horizontal transfer of mRNA and protein delivery. *Leukemia.* 2006;20(5):847–856. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2404132>
  22. Rani S, Ryan AE, Griffin MD, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: toward cell-free therapeutic applications. *Mol Ther.* 2015;23(5):812–823. doi: <https://doi.org/10.1038/mt.2015.44>
  23. Nielsen T, Kristensen AF, Pedersen S, et al. Investigation of procoagulant activity in extracellular vesicles isolated by differential ultracentrifugation. *J Extracell Vesicles.* 2018;7(1):1454777. doi: <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1454777>
  24. Silachev DN, Goryunov KV, Shpilyuk MA, et al. Effect of MSCs and MSC-Derived Extracellular Vesicles on Human Blood Coagulation. *Cells.* 2019;8(3):258. doi: <https://doi.org/10.3390/cells8030258>
  25. Rahman MJ, Regn D, Bashratyan R, et al. Exosomes released by islet-derived mesenchymal stem cells trigger autoimmune responses in NOD mice. *Diabetes.* 2014;63(3):1008–1020. doi: <https://doi.org/10.2337/db13-0859>
  26. Du T, Ju G, Wu S, et al. Microvesicles derived from human Wharton's jelly mesenchymal stem cells promote human renal cancer cell growth and aggressiveness through induction of hepatocyte growth factor. *PLoS One.* 2014;9(5):e96836. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096836>
  27. Shi S, Zhang Q, Xia Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes facilitate nasopharyngeal carcinoma progression. *Am J Cancer Res.* 2016;6(2):459–472.
  28. Alcayaga-Miranda F, Varas-Godoy M, Khoury M. Harnessing the Angiogenic Potential of Stem Cell-Derived Exosomes for Vascular Regeneration. *Stem Cells Int.* 2016;2016:3409169. doi: <https://doi.org/10.1155/2016/3409169>
  29. Kahroba H, Hejazi MS, Samadi N. Exosomes: from carcinogenesis and metastasis to diagnosis and treatment of gastric cancer. *Cell Mol Life Sci.* 2019;76(9):1747–1758. doi: <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03035-2>
  30. Camussi G, Deregis M-C, Bruno S, et al. Exosome/microvesicle-mediated epigenetic reprogramming of cells. *Am J Cancer Res.* 2011;1(1):98–110.
  31. Motavaf M, Pakravan K, Babashah S, et al. Therapeutic application of mesenchymal stem cell-derived exosomes: a promising cell-free therapeutic strategy in regenerative medicine. *Cell Mol Biol.* 2016;62(7):74–79. doi: <https://doi.org/10.14715/cmb/2016.62.14.13>
  32. Qiu G, Zheng G, Ge M, et al. Functional proteins of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles. *Stem Cell Res Ther.* 2019;10(1):359. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1484-6>
  33. Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol.* 2002;2(8):569–579. doi: <https://doi.org/10.1038/nri855>
  34. Chen TS, Lai RC, Lee MM, et al. Mesenchymal stem cell secretes microparticles enriched in pre-microRNAs. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(1):215–224. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkp857>
  35. Rana S, Yue S, Stadel D, et al. Toward tailored exosomes: the exosomal tetraspanin web contributes to target cell selection. *Int J Biochem Cell Biol.* 2012;44(9):1574–1584. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2012.06.018>
  36. Lötvall J, Hill AF, Hochberg F, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: a position statement from the International Society for Extracellular Vesicles. *J Extracell Vesicles.* 2014;3:26913. doi: <https://doi.org/10.3402/jev.v3.26913>
  37. Dias MVS, Martins VR, Hajj GNM. Stress-Inducible Protein 1 (STI1): Extracellular Vesicle Analysis and Quantification. *Methods Mol Biol.* 2016;1459:161–174. doi: [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3804-9\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3804-9_11)
  38. Ramos TL, Sánchez-Abarca LI, Muntión S, et al. MSC surface markers (CD44, CD73, and CD90) can identify human MSC-derived extracellular vesicles by conventional flow cytometry. *Cell Commun Sign.* 2016;14:2. doi: <https://doi.org/10.1186/s12964-015-0125-7>
  39. Ha D, Yang N, Nadithe V. Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: current perspectives and future challenges. *Acta Pharm Sin B.* 2016;6(4):287–296. doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2016.02.001>
  40. Keerthikumar S, Chisanga D, Ariyaratne D, et al. ExoCarta: a web-based compendium of exosomal cargo. *J Mol Biol.* 2016;428(4):688–692. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.09.019>
  41. Witwer KW, Soekmadji C, Hill AF, et al. Updating the MISEV minimal requirements for extracellular vesicle studies: building bridges to reproducibility. *J Extracell Vesicles.* 2017;6(1):1396823. doi: <https://doi.org/10.1080/20013078.2017.1396823>
  42. Bjørge IM, Kim SY, Mano JF, et al. Extracellular vesicles, exosomes and shedding vesicles in regenerative medicine — a new paradigm for tissue repair. *Biomater Sci.* 2017;6(1):60–78. doi: <https://doi.org/10.1039/C7BM00479F>
  43. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles.* 2018;7(1):1535750. doi: <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>
  44. Zhang Y, Liu Y, Liu H, et al. Exosomes: biogenesis, biological function and clinical potential. *Cell Biosci.* 2019;9:19. doi: <https://doi.org/10.1186/s13578-019-0282-2>
  45. Li X, Arslan F, Ren Y, et al. Metabolic adaptation to a disruption in oxygen supply during myocardial ischemia and reperfusion is underpinned by temporal and quantitative changes in the cardiac proteome. *J Proteome Res.* 2012;11(4):2331–2346. doi: <https://doi.org/10.1021/pr201025m>
  46. Arslan F, Lai RC, Smeets MB, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes increase ATP levels, decrease oxidative stress and activate PI3K/Akt pathway to enhance myocardial viability and prevent adverse remodeling after myocardial ischemia/reperfusion injury. *Stem Cell Res.* 2013;10(3):301–312. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scr.2013.01.002>
  47. Harting MT, Srivastava AK, Zhaorigetu S, et al. Inflammation-stimulated mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles attenuate inflammation. *Stem Cells.* 2018;36(1):79–90. doi: <https://doi.org/10.1002/stem.2730>
  48. Гусаченко О.Н., Зенкова М.А., Власов В.В. Нуклеиновые кислоты экзосом: маркеры заболеваний и молекулы межклеточной коммуникации // *Биохимия*. — 2013. — Т. 78. — № 1. — С. 5–13. [Gusachenko ON, Zenkova MA, Vlasov VV. Nucleic acids in exosomes: disease markers and intercellular communication molecules. *Biochemistry.* 2013;78(1):5–13. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.1134/S000629791301001X>
  49. Deng H, Sun C, Sun Y, et al. Lipid, protein, and MicroRNA composition within mesenchymal stem cell-derived exosomes. *Cell Reprogram.* 2018;20(3):178–186. doi: <https://doi.org/10.1089/cell.2017.0047>
  50. Qiu G, Zheng G, Ge M, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles affect disease outcomes via transfer of microRNAs. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):320. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-018-1069-9>
  51. Zhu L-P, Tian T, Wang J-Y, et al. Hypoxia-elicited mesenchymal stem cell-derived exosomes facilitates cardiac repair through miR-125b-me-

- diated prevention of cell death in myocardial infarction. *Theranostics*. 2018;8(22):6163–6177. doi: <https://doi.org/10.7150/thno.28021>
52. Sierra-Parraga JM, Merino A, Eijken M, et al. Reparative effect of mesenchymal stromal cells on endothelial cells after hypoxic and inflammatory injury. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):352. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01869-3>
  53. Pires AO, Mendes-Pinheiro B, Teixeira FG, et al. Unveiling the differences of secretome of human bone marrow mesenchymal stem cells, adipose tissue-derived stem cells, and human umbilical cord perivascular cells: a proteomic analysis. *Stem Cells Dev*. 2016;25(14):1073–1083. doi: <https://doi.org/10.1089/scd.2016.0048>
  54. Assunção-Silva RC, Mendes-Pinheiro B, Patrício P, et al. Exploiting the impact of the secretome of MSCs isolated from different tissue sources on neuronal differentiation and axonal growth. *Biochimie*. 2018;155:83–91. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.07.026>
  55. Hoang DH, Nguyen TD, Nguyen H-P, et al. Differential Wound Healing Capacity of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes Originated From Bone Marrow, Adipose Tissue and Umbilical Cord Under Serum- and Xeno-Free Condition. *Front Mol Biosci*. 2020;7:119. doi: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2020.00119>
  56. Wang Z-G, He Z-Y, Liang S, et al. Comprehensive proteomic analysis of exosomes derived from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11(1):511. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1471-y>
  57. Wang K, Jiang Z, Webster KA, et al. Enhanced cardioprotection by human endometrium mesenchymal stem cells driven by exosomal MicroRNA-21. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6(1):209–222. doi: <https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0386>
  58. Gradilla A-C, González E, Seijo I, et al. Exosomes as Hedgehog carriers in cytoneme-mediated transport and secretion. *Nat Commun*. 2014;5:5649. doi: <https://doi.org/10.1038/ncomms6649>
  59. McBride JD, Rodriguez-Menocal L, Guzman W, et al. Bone marrow mesenchymal stem cell-derived CD63<sup>+</sup> exosomes transport Wnt3a exteriorly and enhance dermal fibroblast proliferation, migration, and angiogenesis in vitro. *Stem Cells Dev*. 2017;26(19):1384–1398. doi: <https://doi.org/10.1089/scd.2017.0087>
  60. Ranghino A, Bruno S, Bussolati B, et al. The effects of glomerular and tubular renal progenitors and derived extracellular vesicles on recovery from acute kidney injury. *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):24. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-017-0478-5>
  61. Xin H, Wang F, Li Y, et al. Secondary release of exosomes from astrocytes contributes to the increase in neural plasticity and improvement of functional recovery after stroke in rats treated with exosomes harvested from microRNA 133b-overexpressing multipotent mesenchymal stromal cells. *Cell Transplant*. 2017;26(2):243–257. doi: <https://doi.org/10.3727/096368916X693031>
  62. Ju Z, Ma J, Wang C, et al. Exosomes from iPSCs delivering siRNA attenuate intracellular adhesion molecule-1 expression and neutrophils adhesion in pulmonary microvascular endothelial cells. *Inflammation*. 2017;40(2):486–496. doi: <https://doi.org/10.1007/s10753-016-0494-0>
  63. Yin L, Liu X, Shi Y, et al. Therapeutic advances of stem cell-derived extracellular vesicles in regenerative medicine. *Cells*. 2020;9(3):707. doi: <https://doi.org/10.3390/cells9030707>
  64. Shen B, Liu J, Zhang F, et al. CCR2 Positive Exosome Released by Mesenchymal Stem Cells Suppresses Macrophage Functions and Alleviates Ischemia/Reperfusion-Induced Renal Injury. *Stem Cells Int*. 2016;2016:1240301. doi: <https://doi.org/10.1155/2016/1240301>
  65. Song N, Zhang T, Xu X, et al. miR-21 protects against ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury by preventing epithelial cell apoptosis and inhibiting dendritic cell maturation. *Front Physiol*. 2018;9:790. doi: <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00790>
  66. Zou X, Zhang G, Cheng Z, et al. Microvesicles derived from human Wharton's Jelly mesenchymal stromal cells ameliorate renal ischemia-reperfusion injury in rats by suppressing CX3CL1. *Stem Cell Res Ther*. 2014;5(2):40. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-014-0428-2>
  67. Massa M, Croce S, Campanelli R, et al. Clinical Applications of Mesenchymal Stem/Stromal Cell Derived Extracellular Vesicles: Therapeutic Potential of an Acellular Product. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(12):999. doi: <https://doi.org/10.3390/diagnostics10120999>
  68. Quaglia M, Dellepiane S, Guglielmetti G, et al. Extracellular Vesicles as Mediators of Cellular Crosstalk Between Immune System and Kidney Graft. *Front Immunol*. 2020;11:74. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00074>
  69. Ahn SY, Park WS, Kim YE, et al. Vascular endothelial growth factor mediates the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles against neonatal hyperoxic lung injury. *Exp Mol Med*. 2018;50(4):1–12. doi: <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0055-8>
  70. Li JW, Wei L, Han Z, et al. Mesenchymal stromal cells-derived exosomes alleviate ischemia/reperfusion injury in mouse lung by transporting anti-apoptotic miR-21-5p. *Eur J Pharmacol*. 2019;852:68–76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.01.022>
  71. Huang R, Qin C, Wang J, et al. Differential effects of extracellular vesicles from aging and young mesenchymal stem cells in acute lung injury. *Aging (Albany NY)*. 2019;11(18):7996–8014. doi: <https://doi.org/10.18632/aging.102314>
  72. Monsel A, Zhu Y-G, Gennai S, et al. Therapeutic effects of human mesenchymal stem cell-derived microvesicles in severe pneumonia in mice. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;192(3):324–336. doi: <https://doi.org/10.1164/rccm.201410-1765OC>
  73. Wang H, Zheng R, Chen Q, et al. Mesenchymal stem cells microvesicles stabilize endothelial barrier function partly mediated by hepatocyte growth factor (HGF). *Stem Cell Res Ther*. 2017;8(1):211. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-016-0461-6>
  74. Morrison TJ, Jackson MV, Cunningham EK, et al. Mesenchymal stromal cells modulate macrophages in clinically relevant lung injury models by extracellular vesicle mitochondrial transfer. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;196(10):1275–1286. doi: <https://doi.org/10.1164/rccm.201701-0170OC>
  75. Chen J-Y, An R, Liu Z-J, et al. Therapeutic effects of mesenchymal stem cell-derived microvesicles on pulmonary arterial hypertension in rats. *Acta Pharmacol Sin*. 2014;35(9):1121–1128. doi: <https://doi.org/10.1038/aps.2014.61>
  76. Sengupta V, Sengupta S, Lazo A, et al. Exosomes derived from bone marrow mesenchymal stem cells as treatment for severe COVID-19. *Stem Cells Dev*. 2020;29(12):747–754. doi: <https://doi.org/10.1089/scd.2020.0080>
  77. Mardpour S, Ghanian MH, Sadeghi-Abandansari H, et al. Hydrogel-mediated sustained systemic delivery of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles improves hepatic regeneration in chronic liver failure. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2019;11(41):37421–37433. doi: <https://doi.org/10.1021/acsami.9b10126>
  78. Yu B, Gong M, Wang Y, et al. Cardiomyocyte protection by GATA-4 gene engineered mesenchymal stem cells is partially mediated by translocation of miR-221 in microvesicles. *PLoS One*. 2013;8(8):e73304. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073304>
  79. Bodart-Santos V, de Carvalho LRP, de Godoy MA, et al. Extracellular vesicles derived from human Wharton's jelly mesenchymal stem cells protect hippocampal neurons from oxidative stress and synapse damage induced by amyloid- $\beta$  oligomers. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10(1):332. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-019-1432-5>
  80. Qian X, Xu C, Fang S, et al. Exosomal microRNAs derived from umbilical mesenchymal stem cells inhibit hepatitis C virus infection. *Stem Cells Transl Med*. 2016;5(9):1190–1203. doi: <https://doi.org/10.5966/sctm.2015-0348>
  81. Xin H, Wang F, Li Y, et al. Secondary release of exosomes from astrocytes contributes to the increase in neural plasticity and improvement of functional recovery after stroke in rats treated with exosomes harvested from microRNA 133b-overexpressing multipotent mesenchymal stromal cells. *Cell Transplant*. 2017;26(2):243–257. doi: <https://doi.org/10.3727/096368916X693031>

82. Jiang Z-Z, Liu Y-M, Niu X, et al. Exosomes secreted by human urine-derived stem cells could prevent kidney complications from type I diabetes in rats. *Stem Cell Res Ther.* 2016;7:24. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-016-0287-2>
83. Liang GF, Zhu Y, Ali DJ, et al. Engineered exosomes for targeted co-delivery of miR-21 inhibitor and chemotherapeutics to reverse drug resistance in colon cancer. *J Nanobiotechnol.* 2020;18(1):10. doi: <https://doi.org/10.1186/s12951-019-0563-2>

**КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

**Майбородин Игорь Валентинович**, д.м.н., профессор, г.н.с. [**Igor V. Maiborodin**, MD, PhD, Professor, Chief Researcher]; **адрес:** 630117, Новосибирск, ул. акад. Тимакова, д. 2  
**[address:** 8, Akademika Lavrenteva str., 630090, Novosibirsk, Russia]; **e-mail:** imai@mail.ru, **SPIN-код:** 8626-5394, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8182-5084>

**Маслов Роман Владимирович**, к.м.н. [**Roman V. Maslov**, MD, PhD]; **e-mail:** pathol@inbox.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-4472-859X>

**Рягузов Максим Евгеньевич**, к.м.н. [**Maxim E. Ryaguzov**, MD, PhD]; **e-mail:** pathol@inbox.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-5279-3650>

**Майбородина Виталина Игоревна**, д.м.н. [**Vitalina I. Maiborodina**, MD, PhD]; **e-mail:** mai\_@mail.ru, **SPIN-код:** 8492-6291, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-5169-6373>

**Воевода Михаил Иванович**, д.м.н., профессор, академик РАН [**Mikhail I. Voevoda**, MD, PhD, Professor, Academician of the RAS]; **e-mail:** director@frcftm.ru, **SPIN-код:** 6133-1780, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-9425-413X>

Н.С. Сергеева<sup>1</sup>, Т.А. Кармакова<sup>1</sup>,  
М.А. Поляк<sup>1</sup>, И.И. Алентов<sup>1</sup>, А.Д. Каприн<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup>Национальный медицинский исследовательский центр радиологии,  
Обнинск, Калужская область, Российская Федерация

<sup>3</sup>Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация

# Системная воспалительная реакция как фактор прогноза при раке молочной железы.

## Часть I. Опухоль-промотирующее воспаление.

### Сывороточные маркеры воспаления

*Хроническое воспаление, вызванное воздействием внешних или внутренних факторов, увеличивает риск развития злокачественных новообразований и способствует опухолевой прогрессии, оказывая промотирующее действие на ведущие патогенетические звенья канцерогенеза. Признаки хронического воспалительного процесса на системном уровне проявляются увеличением в крови содержания медиаторов воспаления и белков острой фазы, изменением соотношения популяций циркулирующих лейкоцитов, нарушениями со стороны системы гемостаза. Настоящий обзор посвящен исследованиям сывороточных и гематологических показателей системной воспалительной реакции (СВР) при раке молочной железы (РМЖ). В первой части обзора изложены общие представления о роли факторов хронического воспаления в развитии злокачественных опухолей. Представлены сведения о наиболее хорошо изученных при РМЖ сывороточных маркерах воспаления: цитокинах — интерлейкине-6 (ИЛ-6), интерлейкине-8 (ИЛ-8), факторе некроза опухолей-альфа (ФНО-α), а также С-реактивном белке (СРБ). Рассматриваются основные свойства этих полипептидов, связывающие их с механизмами опухоли-промотирующего воспаления. Приводится анализ накопленных на сегодняшний день данных о клинической значимости сывороточного уровня цитокинов и СРБ при РМЖ. Наблюдаемые корреляции выраженности системного воспалительного ответа с клинико-морфологическими характеристиками заболевания, частотой ответа на химиотерапию, общей и безрецидивной выживаемостью свидетельствуют о целесообразности углубленных исследований системных маркеров воспаления при РМЖ с целью их практического использования как дополнительных предиктивных и прогностических показателей.*

**Ключевые слова:** рак молочной железы, опухоль-промотирующее воспаление, системные маркеры воспаления, цитокины, С-реактивный белок, прогноз

**Для цитирования:** Сергеева Н.С., Кармакова Т.А., Поляк М.А., Алентов И.И., Каприн А.Д. Системная воспалительная реакция как фактор прогноза при раке молочной железы. Часть I. Опухоль-промотирующее воспаление. Сывороточные маркеры воспаления. Вестник РАМН. 2022;77(5):345–353. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2229>

#### Введение

Рак молочной железы (РМЖ) занимает лидирующие позиции в структуре онкологических заболеваний, составляя 24,5% общего числа злокачественных новообразований женского населения в мире [1] и 21,7% — в России [2]. Современные методы хирургического, комбинированного и комплексного лечения РМЖ, при выборе которых, наряду с распространенностью опухолевого процесса, учитываются генетические и молекулярно-биологические особенности заболевания, позволяют достичь успешных результатов, благодаря чему существенно возросла продолжительность жизни больных [2]. Тем не менее РМЖ сегодня остается наиболее частой причиной онкологической смертности женщин [2].

В группах случаев РМЖ, сходных по клинико-патологическим и молекулярным характеристикам новообразования, чувствительность к лекарственной и лучевой терапии, успешность радикального лечения, длительность периода до наступления рецидива заболевания могут существенно различаться. Это свидетельствует о недостаточности спектра учитываемых в настоящее время критериев прогноза течения РМЖ и обосновывает необходимость поиска дополнительных параметров.

Накопленные к настоящему времени данные эпидемиологических, клинических и экспериментальных ис-

следований демонстрируют убедительные доказательства того, что существенную роль в патогенезе злокачественных опухолей играют факторы, связанные с состоянием хронического воспаления. Описаны фундаментальные патогенетические механизмы, благодаря которым местные и системные воспалительные реакции могут влиять на процессы возникновения, роста и метастазирования новообразований, что легло в основу понятия опухоль-промотирующего воспаления [3–5].

На системном уровне наличие в организме хронического воспалительного процесса сопровождается увеличением концентрации в крови медиаторов воспаления, белков острой фазы воспаления и факторов роста, активацией факторов свертывания крови и окислительных процессов, а также нарушением соотношения популяций лейкоцитов периферической крови. Изменения со стороны сывороточных и гематологических показателей, свидетельствующие о хроническом воспалительном процессе, рассматриваются как потенциальные биомаркеры, которые могут быть ассоциированы с риском развития злокачественной опухоли и прогрессией онкологического заболевания [6, 7].

В первой части обзора представлены сведения о наиболее изученных при РМЖ системных биомаркерах хронического воспаления, а также анализ накопленных данных клинических исследований о предикторной

и прогностической значимости показателей системной воспалительной реакции (СВР) у больных, получающих противоопухолевое лечение.

**Методология поиска первоисточников.** Поиск источников информации о результатах клинических исследований проводился с использованием электронного ресурса PubMed по ключевым словам «breast cancer patients», «prognosis», «chemotherapy response», «biomarkers of inflammation», с уточнением группы маркеров — «cytokines», «interleukin», «tumor necrosis factor alpha», «C-reactive protein». Историческая глубина поиска не ограничивалась. Всего рассмотрено 57 источников, для обзора отобрано 46 релевантных публикаций.

### Опухоль-промотирующее воспаление

Хронические воспалительные заболевания различной этиологии, вызванные инфекционными агентами, действием раздражающих факторов и токсинов, аутоиммунными процессами, последствиями метаболических нарушений и клеточного старения, являются доказанными факторами риска развития злокачественных новообразований в различных органах [5]. Согласно сложившейся концепции, хроническое воспаление создает условия, способствующие появлению мутаций и эпигенетических нарушений, пролиферации и миграции клеток, формированию зон гипоксии, ремоделированию тканей, подавлению реакций специфического противоопухолевого иммунитета [5].

Роль хронического воспаления в возникновении неопластических изменений в эпителии молочной железы — на сегодняшний день предмет дискуссий. Так, в литературе обсуждается целый ряд прямых и косвенных указаний на возможный вклад в развитие РМЖ провоспалительных эффектов, обусловленных воздействием эстрогенов, активностью фибробластов или дисбиозом [8, 9]. Счи-

тается, что источником местных и системных провоспалительных стимулов может служить хроническое вялотекущее метавоспаление в гипертрофированной жировой ткани, с чем связывают повышенный риск развития РМЖ и неблагоприятный прогноз этого заболевания у женщин с ожирением [10].

В ткани инвазивной опухоли основой развития опухоль-промотирующего хронического воспаления могут являться нарастающая гипоксия, гибель клеток опухоли и стромы, деградация межклеточного матрикса, что приводит к образованию молекулярных продуктов, ассоциированных с повреждением (damage-associated molecular patterns, DAMPs), стимулирующих резидентные макрофаги и тучные клетки [11]. Помимо этого, мутации в генах *TP53* и *K-Ras* способны активировать в опухолевых клетках сигнальные пути, опосредованные факторами транскрипции NF-κB и STAT3, что индуцирует секрецию провоспалительных цитокинов непосредственно злокачественными клетками [12]. DAMPs, цитокины, хемокины и факторы гипоксии привлекают в очаг поражения макрофаги и другие клетки врожденного иммунитета, которые поддерживают патологический процесс путем выделения медиаторов воспаления по механизму положительной обратной связи [13].

Пара- и аутокринные эффекты цитокинов влияют на физиологию опухолевых клеток: повышается активность пролиферации, подавляется апоптоз, активируются процессы, вызывающие эпителио-мезенхимальный переход (ЭМП), и усиливается способность к миграции [14]. В ткани опухоли провоспалительные факторы поддерживают неопластический процесс, способствуют перестройке структуры стромального матрикса [15], а также формированию иммуносупрессивного микроокружения [5]. Кроме того, действие провоспалительных цитокинов повышает устойчивость опухолевых клеток к цитостатикам и таргетной терапии [14, 16].

N.S. Sergeeva<sup>1</sup>, T.A. Karmakova<sup>1</sup>, M.A. Polyak<sup>1</sup>, I.I. Alentov<sup>1</sup>, A.D. Kaprin<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>National Medical Radiology Research Center, Obninsk, Kaluga Region, Russian Federation

<sup>3</sup>Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russian Federation

## Systemic Inflammatory Response as a Prognostic Factor in Breast Cancer. Part I. Tumor-Promoting Inflammation. Serum Inflammatory Markers

*Chronic inflammation caused by exposure to external or internal factors increases the risk of developing malignancies and promotes tumor progression due to the influence on the key elements of carcinogenic mechanisms. At the system level signs of a chronic inflammation are manifested by an increase of inflammatory mediators and acute phase proteins levels in the blood, a change in the ratio of circulating leukocyte populations, and disturbances in the hemostasis system. This review is devoted to serum and hematological parameters of the systemic inflammatory response (SIR) in breast cancer (BC). The first part of the review outlines general concept about the role of inflammatory factors in the development of malignant tumors. It provides information on the most well studied serum inflammatory markers in breast cancer: cytokines, including interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), as well as C-reactive protein (CRP). The main properties of these polypeptides, which link them with tumor-promoting inflammation, are considered. An analysis of the data on the clinical significance of the serum level of cytokines and CRP in breast cancer accumulated to date is presented. Correlations of the elevated levels of the serum inflammatory markers with clinical and morphological characteristics of the disease, tumor response to chemotherapy, overall and relapse-free survival of patients indicate the feasibility of in-depth investigation of the issue for the purpose of the practical application of the systemic inflammatory markers as predictive and prognostic indicators in BC.*

**Keywords:** breast cancer, inflammation, systemic inflammatory response, biomarkers, pro-inflammatory cytokines, C-reactive protein, prognosis

**For citation:** Sergeeva NS, Karmakova TA, Polyak MA, Alentov II, Kaprin AD. Systemic Inflammatory Response as a Prognostic Factor in Breast Cancer. Part I. Tumor-Promoting Inflammation. Serum Inflammatory Markers. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2022;77(5):345–353. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2229>

Цитокины и другие медиаторы воспаления из очага поражения проникают в кровоток. На системном уровне это стимулирует выход из костного мозга незрелых клеток-предшественников, в том числе обладающих иммуносупрессорной активностью, а также подготавливает потенциальные зоны заселения метастазирующими клетками — провоспалительная среда считается фактором формирования преметастатических ниш [17].

В экспериментальных исследованиях описан парадоксальный эффект химиотерапии или лучевого лечения, когда воздействия, направленные на уничтожение опухоли, провоцируют метастазирование [18, 19]. Предполагается, что этот феномен может быть обусловлен развитием опухоль-промотирующего воспаления в ответ на некротическую гибель клеток, а также прямой стимуляцией в опухолевых клетках провоспалительных сигналов под действием повреждающих факторов [18].

Таким образом, при определенных условиях факторы воспаления как на местном, так и системном уровнях могут способствовать росту опухоли, распространению опухолевых клеток и образованию вторичных опухолевых очагов.

Реакции воспаления, индуцированные агрессивным поведением злокачественных клеток, находят отражение в морфологических особенностях опухолевой ткани, функциональной перестройке микроокружения опухоли, экспрессии в клетках генов и их продуктов, связанных с воспалительным ответом, изменением субпопуляционного состава клеточного инфильтрата [5]. Системные эффекты опухоль-промотирующего воспаления проявляются увеличением в циркулирующей крови цитокинов, хемокинов, эйкозаноидов, факторов роста и белков острой фазы воспаления, а также изменением состава клеток периферической крови. В настоящей части обзора рассматриваются биологические свойства, патогенетическая роль и клиническая значимость сывороточных маркеров воспаления при РМЖ.

### Сывороточные маркеры системной воспалительной реакции

#### Провоспалительные цитокины

Цитокины — биологически активные секреторные белки и полипептиды, которые выступают основными медиаторами межклеточных взаимодействий в норме и при патологических состояниях, отвечая за динамическую регуляцию деления, дифференцировки и реактивности клеток различного типа [20]. По биологическим эффектам принято выделять цитокины, которые индуцируют воспалительный ответ (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-17 и др.) или ингибируют реакции воспаления (ИЛ-4, ИЛ-10, TGF $\beta$  и др.). В большинстве своем цитокины обладают плейотропным действием, и их биологические эффекты в отношении разных клеток-мишеней могут отличаться [20].

В ткани злокачественной опухоли цитокины продуцируются как опухолевыми клетками, так и клетками опухолевого микроокружения — иммунными клетками, инфильтрирующими опухоль, фибробластами, эндотелием и перицитами кровеносных сосудов, а также мультипотентными стромальными клетками [15]. В системном кровотоке, помимо лейкоцитов, источником множества цитокинов являются тромбоциты [21].

Вследствие плейотропности и сетевого характера действия провоспалительных цитокинов их экспрессия ин-

дуцирует продукцию целого ансамбля других медиаторов воспаления и факторов роста в опухолевых клетках и их микроокружении [15]. Благодаря пара- и аутокринному действию и будучи связанными динамическими взаимодействиями цитокины могут вносить дополнительный вклад в опухолевую прогрессию, способствуя формированию индифферентного к клеткам новообразования иммунного окружения и поддерживая пролиферативный, ангиогенный, инвазивный и метастатический потенциалы опухоли [15, 22].

У больных РМЖ наблюдается повышение сывороточных уровней различных медиаторов воспаления и факторов роста [23–25], описаны специфические изменения в целых кластерах цитокинов [26]. Среди индивидуальных маркеров СВР наибольшее внимание на протяжении последних 10 лет привлечено к трем провоспалительным цитокинам — ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$ .

**Интерлейкин-6.** ИЛ-6 — главный плейотропный провоспалительный цитокин, который продуцируется макрофагами, моноцитами, стромальными, гематопоэтическими, мышечными и эпителиальными клетками, а также адипоцитами [21, 27]. В норме ИЛ-6 является одним из ключевых цитокинов, определяющих развитие воспаления и иммунологических реакций, и вовлечен в регуляцию процессов гемопоэза, ангиогенеза, репродукции, формирование нервной системы и ремоделирование костной ткани [27].

Клеточные линии РМЖ продуцируют ИЛ-6 *in vitro*, причем клетки, не несущие рецепторов эстрогена (РЭ $^-$ ) и прогестерона (РП $^-$ ), производят этот цитокин в больших количествах, чем РЭ $^+$ РП $^+$ -клетки [28]. В ткани РМЖ, помимо опухолевых клеток, ИЛ-6 секретируется клетками стромы — опухоль-ассоциированными макрофагами и фибробластами, Т-лимфоцитами, незрелыми миелоидными супрессорными клетками и адипоцитами [29].

Ауто- и паракринные эффекты ИЛ-6 осуществляются при взаимодействии с мембранными рецепторами (mIL-6R — классический путь) либо трансигналингом — при связывании с растворимыми рецепторами (sIL-6R) [29]. В ткани РМЖ рецепторы к ИЛ-6 есть как на опухолевых, так и на иммунных клетках микроокружения. Образующийся комплекс ИЛ-6 с рецептором димеризуется, взаимодействует с мембранным белком gp130, что активизирует сигнальный путь JAK/STAT3 и транскрипционный фактор NF- $\kappa$ B — центральный регулятор экспрессии генов иммунного ответа и клеточного цикла [27]. Эти события стимулируют секрецию клеткой других цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ , TGF $\beta$ , онкостатина М и др.), в результате чего формируется аутокринная провоспалительная петля. Активация JAK/STAT3 запускает продукцию многочисленных факторов, подавляющих апоптоз, стимулирующих пролиферацию, ангиогенез и способность опухолевых клеток к инвазии и метастазированию [29].

Сверхэкспрессия ИЛ-6 в опухолевых клетках ассоциирована с формированием фенотипа множественной лекарственной устойчивости [30]. Показано, что химиопротекторный эффект ИЛ-6 реализуется путем увеличения экспрессии в клетках мембранного транспортера — Р-гликопротеина (MDR1) [16], а также через аутокринную индукцию фенотипа стволовых опухолевых клеток [31]. Ингибиторы активности или синтеза ИЛ-6, такие как нейтрализующие антитела и малые интерферирующие РНК, частично или полностью восстанавливают чувствительность клеток РМЖ к паклитакселу и доксорубину *in vitro* [32].



ИЛ-6, секретируемый опухолевыми и стромальными клетками, индуцирует развитие иммуносупрессии за счет торможения процессов созревания Т-хелперов 1 типа и дендритных клеток, поляризации макрофагов в сторону противовоспалительного фенотипа M2, активации секреторной активности миелоидных супрессорных клеток [33]. Все это приводит к снижению активности реакций врожденного иммунитета и способствует уклонению опухолевых клеток от иммунного надзора.

Таким образом, опосредованные ИЛ-6 сигналы играют существенную роль в прогрессии злокачественных новообразований, поддерживая формирование всех составляющих агрессивного опухолевого фенотипа.

**Интерлейкин-8.** ИЛ-8 принадлежит к семейству хемокинов (соответствующее альтернативное обозначение — CXCL8), секретируется макрофагами, эпителиальными и эндотелиальными клетками, гладкомышечными клетками дыхательных путей [34]. ИЛ-8 является хемотаксическим фактором, а также мощным индуктором ангиогенеза [34]. Хемотаксическая активность ИЛ-8 привлекает в область воспаления нейтрофилы, стимулирует их подвижность и фагоцитарную активность.

В ткани РМЖ, помимо клеток микроокружения, ИЛ-8 секретируется опухолевыми клетками, являясь аутокринным стимулом пролиферации и инвазии, а также оказывает паракринный иммуносупрессивный эффект [35].

Секреция ИЛ-8 клетками потенцируется множеством факторов, включая активные формы кислорода, гипоксию, провоспалительные цитокины и хемокины (ФНО- $\alpha$ , CXCL6, CXCL12), и опосредована активностью NF- $\kappa$ B [35]. Плейотропное действие ИЛ-8 обусловлено его взаимодействием с рецепторами на поверхности опухолевых клеток и клеток микроокружения [35]. Рецепторы ИЛ-8 — CXCR-1 и CXCR-2 — экспрессируются на клетках РМЖ всех молекулярных подтипов [36], в том числе и на стволовых опухолевых клетках (CD44<sup>+</sup>/CD24<sup>-</sup>) [37]. Активация рецепторов ИЛ-8 индуцирует внутриклеточные сигналы, ведущие к продукции факторов ангиогенеза, активации пролиферации и подвижности, а также повышенной жизнестойкости опухолевых клеток. Специфический блок рецепторов CXCR1 *in vitro* и на модели ксенографта РМЖ у мышей вызывает апоптоз стволовых опухолевых клеток [38].

Стойкая экспрессия ИЛ-8 в клеточных линиях РМЖ ассоциирована с их фенотипической резистентностью к цитостатикам [32], а ингибиторы ИЛ-8 или нокаут кодирующего его гена приводят к восстановлению химиочувствительности клеток РМЖ [32, 39].

**Фактор некроза опухоли альфа.** ФНО- $\alpha$  — многофункциональный цитокин, который продуцируется активированными макрофагами, лимфоцитами, тучными клетками, клетками эндотелия и фибробластами [40]. Он играет важную роль в процессах пролиферации, дифференцировки и программируемой гибели клеток и является одним из ключевых регуляторов воспалительных и иммунных реакций [40]. ФНО- $\alpha$  существует в мембраносвязанной и свободной формах, способных взаимодействовать с рецепторными молекулами на поверхности клеток. Рецепторы ФНО- $\alpha$  — TNFR1 и TNFR2 — экспрессируются как на клетках крови, так и на опухолевых клетках, включая РМЖ [40].

В ткани РМЖ ФНО- $\alpha$  секретируется опухоль-ассоциированными макрофагами и фибробластами, лимфоцитами, а также собственно клетками опухоли. Биологическая активность ФНО- $\alpha$  неоднозначна и зависит от формирования нисходящих внутриклеточных сигналь-

ных каскадов [41]. Взаимодействие ФНО- $\alpha$  с рецепторами может, с одной стороны, индуцировать процесс апоптоза, оказывая цитотоксическое действие, а с другой — активировать в клетках сигнальную систему NF- $\kappa$ B, тем самым провоцируя образование провоспалительных медиаторов, что поддерживает состояние хронического воспаления и иммуносупрессию в опухолевой ткани [41]. С активацией оси ФНО- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B связывают индукцию процессов ЭМП, инвазии и метастазирования [42], а также резистентность клеток РМЖ к лекарственным воздействиям [43]. Клетки РМЖ устойчивы к ФНО- $\alpha$ -индуцированному апоптозу, а опосредованные активацией рецепторов ФНО- $\alpha$  альтернативные сигнальные пути приводят к увеличению экспрессии генов, отвечающих за пролиферацию и выживание клеток-мишеней [40]. Кроме того, показано, что эффекты ФНО- $\alpha$  способствуют увеличению пула стволовых опухолевых клеток [44].

**Клиническая значимость провоспалительных цитокинов при РМЖ.** В крови больных РМЖ повышенный, по сравнению со значениями в норме, уровень ИЛ-6 определяется в 22–48% случаев [45–48]. По данным большинства публикаций, это коррелирует с увеличением распространенности опухолевого процесса: средние значения сывороточного уровня ИЛ-6 у больных с III–IV стадией РМЖ достоверно превышают таковые у больных с I–II стадией заболевания [49–54].

В ряде исследований обнаруживается достоверная взаимосвязь повышенного уровня ИЛ-6 с размером первичной опухоли [55], поражением регионарных лимфатических узлов [49, 55–57], лимфоваскулярной инвазией [56]. У больных с IV стадией РМЖ отмечается корреляция между увеличением уровня ИЛ-6 и метастатическим поражением печени, плевры, костей и мягких тканей [45, 58]. Однако, согласно результатам метаанализа S. Lin et al., опубликованного в 2015 г. и охватывающего 13 работ (3224 больных), экспрессия ИЛ-6 в тканях и его содержание в сыворотке крови не ассоциированы с параметрами T и N (по TNM-классификации), а также с гистологическим типом РМЖ [59]. Неясным остается и вопрос о том, существует ли корреляция между содержанием ИЛ-6 в крови и молекулярным подтипом опухоли: данные одних исследований свидетельствуют о наличии взаимосвязи между уровнем ИЛ-6 и экспрессией рецепторов эстрогенов и HER2 [56, 57], однако другие работы этого не подтверждают [47, 49].

По результатам метаанализа S. Lin et al. повышенный сывороточный уровень ИЛ-6 у больных РМЖ до начала лечения не коррелирует с безрецидивной выживаемостью (БРВ), но достоверно ассоциирован с низкой общей выживаемостью (ОВ), при этом величина отношения рисков (hazard ratio, HR) неблагоприятного исхода составляет 2,15 ( $p < 0,001$ ). Эта корреляция, по заключению авторов, лучше проявлялась в исследованиях с относительно коротким временем мониторинга (HR — 2,88;  $p < 0,001$ ), а наибольшая ее выраженность наблюдалась при IV стадии РМЖ (HR — 3,14;  $p < 0,001$ ) [59]. Результаты более поздних исследований в целом согласуются с этими выводами. По данным J.A. Spagano et al. из 36 сывороточных биологических маркеров, исследованных у больных HER-2-негативным РМЖ I–III стадии до начала лечения, только четыре (ИЛ-6, ИЛ-17A, MDC и VEGF-A) достоверно коррелировали с последующим развитием отдаленных метастазов, и только для ИЛ-6 была получена статистически достоверная взаимосвязь с прогнозом при поправке на множественное тестирование [60]. T. Shimura et al. характеризуют уровень ИЛ-6 как значимый и независимый

фактор прогноза ОВ больных местнораспространенным РМЖ (HR — 13,23;  $p = 0,03$ ), но не обнаруживают достоверной связи показателя с БРВ [47]. В то же время A.S. Noman et al. получили, что высокий сывороточный уровень ИЛ-6 ассоциирован с коротким периодом ремиссии у больных метастатическим РМЖ (HR — 5,36;  $p = 0,0003$ ) [51].

Сведения о влиянии химиотерапии на сывороточный уровень ИЛ-6 у больных РМЖ неоднозначны. Так, одни авторы сообщают об увеличении содержания ИЛ-6 в крови пациенток на фоне четырех курсов неoadъювантной химиотерапии [54], другие, напротив, наблюдают снижение концентрации ИЛ-6 в крови после завершения лекарственного лечения, в частности, у больных метастатическим РМЖ [51]. Авторы, оценивавшие непосредственные результаты химиотерапии у больных РМЖ, отмечают, что низкий исходный сывороточный уровень ИЛ-6, а также его снижение на фоне лечения коррелируют с достижением полного или частичного ответа опухоли на лечебное воздействие [53, 55, 61, 62].

Данные о корреляции между содержанием в крови ИЛ-8 с клинико-морфологическими параметрами при РМЖ разноречивы. Так, одни авторы обнаруживают достоверное возрастание среднего уровня ИЛ-8 с увеличением стадии заболевания, большим размером первичной опухоли, метастазами в регионарных лимфатических узлах [53, 57, 63]; при метастатическом РМЖ отмечают связь между количеством и локализацией отдаленных метастазов с уровнем в крови ИЛ-8 [63, 64], в то время как другие не находят подобных корреляций [49, 65]. В большинстве исследований не отмечено связи между сывороточным уровнем ИЛ-8 и молекулярным подтипом РМЖ [49, 63–65].

Оценка прогностической значимости ИЛ-8 при РМЖ более однозначна: низкий сывороточный уровень ИЛ-8 до начала лечения как при местнораспространенном, так и при метастатическом раке ассоциирован с лучшей ОВ больных [49, 63, 64]. Снижение уровня ИЛ-8 после окончания курса химио- или радиотерапии у пациенток, получающих консервативное лечение, коррелирует с полным или частичным ответом опухоли на терапевтическое воздействие [53]. Сохранение повышенного уровня ИЛ-8 в крови или его нарастание на фоне химиотерапии у больных метастатическим РМЖ является независимым фактором высокого риска развития рецидива заболевания (HR для БРВ и ОВ соответственно — 6,52 и 8,38;  $p < 0,01$ ) [64].

Повышенный сывороточный уровень ФНО- $\alpha$  у больных РМЖ описан в целом ряде работ [56, 66–68]. Отдельные авторы сообщают о корреляции уровня ФНО- $\alpha$  с распространенностью опухолевого процесса [56, 57], низкой степенью дифференцировки опухоли, наличием лимфоваскулярной инвазии и количеством пораженных лимфатических узлов [50]. Однако в других исследованиях достоверных отличий содержания ФНО- $\alpha$  в крови у больных РМЖ и у здоровых лиц не установлено, связь показателя с клинико-морфологическими особенностями заболевания также отсутствует [23, 45, 46, 69].

Сведения о прогностической значимости при РМЖ сывороточного уровня ФНО- $\alpha$  ограничены. Так, J.W. Kim et al. показали, что низкое содержание ФНО- $\alpha$  ассоциировано с более продолжительной ремиссией у больных с IV стадией заболевания, получающих лечение таксанами в сочетании с золедроновой кислотой [70]. Низкий уровень ФНО- $\alpha$ , по данным U. Verberoglu et al., является предиктором полного ответа РМЖ на неoadъювантную

химиотерапию [66]. Сочетанное повышение до операции сывороточного уровня четырех биологических маркеров — ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, HER-2 и TGF- $\beta$  — по данным другой группы авторов, является фактором высокого риска рецидива и прогрессирования РМЖ (HR — 22,96;  $p < 0,001$ ) [50].

### ***C-реактивный белок и его клиническая значимость при РМЖ***

C-реактивный белок (СРБ) — многофункциональный полипептид, уровень которого в крови возрастает при инфекциях, травмах, остром и хроническом воспалении, аутоиммунных процессах [71]. Синтезируется СРБ преимущественно клетками печени в ответ на повышение уровня провоспалительных цитокинов в крови (ИЛ-6, ИЛ1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ ), однако его источниками могут служить жировая и легочная ткани, каналцы кортикального слоя почек [72].

Основной пул сывороточного СРБ представляет его пентамерная форма (pCRP). Также описаны мономерные (mCRP), фибриллярные и другие формы СРБ, которые отличаются от нативного СРБ биологическими свойствами [73]. Изоформы СРБ способны взаимодействовать с компонентами бактериальных клеток, фосфатидилинолином клеточных мембран, белком компонента С1q, липопротеинами, интегрином  $\alpha_v\beta_3$ . Основные мишени pCRP и mCRP — рецепторы иммуноглобулинов (CD32, CD64 и CD89), представленные на макрофагах, тромбоцитах, моноцитах, гранулоцитах и эндотелиальных клетках и связанные с сигналами активации пролиферации, дифференцировки, дегрануляции клеток, фагоцитозом и секрецией цитокинов [72]. По данным экспериментальных исследований, эффекты pCRP носят противовоспалительный характер и ассоциированы с хроническим воспалением, в то время как mCRP обладает провоспалительными свойствами и способен оказывать противоопухолевое действие, в первую очередь за счет активации макрофагов [74].

У онкологических больных часто наблюдается повышение концентрации СРБ в крови [75], что может быть обусловлено в том числе хроническим воспалением, развивающимся в опухоли, некрозом ткани, присоединением инфекции, иммуносупрессией и последствиями химиотерапии. Неспецифический характер СРБ как маркера воспаления, существование разных изоформ СРБ с разной биологической активностью, а также неоднозначная роль этих изоформ при начальных и распространенных стадиях заболевания создают объективную сложность клинической интерпретации уровня СРБ у онкологических больных [75].

Систематические исследования, направленные на изучение клинической значимости СРБ при РМЖ, ведутся на протяжении последних 30 лет. В клинических исследованиях помимо определения абсолютного уровня СРБ широко используют кумулятивный показатель, сочетающий оценку содержания в сыворотке крови СРБ и концентрации альбумина (Glasgow prognostic score, GPS, или модифицированный GPS, mGPS) [76].

Установлена ассоциация повышенного содержания СРБ в крови с риском развития РМЖ у женщин, более выраженная в азиатской популяции, чем в европейской или американской (величина отношения шансов (odds ratio, OR) составила 1,57; 1,12 и 1,08 соответственно) [77]. Однако, в отличие от опухолей ряда других локализаций, экстремально высокие уровни СРБ (> 50 мкг/мл) при РМЖ встречаются редко [75]. Реже, чем при других

злокачественных опухолях, обнаруживают и высокие значения GPS (21% случаев против 46% при раке предстательной железы и 68% при раке легкого) [78].

Ряд исследователей обращает внимание на выраженную корреляцию между увеличением в крови больных РМЖ уровней СРБ и ИЛ-6 [45, 79, 80], что отражает патофизиологическую взаимосвязь между этими маркерами воспаления. Результаты первых метаанализов показали достоверную корреляцию повышенного сывороточного уровня СРБ у больных РМЖ до начала лечения с низкими показателями ОВ, БРВ и опухоль-специфической выживаемости (HR — 1,62; 1,81 и 2,08 соответственно) [81].

В исследованиях последних лет повышенный уровень СРБ расценивается как фактор высокого риска рецидива заболевания у больных с I–III стадиями РМЖ (HR — 3,97;  $p = 0,004$  [82]; HR — 18,6;  $p = 0,007$  [47]) и значимый фактор неблагоприятного прогноза у больных метастатическим РМЖ [83]. Другие авторы обнаруживают корреляцию СРБ только с показателем ОВ [52]. Описана взаимосвязь исходного уровня СРБ у больных РМЖ с ответом опухоли на химиотерапию [84, 85], а также с частотой и тяжестью токсических эффектов лекарственного лечения [80, 86].

Недавний систематический анализ, представленный М.К. Mikkelsen et al. и включающий публикации с 1990 по 2021 г. (35 исследований, 20 936 больных), привел авторов к заключению, что достоверная корреляция сывороточного уровня СРБ с ОВ пациенток имеет место при метастатическом РМЖ (HR — 1,87), но не подтверждается при местнораспространенном раке, а как предиктивный показатель эффективности химиотерапии СРБ требует дополнительного изучения [87].

### Дизайн исследований как проблема сравнительного анализа данных о сывороточных маркерах воспаления при РМЖ

Данные большинства опубликованных исследований свидетельствуют, что клиническая значимость уровня провоспалительных цитокинов и СРБ при РМЖ зависит от стадии заболевания. Есть указания на то, что у больных РМЖ, получающих противоопухолевую лекарственную терапию, динамика уровня сывороточных цитокинов зависит от используемых препаратов и режима лечения [46, 88]. Однако систематических работ, выполненных в однородных по клиническим характеристикам и виду лечения когортах больных РМЖ, на сегодняшний день недостаточно. В большинстве исследований не учитывается гормональный и нутритивный статус пациенток. Кроме того, в разных исследованиях используют разные системы оценки результатов определения маркеров воспаления. Все это затрудняет сравнительный анализ имеющихся данных, определение целевой группы пациенток, для которых анализ этих показателей был бы наиболее информативен как прогностический или предиктивный фактор, а также осложняет выработку рекомендаций для индивидуальной оценки активности СВР.

Существенной проблемой, ограничивающей возможности использования сывороточных маркеров воспаления как вспомогательных критериев прогноза заболевания при злокачественных опухолях в целом и у больных РМЖ в частности, является их неспецифичность в отношении онкологической патологии. В подавляющем большинстве публикаций наличие хронических воспалительных заболеваний инфекционной, аллергической или другой природы не является критерием исключения больных из ис-

следования и не принимается во внимание при анализе данных. С одной стороны, проявления сопутствующей воспалительной патологии, очевидно, способны исказить корректность интерпретации результатов, а с другой — исходя из существующих представлений, системные факторы хронического воспаления могут влиять на развитие местного патологического процесса у онкологических больных. Кроме того, до настоящего времени остается неясным, является ли повышение уровней провоспалительных цитокинов при РМЖ результатом наличия значительной опухолевой массы и метастазов или именно увеличение содержания медиаторов воспаления в системном кровотоке и тканях способствует прогрессии опухоли до поздней клинической стадии.

Применение высокопроизводительных технологий в исследованиях СВР дает возможность проводить одномоментную оценку множества цитокинов и факторов роста, формировать кластеры параметров, которые характеризуют определенные иммунные процессы и регуляторные взаимосвязи [89, 90], объективно выделять статистически значимые корреляции [60], выявлять новые значимые маркеры воспаления [91]. Все это должно способствовать более глубокому и адекватному пониманию сложных патофизиологических механизмов СВР у онкологических больных и дать предпосылки созданию информативных комплексных алгоритмов для надежной оценки прогноза заболевания.

Результаты сравнительных исследований, в том числе с использованием расширенной панели маркеров воспаления, показывают, что корреляция между уровнями ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$  и другими цитокинами в крови у больных выражена слабо [47, 57, 91]. Это заставляет предполагать, что увеличение содержания циркулирующих провоспалительных цитокинов при РМЖ обусловлено различными источниками и подвержено разным механизмам регуляции.

Множество цитокинов продуцируется клетками крови и воспалительного инфильтрата тканей. Клиническую значимость определения соотношения популяций клеток периферической крови, отражающих наличие СВР у больных РМЖ, планируется рассмотреть во второй части обзора.

### Заключение

Большинство накопленных клинических данных свидетельствует о том, что изменения системных показателей, указывающие на наличие хронического воспалительного процесса, — содержания в крови ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ , СРБ — у больных РМЖ ассоциированы с большей распространенностью злокачественного процесса, морфологическими признаками агрессивности опухолевого роста, низкой частотой ответа опухоли на химиотерапию, низкой общей и безрецидивной выживаемостью пациенток. Эти результаты подтверждают существенную роль факторов хронического воспаления в прогрессии РМЖ и свидетельствуют о необходимости проведения систематических исследований в данном направлении.

В перспективе определение у больных уровня сывороточных маркеров СВР может стать дополнительным фактором, способным улучшить надежность клинической оценки прогноза заболевания, служить обоснованием для выбора оптимальной лечебной тактики, включая использование в лечении РМЖ таргетных противовоспалительных средств.

## Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Поисково-аналитическая работа осуществлена за счет финансирования по месту работы авторов.

**Конфликт интересов.** Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

**Участие авторов.** Н.С. Сергеева — формирование концепции поисково-аналитической работы, критический анализ источников литературы, написание разделов обзора;

Т.А. Кармакова — анализ и систематизация данных литературы, написание разделов обзора; М.А. Поляк — поиск источников литературы, написание разделов обзора, подготовка рукописи к публикации; И.И. Алентов — поиск источников литературы, написание разделов обзора, подготовка рукописи к публикации; А.Д. Каприн — критический анализ рукописи с внесением ценного интеллектуального содержания и одобрение окончательной версии. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили итоговую версию до публикации.

## ЛИТЕРАТУРА

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209–249. doi: <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность) / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. — М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 2021. — 252 с. [Malignant neoplasms in Russia in 2019 (incidence and mortality). Kaprin AD, Starinsky VV, Shakhzadova AO (eds). Moscow: P.A. Herzen Moscow State Medical Research Institute; 2021. 252 p. (In Russ.)]
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646–674. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Greten FR, Grivnenkov SI. Inflammation and cancer: Triggers, mechanisms, and consequences. *Immunity.* 2019;51(1):27–41. doi: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.06.025>
- Hibino S, Kawazoe T, Kasahara H, et al. Inflammation-induced tumorigenesis and metastasis. *Int J Mol Sci.* 2021;22(11):5421. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22115421>
- Brenner DR, Scherer D, Muir K, et al. A review of the application of inflammatory biomarkers in epidemiologic cancer research. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014;23(9):1729–1751. doi: <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-14-0064>
- Guner A, Kim H-I. Biomarkers for evaluating the inflammation status in patients with cancer. *J Gastric Cancer.* 2019;19(3):254–277. doi: <https://doi.org/10.5230/jgc.2019.19.e29>
- Maharjan CK, Mo J, Wang L, et al. Natural and synthetic estrogens in chronic inflammation and breast cancer. *Cancers (Basel).* 2021;14(1):206. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers14010206>
- Danforth DN. The role of chronic inflammation in the development of breast cancer. *Cancers (Basel).* 2021;13(15):3918. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers13153918>
- Quail DF, Dannenberg AJ. The obese adipose tissue microenvironment in cancer development and progression. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15(3):139–154. doi: <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0126-x>
- Hernandez C, Huebener P, Schwabe RF. Damage-associated molecular patterns in cancer: a double-edged sword. *Oncogene.* 2016;35(46):5931–5941. doi: <https://doi.org/10.1038/onc.2016.104>
- Pereira F, Ferreira A, Reis CA, et al. KRAS as a modulator of the inflammatory tumor microenvironment: Therapeutic implications. *Cells.* 2022;11(3):398. doi: <https://doi.org/10.3390/cells11030398>
- Hinshaw DC, Shevde LA. The tumor microenvironment innately modulates cancer progression. *Cancer Res.* 2019;79(18):4557–4566. doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-3962>
- Baram T, Rubinstein-Achiasaf L, Ben-Yaakov H, et al. Inflammation-driven breast tumor cell plasticity: Stemness/EMT, therapy resistance and dormancy. *Front Oncol.* 2021;10:614468. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.614468>
- Morris RM, Mortimer TO, O'Neill KL. Cytokines: Can cancer get the message? *Cancers (Basel).* 2022;14(9):2178. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers14092178>
- Jones VS, Huang RY, Chen LP, et al. Cytokines in cancer drug resistance: Cues to new therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta.* 2016;1865(2):255–265. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2016.03.005>
- Liu Y, Cao X. Characteristics and significance of the pre-metastatic niche. *Cancer Cell.* 2016;30(5):668–681. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2016.09.011>
- Middleton JD, Stover DG, Hai T. Chemotherapy-exacerbated breast cancer metastasis: A paradox explainable by dysregulated adaptive-response. *Int J Mol Sci.* 2018;19(11):3333. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms19113333>
- D'Alterio C, Scala S, Sozzi G, et al. Paradoxical effects of chemotherapy on tumor relapse and metastasis promotion. *Semin Cancer Biol.* 2020;60:351–361. doi: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.08.019>
- Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. — М.: Фолиант, 2018. — 52 с. [Simbirsev AS. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases. Moscow: Foliant; 2018. 52 p. (In Russ.)]
- Chen Y, Zhong H, Zhao Y, et al. Role of platelet biomarkers in inflammatory response. *Biomark Res.* 2020;8:28. doi: <https://doi.org/10.1186/s40364-020-00207-2>
- Esquivel-Velázquez M, Ostoa-Saloma P, Palacios-Arreola MI, et al. The role of cytokines in breast cancer development and progression. *J Interferon Cytokine Res.* 2015;35(1):1–16. doi: <https://doi.org/10.1089/jir.2014.0026>
- Kaur RP, Vasudeva K, Singla H, et al. Analysis of pro- and anti-inflammatory cytokine gene variants and serum cytokine levels as prognostic markers in breast cancer. *J Cell Physiol.* 2018;233(12):9716–9723. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.26901>
- Lv Z, Liu M, Shen J, et al. Association of serum interleukin-10, interleukin-17A and transforming growth factor- $\alpha$  levels with human benign and malignant breast diseases. *Exp Ther Med.* 2018;15(6):5475–5480. doi: <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6109>
- Paccagnella M, Abbona A, Michelotti A, et al. Circulating cytokines in metastatic breast cancer patients select different prognostic groups and patients who might benefit from treatment beyond progression. *Vaccines (Basel).* 2022;10(1):78. doi: <https://doi.org/10.3390/vaccines10010078>
- Kawaguchi K, Sakurai M, Yamamoto Y, et al. Alteration of specific cytokine expression patterns in patients with breast cancer. *Sci Rep.* 2019;9(1):2924. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39476-9>
- Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *Int Immunol.* 2021;33(3):127–148. doi: <https://doi.org/10.1093/intimm/dxaa078>
- Chen K, Satlof L, Stoffels G, et al. Cytokine secretion in breast cancer cells — MILLIPLEX assay data. *Data Brief.* 2019;28:104798. doi: <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104798>
- Masjedi A, Hashemi V, Hojjat-Farsangi M, et al. The significant role of interleukin-6 and its signaling pathway in the immunopathogenesis and treatment of breast cancer. *Biomed Pharmacother.* 2018;108:1415–1424. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.177>

30. Lee HJ, Zhuang G, Cao Y, et al. Drug resistance via feedback activation of Stat3 in oncogene-addicted cancer cells. *Cancer Cell*. 2014;26(2):207–221. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.05.019>
31. Jia D, Li L, Andrew S, et al. An autocrine inflammatory forward-feedback loop after chemotherapy withdrawal facilitates the repopulation of drug-resistant breast cancer cells. *Cell Death Dis*. 2017;8(7):e2932. doi: <https://doi.org/10.1038/cddis.2017.319>
32. Shi Z, Yang WM, Chen LP, et al. Enhanced chemosensitization in multidrug-resistant human breast cancer cells by inhibition of IL-6 and IL-8 production. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;135(3):737–747. doi: <https://doi.org/10.1007/s10549-012-2196-0>
33. Tsukamoto H, Fujieda K, Senju S, et al. Immune-suppressive effects of interleukin-6 on T-cell-mediated anti-tumor immunity. *Cancer Sci*. 2018;109(3):523–530. doi: <https://doi.org/10.1111/cas.13433>
34. Todorović-Raković N, Milovanović J. Interleukin-8 in breast cancer progression. *J Interferon Cytokine Res*. 2013;33(10):563–570. doi: <https://doi.org/10.1089/jir.2013.0023>
35. Mishra A, Suman KH, Nair N, et al. An updated review on the role of the CXCL8-CXCR1/2 axis in the progression and metastasis of breast cancer. *Mol Biol Rep*. 2021;48(9):6551–6561. doi: <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06648-8>
36. De Campos Zuccari DAP, Leonel C, Castro R, et al. An immunohistochemical study of interleukin-8 (IL-8) in breast cancer. *Acta Histochem*. 2012;114(6):571–576. doi: <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2011.10.007>
37. Ruffini PA. The CXCL8-CXCR1/2 axis as a therapeutic target in breast cancer stem-like cells. *Front Oncol*. 2019;9:40. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00040>
38. Ginestier C, Liu S, Diebel ME, et al. CXCR1 blockade selectively targets human breast cancer stem cells in vitro and in xenografts. *J Clin Invest*. 2010;120(2):485–497. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI139397>
39. Yi M, Peng C, Xia B, et al. CXCL8 facilitates the survival and paclitaxel-resistance of triple-negative breast cancers. *Clin Breast Cancer*. 2022;22(2):e191–e198. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2021.06.009>
40. Cruceriu D, Baldasici O, Balacescu O, et al. The dual role of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in breast cancer: molecular insights and therapeutic approaches. *Cell Oncol (Dordr)*. 2020;43(1):1–18. doi: <https://doi.org/10.1007/s13402-019-00489-1>
41. Montfort A, Colacios C, Levade T, et al. The TNF paradox in cancer progression and immunotherapy. *Front Immunol*. 2019;10:1818. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01818>
42. Buyuk B, Jin S, Ye K. Epithelial-to-mesenchymal transition signaling pathways responsible for breast cancer metastasis. *Cell Mol Bioeng*. 2021;15(1):1–13. doi: <https://doi.org/10.1007/s12195-021-00694-9>
43. Mercogliano MF, Bruni S, Elizalde PV, et al. Tumor necrosis factor  $\alpha$  blockade: An opportunity to tackle breast cancer. *Front Oncol*. 2020;10:584. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00584>
44. Liu W, Lu X, Shi P, et al. TNF- $\alpha$  increases breast cancer stem-like cells through up-regulating TAZ expression via the non-canonical NF- $\kappa$ B pathway. *Sci Rep*. 2020;10(1):1804. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58642-y>
45. Zhang GJ, Adachi I. Serum interleukin-6 levels correlate to tumor progression and prognosis in metastatic breast carcinoma. *Anticancer Res*. 1999;19(2B):1427–1432.
46. Pusztai L, Gregory BW, Baggerly KA, et al. Pharmacoproteomic analysis of prechemotherapy and postchemotherapy plasma samples from patients receiving neoadjuvant or adjuvant chemotherapy for breast carcinoma. *Cancer*. 2004;100(9):1814–1822. doi: <https://doi.org/10.1002/cncr.20203>
47. Shimura T, Shibata M, Gonda K, et al. Prognostic impact of interleukin-6 and C-reactive protein on patients with breast cancer. *Oncol Lett*. 2019;17(6):5139–5146. doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10183>
48. Fuksiewicz M, Kowalska M, Kotowicz B, et al. Serum soluble tumour necrosis factor receptor type I concentrations independently predict prognosis in patients with breast cancer. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(10):1481–1486. doi: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2010.278>
49. Cho YA, Sung MK, Yeon JY, et al. Prognostic role of interleukin-6, interleukin-8, and leptin levels according to breast cancer subtype. *Cancer Res Treat*. 2013;45(3):210–219. doi: <https://doi.org/10.4143/crt.2013.45.3.210>
50. Tripsianis G, Papadopoulou E, Agnostopoulos K, et al. Coexpression of IL-6 and TNF- $\alpha$ : prognostic significance on breast cancer outcome. *Neoplasma*. 2014;61(2):205–212. doi: [https://doi.org/10.4149/neo\\_2014\\_026](https://doi.org/10.4149/neo_2014_026)
51. Noman AS, Uddin M, Chowdhury AA, et al. Serum sonic hedgehog (SHH) and interleukin-(IL-6) as dual prognostic biomarkers in progressive metastatic breast cancer. *Sci Rep*. 2017;7(1):1796. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01268-4>
52. Ma YY, Wang H, Zhao WD, et al. Prognostic value of combined lactate dehydrogenase, C-reactive protein, Cancer Antigen 153 and Cancer Antigen 125 in metastatic breast cancer. *Cancer Control*. 2022;29:10732748211053150. doi: <https://doi.org/10.1177/10732748211053150>
53. Wang H, Yang X. Association between serum cytokines and progression of breast cancer in Chinese population. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(49):e8840. doi: <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000008840>
54. Paz MFCJ, Gomes Júnior AL, Islam MT, et al. Assessment of chemotherapy on various biochemical markers in breast cancer patients. *J Cell Biochem*. 2018;119(3):2923–2928. doi: <https://doi.org/10.1002/jcb.26487>
55. Li F, Wei L, Li S, et al. Indoleamine-2,3-dioxygenase and interleukin-6 associated with tumor response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8(64):107844–107858. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22253>
56. Tripsianis G, Papadopoulou E, Romanidis K, et al. Overall survival and clinicopathological characteristics of patients with breast cancer in relation to the expression pattern of HER-2, IL-6, TNF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ 1. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14(11):6813–6820. doi: <https://doi.org/10.7314/apjcp.2013.14.11.6813>
57. Ma Y, Ren Y, Dai ZJ, et al. IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  levels correlate with disease stage in breast cancer patients. *Adv Clin Exp Med*. 2017;26(3):421–426. doi: <https://doi.org/10.17219/acem/62120>
58. Salgado R, Denkert C, Demaria S, et al; International TILs Working Group 2014. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol*. 2015;26(2):259–271. doi: <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu450>
59. Lin S, Gan Z, Han K, et al. Interleukin-6 as a prognostic marker for breast cancer: a meta-analysis. *Tumori*. 2015;101(5):535–541. doi: <https://doi.org/10.5301/tj.5000357>
60. Sparano JA, O'Neill A, Graham N, et al. Inflammatory cytokines and distant recurrence in HER2-negative early breast cancer. *NPJ Breast Cancer*. 2022;8(1):16. doi: <https://doi.org/10.1038/s41523-021-00376-9>
61. Gupta N, Goswami B, Mittal P. Effect of standard anthracycline based neoadjuvant chemotherapy on circulating levels of serum IL-6 in patients of locally advanced carcinoma breast — a prospective study. *Int J Surg*. 2012;10(10):638–640. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2012.11.007>
62. Mittal P, Gupta N, Goswami B. Serum IL-6 level as a predictor of response to neo-Adjuvant chemotherapy in patients of breast carcinoma. *Hellenic Journal of Surgery*. 2016;88:306–310. doi: <https://doi.org/10.1007/s13126-016-0338-2>
63. Benoy IH, Salgado R, Van Dam P, et al. Increased serum interleukin-8 in patients with early and metastatic breast cancer correlates with early dissemination and survival. *Clin Cancer Res*. 2004;10(21):7157–7162. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-04-0812>
64. Tiainen L, Hämäläinen M, Luukkaala T, et al. Low plasma IL-8 levels during chemotherapy are predictive of excellent long-term survival in metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2019;19(4):e522–e533. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2019.03.006>
65. Derin D, Soydic HO, Guney N, et al. Serum IL-8 and IL-12 levels in breast cancer. *Med Oncol*. 2007;24(2):163–168. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02698035>

66. Berberoglu U, Yildirim E, Celen O. Serum levels of tumor necrosis factor alpha correlate with response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer. *Int J Biol Markers*. 2004;19(2):130–134. doi: <https://doi.org/10.1177/172460080401900207>
67. Fuksiewicz M, Kowalska M, Kotowicz B, et al. Serum soluble tumour necrosis factor receptor type I concentrations independently predict prognosis in patients with breast cancer. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(10):1481–1486. doi: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2010.278>
68. Griffith KA, Ryan AS. IL-6 and soluble receptors in overweight and obese African American women with and without breast cancer. *Biol Res Nurs*. 2021;23(2):218–222. doi: <https://doi.org/10.1177/1099800420945787>
69. Zhu X, Du L, Feng J, et al. Clinicopathological and prognostic significance of serum cytokine levels in breast cancer. *Clin Lab*. 2014;60(7):1145–1151. doi: <https://doi.org/10.7754/clin.lab.2013.130738>
70. Kim JW, Lee S, Kim HS, et al. Prognostic effects of cytokine levels on patients treated with taxane and zoledronic acid for metastatic breast cancer in bone (BEAT-ZO) (KCSG BR 10-13). *Cytokine*. 2021;142:155487. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155487>
71. Вельков В.В. С-реактивный белок — «золотой маркер», многозначительный и незаменимый в лабораторной диагностике острых воспалительных процессов и оценке рисков сосудистых патологий. — М.: Диакон, 2012. — 80 с. [Velkov VV. C-reactive protein is a "gold marker", meaningful and indispensable in the laboratory diagnosis of acute inflammatory processes and risk of vascular pathologies assessment. Moscow: Diakon; 2012. 80 p. (In Russ.)]
72. Salazar J, Martínez MS, Chávez-Castillo M, et al. C-reactive protein: An in-depth look into structure, function, and regulation. *Int Sch Res Notices*. 2014;2014:653045. doi: <https://doi.org/10.1155/2014/653045>
73. Bruserud Ø, Aarstad HH, Tvedt THA. Combined C-reactive protein and novel inflammatory parameters as a predictor in cancer — What can we learn from the hematological experience? *Cancers (Basel)*. 2020;12(7):1966. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers12071966>
74. Potempa LA, Rajab IM, Olson ME, et al. C-reactive protein and cancer: Interpreting the differential bioactivities of its pentameric and monomeric, modified isoforms. *Front Immunol*. 2021;12:744129. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.744129>
75. Hart PC, Rajab IM, Alebraheem M, et al. C-reactive protein and cancer—diagnostic and therapeutic insights. *Front Immunol*. 2020;11:595835. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.595835>
76. Dolan RD, Laird BJA, Horgan PG, et al. The prognostic value of the systemic inflammatory response in randomised clinical trials in cancer: A systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2018;132:130–137. doi: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2018.09.016>
77. Guo L, Liu S, Zhang S, et al. C-reactive protein and risk of breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2015;5:10508. doi: <https://doi.org/10.1038/srep10508>
78. Proctor MJ, Talwar D, Balmar SM, et al. The relationship between the presence and site of cancer, an inflammation-based prognostic score and biochemical parameters. Initial results of the Glasgow Inflammation Outcome Study. *Br J Cancer*. 2010;103(6):870–876. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6605855>
79. Ravishankaran P, Karunanithi R. Clinical significance of pre-operative serum interleukin-6 and C-reactive protein level in breast cancer patients. *World J Surg Oncol*. 2011;9:18. doi: <https://doi.org/10.1186/1477-7819-9-18>
80. Netterberg I, Karlsson MO, Nielsen EI, et al. The risk of febrile neutropenia in breast cancer patients following adjuvant chemotherapy is predicted by the time course of interleukin-6 and C-reactive protein by modelling. *Br J Clin Pharmacol*. 2018;84(3):490–500. doi: <https://doi.org/10.1111/bcp.13477>
81. Han Y, Mao F, Wu Y, et al. Prognostic role of C-reactive protein in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Biol Markers*. 2011;26(4):209–215. doi: <https://doi.org/10.5301/IJBM.2011.8872>
82. Takeuchi H, Kawanaka H, Fukuyama S et al. Comparison of the prognostic values of preoperative inflammation-based parameters in patients with breast cancer. *PLoS One*. 2017;12(5):e0177137. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177137>
83. Honecker F, Harbeck N, Schnabel C, et al. Geriatric assessment and biomarkers in patients with metastatic breast cancer receiving first-line mono-chemotherapy: Results from the randomized phase III PELICAN trial. *J Geriatr Oncol*. 2018;9(2):163–169. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jgo.2017.09.009>
84. Miyagawa Y, Yanai A, Yanagawa T, et al. Baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio and c-reactive protein predict efficacy of treatment with bevacizumab plus paclitaxel for locally advanced or metastatic breast cancer. *Oncotarget*. 2020;11(1):86–98. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27423>
85. Nome ME, Euceda LR, Jabeen S, et al. Serum levels of inflammation-related markers and metabolites predict response to neoadjuvant chemotherapy with and without bevacizumab in breast cancers. *Int J Cancer*. 2020;146(1):223–235. doi: <https://doi.org/10.1002/ijc.32638>
86. Wang D, Duan L, Tu Z, et al. The Glasgow Prognostic Score predicts response to chemotherapy in patients with metastatic breast cancer. *Chemotherapy*. 2016;61(4):217–222. doi: <https://doi.org/10.1159/000443367>
87. Mikkelsen MK, Lindblom NAF, Dyhl-Polk A, et al. Systematic review and meta-analysis of C-reactive protein as a biomarker in breast cancer. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2022;1–21. doi: <https://doi.org/10.1080/10408363.2022.2050886>
88. Jabeen S, Zucknick M, Nome M, et al. Serum cytokine levels in breast cancer patients during neoadjuvant treatment with bevacizumab. *Oncimmunology*. 2018;7(11):e1457598. doi: <https://doi.org/10.1080/2162402X.2018.1457598>
89. Kawaguchi K, Sakurai M, Yamamoto Y, et al. Alteration of specific cytokine expression patterns in patients with breast cancer. *Sci Rep*. 2019;9(1):2924. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39476-9>
90. Paccagnella M, Abbona A, Michelotti A, et al. Circulating cytokines in metastatic breast cancer patients select different prognostic groups and patients who might benefit from treatment beyond progression. *Vaccines (Basel)*. 2022;10(1):78. doi: <https://doi.org/10.3390/vaccines10010078>
91. Li L, Chen L, Zhang W, et al. Serum cytokine profile in patients with breast cancer. *Cytokine*. 2017;89:173–178. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2015.12.017>

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Кармакова Татьяна Анатольевна**, д.б.н. [Tatiana A. Karmakova, PhD in Biology]; адрес: 125284, Москва, 2-й Боткинский проезд, д. 3 [address: 3, 2nd Botkinsky passage, 125284, Moscow, Russia]; e-mail: [kalmari23@yandex.ru](mailto:kalmari23@yandex.ru), SPIN-код: 4364-6134, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8017-5657>

**Сергеева Наталья Сергеевна**, д.б.н., профессор [Natalia S. Sergeeva, PhD in Biology, Professor]; e-mail: [prognoz.01@mail.ru](mailto:prognoz.01@mail.ru), SPIN-код: 1805-8141, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7406-9973>

**Поляк Марианна Александровна** [Marianna A. Polyak]; e-mail: [marianna29@yandex.ru](mailto:marianna29@yandex.ru), SPIN-код: 1134-3930, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3347-3106>

**Алентов Игорь Игоревич**, к.б.н. [Igor I. Alentov, PhD in Biology]; e-mail: [igoralentov@yandex.ru](mailto:igoralentov@yandex.ru), SPIN-код: 9992-7676, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5920-5823>

**Каприн Андрей Дмитриевич**, д.м.н., профессор, академик РАМН [Andrey D. Kaprin, MD, PhD, Professor, Academician of the Russian Academy of Medical Sciences]; e-mail: [kaprin@mail.ru](mailto:kaprin@mail.ru), SPIN-код: 1759-8101, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

А.Б. Бухарина<sup>1</sup>, А.О. Федулкина<sup>2</sup>, К.Н. Демидова<sup>2</sup>,  
А.В. Пенто<sup>1</sup>, Л.Д. Мальцева<sup>2</sup>,  
Я.О. Симановский<sup>1</sup>, С.М. Никифоров<sup>1</sup>, О.Л. Морозова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт общей физики им. А.М. Прохорова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup>Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова  
(Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

## Омиксные технологии в скрининге повреждения почек у детей с врожденными уропатиями

**Обоснование.** Первичный пузырно-мочеточниковый рефлюкс (ПМР) — наиболее распространенная врожденная уропатия (ВУ) у детей, приводящая к развитию рефлюкс-нефропатии и хронической болезни почек, достигающей терминальной стадии у 25–60% пациентов. Недостаточная чувствительность существующих методов инструментальной и лабораторной диагностики начальных этапов повреждения почечной паренхимы диктует необходимость разработки новых неинвазивных технологий скрининга и мониторинга состояния почек у пациентов с ВУ. **Цель исследования** — оценить возможность разделения групп здоровых детей и детей с повреждением почек при ВУ на основе анализа масс-спектров летучих органических соединений (ЛОС, волатолом) образцов мочи, зарегистрированных без пробоподготовки при нормальных условиях. **Методы.** Проведено исследование образцов мочи 42 пациентов (средний возраст — 5,4±2,3 года), разделенных на две группы: группа 1 — 24 ребенка с ВУ (ПМР II–V степеней), группа 2 (сравнения) — 18 пациентов с малой хирургической патологией без патологии мочевого выделительной системы. Сбор мочи осуществлялся при первичном установлении диагноза ВУ и до начала лечения. Анализ состава ЛОС образцов проводился методом экспресс-анализа биологических объектов при атмосферном давлении без предварительной подготовки с помощью масс-спектрометра с ионизацией ЛОС излучением лазерной плазмы. Мочевые уровни маркеров воспаления (MCP-1, IL-8, IL-18), ангиогенеза (VEGF) и фиброза (TGF-β1) измерялись методом твердофазного ИФА. **Результаты.** У пациентов группы 1 с ВУ (ПМР) при анализе масс-спектров были выявлены изменения состава ЛОС мочи, которые позволили отличить эти образцы от группы 2 (сравнения). Уровень креатинина и скорость клубочковой фильтрации (СКФ) в обеих группах не имели статистических отличий. В моче детей с ВУ (ПМР) наблюдалось повышение концентрации маркеров воспаления MCP-1, IL-18, IL-8, ангиогенеза VEGF и фиброза TGF-β1 ( $p < 0,001$ ). У пациентов группы 1 с ВУ (ПМР) концентрация маркеров не зависела от степени рефлюкса. **Заключение.** Проведенное исследование показало, что в регистрируемых масс-спектрах существует набор пиков, по которым возможно разделение на группы здоровых и больных, и продемонстрировало потенциал масс-спектрометрического анализа волатолома для обнаружения повреждения почек у детей с ВУ. Использование стандартных анализов креатинина и СКФ не позволило найти пороговое значение, которое позволяло бы разделить на группы больных и здоровых. Повышение в моче детей с ВУ биомаркеров воспаления, ангиогенеза и фиброза подтверждало наличие персистирующего повреждения почек, гипоксии паренхимы, активации фиброза и воспаления в ней.

**Ключевые слова:** летучие органические соединения, биомаркеры, масс-спектрометрия, повреждение почек, врожденная уропатия, дети

**Для цитирования:** Бухарина А.Б., Федулкина А.О., Демидова К.Н., Пенто А.В., Мальцева Л.Д., Симановский Я.О., Никифоров С.М., Морозова О.Л. Омиксные технологии в скрининге повреждения почек у детей с врожденными уропатиями. Вестник РАМН. 2022;77(5):354–361. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2107>

### Обоснование

Заболевания почек занимают лидирующие позиции в структуре всей патологии у детей, встречаясь в популяции с частотой от 5,4 до 32,5% [1]. Первичный пузырно-мочеточниковый рефлюкс (ПМР) относится к группе диспластических заболеваний почек [2] и является одной из наиболее распространенных врожденных уропатий (ВУ) у детей [3], приводящих к развитию рефлюкс-нефропатии и хронической болезни почек [4], которая достигает конечной стадии у 25–60% пациентов [5].

В настоящее время диагностика почечной недостаточности основывается на определении уровня сывороточного креатинина, альбуминурии и скорости клубочковой фильтрации (СКФ) [6, 7]. Однако эти индикаторы не являются чувствительными и специфичными на ранних этапах повреждения почек и не отражают полную картину развития патологии [8].

Так, типы 1 и 2 рефлюкс-нефропатии соответствуют компенсаторной гиперфильтрации оставшихся неповрежденными нефронов, поэтому не сопровождаются изменениями стандартных биохимических показателей —

креатинина и СКФ [9]. Повышение уровня данных маркеров в крови возможно только при 3 типе рефлюкс-нефропатии, которая соответствует необратимой стадии декомпенсации процесса гиперфильтрации и свидетельствует о гибели более 70% нефронов.

Определение уровня сывороточного креатинина оставалось «золотым стандартом» в течение почти столетия, несмотря на многочисленные общепризнанные ограничения его использования в качестве косвенного маркера повреждения почек, включая отсроченное выявление повреждения [10]. Кроме того, возможно повышение его концентрации при неповрежденных клубочках или канальцах [11].

Таким образом, на сегодняшний день отсутствуют достоверные лабораторные методы диагностики раннего повреждения почек и существует потребность в поиске и разработке новой панели биомаркеров повреждения почек.

В последнее время активно исследуется состав летучих органических соединений (ЛОС), выделяемых человеком. Показано, что набор этих соединений, образующих волатолом человека, содержит информацию о состоянии

организма и его анализ может быть использован в диагностических целях [9].

К ЛОС принято относить химические соединения, имеющие конечное значение давления паров при температуре, не превышающей порог их термического разложения. Наибольший интерес представляют соединения, имеющие значительное давление насыщенного пара при комнатной температуре. Путем детектирования таких соединений могут быть реализованы методы анализа пробы в состоянии «как она есть», без использования пробоподготовки или испарения при сильном нагреве. В настоящее время при исследовании волатолома человека обнаружено 2577 ЛОС, которые связаны с процессами жизнедеятельности и потенциально могут быть использованы для целей диагностики [12]. В моче человека зарегистрировано 444 соединения различных химических классов [13].

Для выделения значимой для диагностики заболевания информации из анализа волатолома используются два подхода — таргетный метод, ориентированный на поиск и изучение конкретных химических соединений — биомаркеров, и нетаргетный подход.

В первом случае индикатором заболевания является наличие в пробе соединений-маркеров в определенной концентрации, причем каждое из соединений точно установлено. Такой подход обычно реализуется с использованием хромато-масс-спектрометров, что позволяет идентифицировать соединения, но требует значительного времени для проведения анализа [14].

При нетаргетном подходе информацию получают из соотношения концентраций множества соединений,

причем в случае масс-спектрометрии можно не проводить детальный анализ спектра, а выполнить сравнительный анализ «необработанных» спектров больных и здоровых пациентов. Нетаргетный метод, использованный в нашем исследовании, требует применения масс-спектрометров, обеспечивающих одновременное определение множества ЛОС [15]. Мы использовали лазерный масс-спектрометр, разработанный авторами ранее. Ключевое отличие прибора — оригинальный способ ионизации Atmospheric pressure laser plasma ionization (APLPI) [16, 17], гарантирующий минимальное время анализа и, в отличие от часто применяемых для анализа волатолома способов PTR и SIFT [18], использующий большее количество каналов ионизации и тем самым обеспечивающий ионизацию соединений более широкого класса. На настоящий момент в литературе не встречается упоминаний об обнаружении повреждения почек у детей с ВУ с помощью масс-спектрометрического анализа ЛОС.

**Цель исследования** — оценить возможность разделения групп здоровых детей и детей с повреждением почек при ВУ на основе анализа масс-спектров ЛОС образцов мочи.

## Методы

### Дизайн исследования

Наше пилотное, проспективное, одномоментное, одноцентровое, диагностическое исследование направлено на определение возможности разделения групп здоровых детей и детей с повреждением почек при ВУ

A.B. Bukharina<sup>1</sup>, A.O. Fedulkina<sup>2</sup>, K.N. Demidova<sup>2</sup>, A.V. Pento<sup>1</sup>, L.D. Maltseva<sup>2</sup>,  
Y.O. Simanovsky<sup>1</sup>, S.M. Nikiforov<sup>1</sup>, O.L. Morozova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

## Omics Technologies in Screening for Kidney Disease in Children with Congenital Uropathy

**Background.** Primary vesicoureteral reflux (VUR) is the most common congenital uropathy (CU) in children, leading to the development of reflux nephropathy and chronic kidney disease, reaching the terminal stage in 25–60% of patients. The insufficient sensitivity of modern methods of instrumental and laboratory diagnostics of the initial stages of renal parenchyma damage dictates the need to develop new non-invasive technologies for screening and monitoring kidney conditions in patients with CU. **Aims** — to evaluate the possibility of separating groups of healthy children and children with kidney damage with CU using the analysis of the mass spectra of volatile organic compounds (VOCs) in urine samples. **Methods.** This study involved 42 patients (average age 5.4 + 2.3 years), divided into 2 groups: group 1 — 24 children with congenital uropathies (grade II–V PMR) and comparison group 2 — 18 patients with minor surgical pathology without pathology of the urinary system. Urine samples were collected before the start of treatment. Composition analysis of VOCs samples was carried out through express-analysis method for biological objects at atmospheric pressure without preliminary preparation using a mass spectrometer with ionization by laser plasma radiation. Urinary levels of markers of inflammation (MCP-1, IL-8, IL-18), angiogenesis (VEGF) and fibrosis (TGF-β1) were measured by solid-phase ELISA. **Results.** Composition changes in urine VOCs were detected in group 1 patients with congenital uropathies (VUR). These changes made it possible to distinguish group 1 samples from the comparison group 2. Creatinine level and glomerular filtration rate (GFR) in both groups had no statistical difference. An increase in concentration of inflammatory markers MCP-1, IL-18, IL-8, VEGF angiogenesis and TGF-β1 fibrosis was observed in the urine of children with congenital uropathies (VUR) ( $p < 0.001$ ). In group 1 patients the concentration of markers did not correlate with the reflux level. **Conclusions.** The performed research allowed to find a set of peaks in the recorded mass spectra, according to which it is possible to divide groups into healthy and sick. It also demonstrated the potential of volatolom analysis to detect kidney damage in children with congenital uropathies. The use of standard methods: creatinine and GFR did not allow us to find a threshold value to divide patient into healthy and sick groups. The increase of biomarkers of inflammation, angiogenesis and fibrosis in the urine of children with congenital uropathies confirmed the presence of persistent kidney damage, parenchymal hypoxia, activation of fibrosis and inflammation in children with CU kidneys.

**Keywords:** volatile organic compounds, biomarkers, mass spectrometry, kidney damage, congenital uropathy, children

**For citation:** Bukharina AB, Fedulkina AO, Demidova KN, Pento AV, Maltseva LD, Simanovsky YO, Nikiforov SM, Morozova OL. Omics Technologies in Screening for Kidney Disease in Children with Congenital Uropathy. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2022;77(5):354–361. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2107>



на основе анализа масс-спектров ЛОС образцов мочи. Кроме того, было проведено сравнение результатов масс-спектрометрии с классическими индикаторами (СКФ и уровнем креатинина сыворотки крови). В образцах мочи были определены молекулярными маркерами трансформирующий фактор роста  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) [19], фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [20], интерлейкин-8 (IL-8), интерлейкин-18 (IL-18), моноцитарный хемоаттрактантны протеин-1 (MCP-1) [21], которые использовались для раннего и неинвазивного выявления фиброза, гипоксии и хронического воспаления в почках соответственно.

**Общая характеристика пациентов групп исследования**

Клинический этап исследования выполнялся на базе ГБУЗ «ДГКБ № 9 им. Г.Н. Сперанского ДЗМ». Исследование образцов мочи проведено у 42 мальчиков (средний возраст — 5,4 + 2,3 года) при первичном установлении диагноза, разделенных на две группы: группа 1 — 24 ребенка с ВУ (пузырно-мочеточниковым рефлюксом (ПМР) II–V степеней); группа 2 (сравнения) — 18 пациентов с малой хирургической патологией без патологии мочевыделительной системы.

Критериями исключения из исследования были интеркуррентные формы инфекционно-воспалительных заболеваний, сепсис, сопутствующая патология (сахарный диабет, дыхательная недостаточность, сердечно-сосудистая недостаточность), отказ родителей/представителей ребенка от участия в исследовании.

**Лабораторные и клинико-инструментальные методы исследования**

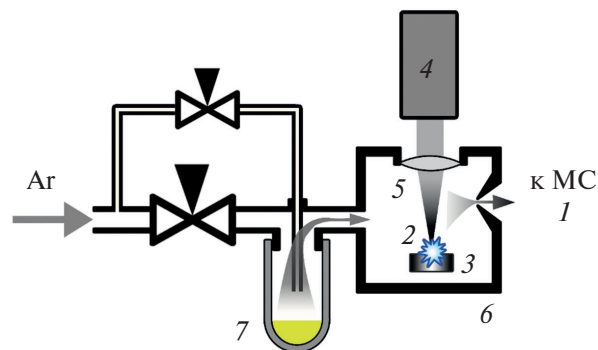
Диагноз ВУ был поставлен на основании комплекса стандартных и специализированных методов обследования, который включал ультразвуковое исследование с импульсно-волновой доплерометрией почечных сосудов, микционную цистографию, экскреторную урографию, клинические анализы крови и мочи, биохимический анализ крови с определением уровней креатинина и мочевины, расчет СКФ по Шварцу, бактериологическое исследование мочи. Градация степени ПМР проводилась в соответствии с классификацией Международного комитета по исследованию рефлюкса у детей (IRSC) [22].

**Исследование содержания мочевых уровней биомаркеров**

Сбор средней порции утренней мочи осуществлялся у пациентов с первично установленным диагнозом ВУ и до начала лечения. После центрифугирования 10 мин при 14 000 g производилось аликвотирование образцов в пластиковые пробирки типа эппендорф и хранение при температуре –80 °С до проведения исследований. Содержание мочевых биомаркеров воспаления — интерлейкина-8 (IL-8), интерлейкина-18 (IL-18), моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1), ангиогенеза — васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) и фиброгенеза — трансформирующего фактора роста  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) измерялось методом твердофазного иммуоферментного анализа с использованием наборов ELISA (BenderMed-Systems, Австрия) на момент клинико-лабораторной ремиссии ИМП.

**Масс-спектрометрические исследования**

Основное отличие проводимого нами эксперимента — непосредственный масс-спектрометрический анализ ЛОС, выделяемых пробами мочи при комнатной

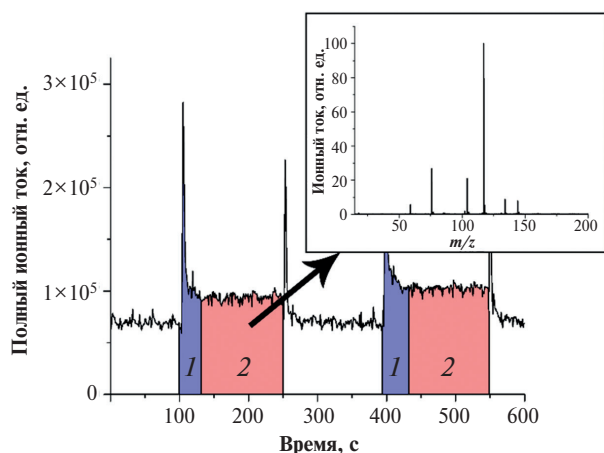


**Рис. 1.** Схема масс-спектрометра с устройством ввода ЛОС: 1 — времяпролетный масс-спектрометр рефлектрон; 2 — лазерная плазма, создаваемая импульсным излучением лазера; 3 — металлическая мишень; 4 — импульсный Nd:YAG-лазер; 5 — линза с фокусным расстоянием 5 см; 6 — камера ионизации; 7 — пробирка с пробой мочи, установленная на пневморазъеме

температуре и атмосферном давлении. К образцам мочи, полученным от пациентов, не применялись никакие процедуры дополнительной обработки и пробоподготовки. Поток ЛОС, формирующийся за счет испарения соединений с открытой поверхности жидкой пробы, анализировался без использования хроматографического разделения. Схема установки приведена на рис. 1. В эксперименте использовался уникальный лазерный масс-спектрометр, разработанный авторами [16, 17]. Прибор состоит из времяпролетного масс-спектрометра рефлектрон с квадрупольной транспортной системой (QTOF) и ионного источника, работающего при атмосферном давлении. Особенностью используемого прибора является применение для ионизации ЛОС, поступающих с поверхности жидкого образца жесткого ультрафиолетового излучения лазерной плазмы (см. 2 на рис. 1), создаваемой импульсным лазерным излучением на поверхности металлической мишени [14]. Для создания плазмы использовался импульсный Nd:YAG-лазер с диодной накачкой RL-03/355 (ООО «ЭЛС-94»). Частота следования импульсов составляла 300 Гц, длительность — 0,5 нс, энергия в импульсе — 350 мкДж. Излучение лазера фокусировалось на поверхность мишени линзой с фокусным расстоянием 5 см, что обеспечивало плотность мощности излучения более 10<sup>11</sup> Вт/см<sup>2</sup>.

Перед измерениями образцы размораживали при комнатной температуре в течение 10 мин. Пробы разливались по микроцентрифужным пробиркам порциями по 20 мкл. Микроцентрифужные пробирки с пробами последовательно устанавливались на герметичный пневматический разъем и продувалась потоком чистого аргона (99,995). Испаряющиеся с поверхности пробы ЛОС мочи поступали в потоке аргона в герметичную камеру (6 на рис. 1), где происходила их ионизация. Чтобы исключить попадание окружающего атмосферного воздуха внутрь камеры при смене пробирок, в камере поддерживалось избыточное давление 30 Торр по отношению к давлению воздуха в лаборатории. Масс-спектр ЛОС каждого образца записывался в течение 150 с, из которых в первые 30 с происходили вытеснение воздуха в пробирках аргоном и стабилизация масс-спектров (интервал 1, выделенный синим на рис. 2).

Процесс регистрации масс-спектров проиллюстрирован на рис. 2, где приведена зависимость полного ионного тока и показан единичный масс-спектр для одной из проб. Выбросы полного ионного тока в начале и конце



**Рис. 2.** Зависимость полного ионного тока от времени при исследовании проб мочи: 1 — участок вытеснения воздуха в пробирке аргоном, длительность ~ 30 с (закрашен синим); 2 — участок записи стабильного масс-спектра, длительность ~ 120 с (закрашен красным) и при установке пустой пробирки (незакрашенная область). На врезке показан единичный масс-спектр пробы мочи

измерений образца (см. рис. 2) вызваны сменой пробирок, которые в начальный момент содержат лабораторный воздух, приводящий к изменениям масс-спектра. В экспериментах регистрировались только положительные ионы, что обусловлено конструкцией прибора.

Для уменьшения влияния изменения состава воздуха в лаборатории и дрейфа прибора на результат анализ проб производился в случайном порядке, а состав экспериментаторов, находящихся в лаборатории, не изменялся в течение всего эксперимента. Оператору сообщался только условный номер, по которому невозможно определить принадлежность пробы к конкретной группе.

**Этическая экспертиза**

Все этапы исследования одобрены локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (выписка из протокола № 08-21 очередного заседания ЛЭК от 19.05.2021).

**Статистический анализ**

**Принципы расчета размера выборки.** Проект был пилотным, и размер выборки предварительно не рассчитывался.

**Методы статистического анализа данных.** Обработка полученных масс-спектров проводилась в самостоятельно разработанной программе в среде Python 3.7. В регистрируемом диапазоне масс до 18–500 а.е.м. было выделено 342 уникальных пика, которые присутствуют почти во всех образцах. Значимыми пиками мы считали пики в суммарном масс-спектре с амплитудой, соответствующей регистрации в среднем не менее 1 иона в 1 с. Ограничение разрешения, используемого в работе масс-спектрометра, не позволяет избежать интерференции и идентифицировать соединения, соответствующие найденным пикам. Для выделения пиков, содержащих информацию о наличии или отсутствии заболевания, был применен критерий Краскела–Уоллиса.

Данные результатов исследования биомаркеров мочи были представлены в виде медианы (и межквартильного интервала) и проанализированы с использованием программного обеспечения R-statistics версии 3.3.2. Оценивали статистически значимые отличия от груп-

пы контроля с использованием критерия суммы рангов Манна–Уитни. Статистические тесты проводились на уровне значимости 5%.

**Результаты**

**Объекты (участники) исследования**

Объектом исследования послужили образцы мочи 42 пациентов (средний возраст — 5,4 + 2,3 года), разделенных на две группы: группа 1 — 24 ребенка с ВУ (ПМП II–V степеней), группа 2 (сравнения) — 18 пациентов с малой хирургической патологией и без патологии мочевыделительной системы.

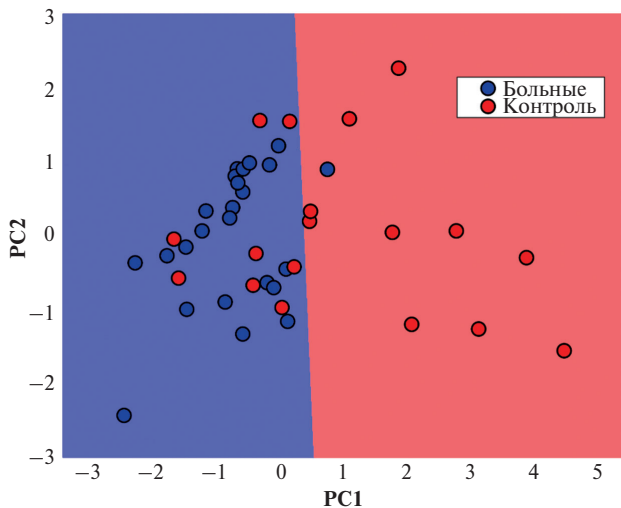
**Основные результаты исследования**

Анализ массива данных с использованием критерия Краскела–Уоллиса показал, что в массиве, состоящем из 342 пиков, существует всего 20 пиков с  $p < 0,05$ , по которым можно отличить группу пациентов с заболеваниями от контрольной группы. Перечень пиков с соответствующими  $p$ -значениями приведены в табл. 1. Из этих пиков выбраны четыре пика, имеющие в своем наборе наибольшее количество ненулевых значений. К этим четырем был применен метод главных компонент (МГК).

Результат анализа МГК представлен на рис. 3. Разделение областей проводилось методом линейного дискриминантного анализа. Как видно из рис. 3, в координатах двух первых главных компонент наблюдается разделение двух групп пациентов. Это говорит о том, что в ЛОС, собираемых над поверхностью пробы мочи при комнатной температуре, содержится информация о состоянии пациента и эта информация может быть использована для целей диагностики заболеваний. На основе данных рис. 3 можно оценить общепринятые статистические показатели — чувствительность и селективность. Для приведен-

**Таблица 1.** Выделенные пики в образцах мочи групп исследования

| <i>m/z</i> | <i>p</i> -value      |
|------------|----------------------|
| 42         | 0,00359864882425457  |
| 66         | 0,0213436538150324   |
| 68         | 0,000186527014749273 |
| 77         | 0,0327626450788598   |
| 83         | 0,0446541484831718   |
| 84         | 0,0193710994584939   |
| 91         | 0,0288293008843387   |
| 93         | 0,0446541484831718   |
| 95         | 0,0253035785681753   |
| 105,1      | 0,0221679057529888   |
| 107        | 0,0371160759840020   |
| 108        | 0,0420124648678192   |
| 123        | 0,0404646830589061   |
| 124        | 0,0207284137141232   |
| 125        | 0,0228644186154725   |
| 157        | 0,0168124290153604   |
| 157,1      | 0,0443854637881736   |
| 167        | 0,0319047361350467   |
| 258,1      | 0,0435339968892050   |
| 287,1      | 0,00572717646414131  |



**Рис. 3.** Результат применения метода главных компонент к анализу масс-спектров ЛОС мочи больных (синие точки) и здоровых (красные точки)

ных результатов они составят соответственно  $22/23 = 0,96$  и  $10/18 = 0,56$ . Очевидно, что для получения более точных результатов необходимо увеличить объем выборки и стратифицировать пациентов как в контрольной группе, так и в группе больных не только по полу, но и возрасту. Это связано с тем, что в составе ЛОС, кроме изменений, связанных с заболеванием, возможно, наблюдаются возрастные изменения.

Сравнение результатов масс-спектрометрического исследования и результатов анализа на креатинин и СКФ представлено на рис. 4, где приведено распределение результатов анализа для больных (красные точки), и здоровых (синие точки) пациентов в координатах значения анализа — амплитуда первой главной компоненты масс-спектров. Как видно из рисунка, по полученным данным анализов креатинина и СКФ невозможно найти пороговое значение, которое позволяет разделить пациентов на группы больных и здоровых. Это видно и из сравнения средних величин результатов анализа для двух групп, приведенных в табл. 2. Поэтому в нашем случае ни креатинин, ни СКФ не могут быть использованы в качестве

индикатора наличия заболевания. В то же время масс-спектрометрические данные позволяют достаточно эффективно разделить группы, как это показано на рис. 4. Разделение областей, как и в первом случае, проводилось методом линейного дискриминантного анализа.

Результаты исследования СКФ и уровня креатинина сыворотки крови представлены в табл. 2. Статистически значимых отличий данных показателей между группами не выявлено.

Результаты исследования мочевых уровней IL-8, IL-18, MCP-1, VEGF и TGF-β1 представлены в табл. 3. В моче детей с ВУ наблюдалось повышение концентрации маркеров воспаления MCP-1 ( $p < 0,001$ ), IL-18 ( $p < 0,001$ ), IL-8 ( $p < 0,003$ ), ангиогенеза VEGF ( $p < 0,001$ ) и фиброза TGF-β1 ( $p < 0,004$ ) при сравнении с группой без ВУ. Следует отметить, что в группе пациентов с ВУ концентрация маркеров не зависела от степени ПМР ( $p > 0,05$ ).

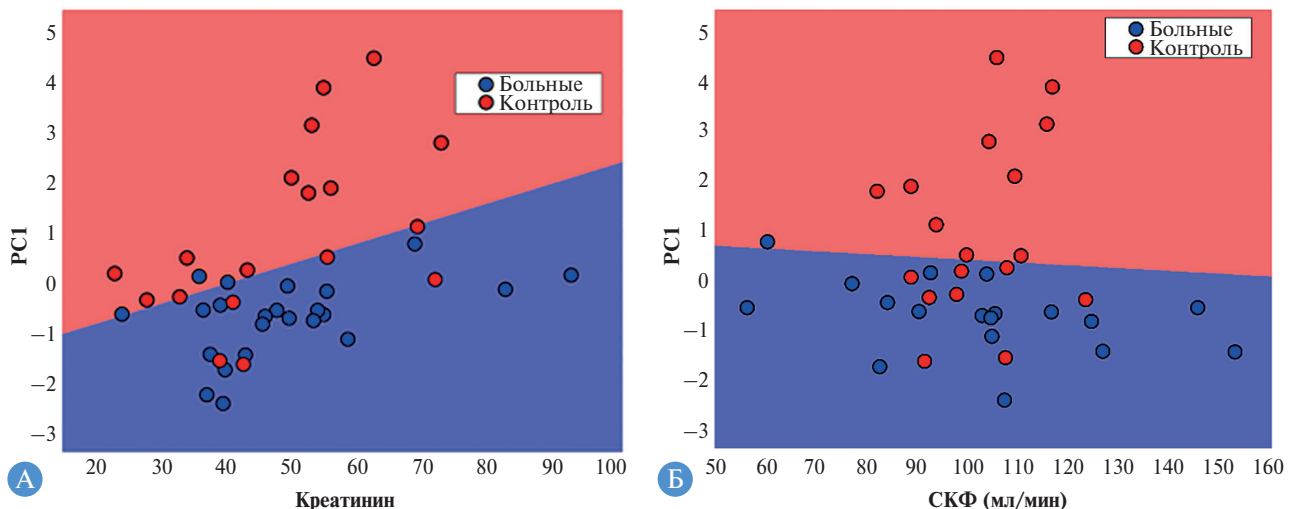
### Обсуждение

#### Резюме основного результата исследования

Выполненный эксперимент показал, что нетаргетный анализ, основанный на статистической обработке полученных масс-спектров ЛОС образцов мочи, позволяет выделить различия между группами больных и здоровых пациентов. В регистрируемых масс-спектрах существует набор пиков, применимых для обнаружения повреждения почек у детей с ВУ. В тех же группах пациентов использование стандартных анализов креатинина и СКФ не дало возможности найти пороговое значение, которое позволяло разделить группы больных и здоровых. Повышение в моче биомаркеров воспаления, ангиогенеза и фиброза подтверждало наличие персистирующего повреждения почек, гипоксии паренхимы, активации фиброза и воспаления в ней у детей с ВУ.

#### Обсуждение основного результата исследования

Проведенное исследование показало, что масс-спектрометрический анализ летучих компонентов мочи, проводимый без пробоподготовки, в состоянии образца «как он есть», потенциально может иметь диагностическое применение. Новый метод ионизации ЛОС позволяет выделить различия между группами здоровых



**Рис. 4.** Сравнение результатов масс-спектрометрического анализа ЛОС и теста на креатинин и СКФ: А — сравнение с тестом на креатинин; Б — сравнение с тестом на СКФ

Таблица 2. Характеристики групп исследования

| Показатель                             | Группы исследования (n = 42) |             |
|--|------------------------------|-------------|
|  | Контроль (n = 18)            | ВУ (n = 24) |
| Возраст (M±SD), годы                   | 6,4±2,3                      | 4,5±2,7     |
| Креатинин сыворотки крови, мкмоль/л    | 52                           | 48,9        |
| СКФ (M±SD), мл/мин/1,73 м <sup>2</sup> | 130                          | 100,74      |

Примечание. СКФ — скорость клубочковой фильтрации.

Таблица 3. Мочевые уровни маркеров воспаления, факторов фибро- и ангиогенеза

| Показатель    | Группы исследования (n = 42) |      |       |             |        |        |          |
|---------------|------------------------------|------|-------|-------------|--------|--------|----------|
|               | Контроль (n = 18)            |      |       | ВУ (n = 24) |        |        |          |
|               | M                            | LQ   | UQ    | M           | LQ     | UQ     | p        |
| IL-8, пг/мл   | 6,54                         | 3,5  | 8     | 56,45       | 39,3   | 88,75  | 0,003    |
| IL-18, пг/мл  | 12,45                        | 8,25 | 16,75 | 26,3        | 21     | 42     | 0,000001 |
| MCP-1, пг/мл  | 91,4                         | 48,5 | 132,5 | 162         | 131,25 | 264,25 | 0,001    |
| VEGF, пг/мл   | 107                          | 62   | 133   | 158         | 118,75 | 264,25 | 0,0006   |
| TGF-β1, нг/мл | 14,7                         | 11   | 18,75 | 37,35       | 32,75  | 46,75  | 0,004    |

Примечание. M — медиана; LQ — нижний квартиль; UQ — верхний квартиль; p — критерий достоверности различий по отношению к показателям группы контроля.

и больных пациентов. Достоинством метода является минимальное время анализа, недостижимое при использовании широко применяемых для подобных исследований хромато-масс-спектрометров. Как было показано, время анализа одной пробы в наших экспериментах составляет не более 3 мин. Для проведения таргетного анализа необходима предварительная хроматография (газовая или жидкостная) с дополнительной пробоподготовкой (твердофазной экстракцией или дериватизацией анализируемого вещества). При этом удлиняется время проведения исследования, повышается его себестоимость и снижается привлекательность скрининга.

Достигнутые параметры чувствительности и селективности могут быть улучшены в последующих экспериментах. Во-первых, необходимо устранить аппаратные ограничения масс-спектрометра. При разрешении используемого прибора 5000 невозможно избежать интерференции пиков, что снижает объем получаемой информации и приводит к «маскировке» различий между пробами. Применение доступных в настоящее время масс-спектрометров с разрешением более 100 000 (например, приборов с масс-анализатором типа Orbitrap [23]), в принципе, может решить эту проблему при использовании ионизации ЛОС излучением лазерной плазмы. Однако такие ионные источники не входят в комплект выпускаемых в настоящее время приборов.

Проведенное исследование демонстрирует потенциал анализа волатолама для обнаружения повреждения почек у детей с ВУ. Применение анализа ЛОС образцов без пробоподготовки, в состоянии «как они есть», на наш взгляд, является перспективным направлением, которое при решении технических проблем может обеспечить новое направление в диагностике заболеваний.

Мочевые уровни маркеров воспаления (MCP-1, IL-8, IL-18), ангиогенеза (VEGF) и фиброза (TGF-β1) в группе пациентов с ВУ были значительно повышены, что, по нашему мнению, подтверждало персистенцию патологического процесса в почечной паренхиме. Подобные изменения продемонстрированы рядом исследователей как на доклиническом этапе, так и при исследовании пациентов.

Доклинические исследования показали, что IL-18 является медиатором острого повреждения канальцев по-

чек, индуцируя как нейтрофильную, так и моноцитарную инфильтрацию почечной паренхимы [24]. Также было продемонстрировано, что IL-18 играет важную роль в активации макрофагов [20].

Клетки почечных канальцев увеличивают продукцию MCP-1 в ответ на провоспалительные цитокины [21]. MCP-1 привлекает моноциты крови и тканевые макрофаги к фокусам воспаления посредством взаимодействия с хемокиновым рецептором 2 (CCR2) [22]. Отсутствие корреляции между уровнями MCP-1 в моче и сыворотке позволяет предположить, что MCP-1, обнаруживаемый в моче, локально вырабатывается почками, а не возникает в результате фильтрации из сыворотки крови [21].

В проведенном нами исследовании уровни биомаркера VEGF имели наименьшее различие у группы контроля и группы детей с ВУ. Возможное объяснение этого явления заключается в том, что выработка VEGF зависит не только от степени гипоксии тканей, но и от количества клеток, продуцирующих VEGF в почках [25]. Предположительно прогрессирующее накопление фиброзной ткани и гипоксия могут способствовать повреждению клеток, продуцирующих VEGF в почках, что приводит к снижению общего синтеза и выведения VEGF с мочой [26].

Многочисленные клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что TGF-β1 имеет решающее значение для развития и прогрессирования фиброза почек у пациентов с ХБП различной этиологии, включая ПМП [27]. Зачастую комбинация именно MCP-1 и TGF-β1 выбирается исследователями для оценки состояния почечной паренхимы при различных состояниях. Было установлено, что уровни сывороточных MCP-1 и TGF-β1 у детей при вторичном (на фоне ПМП) и первичном пиелонефрите были соответственно в 2,5 и 2,8 раза выше [28]. По всей видимости, нарушение уродинамики имело определяющее значение в развитии и поддержании воспалительного процесса мочевыводящих путей [29].

#### Ограничения исследования

Ограничениями исследования являются: небольшая выборка пациентов с достаточно большим разбросом по возрасту, разная степень почечного поврежде-

ния в группе пациентов с ВУ к началу исследования. К технологическим ограничениям можно отнести низкую (5000) разрешающую способность используемого масс-спектрометра, что приводит к интерференции пиков и снижает объем различий между пробами.

### Заключение

Новые подходы, основанные на омиксных технологиях, в настоящее время все чаще применяются для анализа биомедицинских объектов как для диагностики, так и для изучения механизмов возникновения патологии. Преимущества данных методов заключаются в возможности одновременного определения большого числа различных веществ, удобстве и экспрессности проведения анализа.

Важный фактор, определяющий эффективность лечения повреждения почек, — стадия, на которой обнаружено заболевание. Известно, что определение единичных показателей не только неинформативно для диагностики заболевания, но и не подходит для своевременной постановки диагноза. В изучении метаболома мочи применяются таргетный метод, ориентированный на поиск и изучение конкретных соединений, и нетаргетный подход, измеряющий большой спектр метаболитов с применением инструментов статистической обработки данных.

В процессе работы был применен нетаргетный анализ масс-спектров ЛОС мочи и сопоставление с результатами исследования креатинина сыворотки крови и СКФ у пациентов с ВУ и без таковых. Для верификации повреждения почек были определены мочевые уровни биомаркеров воспаления, фиброза и ангиогенных факторов. В нашем исследовании использовался времяпролетный масс-спектрометр рефлектрон с квадрупольной транспортной системой, особенностью которого является применение жесткого ультрафиолетового излучения лазерной плазмы, создаваемой импульсным лазерным излучением на поверхности металлической мишени, для ионизации ЛОС при атмосферном давлении. Проведенный дисперсионный анализ показал, что в регистрируемых масс-спектрах существует набор пиков, по которым возможно разделение групп на «дети с повреждением почек» и «дети без повреждения почек». При использовании приборов с более высоким разрешением, характеризующихся зна-

чительно меньшей интерференцией в масс-спектрах, количество таких пиков должно возрастет, что увеличивает надежность получаемых результатов.

Применение для нетаргетного анализа масс-спектров ЛОС мочи без предварительной пробоподготовки, на наш взгляд, является перспективным направлением, которое при решении ряда технических проблем может стать скрининговым методом в ранней диагностике повреждения почек у детей с ВУ, так как позволяет неинвазивно скринировать наличие патологии и многократно исследовать изменения в органе в течение терапии.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Данное исследование поддержано грантом Министерства науки и образования Российской Федерации на создание Научного центра мирового уровня «Фотоника» № 075-15-2022-315.

**Конфликт интересов.** Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

**Участие авторов.** А.Б. Бухарина — разработка дизайна исследования, проведение эксперимента, анализ полученных результатов и написание значительной части финальной версии статьи; А.О. Федулкина — проведение эксперимента, отбор и анализ биоматериала, исследование биомаркеров, участие в написании финальной версии статьи; К.Н. Демидова — набор пациентов, сбор клинических, лабораторных и анкетных данных, участие в написании разделов «Материалы и методы» и «Результаты»; А.В. Пенто — разработка конструкции ионного источника масс-спектрометра, участие в проведении экспериментов и обработке данных, подготовке текста статьи; Л.Д. Мальцева — проведение эксперимента, отбор и анализ биоматериала, исследование биомаркеров, участие в написании финальной версии статьи; Я.О. Симановский — разработка конструкции ионного источника масс-спектрометра, участие в проведении экспериментов и обработке данных, подготовке текста статьи; С.М. Никифоров — разработка основной концепции и дизайна исследования, редактирование статьи; О.Л. Морозова — разработка основной концепции и дизайна исследования, редактирование статьи. Все авторы статьи внесли существенный вклад в организацию и проведение исследования, прочли и одобрили окончательную версию рукописи перед публикацией.

### ЛИТЕРАТУРА

- Morris AP, Le TH, Wu H, et al. Trans-ethnic kidney function association study reveals putative causal genes and effects on kidney-specific disease aetiologies. *Nat Commun.* 2019;10(1):29. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07867-7>
- Macioszek S, Wawrzyniak R, Kranz A, et al. Comprehensive Metabolic Signature of Renal Dysplasia in Children. A Multiplatform Metabolomics Concept. *Front Mol Biosci.* 2021;8:665661. doi: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.665661>
- Hajiyev P, Burgu B. Contemporary Management of Vesico-ureteral Reflux. *Eur Urol Focus.* 2017;3(2–3):181–188. doi: <https://doi.org/10.1016/j.euf.2017.08.012>
- Fillion ML, Watt CL, Gupta IR. Vesicoureteric reflux and reflux nephropathy: from mouse models to childhood disease. *Pediatr Nephrol.* 2014;29(4):757–766. doi: <https://doi.org/10.1007/s00467-014-2761-3>
- Chertin B, Abu Arafeh W, Kocherov S. Endoscopic correction of complex cases of vesicoureteral reflux utilizing Vantris as a new non-biodegradable tissue-augmenting substance. *Pediatr Surg Int.* 2014;30(4):445–448. doi: <https://doi.org/10.1007/s00383-014-3468-z>
- Nickolas TL, Barasch J, Devarajan P. Biomarkers in acute and chronic kidney disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2008;17(2):127–132. doi: <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e3282f4e525>
- Хворостов И.Н., Смирнов И.Е., Кучеренко А.Г., и др. Нефросцинтиграфия и цитокины в диагностике поражений почек при пузырно-мочеточниковом рефлюксе у детей // *Российский педиатрический журнал.* — 2013. — № 2. — С. 20–26. [Khvorostov IN, Smirnov IE, Kucherenko AG, et al. Nephroscintigraphy and cytokines in the diagnosis of kidney lesions in vesico-ureteral reflux in children. *Russian Pediatric Journal.* 2013;2:20–26. (In Russ.)]
- Zhang WR, Parikh CR. Biomarkers of Acute and Chronic Kidney Disease. *Annu Rev Physiol.* 2019;81:309–333. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-020518-114605>

9. Drabińska N, Flynn C, Ratcliffe N, et al. A literature survey of all volatiles from healthy human breath and bodily fluids: the human volatilome. *J Breath Res.* 2021;15(3). doi: <https://doi.org/10.1088/1752-7163/abf1d0>
10. Krzemień G, Szmigielska A, Turczyn A, et al. Urine interleukin-6, interleukin-8 and transforming growth factor  $\beta$ 1 in infants with urinary tract infection and asymptomatic bacteriuria. *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(3):260–267. doi: <https://doi.org/10.5114/ceji.2016.63125>
11. Konda R, Sato H, Sakai K, et al. Urinary excretion of vascular endothelial growth factor is increased in children with reflux nephropathy. *Nephron Clin Pract.* 2004;98(3):c73–78. doi: <https://doi.org/10.1159/000080676>
12. De Lacy Costello B, Amann A, Al-Kateb H, et al. A review of the volatiles from the healthy human body. *J Breath Res.* 2014;8(1):014001. doi: <https://doi.org/10.1088/1752-7155/8/1/014001>
13. Datta S, Depadilla L. Feature selection and machine learning with mass spectrometry data for distinguishing cancer and non-cancer samples. *Statistical Methodology.* 2006;3(1):79–92. doi: <https://doi.org/10.1016/j.stamet.2005.09.006>
14. Zoccali M, Tranchida PQ, Mondello L. Fast gas chromatography-mass spectrometry: A review of the last decade. *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 2019;118:444–452. doi: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.06.006>
15. Лисица А.В., Пономаренко Е.А., Лохов П.Г., и др. Постгеномная медицина: альтернатива биомаркерам // *Вестник РАМН.* — 2016. — Т. 71. — № 3. — С. 255–260. [Lisitsa AV, Ponomarenko EA, Lohov PG, et al. Postgenomic Medicine: Alternative to Biomarkers. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2016;71(3):255–260. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.15690/vramn647>
16. Pento AV, Nikiforov SM, Simanovsky YO, et al. Laser ablation and ionisation by laser plasma radiation in the atmospheric-pressure mass spectrometry of organic compounds. *Quantum Electronics.* 2013;43(1):55–59. doi: <https://doi.org/10.1070/QE2013v043n01ABEH015065>
17. Pento AV, Bukharina AB, Nikiforov SM, et al. Laser-induced plasma on a metal surface for ionization of organic compounds at atmospheric pressure. *International Journal of Mass Spectrometry.* 2021;461:116498. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijms.2020.116498>
18. Smith D, Španěl P. Selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS) for on-line trace gas analysis. *Mass Spectrom Rev.* 2005;24(5):661–700. doi: <https://doi.org/10.1002/mas.20033>
19. Krzemień G, Szmigielska A, Turczyn A, et al. Urine interleukin-6, interleukin-8 and transforming growth factor  $\beta$ 1 in infants with urinary tract infection and asymptomatic bacteriuria. *Cent Eur J Immunol.* 2016;41(3):260–267. doi: <https://doi.org/10.5114/ceji.2016.63125>
20. Elner SG, Strieter RM, Elner VM, et al. Monocyte chemotactic protein gene expression by cytokine-treated human retinal pigment epithelial cells. *Lab Invest.* 1991;64(6):819–825.
21. Kiyici S, Erturk E, Budak F, et al. Serum monocyte chemoattractant protein-1 and monocyte adhesion molecules in type 1 diabetic patients with nephropathy. *Arch Med Res.* 2006;37(8):998–1003. doi: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2006.06.002>
22. Gültekin ND, Benzer M, Tekin-Nejmann Ş. Is there any relation between connective tissue growth factor and scar tissue in vesicoureteral reflux? *Turk J Pediatr.* 2019;61(1):71–78. doi: <https://doi.org/10.24953/turkjped.2019.01.011>
23. Eliuk S, Makarov A. Evolution of Orbitrap Mass Spectrometry Instrumentation. *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif).* 2015;8:61–80. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-anchem-071114-040325>
24. Boring L, Gosling J, Chensue SW, et al. Impaired monocyte migration and reduced type 1 (Th1) cytokine responses in C-C chemokine receptor 2 knockout mice. *J Clin Invest.* 1997;100(10):2552–2561. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI119798>
25. Dimke H, Sparks MA, Thomson BR, et al. Tubulovascular cross-talk by vascular endothelial growth factor a maintains peritubular microvasculature in kidney. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26(5):1027–1038. doi: <https://doi.org/10.1681/ASN.2014010060>
26. Morozova O, Morozov D, Pervouchine D, et al. Urinary biomarkers of latent inflammation and fibrosis in children with vesicoureteral reflux. *Int Urol Nephrol.* 2020;52(4):603–610. doi: <https://doi.org/10.1007/s11255-019-02357-1>
27. Wu C-F, Chiang W-C, Lai C-F, et al. Transforming growth factor  $\beta$ -1 stimulates profibrotic epithelial signaling to activate pericyte-myofibroblast transition in obstructive kidney fibrosis. *Am J Pathol.* 2013;182(1):118–131. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2012.09.009>
28. Gültekin ND, Benzer M, Tekin-Nejmann Ş. Is there any relation between connective tissue growth factor and scar tissue in vesicoureteral reflux? *Turk J Pediatr.* 2019;61(1):71–78. doi: <https://doi.org/10.24953/turkjped.2019.01.011>
29. Tokarchuk N, Vyzhga Y, Tokarchuk V, et al. [FIBROTIC MARKERS IN INFANTS WITH PYELONEPHRITIS]. *Georgian Med News.* 2019;(288):44–48.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Морозова Ольга Леонидовна**, д.м.н., профессор [*Olga L. Morozova*, MD, PhD, Professor]; **адрес:** 119019, Москва, Никитский бульвар, д. 13, с. 1 [**address:** 13-1, Nikitsky Boulevard, 119019, Moscow, Russia]; **e-mail:** morozova\_ol@list.ru, **SPIN-код:** 1567-4113, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-2453-1319>

**Бухарина Айгуль Булатовна** [*Aygul B. Bukharina*]; **e-mail:** ay15@mail.ru, **SPIN-код:** 3189-1112, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-3627-3302>

**Федулкина Анастасия Олеговна**, студентка [*Anastasia O. Fedulkina*, Student]; **e-mail:** n.fedulkina@mail.ru, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-6232-2123>

**Демидова Кармина Насимджоновна** [*Karmina N. Demidova*]; **e-mail:** negmatova.karmina@mail.ru, **SPIN-код:** 9281-4273, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4638-6370>

**Пенто Андрей Владимирович**, к.ф.-м.н. [*Andrei V. Pento*, PhD in Physical and Mathematical Sciences]; **e-mail:** pentan@mail.ru, **SPIN-код:** 6035-3748, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-5122-8265>

**Мальцева Лариса Дмитриевна**, к.м.н., доцент [*Larisa D. Maltseva*, PhD, Assistant Professor]; **e-mail:** lamapost@mail.ru, **SPIN-код:** 7725-2499, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4380-4522>

**Симановский Ярослав Олегович**, к.т.н. [*Yaroslav O. Simanovsky*, PhD in Technical Sciences]; **e-mail:** yaroslav@kapella.gpi.ru, **SPIN-код:** 3438-9329, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0003-0779-1135>

**Никифоров Сергей Михайлович**, к.ф.-м.н. [*Sergei M. Nikiforov*, PhD in Physical and Mathematical Sciences]; **e-mail:** 15925@mail.ru, **SPIN-код:** 9359-0557, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0001-7510-4355>

Е.И. Ким, Ю.А. Крупинова, П.В. Белоусов,  
К.А. Трутнева, Н.Г. Мокрышева

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии,  
Москва, Российская Федерация

# Лечение рака околощитовидных желез: текущее состояние и ближайшие перспективы

Рак околощитовидных желез (ОЩЖ) — редкое злокачественное новообразование эндокринной системы, характеризующееся тяжелым течением вследствие развития жизнеугрожающей гиперкальциемии. Несмотря на относительно высокую выживаемость, рецидив возникает примерно в половине случаев. Агрессивное течение рака ОЩЖ ассоциировано как с локальным распространением процесса, так и с отдаленным метастазированием. За исключением единичных случаев, эффективность цитотоксической химио- и лучевой терапии при лечении рака ОЩЖ низкая, а протоколы лечения не разработаны, поэтому основным способом лечения остается хирургическое удаление вторичных очагов, что не всегда технически выполнимо и сопряжено с высоким риском послеоперационных осложнений. В литературе описаны отдельные случаи успешного применения таргетной терапии, а также иммунотерапии в формате терапевтической вакцинации с целью индукции иммунного ответа против паратиреоидного гормона (ПТГ) и блокировки контрольных точек иммунного ответа. Перспективное направление — изучение иммуоокружения опухоли, которое имеет как диагностическую, так и прогностическую ценность в отношении вероятности распространения опухолевого процесса. Данный обзор посвящен основным направлениям в лечении рака ОЩЖ, в том числе диссеминированных форм, подробно рассмотрены возможности и перспективы иммунотерапии.

**Ключевые слова:** рак околощитовидных желез, метастазы, иммунотерапия

**Для цитирования:** Ким Е.И., Крупинова Ю.А., Белоусов П.В., Трутнева К.А., Мокрышева Н.Г. Лечение рака околощитовидных желез: текущее состояние и ближайшие перспективы. *Вестник РАМН*. 2022;77(5):362–370. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2132>

## Введение

Рак ОЩЖ — одно из самых редких злокачественных новообразований, составляет 0,005% всех случаев злокачественных новообразований человека [1] и менее 1% первичного гиперпаратиреоза [2, 3]. В подавляющем большинстве случаев (96%) [4] тяжелое течение заболевания обусловлено не опухолевой прогрессией, а гормональной активностью, причинами летальности выступают такие осложнения, как гиперкальциемический криз и почечная недостаточность.

Статистический анализ, проведенный в таких странах, как США, Финляндия, Австралия, указывает на рост заболеваемости [5–7]. Согласно данным Национального

института рака США (<https://seer.cancer.gov/>), распространенность заболевания увеличилась с 3,58 на 10 млн человек в 1988–1991 гг. до 5,73 в 2000–2003 гг. [2]. Возможными объяснениями этой тенденции могут быть как улучшение диагностики и логистики направления пациентов в экспертные центры эндокринной хирургии, так и истинный прирост заболеваемости. По данным европейского регистра RARECARE за 1978–2002 гг. [8] и исследования, проведенного С. Sadler et al. [9], 5-летняя выживаемость при раке ОЩЖ составляет около 80%. Общая 10-летняя выживаемость, по данным SEER за 1988–2003 гг. [2] и шведского регистра [10], — 70%. Несмотря на относительно высокую выживаемость пациентов с раком ОЩЖ, частота рецидивов опухоли по-

E.I. Kim, J.A. Krupinova, P.V. Belousov, K.A. Trutneva, N.G. Mokrysheva

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

## Treatment of Parathyroid Cancer: Current Status and Near-Term Prospects

Parathyroid cancer (PC) is a rare malignant neoplasm of the endocrine system, characterized by a severe course due to the development of life-threatening hypercalcemia. Despite a relatively high survival rate, recurrence occurs about half the time. The aggressive course of PC is associated with both local spread of the process and distant metastasis. With the exception of isolated cases, cytotoxic chemo- and radiotherapy are inefficient, and treatment protocols have not been developed. Therefore the only effective way is the surgical removal of secondary lesions, which is not always technically feasible and is associated with a high risk of postoperative complications. The literature describes individual cases of successful use of targeted therapy, as well as immunotherapy in the form of therapeutic vaccination to induce an immune response against parathyroid hormone (PTH) and block immune checkpoint. A promising direction of study is the tumor immunoenvironment, which has both diagnostic and prognostic value in relation to the likelihood of the spread of the tumor process. In this review, we describe the main directions in the treatment of PC, including disseminated forms, the possibilities of immunotherapy will be considered in details.

**Keywords:** parathyroid cancer, neoplasm metastasis, immunotherapy

**For citation:** Kim EI, Krupinova JA, Belousov PV, Trutneva KA, Mokrysheva NG. Treatment of Parathyroid Cancer: Current Status and Near-Term Prospects. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2022;77(5):362–370. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2132>

сле оперативного лечения составляет примерно 40–60% [11–13]. Рак ОЩЖ — это опухоль, которая распространяется как локорегионарно (инвазия собственной капсулы и прилежащих тканей), а также лимфатических сосудов с формированием метастазов в регионарные лимфоузлы), так и системно за счет инвазии кровеносных сосудов [4]. Метастазы в лимфатические узлы выявляются при первичном обращении у 15–30% пациентов [1, 11, 14]. При развитии метастатического поражения в 60% случаев вовлекаются регионарные лимфатические узлы, в 30–40% развиваются отдаленные метастазы в легкие, печень, кости, реже плевру, перикард, поджелудочную железу и головной мозг [15]. На сегодняшний день единственным эффективным методом лечения как первичных, так и метастатических очагов рака ОЩЖ является хирургическое вмешательство, однако применение данного метода сопряжено с послеоперационными осложнениями и не всегда возможно из-за тяжелого состояния пациента, трудностей хирургического доступа, распространенности опухолевого процесса.

Эффект кальцимитетиков и других препаратов, предназначенных для контроля гиперкальциемии, как правило, носит временный характер; более того, подобная терапия симптоматическая и не является радикальным методом лечения. Химио- и радиотерапия, направленные на контроль метастатического процесса, могут быть эффективны в отдельных случаях, однако эффективные протоколы химиолучевого лечения пациентов с метастатическим раком ОЩЖ отсутствуют [16]. Поэтому в настоящее время актуальна задача поиска и разработки новых, эффективных методов и оптимальных протоколов лечения пациентов с раком ОЩЖ. В литературе описаны отдельные случаи успешного применения таргетной и иммунотерапии в формате терапевтической вакцинации с целью индукции иммунного ответа против паратиреоидного гормона (ПТГ) и блокировки контрольных точек иммунного ответа.

### Морфологическая диагностика

Диагноз карциномы ОЩЖ устанавливается по результатам морфологического исследования послеоперационного материала. Согласно классификации опухолей эндокринных органов ВОЗ 2022 г., рак ОЩЖ является нейроэндокринной опухолью, и основными критериями диагностики по-прежнему остаются достоверные признаки инвазии: сосудистая и/или лимфатическая, и/или периневральная, и/или в соседние структуры/органы, а также наличие подтвержденных метастазов [17]. Подозрительные в отношении злокачественности признаки, такие как широкие фиброзные тяжи, митозы, ядерная атипия, солидный или трабекулярный тип строения, сращение с соседними структурами (без прорастания), наличие опухолевых клеток в окружающей капсуле, не являются достаточным основанием для постановки диагноза карциномы ОЩЖ, в этом случае диагностируется «атипичная опухоль ОЩЖ».

Диагноз «атипичная аденома ОЩЖ» был заменен на «атипичную опухоль ОЩЖ» впервые в классификации ВОЗ 2022 г., выделившей атипичные опухоли в отдельную группу [17]. Пациенты с данным диагнозом требуют длительного динамического наблюдения. Несмотря на отсутствие проспективных исследований, исход у больных с атипичными опухолями ОЩЖ в большинстве случаев благоприятный. Согласно данным систе-

матического обзора F. Cetani общая частота рецидивов атипичных аденом ОЩЖ составила 3% (в спорадических случаях — 2%, в семейных формах — 40%) [18]. Однако с учетом сложностей морфологической диагностики точная доля рецидивов остается неизвестной, поэтому данные образования выделили в отдельную группу для прицельного наблюдения и определения прогноза.

Дополнительный метод диагностики рака ОЩЖ — ИГХ-исследование. Ангиоинвазия является высоконадежным критерием злокачественности и имеет прогностическое значение, но не всегда очевидна. В сложных случаях требуется ИГХ-исследование: экспрессия CD61 свидетельствует о смешанных с тромбом/фибрином опухолевых клетках в просвете сосудов, а ERG, CD34 и CD31 позволяют выявить сосудистый эндотелий. Среди дополнительных онкомаркеров карциномы ОЩЖ можно выделить потерю экспрессии парафибромина, APC, RB, E-кадгерина, p27, Bcl-2a, mdm-2 и 5-hmC, положительную экспрессию PGP9.5, галектина-3, hTERT, p53 наряду с Ki67 (MIB1) (> 5%), однако только оценка комплекса/комбинации маркеров может быть полезна в спорных случаях [17–19]. Термин «парафибромин-дефицитное новообразование ОЩЖ» впервые введен в классификацию опухолей эндокринных органов ВОЗ 2022 г. [17]. Потеря экспрессии парафибромина в присутствии внутреннего положительного контроля свидетельствует о мутации в гене *CDC73*, ассоциированной с синдромом гиперпаратиреоза с опухолью челюсти (НРТ-ЖТ), при котором повышен риск развития рака ОЩЖ. В этом случае рекомендовано дальнейшее генетическое тестирование [17, 19].

### Хирургическое лечение

Хирургическое удаление опухолевых очагов — основной метод лечения как локализованных, так и метастатических форм рака ОЩЖ, при этом наибольшие шансы на излечение в обоих случаях дает полное иссечение опухоли в пределах здоровых тканей (резекция R0). «Золотым стандартом» первичного хирургического лечения является резекция опухоли единым блоком с ипсилатеральной долей щитовидной железы и прилегающими пораженными тканями. Если по результатам гистологического исследования объем первичной операции был недостаточным (к примеру, резекция R1), своевременно проведенное расширенное хирургическое вмешательство способно значительно снизить частоту рецидивов [21]. Если рак ОЩЖ не был заподозрен до операции, но во время операции обнаружены признаки злокачественности, то хирург принимает решение об удалении единым блоком без повреждения капсулы опухоли интраоперационно.

Частота метастатического поражения регионарных лимфатических узлов при раке ОЩЖ в различных сериях наблюдений составляет от 6 до 32% [22, 23]. По данным регистра SEER (Surveillance, Epidemiology and End Results, Национальный институт рака США), метастатическое поражение регионарных лимфоузлов встречается в 7–8 раз чаще у пациентов с опухолями > 3 см, нежели у пациентов с опухолями меньшего размера [23]. Несмотря на сравнительно высокую частоту вовлечения регионарных лимфоузлов, в настоящее время не существует единого мнения в отношении необходимости их профилактической диссекции, поскольку доказательства преимущества данного вмешательства перед простым



удалением первичного очага (в терминах онкологической радикальности и улучшения выживаемости) к настоящему моменту отсутствуют [24].

По результатам ретроспективного международного многоцентрового исследования NEKAR, включавшего 83 пациента с диагностированным раком ОЩЖ и проведенного с 1986 по 2018 г., в ходе однофакторного анализа расширенное хирургическое вмешательство было ассоциировано со сниженной частотой рецидива ( $p = 0,04$ ), в то время как в многофакторном анализе положительными прогностическими факторами в отношении безрецидивной выживаемости оказались низкий Т-статус (ОШ = 2,65; 95%-й ДИ 1,02–6,88;  $p = 0,045$ ), стадия N0 при первоначальной диагнозе (ОШ = 6,32; 95%-й ДИ 1,33–30,01;  $p = 0,02$ ), Ki-67 <10% (ОШ = 14,07; 95%-й ДИ 2,09–94,9;  $p = 0,007$ ) и послеоперационная биохимическая ремиссия (ОШ = 0,023; 95%-й ДИ 0,001–0,52;  $p = 0,018$ ) [25].

Однако в другом исследовании, в которое было включено 555 пациентов (522 — локальная резекция, 33 — расширенное хирургическое вмешательство) из Национальной базы данных по раку (NCDB), расширенное хирургическое вмешательство не продемонстрировало положительного влияния на общую выживаемость. Доля пациентов, получавших лучевую терапию, существенно не отличалась между двумя группами ( $p = 0,063$ ). По результатам многофакторного анализа, возраст старше 75 лет (отношение рисков (ОР) 2,87; 95%-й ДИ 1,42–5,77;  $p = 0,003$ ), неизвестное этническое происхождение (ОР 2,38; 95%-й ДИ 1,19–4,74;  $p = 0,014$ ), наличие государственной страховки (ОР 2,11; 95%-й ДИ 1,10–4,06;  $p = 0,024$ ), показатели Чарлсона–Дейо, равные единице (ОР 2,12; 95%-й ДИ 1,25–3,60;  $p = 0,005$ ) и  $\geq 2$  (ОР 2,73; 95%-й ДИ 1,32–5,67;  $p = 0,007$ ) ассоциировались с худшей выживаемостью. Расширенное хирургическое вмешательство (ОР 0,43; 95%-й ДИ 0,10–1,83;  $p = 0,255$ ), положительный (ОР 0,66; 95%-й ДИ 0,09–5,03;  $p = 0,692$ ) и неизвестный (ОР 1,30; 95%-й ДИ 0,78–2,17;  $p = 0,311$ ) статус лимфатических узлов не имели значимой связи с общей выживаемостью [26].

В исследовании NEKAR наиболее частыми осложнениями хирургического лечения являлись паралич возвратного гортанного нерва (25%) и гипопаратиреоз (6%), в процессе динамического наблюдения рецидив рака был выявлен у 39% пациентов [25].

Послеоперационное ведение пациента с раком ОЩЖ должно включать мониторинг уровня кальция в сыворотке крови, так как высока вероятность развития симптоматической гипокальциемии (синдрома голодных костей), которую следует рассматривать как признак того, что операция прошла успешно [27].

В половине случаев после первоначального хирургического лечения рак ОЩЖ рецидивирует локально или метастазирует в отдаленные органы [28]. Единые подходы к хирургическому лечению метастатических форм рака ОЩЖ отсутствуют, описаны лишь единичные случаи успешного удаления отдаленных метастазов в комплексе с симптоматической терапией гиперкальциемии с положительным эффектом. Однако данный вид лечения не всегда позволяет устранить все вторичные очаги по причине труднодоступности и тяжелого состояния пациентов для проведения обширного хирургического лечения. В случае локальных рецидивов последующие операции затруднены из-за рубцевания и фиброза от предыдущих операций и/или дистанционной лучевой терапии.

Случай, описанный S. Storz et al. [29], демонстрирует опыт применения хирургического подхода в комплексном лечении метастатических форм рака ОЩЖ. Комбинация повторных хирургических вмешательств, терапии темозоломидом, адьювантной лучевой терапии на область шеи и верхнего средостения позволила добиться биохимической ремиссии [29]. Таким образом, в ряде случаев хирургическое лечение вторичных очагов является эффективным компонентом комплексного лечения рака ОЩЖ.

### Лучевая терапия

Рак ОЩЖ достаточно радиорезистентен, однако накоплен небольшой опыт успешного применения лучевой терапии как в адьювантном режиме, так и в качестве метода лечения диссеминированных неоперабельных форм рака ОЩЖ.

I. Christakis et al. опубликовали серию из 8 случаев рака ОЩЖ (медиана наблюдения — 12,5 года). Пациентам проводилась локорегионарная лучевая терапия после радикальной первичной операции (резекция единым блоком,  $n = 4$ ) либо после хирургического удаления локорегионарного рецидива («хирургия спасения»,  $n = 4$ ). Лучевая терапия хорошо переносилась, серьезных осложнений и долгосрочных побочных эффектов не наблюдалось. Все пациенты, перенесшие радикальное удаление первичного очага, на момент окончания наблюдения оставались в клинической и биохимической ремиссии, в то время как лишь 1/4 пациентов, перенесших удаление рецидивных опухолей, не продемонстрировала структурных либо биохимических признаков рецидива/персистенции заболевания. На момент окончания наблюдения 7/8 пациентов были живы (смерть восьмого пациента не была связана с основным заболеванием) [30].

В другом исследовании, проведенном в больнице принцессы Маргарет в Торонто, В.М. Erovic et al. сообщают о том, что у 11 пациентов (из 16), которым проводилось не только первичное хирургическое лечение, но и адьювантная лучевая терапия, 5- и 10-летние показатели выживаемости (зависящая непосредственно от заболевания) составили соответственно 100 и 80%, безрецидивной выживаемости — 69 и 43%. У 7 пациентов из 11 развился рецидив заболевания. Несмотря на маленькую выборку, данное исследование включает одну из самых больших серий случаев в отношении применения адьювантной лучевой терапии для лечения рака ОЩЖ [31].

Лучевая терапия дает возможность контролировать гиперкальциемию, однако низкая чувствительность опухоли не позволяет рассматривать данный вид лечения как эффективный. Поскольку опыт применения недостаточен, роль лучевой терапии в паллиативной терапии остается неясной.

### Химиотерапия

Попытки применения химиотерапии в большинстве случаев не увенчались успехом. Такие схемы, как азотистый иприт, винкристин, циклофосфамид и актиномицин D, адриамицин, циклофосфамид и 5-фторурацил, адриамицин, оказались неэффективными [27].

Положительный эффект наблюдался при применении дакарбазина в монотерапии [32] или в комбинации

с 5-фторурацилом (5-FU) и циклофосфамидом [33], а также комбинации метотрексата, доксорубина, циклофосфамида и ломустина у 69-летней пациентки с нефункционирующей метастатической карциномой ОЩЖ, в результате чего удалось добиться 18-месячной ремиссии с регрессом образования в средостении и уменьшением плеврального выпота [34].

D. В. Calandra et al. описали положительный опыт применения дакарбазина в лечении рецидивирующей карциномы ОЩЖ у 33-летней женщины. Исходно уровень интактного ПТГ (иПТГ) составлял 1032 пг/мл (163–347), кальций — 16,8 мг/дл (8,8–10,0), после лечения отмечено снижение уровня кальция в сыворотке до 5,7 мг/дл. Прогрессирующее течение септицемии, истощение и ДВС-синдром в конечном итоге привели к смерти через 4 нед. По результатам патоморфологического исследования выявлен обширный некроз опухоли, что авторы интерпретируют как результат цитотоксического воздействия препарата [32].

Эффективность цитотоксической химиотерапии не доказана, отсутствуют стандартизированные протоколы лечения. Описаны лишь единичные случаи успешного применения, датированные прошлым веком, что может говорить о неудачных попытках лечения диссеминированных форм рака ОЩЖ с помощью химиотерапии в более поздних исследованиях.

### Таргетная терапия

Пациенты с местно-распространенной или метастазирующей карциномой ОЩЖ обычно подвергаются множественным хирургическим вмешательствам и комплексной симптоматической терапии для контроля гиперкальциемии [11, 16, 30, 35]. У пациентов с диссеминированными формами системная терапия, в том числе в комбинации с дистанционной лучевой терапией и традиционной химиотерапией, не продемонстрировала эффективности [16]. В настоящее время существует потребность в поиске более эффективных вариантов лечения, которые смогут как обеспечить контроль гиперкальциемии, так и снизить опухолевую нагрузку. Одним из перспективных направлений в лечении является таргетная терапия, в том числе иммунотерапия.

**Роль молекулярно-генетического исследования.** Изучение молекулярно-биологического профиля распространенных форм может обеспечить более точную диагностику заболевания и, возможно, что более важно, предоставить новые возможности лечения с помощью таргетной терапии. Результаты секвенирования (NGS) в настоящее время влияют на выбор метода лечения рака щитовидной железы, толстой кишки, легких, головного мозга и яичников, а также меланомы и других солидных опухолей [36]. Что касается рака ОЩЖ, этиология в большинстве случаев неизвестна, чаще всего заболевание носит спорадический характер, реже описаны семейные случаи. К настоящему времени не выявлены мутации, ассоциированные с риском рецидива и более агрессивным течением заболевания.

В исследование M. Kutahyaliglu et al. было включено 11 пациентов с распространенными формами рака ОЩЖ, которым проводилась оценка опухолеспецифических генетических изменений с использованием панелей секвенирования следующего поколения (NGS). На первичном этапе использована панель с 50 генами, у 7 пациентов результат оказался отрицательным, по

этому далее у 6 пациентов исследована панель с 409 генами и у 1 — FoundationOne. Наибольшее количество мутации было выявлено в путях PI3K (PIK3CA, TSC1 и ATM) (4/11 пациентов) и TP53 (3/11). Гены, о которых ранее не сообщалось, что они встречаются при раке ОЩЖ, включали: SDHA, промотор TERT и DICER1. Действующие мутации были обнаружены у 54% (6/11) пациентов [37].

**Опыт применения таргетной терапии в лечении рака ОЩЖ.** У пациентки 47 лет с рецидивом рака ОЩЖ и метастазами в печень выявлены мутации в генах *TP53* и *TSC1*, а также *BCL2L1*, *DCC*, *EP300*, *EPHB4*, *GUCY1A2*, *KDM6A*, *MAG11*, *POT1*, *RNASEL*. Ввиду наличия *TSC1* мутации (регулятор пути PI3K/mTOR), а также имеющих данных о том, что сигнальный белок VEGF экспрессируется в опухолях ОЩЖ и является потенциальной мишенью для таргетной терапии [37], были назначены вандетаниб (антиангиогенный препарат) и эверолимус (ингибитор пролиферативного сигнала mTOR). Через 2,5 мес состояние пациентки стабилизировалось, уровень кальция снизился (с 13,7 до 10 мг/дл).

Второй случай — мужчина 57 лет с синдромом гиперпаратиреоза с опухолью нижней челюсти (НРТ-JT) и наличием зародышевой мутации в гене *CDC73* (*R76X*), при секвенировании выявлена также патогенная соматическая мутация в *CDC73* (*Y55C*). Данный случай подтверждает гипотезу двух мутаций в онкогенезе [38]. Также обнаружена дополнительная соматическая мутация в гене *KDM5C*. Учитывая доказательства того, что пациенты с почечно-клеточным раком с мутациями *KDM5C* имеют положительный ответ на сунитиниб (ингибитор всех рецепторов VEGF и PDGF) [39], для терапии рассматривался антиангиогенный препарат. Пациенту был назначен сорафениб (целевой профиль, сходный с сунитинибом). Первоначально уровень кальция и ПТГ хорошо контролировался, через 3 мес развилась гипокальциемия, в связи с чем лечение цинакальцетом было прекращено, сохранялась нормокальциемия, несмотря на наличие вторичных очагов в шейных лимфатических узлах и легких. Однако после трех лет терапии сорафенибом уровни кальция и ПТГ снова начали повышаться с прогрессированием опухолевого процесса в легких. Применение сорафениба было прекращено, и назначен второй, более мощный антиангиогенный ингибитор — ленватиниб, который пациент принимал в течение 20 мес. На этом фоне удалось добиться стабилизации состояния, поддерживать кальций на уровне 9–10 мг/дл без применения кальцимитетиков.

Еще один случай успешного применения сорафениба (Raf-киназа, VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3, PDGFR-B, KIT, FLT-3 и RET) в дозе 400 мг 2 раза в сутки в лечении диссеминированной формы рака ОЩЖ (метастазы в легкие), осложненной фиброзно-кистозным остеитом, у молодой пациентки описан L. Rozhinskaya et al. По результатам генетического тестирования (NGS) выявлена нонсенс-мутация в *CDC73* с.496C > T (p.Q166X). На фоне проводимой терапии отмечен объективный положительный эффект — уменьшение метастазов в легких по данным МРТ, в костях наблюдалось уменьшение кистозного компонента. Длительность лечения составила 8 мес. Наблюдался побочный эффект препарата в виде ладонно-подошвенной эритродизестезии, которая была купирована локальным применением декспантенола, топического комбинированного кортикостероида (бетаметазон + гентамицин + клотримазол), а также антиоксидантного комплекса «Элима» [40].

### Иммунотерапия

**Иммунизация.** Первый опыт создания иммунотерапии описан M. Schott et al. Как известно, дендритные клетки являются основными антиген-презентирующими клетками для наивных Т-лимфоцитов. Ученые предположили, что иммунизация дендритными клетками, нагруженными опухолевым антигеном, может стать мощным индуктором противоопухолевого иммунного ответа. Пациентке с местным рецидивом и отдаленным метастазом рака ОЩЖ в легкое вводили смесь дендритных клеток, которые были культивированы в присутствии различных факторов (ГМ-КСФ, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-4). При введении смеси дендритных клеток, которые были культивированы в присутствии опухолевого лизата, не отмечено положительного эффекта (значительно выросли уровни ПТГ, кальция, отмечено прогрессирование метастазов в легких), однако культивирование после замены лизата опухоли на ПТГ дало положительный эффект в виде развития гиперчувствительности замедленного типа и снижения уровня сывороточного ПТГ [41].

Попытки применения иммунотерапии также были предприняты A.R. Bradwell и T.C. Harvey. Ученые вводили смесь из 200 мг генно-инженерного человеческого ПТГ, содержащего 1–34 аминокислоты, и аминоконцевые пептиды ПТГ, полученные от крупного рогатого скота, и 50 мг интактного ПТГ человека 62-летней пациентке с раком ОЩЖ и метастазами в плевру и легкие, осложненным тяжелой гиперкальциемией. При исследовании через 4 нед после начальной иммунизации были выявлены антитела к ПТГ, в дальнейшем при повторных введениях титр увеличивался. Концентрация кальция сыворотки крови снизилась с 3,5–4,2 до 2,5–3,0 ммоль/л за 6 мес терапии. Кроме того, отмечено значительное клиническое улучшение. В данном случае на фоне иммунизации было отмечено повышение уровня сывороточного ПТГ, что связано с образованием иммунных комплексов [42]. Позже описан похожий клинический случай иммунизации пациентки с диссеминированной формой рака ОЩЖ с помощью смеси пептидов ПТГ с 2001 по 2003 г. Начиная с четвертого введения были отмечены снижение уровня ПТГ и кальция сыворотки (оставались контролируемые в течение 24 мес), клиническое улучшение, а также, что удивительно, уменьшение размеров метастатических очагов в легких по сравнению с исходными на 39–71% ( $p < 0,05$ ) [43]. Подобный случай представлен M. Sarquis, когда 62-летней пациентке с метастатическим раком ОЩЖ и мутацией в гене *CDC73* (с.686\_688delAGAG) было проведено комплексное комбинированное лечение, которое включало иммунотерапию (вводили смесь пептидов ПТГ) и хирургическое вмешательство (удаление обнаруженных на ПЭТ-КТ метастатических очагов в легких). Результаты иммуноблога показали выраженную реакцию на N-концевой пептид ПТГ (1–34), умеренную — на C-концевой (51–84) и слабую — на среднюю часть (33–52). Данный подход позволил добиться у данной пациентки 12-летней ремиссии [44].

Побочные явления, наблюдавшиеся в описанных случаях, включали кожные узелки с изъязвлением, которые потом заживали, локальную лимфаденопатию.

**Микроокружение опухоли, ингибиторы контрольных точек иммунного ответа.** Еще одним актуальным направлением является исследование микросателлитной нестабильности, которая связана с нарушением функций генов *MSH2*, *MLH1*, *PMS2* и *MSH6*, отвечающих за репарацию неспаренных нуклеотидов ДНК [45]. В настоящее

время известно, что микросателлитная нестабильность — это независимый прогностический фактор, определяющий степень злокачественности рака толстой кишки. Микросателлитная нестабильность ведет к большей мутационной нагрузке, что провоцирует увеличение инфильтрации опухоли цитотоксическими лимфоцитами за счет появления неоэпитопов и, как следствие, неоантигенов опухоли. [45]. В таких условиях опухоли помогает выживать увеличенная экспрессия Т-клеточного корцептора Programmed Death-1 (PD-1) и его лигандов (B7-H1/PD-L1), которые способствуют иммуносупрессивному микроокружению опухоли [46]. PD-L1 является первичным лигандом PD-1, который активируется в солидных опухолях, где он может ингибировать продукцию цитокинов и цитолитическую активность PD-1+, инфильтрирующих опухоль CD4+ и CD8+ Т-клеток. Эти свойства делают PD-L1 потенциально многообещающей мишенью для иммунотерапии рака [47]. Разработаны так называемые ингибиторы контрольных точек иммунного ответа, FDA одобрены такие препараты этой категории, как ниволумаб (анти-PD1), пембролизумаб (анти-PD1), атезолизумаб (анти-PDL1), авелумаб (анти-PDL1), дурвалумаб (анти-PDL1) и ипилимумаб (анти-CTLA4) [48]. Наибольшее распространение в лечении злокачественных образований, в том числе и рака ОЩЖ, получил пембролизумаб [46].

Один из таких случаев применения данного препарата описан D. Park, R. Aigi, M. Sherman. 65-летнему пациенту с метастатическим раком ОЩЖ провели полноэкзомное секвенирование ДНК, транскриптома РНК, в результате чего обнаружены мутации генов *MSH2* и *MSH6*. Учитывая выявленные мутации, пациенту проведено пять курсов лечения пембролизумабом в течение 4 мес, отмечен положительный эффект в виде уменьшения метастатического поражения в легких более чем на 60% по данным КТ. Уже после первого курса лечения уровень кальция сыворотки снизился с 2,8 до 2,57 ммоль/л, а ПТГ — со 150 до 64 пг/мл. В дальнейшем из-за развития осложнений, таких как тяжелый колит и диарея, препарат был отменен [49].

Ch. Lenschow et al. [50] также представили клинический случай применения пембролизумаба у пациентки с рецидивом рака ОЩЖ и отдаленными метастазами в лимфатические узлы ворот печени. Что интересно, при иммуногистохимическом исследовании метастаза не обнаружено положительной экспрессии PD-L1, а генетическое исследование не выявило микросателлитной нестабильности и мутаций в генах *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* и *PMS2*. Учитывая потребность в высоких дозах цинакальцета (150 мг) для контроля уровня кальция, принято решение об инициации экспериментальной терапии пембролизумабом, пациент был включен в проспективное наблюдательное исследование NCT/DKTK MASTER (Molecularly Aided Stratification for Tumor Eradication Research). Лечение было начато в 2017 г. После четырех циклов терапии уровень ПТГ снизился с 1906 до 613 нг/л. В дальнейшем выявлялись новые очаги метастатического поражения лимфатических узлов брюшной полости, диафрагмы, которые были также резецированы. До 2020 г. у пациентки сохранялась биохимическая ремиссия (сывороточный кальций — 2,4 ммоль/л, ПТГ — 42,7 пг/мл) без какой-либо терапии [50].

Таким образом, таргетная иммунотерапия является многообещающим методом лечения диссеминированных форм. Изучение иммунопатогенеза опухоли может помочь не только в понимании механизмов адаптации опу-

холевых клеток, что позволит выявлять мишени для воздействия таргетными препаратами, но и прогнозировать исходы. Однако связь между иммунным микроокружением опухоли и клиническими исходами у пациентов с раком ОЩЖ еще предстоит выяснить. В последнее время ведутся исследования по изучению микроокружения опухолей и разработке иммунологических шкал для прогнозирования исходов [51]. В одном из исследований Y. Hu et al. изучали иммуноокружение рака ОЩЖ. В результате индекс Ki-67 коррелировал со степенью инфильтрации опухоли CD3+ ( $p = 0,022$ ) и CD8+-клетками ( $p = 0,021$ ), уровнем кальция в сыворотке ( $p = 0,022$ ). Было показано, что факторами риска рецидива/метастазирования являлись низкая плотность CD3+ ( $p = 0,017$ ), CD8+ ( $p = 0,019$ ) и CD45+-клеток ( $p = 0,047$ ), высокая плотность CD163+-клеток ( $p = 0,003$ ) [52]. В настоящий момент аналогов Immunoscore, применимых к раку ОЩЖ, не разработано, что является потенциальной областью научных исследований и открытий.

### Симптоматическое лечение

Поскольку тяжелое течение рака ОЩЖ обусловлено гормональной активностью, что может привести к жизнеугрожающей гиперкальциемии, существует потребность в симптоматическом лечении.

Для лечения острой гиперкальциемии применяются внутривенная гидратация, петлевые диуретики (фуросемид), кальцитонин, глюкокортикоиды, в редких случаях — митрамицин и гемодиализ. Кратковременного снижения уровня кальция можно добиться внутривенным введением бисфосфонатов — памидроната (60–90 мг/2 ч) или золедроната (4 мг внутривенно/15–30 мин) [5, 53]. Однако в случае почечной недостаточности возможно введение деносумаба 120 мг подкожно с повторным введением не ранее чем через неделю до получения клинического ответа [54].

Для контроля гиперкальциемии, а также в качестве паллиативной терапии применяются кальцимитетики и антирезорбтивные препараты — бисфосфонаты и деносумаб. Кальцимитетики стали более эффективным решением для смягчения гиперкальциемии при раке ОЩЖ за счет снижения продукции ПТГ. Начальная доза составляет 30 мг 2 раза в день, ее можно увеличить через 2–4-недельные интервалы в зависимости от переносимости пациентом и клинического эффекта [55]. Золедронат и памидронат также используются для лечения гиперкальциемии, так как они адсорбируются на поверхности кости, препятствуют ее резорбции и ингибируют высвобождение кальция [53]. Деносумаб применяется при гиперкальциемии, рефрактерной к кальцимитетикам и бисфосфонатам, а также в комплексе с данными препаратами [54].

### Другие методы лечения

Данный раздел включает другие описанные в единичных случаях методы лечения, применяемые, когда другие неэффективны, либо в качестве «экспериментальных».

**Аналоги соматостатина.** Многие нейроэндокринные опухоли чувствительны к терапии аналогами соматостатина, поэтому были попытки применения препарата в лечении рака ОЩЖ. Аналог соматостатина длительного действия, октреотид, как сообщается Н. Kouano et al.,

ингибирует секрецию ПТГ у пациентов с метастазами карциномы ОЩЖ в кости. Описан единичный успешный опыт применений октреотида у 62-летней женщины с карциномой ОЩЖ. Несмотря на хирургическое лечение первичного очага, сохранялась гиперкальциемия вследствие метастатических очагов в костях, которые были выявлены с помощью скинтиграфии  $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ . Октреотид снижал уровень ПТГ, тогда как бисфосфонаты, кальцитонин и инфузионная терапия снижали лишь уровень кальция, но не влияли на ПТГ. В дальнейшем метастатический очаг был удален [56]. Однако отсутствие других случаев лечения рака ОЩЖ с помощью аналогов соматостатина может говорить о неудачном опыте применения других исследователей.

**Радиочастотная абляция, транскатетерная артериальная эмболизация.** Успешные случаи применения радиочастотной абляции (РЧА) при метастатическом поражении органов описаны в Японии [57, 58] и Индии [35]. R. DasGupta et al. рассказали о клиническом случае 48-летнего пациента с метастатическим поражением легких и костного скелета (череп, позвонков, лопаток, таза). Из-за множественного поражения организма принято решение применить РЧА на область легких. В течение 72 ч после абляции скорректированный уровень кальция сыворотки снизился до 9,5 мг/дл (исходно — 12,8), ПТГ — до 400 пг/мл (исходно — 1500), фосфор повысился до 2,7 мг/дл (исходно — 1,7). Пациент оставался стабилен в течение 3 мес наблюдения [35].

Комбинация РЧА и транскатетерной артериальной эмболизации (ТАЭ) использовалась для лечения множественных метастатических поражений печени у 71-летнего пациента. Учитывая внутривенное расположение очагов и распространенность процесса, паллиативный характер операции, предпочтение было отдано РЧА, на этом фоне сывороточный кальций снизился с 12,7 до 10,3 мг/дл, а ПТГ — с 266 до 115 пг/мл. Так как резидуальное поражение печени локализовалось преимущественно в правой доле, выполнена ТАЭ правой печеночной артерии. Спустя 1 мес после процедуры уровень кальция снизился до 8,7 мг/дл, а симптомы гиперкальциемии исчезли (симптоматическая терапия бисфосфонатами и цинакальцетом продолжалась, однако дозы были снижены). Длительность наблюдения на момент публикации клинического случая составила 4 года, при этом уровень ПТГ составил 53 пг/мл, кальций сыворотки — 9,3 мг/дл [59].

**Химическая абляция.** В Бразилии у 50-летнего мужчины с рецидивирующим раком ОЩЖ в качестве паллиативной терапии применили абляцию опухоли с помощью этанола, который вводили чрескожно под УЗ-контролем, серьезных осложнений отмечено не было. Это привело к уменьшению размера опухоли, а также снижению уровня ПТГ в выворотке крови с 2,990 до 2,230 пг/мл после первой инъекции и до 1,104 пг/мл после второй, кальций снизился с 19,8 до 16,1 мг/дл и до 14,5 мг/дл соответственно. Несмотря на временный успех, пациент скончался через 2 мес от тяжелой гиперкальциемии вследствие распространенности метастатического процесса [60].

### Заключение

Основными проблемами в диагностике и лечении данного заболевания являются поздняя диагностика ввиду отсутствия специфических симптомов и признаков,

достоверных предоперационных предикторов, специфических гистопатологических и радиологических критериев диагностики, ограниченный опыт хирургического доступа из-за редкости заболевания, отсутствие эффективной терапии.

Основной метод лечения карциномы ОЩЖ — резекция первичного очага единым блоком. Что касается диссеминированных форм, то лечение может включать хирургическое вмешательство (метастазэктомия), лучевую, химио- и симптоматическую терапию для купирования гиперкальциемии, однако данные виды лечения имеют минимальную эффективность. Молекулярный анализ позволяет выявить мишени к воздействию лекарственных препаратов. Уже получены положительные результаты применения ингибиторов контрольных точек иммунного ответа в лечении распространенных форм рака ОЩЖ. Иммунотерапия является развивающейся областью исследований, которая требует дальнейшего изучения, также стоит оценить соотношение пользы и риска применения данного вида терапии.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Исследование выполнено в рамках государственного задания «Оптимизация Российского электронного реестра пациентов с первичным гиперпаратиреозом», регистрационный номер 121030100032-7.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных или потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Участие авторов.** Е.И. Ким — анализ литературных данных, написание основного текста, редактирование статьи; П.В. Белоусов — внесение правок, финальное редактирование статьи; К.А. Трутнева — внесение правок, финальное редактирование статьи; Ю.А. Крупинова — финальное редактирование текста статьи; Н.Г. Мокрышева — финальное редактирование текста статьи. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

### ЛИТЕРАТУРА

- Hundahl SA, Fleming ID, Fremgen AM, et al. Two hundred eighty-six cases of parathyroid carcinoma treated in the U.S. between 1985–1995: a National Cancer Data Base Report. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. *Cancer*. 1999;86(3):538–544. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19990801\)86:3<538::AID-CNCR25>3.0.CO;2-k](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19990801)86:3<538::AID-CNCR25>3.0.CO;2-k)
- Lee PK, Jarosek SL, Virnig BA, et al. Trends in the incidence and treatment of parathyroid cancer in the United States. *Cancer*. 2007;109(9):1736–1741. doi: <https://doi.org/10.1002/cncr.22599>
- Fraser WD. Hyperparathyroidism. *Lancet*. 2009;374(9684):145–158. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60507-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60507-9)
- Obregón LM, Taylor MF, Mir G, et al. Parathyroidectomy for parathyroid carcinoma in renal transplantation. *Transplant Proc*. 2005;37(2):973–976. doi: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2004.12.305>
- Machado NN, Wilhelm SM. Parathyroid cancer: A review. *Cancers (Basel)*. 2019;11(11):1676. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers11111676>
- Ryhänen EM, Leijon H, Metso S, et al. A nationwide study on parathyroid carcinoma. *Acta Oncol*. 2017;56(7):991–1003. doi: <https://doi.org/10.1080/0284186X.2017.1306103>
- Brown S, O'Neill C, Suliburk J, et al. Parathyroid carcinoma: Increasing incidence and changing presentation. *ANZ J Surg*. 2011;81(7–8):528–532. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1445-2197.2010.05594.x>
- Van der Zwan JM, Mallone S, van Dijk B, et al. Carcinoma of endocrine organs: Results of the RARECARE project. *Eur J Cancer*. 2012;48(13):1923–1931. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.01.029>
- Sadler C, Gow KW, Beierle EA, et al. Parathyroid carcinoma in more than 1,000 patients: A population-level analysis. *Surgery*. 2014;156(6):1622–1630. doi: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2014.08.069>
- Sandelin K, Auer G, Bondeson L, et al. Prognostic factors in parathyroid cancer: A review of 95 cases. *World J Surg*. 1992;16(4):724–731. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02067369>
- Busaidy NL, Jimenez C, Habra MA, et al. Parathyroid carcinoma: A 22-year experience. *Head Neck*. 2004;26(8):716–726. doi: <https://doi.org/10.1002/hed.20049>
- Iacobone M, Lumachi F, Favia G. Up-to-date on parathyroid carcinoma: Analysis of an experience of 19 cases. *J Surg Oncol*. 2004;88(4):223–228. doi: <https://doi.org/10.1002/jso.20152>
- Rodrigo JP, Hernandez-Prera JC, Randolph GW, et al. Parathyroid cancer: An update. *Cancer Treat Rev*. 2020;86:102012. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2020.102012>
- Kebebew E. Parathyroid carcinoma. *Curr Treat Options Oncol*. 2001;2(4):347–354. doi: <https://doi.org/10.1007/s11864-001-0028-2>
- Shifrin A, LiVolsi V, Shifrin-Douglas S, et al. Primary and metastatic parathyroid malignancies: A rare or underdiagnosed condition? *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(3):E478–E481. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-2760>
- Salcuni AS, Cetani F, Guarnieri V, et al. Parathyroid carcinoma. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2018;32(6):877–889. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.11.002>
- Erickson LA, Mete O, Juhlin CC, et al. Overview of the 2022 WHO Classification of Parathyroid Tumors. *Endocr Pathol*. 2022;33(1):64–89. doi: <https://doi.org/10.1007/s12022-022-09709-1>
- Cetani F, Marcocci C, Torregrossa L, et al. Atypical parathyroid adenomas: challenging lesions in the differential diagnosis of endocrine tumors. *Endocr Relat Cancer*. 2019;26(7):R441–R464. doi: <https://doi.org/10.1530/ERC-19-0135>
- Erickson LA, Mete O. Immunohistochemistry in Diagnostic Parathyroid Pathology. *Endocr Pathol*. 2018;29(2):113–129. doi: <https://doi.org/10.1007/s12022-018-9527-6>
- Juhlin CC, Nilsson IL, Lagerstedt-Robinson K, et al. Parafibrin immunostainings of parathyroid tumors in clinical routine: a near-decade experience from a tertiary center. *Mod Pathol*. 2019;32(8):1082–1094. doi: <https://doi.org/10.1038/s41379-019-0252-6>
- Xue S, Chen H, Lv C, et al. Preoperative diagnosis and prognosis in 40 Parathyroid Carcinoma Patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2016;85(1):29–36. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.13055>
- Asare EA, Sturgeon C, Winchester DJ, et al. Parathyroid Carcinoma: An Update on Treatment Outcomes and Prognostic Factors from the National Cancer Data Base (NCDB). *Ann Surg Oncol*. 2015;22(12):3990–3995. doi: <https://doi.org/10.1245/s10434-015-4672>
- Hsu KT, Sippel RS, Chen H, et al. Is central lymph node dissection necessary for parathyroid carcinoma? *Surgery*. 2014;156(6):1336–1341. doi: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2014.08.005>
- Perrier ND, Arnold A, Costa-Guda J, et al. Hereditary endocrine tumours: Current state-of-the-art and research opportunities: New and future perspectives for parathyroid carcinoma. *Endocr Relat Cancer*. 2020;27(8):T53–T63. doi: <https://doi.org/10.1530/ERC-20-0018>
- Lenschow C, Schrägle S, Kircher S, et al. Clinical Presentation, Treatment, and Outcome of Parathyroid Carcinoma: Results of the NEKAR Retrospective International Multicenter Study. *Ann Surg*. 2022;275(2):e479–e487. doi: <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000004144>
- Leonard-Murali S, Ivanics T, Kwon DS, et al. Local resection versus radical surgery for parathyroid carcinoma: A National Cancer

- Database analysis. *Eur J Surg Oncol*. 2021;47(11):2768–2773. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejso.2021.06.026>
27. Shane E. Clinical review 122: Parathyroid Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(2):485–493. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem.86.2.7207>
  28. Cetani F, Pardi E, Marcocci C. Update on parathyroid carcinoma. *J Endocrinol Invest*. 2016;39(6):595–606. doi: <https://doi.org/10.1007/s40618-016-0447-3>
  29. Storvall S, Ryhänen E, Bensch FV, et al. Recurrent Metastasized Parathyroid Carcinoma-Long-Term Remission after Combined Treatments with Surgery, Radiotherapy, Cinacalcet, Zoledronic Acid, and Temozolomide. *JBMR Plus*. 2019;3(4):e10114. doi: <https://doi.org/10.1002/jbm4.10114>
  30. Christakis I, Silva AM, Williams MD, et al. Postoperative local-regional radiation therapy in the treatment of parathyroid carcinoma: The MD Anderson experience of 35 years. *Pract Radiat Oncol*. 2017;7(6):e463–e470. doi: <https://doi.org/10.1016/j.prro.2017.05.009>
  31. Erovic BM, Goldstein DP, Kim D, et al. Parathyroid cancer: Outcome analysis of 16 patients treated at the princess margaret hospital. *Head Neck*. 2013;35(1):35–39. doi: <https://doi.org/10.1002/hed.22908>
  32. Calandra DB, Chejfec G, Foy BK, et al. Parathyroid carcinoma: biochemical and pathologic response to DTIC. *Surgery*. 1984;96(6):1132–1137.
  33. Bukowski RM, Sheeler L, Cunningham J, et al. Successful Combination Chemotherapy for Metastatic Parathyroid Carcinoma. *Arch Intern Med*. 1984;144(2):399–400. doi: <https://doi.org/10.1001/archinte.1984.00350140229032>
  34. Chahinian AP, Holland JF, Nieburgs HE, et al. Metastatic nonfunctioning parathyroid carcinoma: ultrastructural evidence of secretory granules and response to chemotherapy. *Am J Med Sci*. 1981;282(2):80–84. doi: <https://doi.org/10.1097/00000441-198109000-00005>
  35. DasGupta R, Shetty S, Keshava SN, et al. Metastatic parathyroid carcinoma treated with radiofrequency ablation: A novel therapeutic modality. *Australas Med J*. 2014;7(9):372–375. doi: <https://doi.org/10.4066/AMJ.2014.2084>
  36. Singh RR, Patel KP, Routbort MJ, et al. Clinical validation of a next-generation sequencing screen for mutational hotspots in 46 cancer-related genes. *J Mol Diagn*. 2013;15(5):607–622. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2013.05.003>
  37. Kutahyaliloglu M, Nguyen HT, Kwatampora L, et al. Genetic profiling as a clinical tool in advanced parathyroid carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2019;145(8):1977–1986. doi: <https://doi.org/10.1007/s00432-019-02945-9>
  38. Knudson AG. Two genetic hits (more or less) to cancer. *Nat Rev Cancer*. 2001;1(2):157–162. doi: <https://doi.org/10.1038/35101031>
  39. Hsieh JJ, Chen D, Wang PI, et al. Genomic Biomarkers of a Randomized Trial Comparing First-Line Everolimus and Sunitinib in Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol*. 2017;71(3):405–414. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.10.007>
  40. Rozhinskaya L, Pigarova E, Sabanova E, et al. Diagnosis and treatment challenges of parathyroid carcinoma in a 27-year-old woman with multiple lung metastases. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep*. 2017;2017:16-0113. doi: <https://doi.org/10.1530/EDM-16-0113>
  41. Schott M, Feldkamp J, Schaltenberg D, et al. Dendritic cell immune-therapy in disseminated parathyroid carcinoma. *Lancet*. 1999;353(9159):1188–1189. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)74412-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)74412-3)
  42. Bradwell AR, Harvey TC. Control of hypercalcaemia of parathyroid carcinoma by immunisation. *Lancet*. 1999;353(9150):370–373. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(98\)06469-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(98)06469-1)
  43. Betea D, Bradwell AR, Harvey TC, et al. Hormonal and biochemical normalization and tumor shrinkage induced by anti-parathyroid hormone immunotherapy in a patient with metastatic parathyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(7):3413–3420. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031911>
  44. Sarquis M, Marx SJ, Beckers A, et al. Long-term remission of disseminated parathyroid cancer following immunotherapy. *Endocrine*. 2020;67(1):204–208. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-019-02136-z>
  45. Dudley JC, Lin M-T, Le DT, et al. Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 Blockade. *Clin Cancer Res*. 2016;22(4):813–820. doi: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-1678>
  46. Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM. Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol*. 2012;24(2):207–212. doi: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2011.12.009>
  47. Hino R, Kabashima K, Kato Y, et al. Tumor cell expression of programmed cell death-1 ligand 1 is a prognostic factor for malignant melanoma. *Cancer*. 2010;116(7):1757–1766. doi: <https://doi.org/10.1002/cncr.24899>
  48. Cancer Research Institute. Timeline of progress. Available from: <https://www.cancerresearch.org/immunotherapy/timeline-of-progress> (accessed: 22.09.2019).
  49. Park D, Airi R, Sherman M. Microsatellite instability driven metastatic parathyroid carcinoma managed with the anti-PD1 immunotherapy, pembrolizumab. *BMJ Case Rep*. 2020;13(9):e235293. doi: <https://doi.org/10.1136/bcr-2020-235293>
  50. Lenschow C, Fuss CT, Kircher S, et al. Case Report: Abdominal Lymph Node Metastases of Parathyroid Carcinoma: Diagnostic Workup, Molecular Diagnosis, and Clinical Management. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12:643328. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.643328>
  51. Galon J, Lanzi A. Immunoscore and its introduction in clinical practice. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2020;64(2):152–161. doi: <https://doi.org/10.23736/S1824-4785.20.03249-5>
  52. Hu Y, Cui M, Bi Y, et al. Immuncyte density in parathyroid carcinoma is correlated with disease relapse. *J Endocrinol Invest*. 2020;43(10):1453–1461. doi: <https://doi.org/10.1007/s40618-020-01224-6>
  53. Mirrakhimov A.E. Hypercalcemia of Malignancy: An Update on Pathogenesis and Management. *N Am J Med Sci*. 2015;7(11):483–493. doi: <https://doi.org/10.4103/1947-2714.170600>
  54. Hu MI, Glezerman IG, Leboulleux S, et al. Denosumab for treatment of hypercalcemia of malignancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(9):3144–3152. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1001>
  55. Silverberg SJ, Rubin MR, Faiman C, et al. Cinacalcet hydrochloride reduces the serum calcium concentration in inoperable parathyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(10):3803–3808. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2007-0585>
  56. Koyano H, Shishiba Y, Shimizu T, et al. Successful Treatment by Surgical Removal of Bone Metastasis Producing PTH: New Approach to the Management of Metastatic Parathyroid Carcinoma. *Intern Med*. 1994;33(11):697–702. doi: <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.33.697>
  57. Iguchi T, Yasui K, Hiraki T, et al. Radiofrequency ablation of functioning lung metastases from parathyroid carcinoma. *J Vasc Interv Radiol*. 2008;19(3):462–464. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jvir.2007.12.440>
  58. Tochio M, Takaki H, Yamakado K, et al. A Case report of 20 lung radiofrequency ablation sessions for 50 lung metastases from parathyroid carcinoma causing hyperparathyroidism. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2010;33(3):657–659. doi: <https://doi.org/10.1007/s00270-009-9730-4>
  59. Artinyan A, Guzman E, Maghami E, et al. Metastatic parathyroid carcinoma to the liver treated with radiofrequency ablation and transcatheter arterial embolization. *J Clin Oncol*. 2008;26(24):4039–4041. doi: <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.15.9038>
  60. Montenegro FL, Chammas MC, Juliano AG, et al. Ethanol injection under ultrasound guidance to palliate unresectable parathyroid carcinoma. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2008;52(4):707–711. doi: <https://doi.org/10.1590/s0004-27302008000400019>

## КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Ким Екатерина Игоревна**, врач-эндокринолог, аспирант [*Ekaterina I. Kim*, MD, PhD Student];  
адрес: 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11, Dm. Ulyanova str., 117036, Moscow, Russia];  
e-mail: kat-alex2007@mail.ru, SPIN-код: 1628-2139, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7879-8495>

**Крупина Юлия Александровна**, врач-эндокринолог, к.м.н. [*Julia A. Krupinova*, MD, PhD];  
e-mail: j.krupinova@gmail.com, SPIN-код: 6279-8247, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7963-5022>

**Белоусов Павел Владимирович**, старший научный сотрудник [*Pavel V. Belousov*, Senior Research Associate];  
e-mail: belousp@gmail.com, SPIN-код: 5531-6435, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8216-517X>

**Трутнева Ксения Александровна**, научный сотрудник, к.б.н. [*Kseniya A. Trutneva*, Researcher, PhD in Biology];  
e-mail: trutneva-k@mail.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4748-6362>

**Мокрышева Наталья Георгиевна**, д.м.н., профессор [*Natalya G. Mokrysheva*, MD, PhD, Professor];  
e-mail: mokrysheva.natalia@endocrincentr.ru, SPIN-код: 5624-3875, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9717-9742>

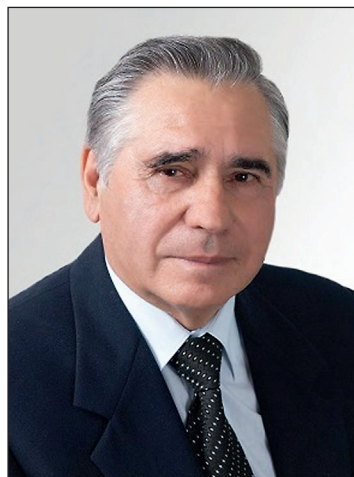
И.В. Решетов<sup>1</sup>, Н.В. Сергеева<sup>2</sup>, А.А. Сериков<sup>1</sup><sup>1</sup>Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация<sup>2</sup>Российская академия наук, Москва, Российская Федерация

## К 85-летию академика РАН Виктора Кузьмича Гостищева

21 ноября исполнилось 85 лет Виктору Кузьмичу Гостищеву — профессору, Заслуженному деятелю науки РФ, лауреату Государственной премии РФ и дважды лауреату премии Правительства РФ (1995, 2002 гг.), академику РАН, профессору кафедры общей хирургии лечебного факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, председателю проблемной комиссии РАМН и Министерства здравоохранения РФ «Инфекция в хирургии», президенту Ассоциации общих хирургов РФ, члену правления Российского общества эндоскопических хирургов, члену редколлегии научно-практических журналов «Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова», «Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б.В. Петровского», «Вестник экспериментальной и клинической хирургии», «Раны и раневые инфекции. Журнал имени проф. Б.М. Костюченко», члену Международного общества хирургов и Международной ассоциации гепатопанкреатобилиарной хирургии.

**Ключевые слова:** юбилей, Гостищев Виктор Кузьмич, хирургия, эндоскопия

**Для цитирования:** Решетов И.В., Сергеева Н.В., Сериков А.А. К 85-летию академика РАН Виктора Кузьмича Гостищева. Вестник РАМН. 2022;77(5):371–372. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2316>



Гостищев Виктор Кузьмич

Виктор Кузьмич родился в крестьянской семье в с. Гостишево Белгородской области [1]. Основу для формирования таких определяющих личность качеств Виктора Кузьмича, как глубокий патриотизм, милосердие и порядочность, во многом заложили события военного детства — два года жизни на оккупированной территории, танковое сражение на Курской дуге, гибель отца на фронте, послевоенные голод и разруха.

В 1961 г. В.К. Гостищев окончил лечебный факультет Курского медицинского института и для продолжения обучения был направлен АМН СССР в Первый Московский орден Ленина медицинский институт (ныне Первый МГМУ им. И.М. Сеченова), где работал сначала в качестве ординатора, ассистента, а затем — доцента, профессора и заведующего кафедрой общей хирургии (1988 г.). Профессиональное становление В.К. Гостищева прошло под бессменным руководством академика АМН СССР, профессора Виктора Ивановича Стручкова, что нашло отражение и в успешной защите кандидатской (1965 г.) и докторской (1973 г.) диссертаций; под его влиянием В.К. Гостищевым было избрано основное направление его последующей научной деятельности — хирургическая инфекция. В соавторстве с В.И. Стручковым были изданы такие монографии и руководства, как «Протеолитические ферменты в хирургии», «Трофические язвы», «Антибиотики в хирургии»,

371

I.V. Reshetov<sup>1</sup>, N.V. Sergeeva<sup>2</sup>, A.A. Serikov<sup>1</sup><sup>1</sup>Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation<sup>2</sup>Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

## To the 85<sup>th</sup> Anniversary of Academician of the Russian Academy of Sciences Viktor Kuzmich Gostishev

November 21 marks the 85th anniversary of Viktor Kuzmich Gostishev, Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Laureate of the State Prize of the Russian Federation and twice the Prize of the Government of the Russian Federation (1995, 2002), Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Department of General Surgery of the Faculty of Medicine of the First Moscow State Medical University. I.M. Sechenov, Chairman of the Problem Commission of the Russian Academy of Medical Sciences and the Ministry of Health of the Russian Federation “Infection in Surgery”, President of the Association of General Surgeons of the Russian Federation, member of the Board of the Russian Society of Endoscopic Surgeons, member of the editorial boards of scientific and practical journals “Surgery. N.I. Pirogov Journal”, “Clinical and experimental surgery. Journal named after Academician B.V. Petrovsky”, “Bulletin of Experimental and Clinical Surgery”, “Wounds and wound infections. Journal named after prof. B.M. Kostyuchenka”, member of the International Society of Surgeons and the International Association of Hepato-Pancreato-Biliary Surgery.

**Keywords:** jubilee, Viktor Kuzmich Gostishev, surgery, endoscopy

**For citation:** Reshetov IV, Sergeeva NV, Serikov AA. To the 85<sup>th</sup> Anniversary of Academician of the Russian Academy of Sciences Viktor Kuzmich Gostishev. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2022;77(5):371–372. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2316>



«Гнойная рана» и «Руководство по гнойной хирургии». Приоритетом научной деятельности В.К. Гостищева и сегодня являются основополагающие исследования хирургической инфекции костей, мягких тканей, в торакальной и абдоминальной хирургии. Являясь наиболее ярким представителем научной школы В.И. Стручкова, Виктор Кузьмич постоянно показывает пример бережного и уважительного отношения к памяти своего Учителя, прежде всего поддерживая заложенные им традиции. Изданные под авторством В.К. Гостищева монографии и руководства по хирургической инфекции, в том числе «Гнойные заболевания кисти», «Гнойная хирургия таза», «Перитонит», «Оперативная гнойная хирургия» и «Инфекции в торакальной хирургии», в настоящее время являются настольными книгами для хирургов и специалистов различных специальностей.

Наиболее яркие инновации, предложенные В.К. Гостищевым, — оригинальные методики лапаро-, торако- и торакоабсцессостомии, операции при гнойном сакроилеите. Как наиболее авторитетный отечественный специалист в области хирургической инфекции, в настоящее время В.К. Гостищев является председателем проблемной комиссии РАМН и Минздрава России «Инфекция в хирургии», президентом Ассоциации общих хирургов РФ.

Научные изыскания В.К. Гостищева охватывают также многочисленные проблемы неотложной абдоминальной хирургии. В своих работах он неоднократно демонстрировал, что основополагающими моментами в поиске новых, эффективных методов лечения больных является прежде всего углубленное изучение вопросов патогенеза и хирургической тактики, а не узконаправленная разработка технических приемов. Данное положение иллюстрируется в том числе и монографиями, посвященными проблеме гастродуоденальных язвенных кровотечений, — «Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, осложненная кровотечением» и «Острые гастродуоденальные язвенные кровотечения: от стратегических концепций к лечебной тактике».

В 1980 г. Виктор Кузьмич приказом Минздрава СССР был назначен руководителем медицинского госпиталя для оказания помощи пострадавшим от землетрясения в Алжире, в 1988 г. — руководителем хирургической службы по оказанию помощи пострадавшим от землетрясения в г. Спитаке в Армении.

Особое внимание Виктор Кузьмич Гостищев уделяет обучению студентов. Являясь председателем Ассоциации общих хирургов РФ, В.К. Гостищев проводит целенаправленную методическую работу по проблемам преподавания хирургии в медицинских вузах. Виктор Кузьмич — автор многочисленных учебных и методических пособий для студентов. Наиболее важным из них стал учебник «Общая хирургия», выдержавший пять переизданий и переведенный на английский язык. Отличительными чертами учебника и методических руководств выступают концептуальность и в то же время простота изложения обширного материала и самых современных положений, а также возможность использования учебника практикующими врачами. Более 20 лет В.К. Гостищев был деканом лечебного факультета Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова. Во многом благодаря именно В.К. Гостищеву в настоящее время сохранены традиции медицинского образования в России. Многие выпускники лечебного факультета Московской медицинской академии, вспоминая студенческие годы, с особой теплотой отзываются о Викторе Кузьмиче — «декане не по положению, а по призванию».

Отражением педагогической деятельности Виктора Кузьмича Гостищева стало и создание собственной научной хирургической школы. При его научном консультировании и под его руководством было выполнено 27 докторских и более 80 кандидатских диссертаций.

В.К. Гостищев является автором более 500 печатных работ, в том числе более 20 патентов, 20 монографий, учебников и учебных пособий, более 200 работ, опубликованных в изданиях, индексируемых в Scopus и Web of Science.

С 1993 г. В.К. Гостищев является членом-корреспондентом РАМН, с 1999 г. — академиком РАМН, с 2013 г. — академиком РАН.

Трудовой путь В.К. Гостищева оценен по достоинству — он награжден Государственной премией, премиями Правительства РФ, почетным званием «Заслуженный деятель науки Российской Федерации», орденами «Знак Почета», Трудового Красного Знамени, Дружбы.

Секция клинической медицины отделения медицинских наук РАН от души поздравляет академика В.К. Гостищева со славным юбилеем! Желаем дальнейших плодотворных лет научной жизни!

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гостищев Виктор Кузьмич // Википедия. [Gostishchev Viktor Kuz'mich. *Vikipediya*.] Available from: [https://ru.wikipedia.org/wiki/Гостищев,\\_Виктор\\_Кузьмич](https://ru.wikipedia.org/wiki/Гостищев,_Виктор_Кузьмич)
2. Гостищев Виктор Кузьмич (к 80-летию со дня рождения) // *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. — 2017. — Т. 10. — № 4. — С. 327–328. [Gostishchev Viktor Kuzmich (to the 80th of birthday). *Journal of Experimental and Clinical Surgery*. 2017;10(4):327–328. (In Russ.)]

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Решетов Игорь Владимирович**, д.м.н., профессор, академик РАН [*Igor V. Reshetov*, MD, PhD, Professor, Academician of the RAS]; **адрес:** 119992, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2 [**address:** 8-2, Trubetskaya str., 119992, Moscow, Russia]; **e-mail:** [reshetoviv@mail.ru](mailto:reshetoviv@mail.ru), **SPIN-код:** 3845-6604, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-0909-6278>

**Сергеева Наталья Валерьевна**, к.м.н. [*Natalia V. Sergeeva*, MD, PhD]; **e-mail:** [natalisergeeva1978@yandex.ru](mailto:natalisergeeva1978@yandex.ru), **SPIN-код:** 9681-8785, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-8212-0481>

**Сериков Алексей Анатольевич** [*Alexei A. Serikov*]; **e-mail:** [kafedrafksechenov@gmail.com](mailto:kafedrafksechenov@gmail.com), **SPIN-код:** 2466-7083, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7640-623X>

И.В. Решетов<sup>1</sup>, Н.В. Сергеева<sup>2</sup>, А.А. Сериков<sup>1</sup><sup>1</sup>Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация<sup>2</sup>Российская академия наук, Москва, Российская Федерация

## К 75-летию академика РАН Александра Ивановича Кириенко

19 октября 2022 г. исполнилось 75 лет со дня рождения академика РАН, профессора, доктора медицинских наук Александра Ивановича Кириенко — признанного лидера в области флебологии.

**Ключевые слова:** юбилей, Кириенко Александр Иванович, хирургия, флебология

**Для цитирования:** Решетов И.В., Сергеева Н.В., Сериков А.А. К 75-летию академика РАН Александра Ивановича Кириенко. Вестник РАМН. 2022;77(5):373–374. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2317>



Кириенко Александр Иванович

Александр Иванович Кириенко родился 19 октября 1947 г. в Москве в семье военнослужащего [1]. В 1965 г. поступил во 2-й Московский ордена Ленина государственный медицинский институт им. Н.И. Пирогова (МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова). Уже во время учебы начал свой профессиональный путь в качестве врача неотложной помощи поликлиники № 131 г. Москвы. Тяга к новому привела Александра в студенческий научный кружок на кафедру факультетской хирургии, где он познакомился с академиком В.С. Савельевым и стал его уче-

ником. После окончания института в 1971 г. А.И. Кириенко — ординатор кафедры факультетской хирургии 2-го МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова, затем занимал должности младшего научного сотрудника, ассистента и доцента.

В 1975 г. Александр Иванович защитил кандидатскую диссертацию «Диагностика венозного тромбоза с помощью фибриногена». Продолжая изучать вопросы флебологии, в 1986 г. защитил диссертацию на соискание ученой степени доктора медицинских наук «Массивная тромбоземболия легочной артерии (патогенез, диагностика и лечение)». В 1989 г. был избран на должность заведующего Проблемной научно-исследовательской лабораторией 2-го МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова. В 1992 г. в составе авторского коллектива, возглавляемого академиком В.С. Савельевым, стал лауреатом Государственной премии РФ. В 1999 г. — профессор кафедры факультетской хирургии Российского государственного медицинского университета имени Н.И. Пирогова (РГМУ им. Н.И. Пирогова).

В 2004 г. Александр Иванович избран членом-корреспондентом, а в 2011 г. — академиком РАМН. В 2005 г. — лауреат премии Правительства РФ, в 2009 г. — лауреат премии имени А.Н. Бакулева за разработку проблем флебологии.

С 2013 по 2016 г. заведовал кафедрой факультетской хирургии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова (РНИМУ им. Н.И. Пирогова). В этот же период Александр Иванович в качестве президента возглавлял Ассоциацию флебологов России [6].

I.V. Reshetov<sup>1</sup>, N.V. Sergeeva<sup>2</sup>, A.A. Serikov<sup>1</sup><sup>1</sup>Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation<sup>2</sup>Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

## To the 75<sup>th</sup> Anniversary of Academician of the Russian Academy of Sciences Alexander Ivanovich Kiriyenko

October 19, 2022 marked the 75th anniversary of the birth of Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Doctor of Medical Sciences Alexander Ivanovich Kiriyenko — a recognized leader in the field of phlebology.

**Keywords:** jubilee, Kiriyenko Alexander Ivanovich, surgery, phlebology

**For citation:** Reshetov IV, Sergeeva NV, Serikov AA. To the 75<sup>th</sup> Anniversary of Academician of the Russian Academy of Sciences Alexander Ivanovich Kiriyenko. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2022;77(5):373–374. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2317>

В настоящее время академик РАН Александр Иванович Кириенко является профессором кафедры факультетской хирургии № 1 лечебного факультета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, вице-президентом Российского общества хирургов, почетным президентом Ассоциации флебологов России, членом президиума Общества ангиологов и сосудистых хирургов России, членом диссертационного совета РНИМУ им. Н.И. Пирогова по хирургии, членом ученого совета РНИМУ им. Н.И. Пирогова, главным редактором журнала «Флебология», членом редколлегии ряда других периодических научно-практических изданий.

Александр Иванович — достойнейший последователь своих великих учителей. Он прошел славный путь от простого ординатора до академика Российской академии наук. Медицинская и научная общественность страны знает Александра Ивановича как блестящего хирурга самого широкого диапазона, крупного ученого, внесшего большой вклад в развитие российской хирургии, становление флебологии в России. Научные работы А.И. Кириенко широко известны и в нашей стране, и за ее пределами.

Академик А.И. Кириенко — не только блестящий врач и великолепный хирург, но и прекрасный человек, надежный товарищ, пример для десятков своих учеников. Любой сотрудник клиники всегда может обратиться к нему за помощью и советом в самой сложной не только профессиональной, но и жизненной ситуации.

Александр Иванович Кириенко — автор более 450 печатных работ на русском и английском языках, в том числе учебника «Хирургические болезни», 12 монографий, 6 руководств, 14 изобретений [2–5].

А.И. Кириенко имеет следующие государственные и научные награды: Государственная премия РФ (1992 г., в составе группы) — за разработку и внедрение в практику новых методов профилактики и лечения тромбозов легочной артерии; премия Правительства РФ в области науки и техники (2004 г., в составе группы) — за разработку и внедрение в клиническую практику новых технологий диагностики и лечения заболеваний венозной системы с целью оздоровления населения России; премия имени А.Н. Бакулева (2009 г.) — за выдающийся личный вклад в развитие флебологии.

#### ЛИТЕРАТУРА

374

1. Кириенко Александр Иванович // Википедия. [Kirienko Aleksandr Ivanovich // *Vikipediya*.] Available from: [https://ru.wikipedia.org/wiki/Кириенко,\\_Александр\\_Иванович](https://ru.wikipedia.org/wiki/Кириенко,_Александр_Иванович)
2. Золотухин И.А., Порембская О.Я., Сметанина М.А., и др. Варикозная болезнь: на пороге открытия причины? // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2020. — Т. 75. — № 1. — С. 36–45. [Zolotukhin IA, Porembskaya OYa, Smetanina MA, et al. Varicose Veins: On the Verge of Discovering the Cause? *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2020;75(1):36–45. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1213>
3. Sazhin A, Zolotukhin I, Seliverstov E, et al. Prevalence and risk factors for abdominal wall hernia in the general Russian population. *Hernia*. 2019;23(6):1237–1242. doi: <https://doi.org/10.1007/s10029-019-01971-3>
4. Zolotukhin IA, Seliverstov EI, Shevtsov YN, et al. Risk factors for venous symptoms in Russian patients with chronic venous disease. *Curr Med Res Opin*. 2019;35(9):1583–1587. doi: <https://doi.org/10.1080/03007995.2019.1605050>
5. Shadrina A, Tsepilov Y, Smetanina M, et al. Polymorphisms of genes involved in inflammation and blood vessel development influence the risk of varicose veins. *Clin Genet*. 2018;94(2):191–199. doi: <https://doi.org/10.1111/cge.13362>
6. К 70-летию академика РАН Александра Ивановича Кириенко // *Флебология*. — 2017. — Т. 11. — № 4. — С. 188. [Aleksandr Ivanovich Kirienko, full member of the Russian Academy of Science (on the occasion of his 70 birthday anniversary). *Flebologiya*. 2017;11(4):188. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.17116/flebo2017114188>

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Решетов Игорь Владимирович**, д.м.н., профессор, академик РАН [*Igor V. Reshetov*, MD, PhD, Professor, Academician of the RAS]; адрес: 119992, Москва, ул. Трубетская, д. 8, стр. 2 [address: 8-2, Trubetskaya str., 119992, Moscow, Russia]; e-mail: [reshetoviv@mail.ru](mailto:reshetoviv@mail.ru), SPIN-код: 3845-6604, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0909-6278>

**Сергеева Наталья Валерьевна**, к.м.н. [*Natalia V. Sergeeva*, MD, PhD]; e-mail: [natalisergeeva1978@yandex.ru](mailto:natalisergeeva1978@yandex.ru), SPIN-код: 9681-8785, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8212-0481>

**Сериков Алексей Анатольевич** [*Alexei A. Serikov*]; e-mail: [kafedrafksechenov@gmail.com](mailto:kafedrafksechenov@gmail.com), SPIN-код: 2466-7083, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7640-623X>