

ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY
OF MEDICAL SCIENCES



6

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, С.А. Бойцов, Н.И. Брико, Е.З. Голухова, О.М. Драпкина, А.М. Дыгай, В.В. Зверев, К.А. Зыков, А.А. Камалов, А.Д. Каприн, О.П. Ковтун, Р.С. Козлов, С.И. Колесников, С.И. Кушев, А.В. Лисица, А.Д. Макацария, Г.А. Мельниченко, Л.С. Намазова-Баранова, М.А. Пирадов, Н.В. Пятигорская, И.В. Решетов, В.И. Сергиенко, Д.А. Сычев, В.А. Тутельян, В.П. Чехонин, М.В. Шестакова

Редакционный совет:

А.И. Арчаков, А.А. Баранов, Ю.В. Белов, Е.К. Гинтер, П.В. Глыбочко, А.М. Егоров, А.В. Караулов, А.А. Кубатиев, С.А. Лукьянов, А.И. Мартынов, Е.Л. Насонов, Г.Т. Сухих, О.О. Янушевич

Зарубежные члены редакционной коллегии:

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

2022/ТОМ 77/№6

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

Отпечатано в ООО «Объединенный полиграфический комплекс»

115114, Москва, Дербеневская наб., д. 7 с. 2, тел.: +7(499) 130-60-19, 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, S.A. Boytsov, N.I. Briko, O.M. Drapkina, A.M. Dygai, V.L. Feigin, E.Z. Golukhova, W-D. Grimm, A. Haverih, A.A. Kamalov, A.D. Kaprin, S.I. Kolesnikov, O.P. Kovtun, R.S. Kozlov, S.I. Kutsev, A.V. Lisitsa, A.D. Makatsariy, G.A. Melnichenko, M. Müller, L.S. Namazova-Baranova, M.A. Piradov, N.V. Pyatigorskaya, I.V. Reshetov, G. Rizzo, N.S. Serdyuchenko, V.I. Sergienko, K. Shen, Y. Shoenfeld, D.A. Sychev, V.A. Tutelyan, V.P. Chekhonin, M.V. Shestakova, R. Valenta, D. Widera, V.V. Zverev, K.A. Zykov

Editorial council:

A.I. Archakov, A.A. Baranov, Yu.V. Belov, E.K. Ginther, P.V. Glybochko, A.M. Egorov, A.V. Karaulov, A.A. Kubatiev, S.A. Lukyanov, A.I. Martynov, E.L. Nasonov, G.T. Sukhikh, O.O. Yanushevich

2022/ 77 (6)

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

Printed at LLC United Printing Complex

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

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙINFECTIOUS DISEASES:
CURRENT ISSUES

*А.В. Колсанов, П.М. Зельтер, О.В. Зелёва, О.В. Иванова,
А.В. Лямин, Е.А. Сидоров, Т.Ю. Владимирова, А.В. Козлов,
Ю.С. Пышкина*

Клинико-анатомическая характеристика пациентов
с риноорбитocereбральной формой мукормикоза

381

*A.V. Kolsanov, P.M. Zelter, O.V. Zeleva, O.V. Ivanova,
A.V. Lyamin, E.A. Sidorov, T.Yu. Vladimirova, A.V. Kozlov,
Yu.S. Pyshkina*

Clinical Anatomical Characteristics of Patients with
Rhino-Orbit-Cerebral Mucormycosis

*Г.Г. Онищенко, А.Н. Куличенко, Е.И. Еременко,
С.В. Писаренко*

История глобального распространения возбудителя
сибирской язвы на основе полногеномного
филогенетического анализа *Bacillus anthracis*

391

*G.G. Onishchenko, A.N. Kulichenko, E.I. Eremenko,
S.V. Pisarenko*

The History of the Global Spread of the Causative Agent
of Anthrax Based on the Whole Genome Phylogenetic
Analysis of *Bacillus anthracis*

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
НЕВРОЛОГИИ И НЕЙРОХИРУРГИИNEUROLOGY AND NEUROSURGERY:
CURRENT ISSUES

Е.В. Орлова, А.Б. Бердалин, В.Г. Лелюк

Клиническая значимость характеристик
микроэмболических сигналов, регистрируемых
в восстановительном периоде ишемического
инсульта, поперечное обсервационное исследование

398

E.V. Orlova, A.B. Berdalina, V.G. Lelyuk

Clinical Significance of the Characteristics
of Microembolic Signals Recorded in the Recovery
Period of Ischemic Stroke, a Cross-Sectional
Observational Study

379

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ОНКОЛОГИИONCOLOGY:
CURRENT ISSUES

*Н.С. Сергеева, Т.А. Кармакова, М.А. Поляк,
И.И. Алентов*

Системная воспалительная реакция как фактор
прогноза при раке молочной железы.
Часть II. Гематологические маркеры воспаления

408

*N.S. Sergeeva, T.A. Karmakova, M.A. Polyak,
I.I. Alentov*

Systemic Inflammatory Response as a Prognostic Factor
in Breast Cancer. Part II. Hematological Markers
of Inflammation

*В.К. Тищенко, В.М. Петриев, О.П. Власова, А.А. Панкратов,
Н.Б. Морозова, П.В. Шегай, С.А. Иванов, А.Д. Каприн*
Меченные технецием-99m низкомолекулярные
ингибиторы простат-специфического мембранного
антигена

420

*V.K. Tishchenko, V.M. Petriev, O.P. Vlasova, A.A. Pankratov,
N.B. Morozova, P.V. Shegai, S.A. Ivanov, A.D. Kaprin*
99mTc-Labelled Low Molecular
Weight Inhibitors of Prostate-Specific
Membrane Antigen

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
СТОМАТОЛОГИИSTOMATOLOGY:
CURRENT ISSUES

*О.О. Янушевич, В.Н. Царев, Е.Н. Николаева,
И.П. Балмасова, Е.В. Ипполитов, Т.В. Царева,
М.С. Подпорин, А.Г. Пономарева*

Первый отечественный опыт выявления ассоциации
анаэробных бактерий *Filifactor alocis* и *Porphyromonas
gingivalis* молекулярно-биологическими методами при
заболеваниях пародонта и коморбидной патологии
(сравнительное исследование)

437

*O.O. Yanushevich, V.N. Tsarev, E.N. Nikolaeva,
I.P. Balmasova, E.V. Ippolitov, T.V. Tsareva,
M.S. Podporin, A.G. Ponomareva*

The First Domestic Experience of Detecting the
Association of Anaerobic Bacteria *Filifactor Alocis*
and *Porphyromonas Gingivalis* by Molecular Biological
Methods in Periodontal Diseases and Comorbid
Pathology (Comparative Research)

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ФИЗИОЛОГИИ**

И.В. Гмошинский, Д.Б. Никитюк

Полярный стресс: механизмы и моделирование
в эксперименте

**PHYSIOLOGY:
CURRENT ISSUES**

I.V. Gmshinski, D.B. Nikityuk

447 Arctic Stress: Mechanisms
and Experimental Models

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ
ЭНДОКРИНОЛОГИИ**

Л.В. Осадчук, А.В. Осадчук

Влияние ожирения и малоподвижного образа жизни
на уровень тестостерона и основные показатели
метаболического статуса молодых мужчин

**ENDOCRINOLOGY:
CURRENT ISSUES**

L.V. Osadchuk, A.V. Osadchuk

458 The Influence of Obesity and Sedentary Lifestyle
on Testosterone Level and the Main Indicators
of the Metabolic Status in Young Men

А.В. Колсанов, П.М. Зельтер, О.В. Зелёва,
О.В. Иванова, А.В. Лямин, Е.А. Сидоров,
Т.Ю. Владимирова, А.В. Козлов, Ю.С. Пышкина

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Российская Федерация

Клинико-анатомическая характеристика пациентов с риноорбитocereбральной формой мукоормикоза

Обоснование. Перенесенная коронавирусная инфекция у пациентов сопровождается иммуносупрессивным состоянием и увеличивает риск вторичных инфекций, например мукоормикоза. Сахарный диабет является независимым фактором риска как тяжелого COVID-19, так и грибкового поражения. **Цель исследования** — проанализировать опыт диагностики и лечения риноорбитocereбрального мукоормикоза у пациентов после перенесенной новой коронавирусной инфекции. **Методы.** Проведено одноцентровое, наблюдательное, нерандомизированное, когортное исследование. Мы оценили клинические особенности, предрасполагающие факторы, диагноз и исходы мукоормикоза среди пациентов, перенесших COVID-19 и проходивших лечение в отделении оториноларингологии Клиник СамГМУ (г. Самара) с сентября по декабрь 2021 г. Исследования выполнялись на компьютерном томографе Revolution EVO (GE, Россия) и МР-томографе Aera (Siemens, Германия) с напряженностью магнитного поля 1,5 Тл. У всех обследуемых интраоперационно заборы материалы на микробиологическое и гистопатологическое исследование. **Результаты.** Был проанализирован опыт диагностики и лечения риноорбитocereбрального мукоормикоза у пациентов после перенесенной новой коронавирусной инфекции, определено влияние комплексного использования методов лучевой диагностики, гистопатологических и микробиологических методов на развитие и эффективность лечения мукоормикоза. **Заключение.** Эффективность лечения мукоормикоза напрямую зависит от раннего начала этиотропной терапии, при этом высока роль комплексного использования методов лучевой диагностики, гистопатологических и микробиологических методов для раннего подтверждения характера заболевания.

Ключевые слова: коронавирусная инфекция, COVID-19, компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, мукоормикоз, околоносовые пазухи, верхнечелюстные пазухи, сахарный диабет

Для цитирования: Колсанов А.В., Зельтер П.М., Зелёва О.В., Иванова О.В., Лямин А.В., Сидоров Е.А., Владимирова Т.Ю., Козлов А.В., Пышкина Ю.С. Клинико-анатомическая характеристика пациентов с риноорбитocereбральной формой мукоормикоза. Вестник РАМН. 2022;77(6):381–390. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2193>

381

Обоснование

Мукоормикоз — крайне опасное для жизни человека ангиоинвазивное заболевание, которое вызывается грибами из класса Zygomycetes, отряда Mucorales. Принад-

лежащие к отряду Mucorales грибы представлены шестью семействами, причем все они могут вызывать мукоормикоз различных локализаций. Rhizopus Oryzae является наиболее распространенным типом (до 60% случаев мукоормикоза у людей), а также составляет 90% риноорбитocere-

A.V. Kolsanov, P.M. Zelter, O.V. Zeleva, O.V. Ivanova, A.V. Lyamin, E.A. Sidorov,
T.Yu. Vladimirova, A.V. Kozlov, Yu.S. Pyshkina

Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

Clinical Anatomical Characteristics of Patients with Rhino-Orbit-Cerebral Mucormycosis

Background. Postponed coronavirus infection (COVID-19), accompanied by an immunosuppressive state and associated with the risk of secondary diseases such as mucormycosis. Diabetes mellitus is an independent risk factor for both severe COVID-19 and mucormycosis. **Aims** — our aim was to experience the diagnosis and treatment of rhino-orbitocerebral mucormycosis in post-COVID-19 patients. **Materials.** A single-center, observational, non-randomized, cohort comparative study was conducted. We assessed the clinical features, risk factors, diagnosis and outcomes of mucormycosis among recovered COVID-19 patients with hospitalisation in the otorhinolaryngology department of the Samara State Medical University Clinics, Samara, from September–December 2021. CT examinations were performed on Revolution EVO CT scanner (GE, Russia) and MRI on Aera MR scanner 1.5 T (Siemens, Germany). Materials for microbiological and histopathological examination were taken from all examined patients intraoperatively. **Results.** The experience of diagnosing and treating rhino-orbitocerebral mucormycosis in patients after a new coronavirus infection was analyzed, the influence of the complex use of radiological diagnostic methods, histopathological and microbiological methods on the development and effectiveness of mucormycosis treatment was determined. **Conclusions.** The effectiveness of disease management directly depends on the early initiation of etiotropic treatment, while the role of complex radiological diagnostics, histopathological and microbiological methods is important for early confirmation of the fungal etiology of the disease.

Keywords: coronavirus infection, COVID-19, computed tomography, MRI, mucormycosis, paranasal sinuses, maxillary sinuses, diabetes mellitus

For citation: Kolsanov AV, Zelter PM, Zeleva OV, Ivanova OV, Lyamin AV, Sidorov EA, Vladimirova TYu, Kozlov AV, Pyshkina YuS. Clinical Anatomical Characteristics of Patients with Rhino-Orbit-Cerebral Mucormycosis. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2022;77(6):381–390. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2193>

ребральной формы (РОЦМ) [1]. Заражение происходит обычно при вдыхании спор грибов.

Заболеваемость мукормикозом ранее оценивалась как 0,005–1,7 на 1 млн населения [2]. О многочисленных случаях мукормикоза, связанного с COVID-19, сообщалось из Индии с указанием на связь с неконтролируемым сахарным диабетом (СД) и его высокой распространенностью в стране [3]. Однако начиная с 2020 г. были зарегистрированы случаи за пределами Индии, включая страны Европы, Ближнего Востока, Северной и Южной Америки, с распространенностью от 0,3 до 0,8% [4]. Общие характеристики пациентов с РОЦМ включали наличие фактора риска у 95% пациентов, в основном СД (82,5%). У большинства пациентов СД был плохо- или неконтролируемым (80,3%), и 75% пациентов получали системные кортикостероиды [3, 5].

Основные причины, которые способствуют прорастанию спор Mucogales у людей, перенесших COVID-19: среда с низким содержанием кислорода (гипоксия), высоким содержанием глюкозы (диабет, впервые возникшая гипергликемия, гипергликемия, вызванная стероидами); кислая среда (метаболический ацидоз, диабетический кетоацидоз); высокий уровень железа (повышенный уровень ферритинов) и снижение фагоцитарной активности лейкоцитов из-за иммуносупрессии (опосредованные SARS-CoV-2, стероид-опосредованные или сопутствующие заболевания) в сочетании с другими факторами, включая длительную госпитализацию с аппаратом искусственной вентиляции легких или без него. Данная грибковая инфекция возникает в течение 60 дней после начала заражения COVID-19 и рассматривается как ковид-ассоциированный мукор-

микоз [6]. В обзоре A.K. Singh et al. [7] приводится предполагаемая схема патогенеза мукормикоза у пациентов после перенесенной новой коронавирусной инфекции (рис. 1).

Преобладающий клинический фенотип инфекционного процесса, обусловленного вирусом SARS-CoV-2, проявляется поражением верхних дыхательных путей с последующим развитием пневмонии, когда вирус проникает в респираторный эпителий, связываясь с рецепторами ангиотензин-превращающего фермента. Более тяжелая вторая стадия этого заболевания вызвана системным воспалением и коагулопатией, обуславливающими прямое повреждение кровеносных сосудов. Наблюдаемая коагулопатия относится к тромботическим микроангиопатиям. Это приводит к повреждению эндотелия и тромбозу микрососудов на фоне существующей иммуносупрессии. Данные свидетельствуют о том, что SARS-CoV-2 также вызывает повреждение островков поджелудочной железы, что приводит к острому диабету и диабетическому кетоацидозу. Это объясняет возникновение СД 2 типа при новой коронавирусной инфекции. Данный факт может быть обусловлен тем, что в островках поджелудочной железы наблюдается высокая экспрессия рецепторов ангиотензин-превращающего фермента, а также существует риск развития повышенной инсулинорезистентности в случае развития «цитокинового шторма» [8]. Частое использование глюкокортикостероидов, усугубляющих метаболизм глюкозы, предрасполагает развитие у пациентов мукормикоза, так как известно, что кортикостероиды выступают ключевым фактором риска развития оппортунистических микозов [9].

382

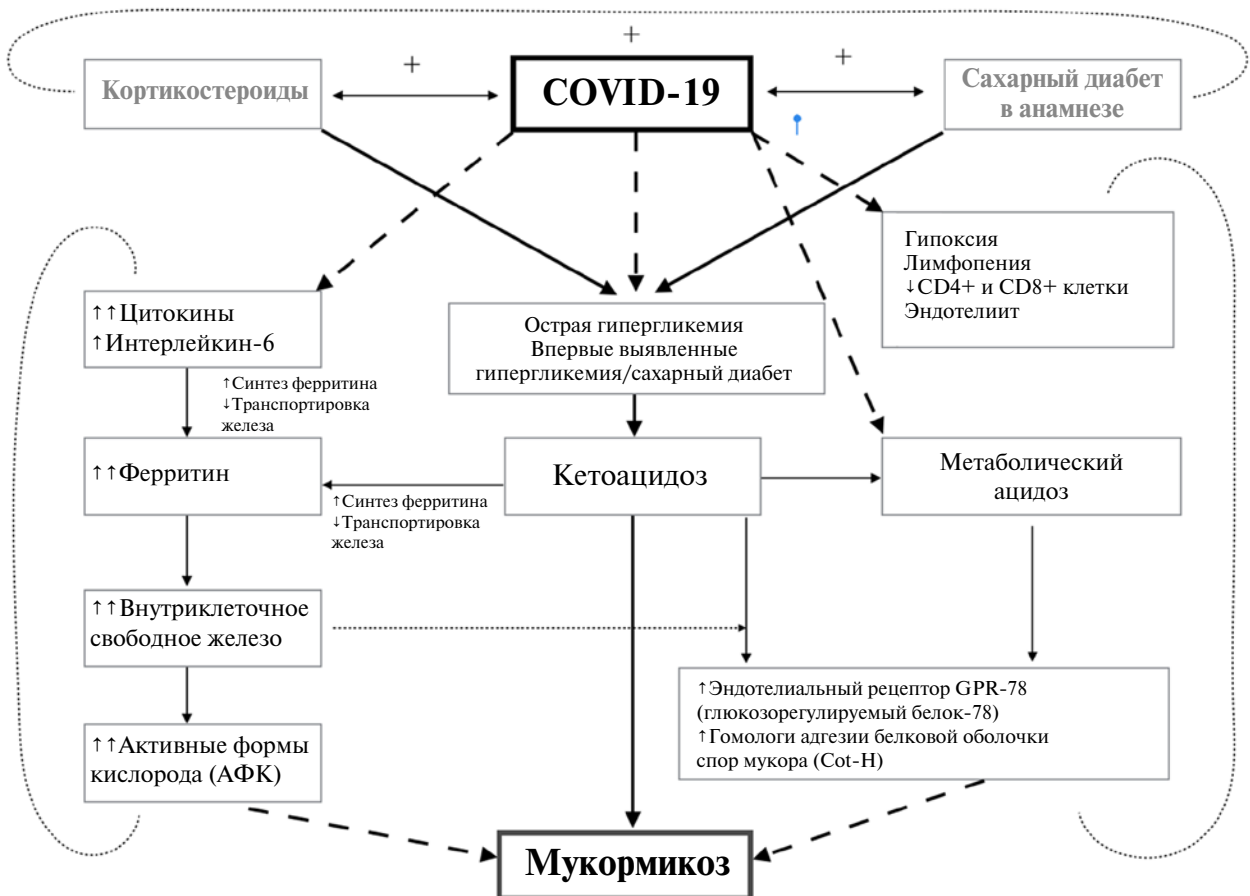


Рис. 1. Предполагаемая схема патогенеза мукормикоза у пациентов после коронавирусной инфекции [7]

На фоне появления COVID-19 наблюдается заметный рост заболеваемости мукомикозом челюстно-лицевой области и околоносовых пазух. РОЦМ возникает, когда споры грибов попадают в полость носа и пазух при дыхании. Некроз тканей — частую поздний признак клинических проявлений мукомикоза, возникающий в результате ангиоинвазии и тромбоза сосудов. Основной группой риска по развитию риноцеребральных форм мукомикоза являются пациенты с СД, принимающие кортикостероиды [10].

Смертность от РОЦМ высока: по данным индийских исследований, она составляет от 50 до 80% [11].

Цель исследования — проанализировать опыт диагностики и лечения риноорбитоцеребрального мукомикоза у пациентов после перенесенной новой коронавирусной инфекции.

Дизайн исследования

Проведено одноцентровое, наблюдательное, нерандомизированное, когортное исследование.

Критерии включения:

- пациенты с риноорбитоцеребральной формой мукомикоза;
- возраст исследуемых старше 18 лет;
- наличие информированного добровольного согласия пациента на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- исследуемые младше 18 лет;
- пациенты с нейтропенией, гематологическими злокачественными новообразованиями, трансплантацией стволовых клеток и другой патологией иммунной системы;
- отсутствие подписанного информированного согласия на участие в исследовании.

Гипотеза — влияние комплексного использования методов лучевой диагностики, гистопатологических и микробиологических методов на развитие и эффективность лечения мукомикоза.

Условия проведения

Исследование проводилось на базе клиник ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» (СамГМУ) Минздрава России, г. Самара.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось с сентября по декабрь 2021 г.

Описание медицинского вмешательства

Мы оценили клинические особенности, предрасполагающие факторы, диагноз и исходы мукомикоза среди пациентов, перенесших COVID-19 и проходивших лечение в отделении оториноларингологии Клиник СамГМУ.

Всем обследуемым были проведены исследования околоносовых пазух и органов грудной клетки на компьютерном томографе Revolution EVO (GE, Россия), пятерым больным выполнена магнитно-резонансная томография (МРТ) околоносовых пазух и головного мозга на МР-томографе Aera (Siemens, Германия) с напряженностью магнитного поля 1,5 Тл.

У всех пациентов интраоперационно забраны материалы на микробиологическое и гистопатологическое исследование с последующим подтверждением диагноза мукомикоза. Ведение пациентов осуществлялось согласно рекомендациям Европейской конфедерации медицинской микологии и включало удаление некротизирован-

ных тканей и этиотропную противогрибковую терапию (амфотерицин В) [12].

Объемная синусовая некрэктомия проводилась под контролем видеоэндоскопической визуализации. С помощью прямого эндоскопа 0° осматривалась полость носа и носоглотки. Под контролем эндоскопа 0° с помощью прямых кусачек, щипцов Блексли и распатора удалялась единым блоком перегородка до живых тканей. Далее переходили к клеткам решетчатого лабиринта и удаляли все некротизированные ткани и фрагменты костных деструктивных изменений до здоровых участков. Резецировали измененный задний конец нижней носовой раковины и убирали некротизированную среднюю носовую раковину, переднюю стенку клиновидной пазухи и утолщенную слизистую оболочку с целью визуализации внутрипазушных структур, изменений задней и нижней стенок пазухи. Внутрипазушную перегородку скусывали угловыми кусачками. С помощью угловой оптики 45° и изогнутых кусачек удаляли медиальную стенку пораженной верхнечелюстной пазухи, убирали слизистую оболочку с участками некроза и патологическое содержимое. Вскрывали орбиту под контролем 3D-КТ-визуализации со стороны медиального угла глаза и решетчатой кости. Убирали пораженную заднюю стенку верхнечелюстной пазухи и обозревали фасцию крылонебной ямки, которая часто была поражена и также удалялась с помощью кусачек. Верхнечелюстная и нисходящая небная артерии при необходимости коагулировались с помощью биполярного коагулятора. Пораженная жировая ткань крылонебной ямки также удалялась.

В ходе хирургического вмешательства пораженные ткани и патологическое отделяемое направлялись для микроскопического и микробиологического исследований на бактериальную микрофлору и микромицеты.

Исходы исследования

В ходе исследования проанализированы данные анамнеза, течения заболевания, лучевой диагностики, гистопатологических и микробиологических методов. Лечение проводилось согласно рекомендациям Европейской конфедерации медицинской микологии [12].

Методы регистрации исходов

Всем обследуемым были проведены КТ околоносовых пазух и органов грудной клетки, пятерым больным выполнена МРТ околоносовых пазух и головного мозга. У всех пациентов интраоперационно забраны материалы на микробиологическое и гистопатологическое исследование с последующим подтверждением диагноза мукомикоза.

Этическая экспертиза

Исследование было одобрено комитетом по биоэтике ФГБОУ ВО «СамГМУ» Минздрава России (протокол № 212 от 11 сентября 2020 г.). Пациенты, включенные в исследование, подписывали информированное добровольное согласие.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки. Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Методы статистического анализа данных. Статистическую обработку результатов проводили на персональном компьютере с помощью программы Microsoft Excel. Анализировали количественные и качественные параметры.

Результаты

Объекты (участники) исследования

В исследование было включено 15 пациентов с РОЦМ, которые прошли лечение в отделении оториноларингологии Клиник СамГМУ.

Анамнез

Все пациенты имели схожий анамнез заболевания: перенесенная новая коронавирусная инфекция средне-тяжелого или тяжелого течения, подтвержденная ПЦР-диагностикой; ожирение I–II степеней; лечение антибактериальными препаратами различных групп; прием кортикостероидов и моноклональных антител. У большинства обследуемых в анамнезе был СД 2 типа или СД был впервые поставлен во время госпитализации.

Жалобы

При обращении пациенты предъявляли жалобы на дискомфорт, онемение одной из сторон лица, слизисто-гнойные или гнойные выделения из одной или обеих половин носа, головную боль, снижение или потерю зрения на один глаз, асимметрию глазных щелей (рис. 2), эмоционально-тревожные расстройства (табл. 1).



Рис. 2. Асимметрия и отечность лица

множественного некроза средних и задних отделов перегородки носа, задних концов нижних носовых раковин и средние носовые раковины, медиальная стенка верхнечелюстной пазухи с костной деструкцией на стороне поражения, некротизированные ткани в области решетчатого лабиринта и медиальной стенки орбиты. При этом противоположная сторона могла быть не изменена. Типичная эндоскопическая картина представлена на рис. 3.

Основные результаты исследования

Диагностическая визуализация. Проведенные комплексные исследования с помощью лучевых методов диагностики помогли выявить объем поражения и вовлечения в процесс структур глазницы и головного мозга (рис. 4–6), определить объем хирургического вмешательства и дальнейшую тактику ведения. Лучевые паттерны поражения представлены в табл. 2.

384

Первичный осмотр

С помощью прямого эндоскопа 0° осматривалась полость носа и носоглотки. Визуализировались участки

Таблица 1. Анализ анамнеза, жалоб, эндоскопической картины и факторов риска у пациентов

Возраст пациента (лет), пол	Клинические симптомы	Наличие СД 2 типа
62, Ж	Головная боль, заложенность носа, дискомфорт в области глазниц, отек век, асимметрия глазных щелей	+
39, М	Головная боль с проекцией в лобные пазухи, заложенность носа, слепота на левый глаз, экзофтальм	+
60, М	Слепота правого глаза, отек век, выделение жидкости из глазной щели, головная боль	+
42, Ж	Головная боль, выделения из носа, дискомфорт в области правой верхнечелюстной пазухи и глазницы	+
57, М	Головная боль, заложенность носа, гнойные выделения из полости носа, чувство распирания в проекции верхнечелюстных пазух, отек правой половины лица	+
58, М	Головная боль с локализацией в проекции височной кости справа, заложенность носа, слизисто-гнойные выделения из полости носа, чувство распирания в проекции верхнечелюстных пазух	+
48, Ж	Головная боль, затруднение носового дыхания, онемение и отек левой половины лица	+ (кетацидоз)
69, М	Отек параорбитальной клетчатки справа, затруднение носового дыхания, гнойные выделения из носа, снижение зрения правого глаза, опущение правого века, затруднение дыхания	+
74, Ж	Заложенность носа, слизисто-гнойные выделения из полости носа, отек параорбитальной клетчатки справа	+
67, Ж	Головная боль, заложенность носа, выделения из носа, дискомфорт в области правого глаза	+ (кетацидоз)
73, Ж	Заложенность носа, гнойные выделения из носа, болезненность в области левой верхнечелюстной пазухи с иррадиацией в верхнюю челюсть, отечность левой половины лица, периодические головные боли, снижение чувствительности левой половины лица	+
56, М	Головная боль, выделения из носа, боль в области правой половины лица	+
69, М	Головная боль в проекции лобных, верхнечелюстных пазух с иррадиацией в правую параорбитальную область, гнойное отделяемое из носа, затруднение носового дыхания	+
66, М	Головная боль, боль в области левого глаза, снижение зрения слева, выделения из носа, параорбитальный отек слева	–
49, Ж	Головная боль, выделения из носа, заложенность носа, болезненность в области правой половины лица и правого глаза, отечность правой половины лица	+

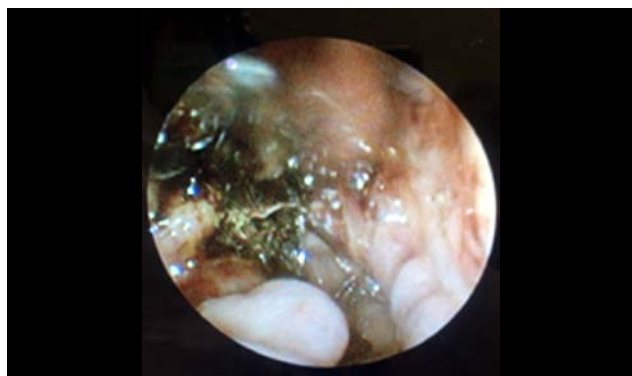


Рис. 3. Видеоэндоскопический осмотр полости носа

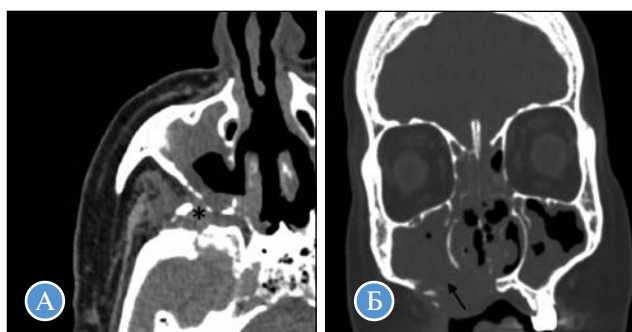


Рис. 4. КТ околоносовых пазух двух пациентов: А — аксиальная плоскость, мягкотканое электронное окно; Б — корональная плоскость, костное электронное окно

А — определяются содержимое в правой верхнечелюстной пазухе, деструкция латеральной стенки и инфильтрация мягких тканей (*) позади периаантральной области за счет распространения грибкового процесса; Б — двустороннее поражение придаточных пазух с неравномерным их заполнением, субтотальное в правой верхнечелюстной пазухе и ячейках решетчатого лабиринта, деструкция кости правых отделов твердого неба и нижней стенки правой верхнечелюстной пазухи (стрелка).

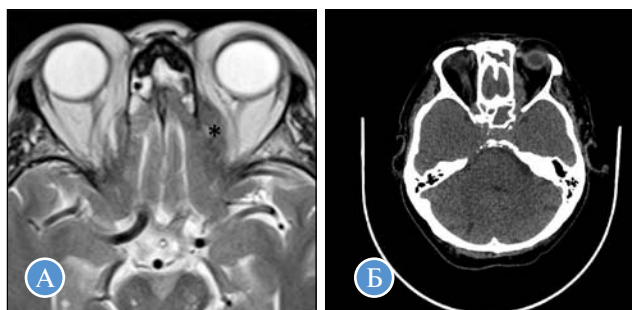


Рис. 5. А — МРТ головного мозга и околоносовых пазух, аксиальная плоскость, T2-взвешенное изображение (ВИ); Б — КТ орбит, аксиальная плоскость, мягкотканое электронное окно

А — определяется распространение воспаления из пазух носа в левую орбиту, в медиальных отделах левой орбиты — участок воспаления ретробульбарной клетчатки (*) в виде зоны изо/гипоинтенсивного на T2-ВИ; Б — тотальное заполнение решетчатого лабиринта с пролабированием через неизмененную медиальную стенку глазницы и инвазией в ретробульбарную клетчатку с поражением глазодвигательных мышц и зрительного нерва.

КТ органов грудной клетки выполнялась с целью исключения очагов диссеминации в легочной ткани (рис. 7).

Перед планируемым хирургическим вмешательством корректировались показатели уровня глюкозы крови,

Таблица 2. КТ- и МР-паттерны у пациентов

Возраст пациент (лет), пол	Поражение периаантральной клетчатки	Костная деструкция	Инвазия в глазницы	Поражение зрительного нерва	Распространение в крылонебную ямку	Вовлечение внутричерепных структур
62, Ж	+	+	+	+	+	+
39, М	+	+	+	+	+	–
60, М	+	+	+	–	–	–
42, Ж	+	+	+	–	+	–
57, М	+	+	+	–	+	–
58, М	+	+	–	–	+	–
48, Ж	+	+	–	–	+	–
69, М	+	+	+	+	–	+
74, Ж	–	+	+	–	–	–
67, Ж	–	+	+	–	–	+
73, Ж	–	–	+	+	–	–
56, М	–	–	–	–	–	–
69, М	–	+	+	–	–	–
66, М	+	+	+	+	–	+
49, Ж	+	+	+	+	–	–

при необходимости компенсировались показатели кетоацидоза. Также анализировались биохимические показатели крови и гемостаза. Отделяемое из полости носа направлялось на исследование микрофлоры и определение чувствительности к антибиотикам с обязательным микроскопическим и микробиологическим исследованием на мукормикоз. Выявлялась разнообразная флора, как правило, в сочетании нескольких бактерий. Были выделены грамположительные и грамотрицательные бактерии, такие как *Klebsiella pneumonia*, *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium striatum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Streptococcus anginosus*, *Klebsiella aerogenes*.

Наиболее часто высевалась грамотрицательная анаэробная *Klebsiella pneumonia* и чуть в меньше — *Enterococcus faecalis*, *Corynebacterium striatum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*.

Терапия и операционное лечение. Ведение пациентов осуществлялось согласно рекомендациям Европейской конфедерации медицинской микологии и включало удаление некротизированных тканей и этиотропную противогрибковую терапию (амфотерицин В) [12].

Объемная синусовая некрэктомия проводилась под контролем видеоэндоскопической визуализации. С помощью прямого эндоскопа 0° осматривалась полость носа и носоглотки. Зачастую визуализировались участки множественного некроза средних и задних отделов перегородки носа, задних концов нижних носовых раковин и средних носовых раковин, медиальной стенки верхнечелюстной пазухи с костной деструкцией на стороне поражения, некротизированные ткани в области решетчатого лабиринта и медиальной стенки орбиты. При этом противоположная сторона могла быть не изменена (рис. 8–10).

Под контролем эндоскопа 0° с помощью прямых кушачек, щипцов Блексли и распатора удалялась единым

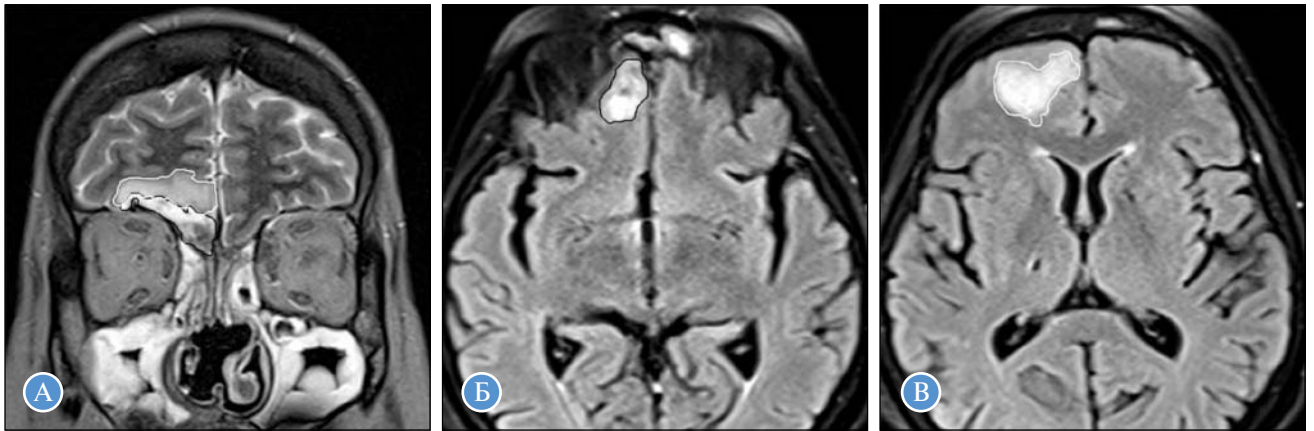


Рис. 6. МРТ головного мозга и околоносовых пазух, корональная плоскость (А), аксиальная плоскость (Б, В): А – T2-ВИ; Б, В – FLAIR. Отмечается инвазия из пазух носа в полость черепа с вовлечением оболочек и вещества мозга. Зона менингоэнцефалита (черный контур) имеет неоднородный гиперинтенсивный МР-сигнал на T2-ВИ и FLAIR. По периферии зоны энцефалита определяется отек вещества мозга (белый контур)



Рис. 7. КТ органов грудной клетки, аксиальная плоскость. С обеих сторон отмечаются остаточные изменения двусторонней вирусной пневмонии — интерстициальные изменения и криволинейные уплотнения легочной ткани

блоком перегородка до живых тканей. Далее переходили к клеткам решетчатого лабиринта и удаляли все некротизированные ткани и фрагменты костных деструктивных изменений до здоровых участков. Резецировали измененный задний конец нижней носовой раковины и убрали некротизированную среднюю носовую раковину,

переднюю стенку клиновидной пазухи и утолщенную слизистую оболочку с целью визуализации внутрипазушных структур, изменений задней и нижней стенки пазухи. Внутрипазушную перегородку скусывали угловыми кусачками. С помощью угловой оптики 45° и изогнутых кусачек удаляли медиальную стенку пораженной верхнечелюстной пазухи, убирали слизистую оболочку с участками некроза и патологическое содержимое. Вскрывали орбиту под контролем 3D-КТ-визуализации со стороны медиального угла глаза и решетчатой кости. Убирали пораженную заднюю стенку верхнечелюстной пазухи и обозревали фасцию крылонебной ямки, которая часто была поражена и также удалялась с помощью кусачек. Верхнечелюстная и нисходящая небная артерии при необходимости коагулировались с помощью биполярного коагулятора. Пораженная жировая ткань крылонебной ямки также удалялась. При наличии некроза в области твердого неба и верхней челюсти приглашались челюстно-лицевые хирурги.

Микробиологическое и гистопатологическое подтверждение. В ходе хирургического вмешательства пораженные ткани и патологическое отделяемое направлялись для микроскопического и микробиологического исследований на бактериальную микрофлору и грибки.



Рис. 8. Эндоскопический осмотр правой половины полости носа. Видна пораженная средняя носовая раковина с переходом на клетки решетчатого лабиринта



Рис. 9. Дефект твердого неба

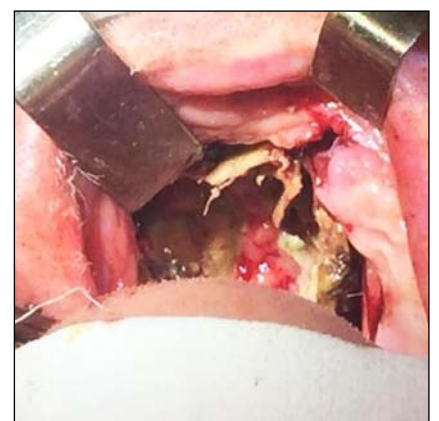


Рис. 10. Образовавшийся дефект после удаления альвеолярных отростков верхней челюсти справа и твердого неба. Также поражены все стенки правой верхнечелюстной пазухи и лобный отросток верхней челюсти

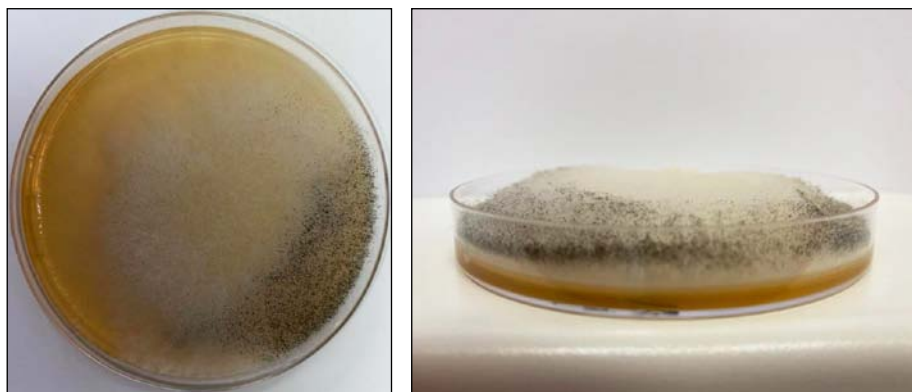


Рис. 11. Чашка Петри с колонией мукора с пушистым воздушным мицелием

Микробиологическая диагностика осуществлялась при помощи культурального исследования: проводился посев клинического материала на две чашки Петри с агаризованной средой Сабуро с последующим культивированием в термостате при +28 °С и +37 °С в течение 7 дней. Посевы просматривались ежедневно, с детекцией роста грибов. Выросшие культуры идентифицировали по макро- и микроморфологическим признакам [13] в соответствии с определителем грибов.

При оценке макроморфологии выросших культур отмечался быстрый рост образцов, которые инкубировали при +37 °С через 24 ч культивирования. При культивировании +28 °С рост грибов отмечался через 48–72 ч. Колонии вырастали с пушистым воздушным мицелием, вначале белые, затем серые, с активной спорующей и быстро заполняли чашку Петри (рис. 11).

Для родовой идентификации исследуемых грибов применялся микроскопический метод. Препараты приготавливались методом «раздавленная капля»: на предметное стекло наносили каплю жидкости, приготовленную из равных частей глицерина, этилового спирта и дистиллированной воды, в которую помещался кусочек колонии гриба, вырезанный микологической лопаткой; далее препараты накрывались покровным стеклом и проводилась микроскопия при увеличении 100× и 400×. Дополнительно приготовленные препараты изучались методом люминесцентной микроскопии путем добавления в них калькофлюора белого, который связывается с полисахаридами клеточных стенок грибов (хитином, целлюлозой), что впоследствии проявляется свечением при микроскопии с использованием светофильтров. При оценке микроскопической картины выявлены признаки, характерные для микромицет из *Mucor* spp.: обнаружен широкий (до 20 мкм) несептированный мицелий, ветвящийся под прямым углом, и длинные (до 400 мкм) спорангиеносцы, оканчивающиеся шаровидными буроватыми спорангиями до 60 мкм в диаметре (рис. 12).

Пораженная слизистая оболочка и некротизированные костные фрагменты направлялись на гистопатологическое исследование.

Для оценки патологического процесса исследован материал, взятый из некротизированных участков. Образец ткани фиксирован в 10%-м растворе забуференного формалина. Костные фрагменты после фиксации декальцинировались 1 сут в электролитном декальцинирующем растворе соляной и муравьиной кислот. Процессинг материала (обезвоживание, обезжиривание и пропитка парафином) осуществлен с применением автоматического вакуумного гистопроцессора Leica ASP200, образец

залит в парафиновый блок с помощью станции заливки Thermo Scientific HistoStar, на ротационном микротоме Leica RM2265 изготовлены срезы с парафинового блока толщиной 4 мкм, окрашены гематоксилином-эозином по стандартной методике, а также ШИК-реакцией (PAS) и импрегнацией серебром по Грокотт для обнаружения мицелия грибов. Оценка окрашенных микропрепаратов проводилась методом световой микроскопии с использованием микроскопа Zeiss AxioLab.A1.

В полученных срезах визуализировались фрагменты (рис. 13) некротизированной слизистой оболочки (безъядерный эозинофильный субстрат с очертаниями предсуществующих структур) с наложениями детрита, распадающихся нейтрофилов, базофильных колоний микроорганизмов, раздробленных широких лентовидных гифов грибов, местами ветвящихся под прямым углом (рис. 14), и фрагменты костной ткани с широкими костно-мозговыми полостями, заполненными клеточно-тканевым детритом, распадающимися нейтрофилами, базофильными колониями микроорганизмов, раздробленными широкими лентовидными гифами грибов аналогичного вида (рис. 15), дающих положительную реакцию при окраске по PAS (рис. 16) и Грокотт (рис. 17).

Таким образом, подтверждался диагноз мукормикоз, риноорбитоцеребральная форма. Далее назначались инфузии амфотерицина В в течение 14 дней под контролем показателей крови, функции почек и печени, ионного состава крови и гемостаза. В зависимости от этих показате-



Рис. 12. *Mucor* spp.: широкий (до 20 мкм) несептированный мицелий, ветвящийся под прямым углом, и длинные (до 400 мкм) спорангиеносцы, оканчивающиеся шаровидными буроватыми спорангиями до 60 мкм в диаметре

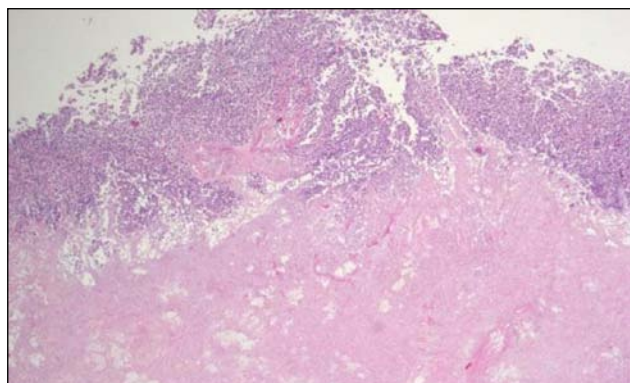


Рис. 13. Окраска — гематоксилин и эозин. 50×. В нижней части препарата — гомогенизированная эозинофильная слизистая оболочка с некрозом и наложениями по поверхности гнойного экссудата

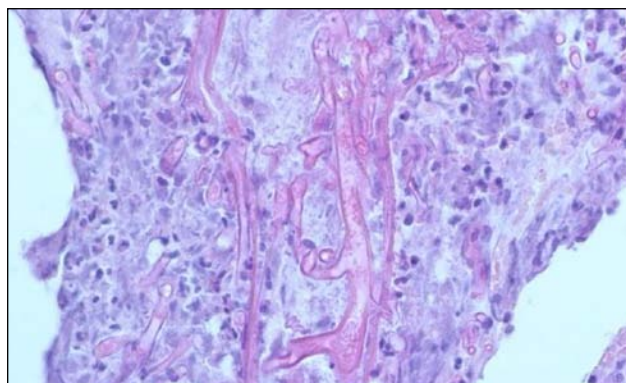


Рис. 14. Окраска — гематоксилин и эозин. 400×. В центральной части определяются гифы гриба среди клеточного детрита и распадающихся нейтрофильных гранулоцитов

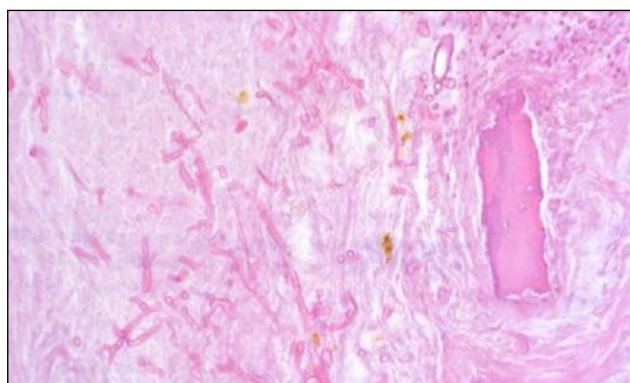


Рис. 15. Окраска — гематоксилин и эозин. 200×. Справа имеется фрагмент разрушенной костной балки, в центральной части среди клеточно-тканевого детрита определяются мицелий гриба и гранулы гемосидерина

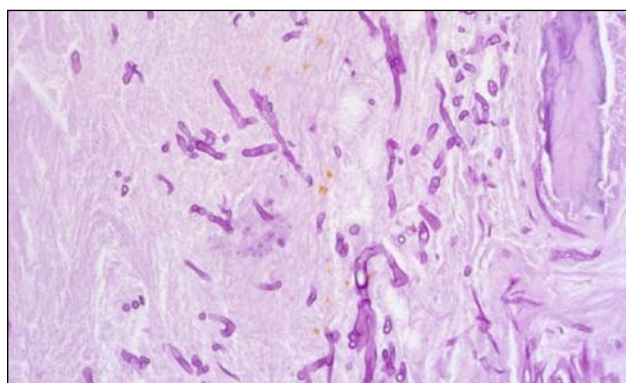


Рис. 16. Окраска — ШИК-реакция (PAS). 200×. В центральной части — мицелий гриба, дающий положительную реакцию

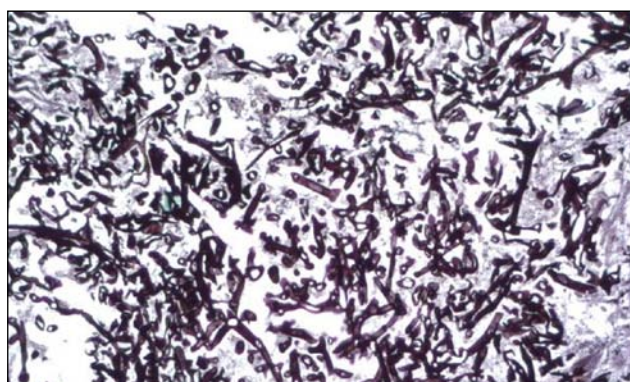


Рис. 17. Окраска — импрегнация серебром по Грокотт. 200×. В центральной части — мицелий гриба, дающий положительную реакцию

лей корректировалась дозировка препарата и проводились дополнительные инфузии.

Нежелательные явления

Нежелательные явления отсутствовали.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

В результате нашего наблюдения и проведенного лечения 14 пациентов были выписаны, у одной пациентки был летальный исход.

Обсуждение основного результата исследования

За последнее время появляется большое количество публикаций по постковидному мукормикозу околоносовых пазух. При этом большинство подобных публикаций представляет собой описание единичных случаев. В данной статье проанализирован опыт по стационарному ведению группы пациентов с подтвержденным мукормикозом, показаны особенности анамнеза, течения заболевания, его диагностики и лечения. Наш опыт свидетельствует, что пациенты относились к группе риска: сочетание перенесенного COVID-19 с необходимостью применения гормональной терапии и терапии моноклональными антителами, СД, часто неконтролируемый, с кетоацидозом.

Ограничения исследования

Выборка нашей работы ограничена обследованием 15 человек.

Заключение

Важные факторы эффективного лечения мукормикоза — комплексная диагностика и раннее начало этиотропного лечения в тесном сотрудничестве с врачами рентгенологами, патологоанатомами, микробиологами и инфекционистами. Для мукормикоза характерны специфические данные анамнеза и лучевой картины, только их знание позволит начать лечение до развития осложнений в виде интраорбитальной и внутричерепной инвазии, когда риск летального исхода значительно возрастает.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследования выполнены, рукопись подготовлена и публикуется за счет финансирования по месту работы авторов.

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

Участие авторов. А.В. Колсанов — прочел и одобрил направление рукописи на публикацию, разделил ответственность за изложенные данные с коллективом авторов; П.М. Зельтер — разработка концепции исследования, проведение и описание лучевых исследований пациентов, анализ полученных данных, написание статьи, редактирование статьи на этапе подготовки к публикации; О.В. Зелёва — дизайн исследования, набор пациентов, проведение первичного обследования, оперативного и терапевтического лечения пациентов, сбор и анализ биоматериала от пациентов, анализ полученных данных, написание

статьи, редактирование статьи на этапе подготовки к публикации; О.В. Иванова — проведение гистопатологического исследования биоматериала, анализ полученных данных; А.В. Лямин — проведение микробиологических исследований биоматериала, анализ полученных данных; Е.А. Сидоров — проведение и описание лучевых исследований пациентов, анализ полученных данных, написание статьи; Т.Ю. Владимирова — дизайн исследования, проведение первичного обследования, оперативного и терапевтического лечения пациентов, анализ полученных данных; А.В. Козлов — проведение микробиологических исследований биоматериала, анализ полученных данных; Ю.С. Пышкина — дизайн исследования, проведение и описание лучевых исследований пациентов, анализ полученных данных, написание статьи, редактирование статьи на этапе подготовки к публикации. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА

- Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*. 5th ed. New York: Churchill Livingstone; 2000.
- Jeong W, Keighley C, Wolfe R, et al. The epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis: a systematic review and meta-analysis of case reports. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25(1):26–34. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.07.011>
- John TM, Jacob CN, Kontoyiannis DP. When uncontrolled diabetes mellitus and severe COVID-19 converge: the perfect storm for mucormycosis. *J Fungi (Basel)*. 2021;7(4):298. doi: <https://doi.org/10.3390/jof7040298>
- Hoenigl M, Seidel D, Carvalho A, et al. The emergence of COVID-19 associated mucormycosis: a review of cases from 18 countries. *Lancet Microbe*. 2022;3(7):e543–e552. doi: [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(21\)00237-8](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00237-8)
- Khatiwada P, Giri A, Khatiwada P. Mucormycosis in diabetes mellitus. *Journal of Advances in Internal Medicine*. 2012;1(2):73–75. doi: <https://doi.org/10.3126/jaim.v1i2.6531>
- Chopra V, Flanders SA, O'Malley M, et al. Sixty-day outcomes among patients hospitalized with COVID-19. *Ann Intern Med*. 2021;174(4):576–578. doi: <https://doi.org/10.7326/M20-5661>
- Singh AK, Singh R, Joshi SR, et al. Mucormycosis in COVID-19: A systematic review of cases reported worldwide and in India. *Diabetes Metab Syndr*. 2021;15(4):102146. doi: <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2021.05.019>
- Kothandaraman N, Rengaraj A, Xue B, et al. COVID-19 endocrinopathy with hindsight from SARS. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2021; 320(1):E139–E150. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00480.2020>
- Randhawa G, Hagaman S, Pourabdollah Tootkaboni M, et al. A rare case of invasive mucormycosis in a diabetic patient treated with a short course of dexamethasone. *Am J Case Rep*. 2021;22:e932129. doi: <https://doi.org/10.12659/AJCR.932129>
- Prakash H, Ghosh AK, Rudramurthy SM, et al. A prospective multicenter study on mucormycosis in India: Epidemiology, diagnosis, and treatment. *Medical mycology*. 2019;57(4):395–402. doi: <https://doi.org/10.1093/mmy/myy060>
- Roden MM, Zaoutis TE, Buchanan WL, et al. Epidemiology and outcome of zygomycosis: A review of 929 reported cases. *Clin Infect Dis*. 2005;41(5):634–653. doi: <https://doi.org/10.1086/432579>
- Cornely OA, Alastruey-Izquierdo A, Arenz D, et al. Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect Dis*. 2019;19(12):e405–e421. doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30312-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30312-3)
- Хостелиди С.Н., Шагдилеева Е.В., Шадрилова О.В., и др. Случай генерализованного сочетанного микоза на фоне острой респираторной вирусной инфекции // *Проблемы медицинской микологии*. — 2019. — Т. 21. — № 4. — С. 24–29. [Khostelidi SN, Shagdileeva EV, Shadrivova OV, et al. The case of generalized combined mycosis on the background of acute respiratory viral infection. *Problemy medicinskoj mikologii*. 2019;21(4):24–29. (In Russ.)]

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Пышкина Юлия Сергеевна, к.м.н., доцент [Yulia S. Pyshkina, MD, PhD, Associate Professor]; адрес: 443099, Самара, ул. Чапаевская, д. 89 [89, Chapaevskaya str., 443099, Samara, Russia]; e-mail: yu.pyshkina@yandex.ru, SPIN-код: 4225-1020, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7241-6828>

Колсанов Александр Владимирович, д.м.н., профессор, профессор РАН [Alexander V. Kolsanov, MD, PhD, Professor, Professor RAN]; e-mail: avkolsanov@mail.ru, SPIN-код: 2028-6609, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4144-7090>

Зельтер Павел Михайлович, к.м.н. [Pavel M. Zelter, MD, PhD]; e-mail: pzelter@mail.ru, SPIN-код: 3678-3932, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1346-5942>

Зелёва Олеся Владимировна [*Olesya V. Zeleva*]; e-mail: olesyalorik@gmail.com, SPIN-код: 8139-1391, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0143-4655>

Иванова Ольга Викторовна, к.м.н. [*Olga V. Ivanova*, MD, PhD]; e-mail: o.v.ivanova@samsmu.ru, SPIN-код: 8806-7177, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4729-6203>

Лямин Артем Викторович, д.м.н., доцент [*Artem V. Lyamin*, MD, PhD, Associate Professor]; e-mail: a.v.lyamin@samsmu.ru, SPIN-код: 6607-8990, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5905-1895>

Сидоров Егор Андреевич [*Egor A. Sidorov*]; e-mail: egors9494@yandex.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2850-8768>

Владимирова Татьяна Юльевна, к.м.н., доцент [*Tatiana Yu. Vladimirova*, MD, PhD, Associate Professor]; e-mail: vladimirovalor@yandex.ru, SPIN-код: 6725-4931, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1221-5589>

Козлов Андрей Владимирович [*Andrey V. Kozlov*]; e-mail: a.v.kozlov2@samsmu.ru, SPIN-код: 6871-1845, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9384-6854>

Г.Г. Онищенко^{1,2}, А.Н. Куличенко³,
Е.И. Еременко³, С.В. Писаренко³

¹Российская академия образования, Москва, Российская Федерация

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

³Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт,
Ставрополь, Российская Федерация

История глобального распространения возбудителя сибирской язвы на основе полногеномного филогенетического анализа *Bacillus anthracis*

В обзоре представлены современные данные об истории распространения, филогеографии, популяционной структуре, особенностях эволюции возбудителя сибирской язвы. Обобщены результаты зарубежных публикаций и собственные оригинальные материалы о территориальном распределении генетических линий *Bacillus anthracis*, генетическом родстве вариантов, выделенных в России и за рубежом, путях распространения вариантов возбудителя на территории Российской Федерации и сопредельных стран. Исходя из ограниченных возможностей распространения сибиреязвенной инфекции с больными животными и высокой стабильности спор возбудителя в окружающей среде, показана ведущая роль деятельности человека в распространении *B. anthracis*. Описаны вероятные пути распространения патогена на дальние расстояния, определяемые исторической миграцией людей, маршрутами завоевателей, торговыми путями и ввозом продуктов животноводства. Распространение возбудителя сибирской язвы на территории России началось с Восточной Сибири и через юг Сибири достигло европейской части Российской Федерации, включая Северный Кавказ.

Ключевые слова: сибирская язва, *Bacillus anthracis*, генетика, эволюция, филогеография

Для цитирования: Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., Еременко Е.И., Писаренко С.В. История глобального распространения возбудителя сибирской язвы на основе полногеномного филогенетического анализа *Bacillus anthracis*. Вестник РАМН. 2022;77(6):391–397. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2291>

391

Введение

Сибирская язва — особо опасное инфекционное заболевание, вызываемое грамположительным спорообразующим микроорганизмом *Bacillus anthracis*. Инфекция характеризуется глобальным распространением, встре-

чаясь на всех континентах, за исключением Антарктиды, и являясь эндемичной для многих стран [1, 2].

До начала XX в. сибирская язва входила в число основных причин инфекционной смертности домашнего скота по всему миру. В настоящее время даже в относительно благополучных регионах существует реальная угроза по-

G.G. Onishchenko^{1,2}, A.N. Kulichenko³, E.I. Eremenko³, S.V. Pisarenko³

¹The Russian Academy of Education, Moscow, Russian Federation

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

³Stavropol Plague Control Research Institute, Stavropol, Russian Federation

The History of the Global Spread of the Causative Agent of Anthrax Based on the Whole Genome Phylogenetic Analysis of *Bacillus anthracis*

The review presents current data on the history of distribution, phylogeography, population structure, features of the evolution of the causative agent of anthrax. The results of foreign publications and our own original materials on the territorial distribution of genetic lines of *Bacillus anthracis*, the genetic relationship of variants isolated in Russia and abroad, the ways of distribution of variants of the pathogen in Russia and neighboring countries summarized. Based on the limited possibilities of spreading anthrax infection with sick animals and the high stability of pathogen spores in the environment, the leading role of human activity in the spread of *B. anthracis* shown. The probable ways of spread of the pathogen over long distances described, determined by the historical migration of people, the routes of conquerors, trade routes and the import of livestock products. The spread of the causative agent of anthrax on the territory of the Russian Federation began with Eastern Siberia and through the south of Siberia reached the European part of the Russian Federation, including the North Caucasus.

Keywords: anthrax, *Bacillus anthracis*, genetics, evolution, phylogeography

For citation: Onishchenko GG, Kulichenko AN, Eremenko EI, Pisarenko SV. The History of the Global Spread of the Causative Agent of Anthrax Based on the Whole Genome Phylogenetic Analysis of *Bacillus anthracis*. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2022;77(6):391–397. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2291>

ражения людей в результате заноса инфекции с зараженными товарами животного происхождения или скотом, а также активизации старых, в том числе ранее неизвестных, почвенных очагов. Особенности эпидемиологии, эволюции и популяционной структуры этого микроорганизма во многом определяются способностью образовывать эндоспоры, чрезвычайно устойчивые к неблагоприятным факторам окружающей среды и способные длительное время оставаться жизнеспособными.

Кроме того, события последних лет, в частности искусственная вспышка сибирской язвы в США в 2001 г., вызванная рассылкой писем со спорами сибиреязвенного микроба, подтвердили опасения отечественных специалистов относительно возможности применения *B. anthracis* в качестве агента биологического оружия [3, 4].

Вышеизложенное объясняет повышенный интерес современных ученых к этому заболеванию в целях обеспечения его эффективного контроля. Немаловажно и то, что в силу ряда своих особенностей, описанных далее, *B. anthracis* представляет собой удобную модель для научных дисциплин, изучающих как макро-, так и микроэволюционные процессы.

Филогенетика и популяционная структура *B. anthracis*

Особенности жизненного цикла *B. anthracis*, представляющего собой последовательную смену короткого интенсивного размножения в организме инфицирован-

ных животных и длительного пребывания в почве в форме покоящихся спор, во время которого мутационные события не происходят, а также отсутствие в естественных условиях рекомбинаций и горизонтального переноса генов стали причиной очень низкой по сравнению с большинством других микроорганизмов скорости эволюционных процессов и строгой клональности *B. anthracis*.

Одна из первых удачных попыток описать филогенетическую структуру глобальной популяции *B. anthracis* была предпринята M.N. Van Ert et al. На основе результатов проведенного в 2007 г. полногеномного секвенирования отдельных штаммов, анализа варибельных тандемных повторов и так называемых канонических однонуклеотидных замен (SNP) в популяции сибиреязвенного микроба было предложено разделить три основные клады (линии, группы) — А, В и С — на 12 подгрупп, получивших обозначения A.Br.Ames, A.Br.001/002, A.Br.Aust94, A.Br.003/004, A.Br.Vollum, A.Br.005/006 (Ancient A), A.Br.008/009 (TEA), A.Br.WNA, B.Br.KrugerB, B.Br.001/002, B.Br.CNEVA и C.Br.A1055 [5]. Позднее, по мере получения новых данных о генетических особенностях изолятов сибиреязвенного микроба, выделенных в различных странах мира, в том числе полученных в результате их полногеномного анализа, произошло определенное переосмысление структуры глобальной популяции *B. anthracis*, а ее номенклатура была уточнена и переработана [6, 2].

Как и ранее, на современном уровне знаний в популяции сибиреязвенного микроба выделяют три основные клады — А, В и С (рис. 1).

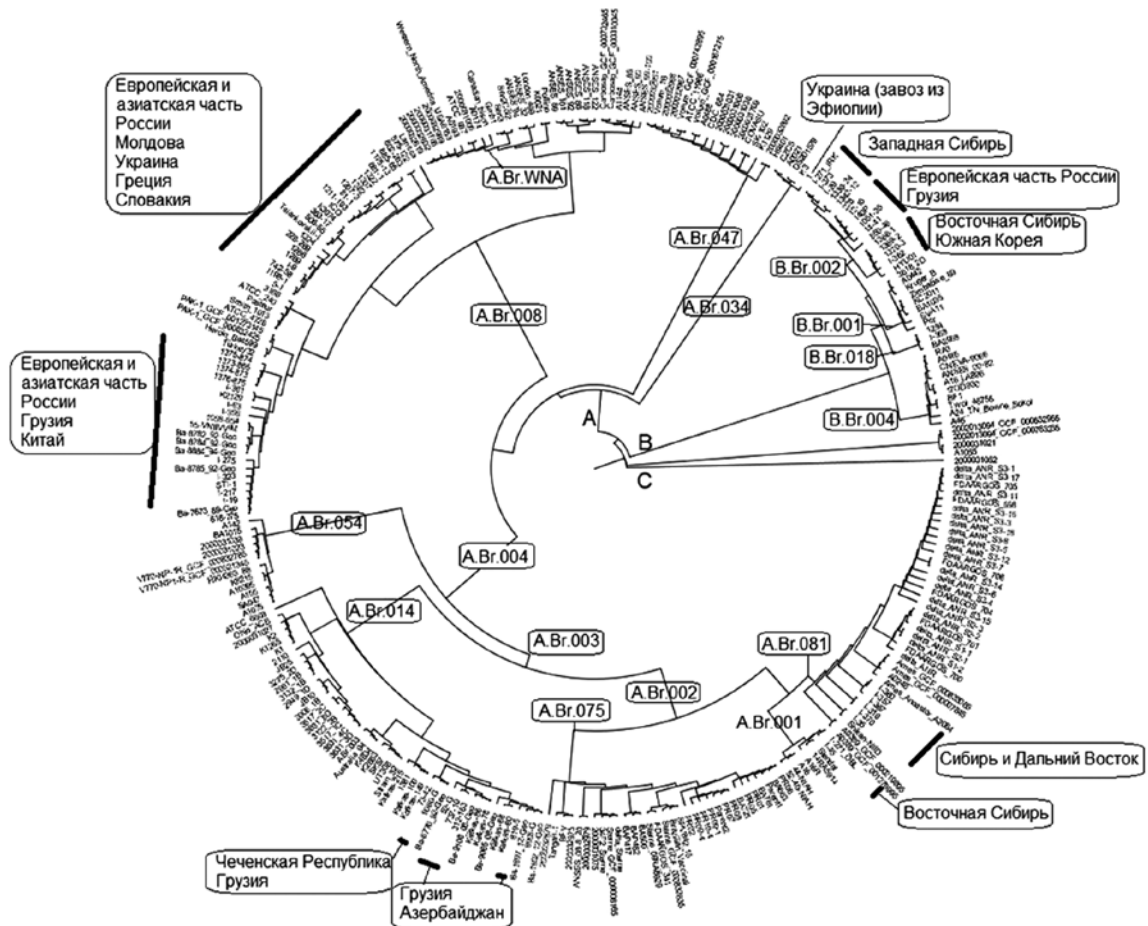


Рис. 1. Филогенетическая структура глобальной популяции *B. anthracis*, построенная по данным полногеномного секвенирования 288 штаммов

Клада А — доминирующая клональная линия, наиболее многочисленная и распространенная (встречается повсеместно, к ней относится около 90% всех изученных к настоящему моменту штаммов возбудителя сибирской язвы), подразделяется на четыре монофилетические группы (субклады): А.Br.034 (А.Br.005/006, Ancient A), А.Br.047 (А.Br.Vollum), А.Br.004 и А.Br.008 (А.Br.ТЕА). Каждая из групп демонстрирует определенные закономерности в распределении по миру.

Группа А.Br.034, «Древняя А» (Ancient A), характеризуется особенно сильной географической привязкой и представлена штаммами, выделенными исключительно в странах Африки, таких как Ботсвана, Камерун, Чад, Нигерия, Танзания, Уганда, Замбия [6–8].

В отличие от нее, группа А.Br.047 (А.Br.Vollum) наиболее широко распространена географически, изоляты именно этой генетической линии являются доминирующими в Пакистане и Афганистане, встречается в Западном Китае [9–11]. Предполагается также, что из указанных стран штаммы данной группы вместе с зараженной споры шерстью попадают в Европу и Северную Америку, где регулярно выявляются в ходе мероприятий эпидемиологического контроля на перерабатывающих предприятиях [5, 12–16]. По нашим данным, штаммы этой группы были выделены также в Туркменистане.

Группа А.Br.004 включает три подгруппы: А.Br.054 (А.Br.V770), А.Br.003 с делением на А.Br.014 (А.Br.Aust94) и А.Br.002 с бифуркацией А.Br.075 (А.Br.Sterne) и А.Br.081 (А.Br.Ames).

Подгруппа А.Br.054 широко распространена, встречается на территории Американского континента, в Африке и Европе. К данной подгруппе относятся также некоторые аттенуированные штаммы, в частности V770, которые использовались в прошлом веке в США в качестве производственных в технологии сибирезывенных вакцин.

Подгруппа А.Br.014 (А.Br.Aust94) распространена практически повсеместно, встречается в Европе (Великобритания, Германия, Нидерланды), Азии (Турция, Грузия, Таиланд, Индия, Западный Китай), Южной Африке, Австралии и Северной Америке [6, 17].

Штаммы подгруппы А.Br.075 (А.Br.Sterne, А.Br.001/002) выявлялись в разное время в США, Бразилии, странах Европы, Восточной и Юго-Восточной Азии и в России; подгруппы А.Br.081 (А.Br.Ames) — также преимущественно в США, реже встречаются штаммы из Японии, Дании, Южной Кореи [13, 18].

Трансевразийская субклада А.Br.008 (А.Br.ТЕА) является доминирующей в Китае, широко распространена по всей Азии и Европе. Подразделяется на три подгруппы — А.Br.008/011 (А.Br.ТЕА Br.008/011), А.Br.WNA и А.Br.011/009 (ТЕА Br.011), дендрограмма субклады характеризуется высокой степенью ветвления при минимальных отличиях в SNP между отдельными генетическими линиями.

Штаммы, относящиеся к кладе В, составляют менее 10% общего количества изученных изолятов. Группа включает три малочисленные субклады — В.Br.004 (В.Br.CNEVA), В.Br.002 (В.Br.001/002) и В.Br.001 (В.Br.Kruger В) — и характеризуется значительно меньшим по сравнению с кладой А географическим распространением. Так, штаммы субклады В.Br.004 (В.Br.CNEVA) встречаются исключительно на территории Европы, в частности во Франции, Швейцарии, Южной Германии, Северной Италии, Боснии и Герцеговине, Хорватии, Словении, Словакии и Польше, в целом совпадая с регионами традиционного выпасного скотоводства [19,

20]. В то же время в группе В.Br.Kruger В представлены преимущественно африканские штаммы, выделенные в Южно-Африканской Республике и Зимбабве, а также один штамм из Швеции.

Клада С — самая малочисленная и представлена всего четырьмя штаммами, выделенными на территории США, и не встречается в других регионах мира [5, 6].

Филогеография и филодинамика возбудителя сибирской язвы

Изучение эволюции *B. anthracis* требует наличия эффективного метода датировки ключевых филогенетических и филогеографических событий.

В качестве инструмента установления временных интервалов дивергенции генетических линий возбудителя сибирской язвы современные исследователи применяют математическую модель, предложенную M.N. Van Ert et al. [5]. В основе этой модели, получившей название «молекулярные часы», лежит идея, что изменение генома бактерии, в том числе SNP, является результатом спонтанного мутагенеза, частота которого, по данным авторов, для *B. anthracis* составляет $5,2 \times 10^{-10}$ мутаций/генерацию. Размножение сибирезывенного микроба происходит только в ходе развития инфекционного процесса в зараженном животном и прекращается с выделением его в окружающую среду и переходом в спорную форму. Авторы теоретически рассчитали, что от момента инфицирования животного до его смерти пройдет около 43 генераций. Окончательные расчеты авторы предложили проводить, исходя из предположения, что в среднем в год число циклов «инфицирование—смерть» составляет от 0,5 до 1.

Необходимо отметить, что, несмотря на большое количество упрощений и существенных допущений, модель «молекулярных часов» на значительных временных интервалах (сотни и тысячи лет) показывает удовлетворительную сходимость с известными историческими процессами, в частности миграцией населения. В то же время нужно учитывать высокую вариабельность «констант», заложенных в модель, особенно на относительно коротких интервалах времени. Так, известно, что величина показателя «число циклов инфицирование—смерть», рассчитанного по результатам изучения ряда последовательных вспышек сибирской язвы в северной Канаде в период с 1962 по 1991 г., составила всего 0,28, что практически вдвое меньше нижней границы оценочного диапазона, использованного M.N. Van Ert et al. [20]. В свою очередь, весьма вероятно, что для крупных и протяженных во времени вспышек расчетное значение данного коэффициента, наоборот, может превышать верхнюю границу этого диапазона.

Эволюционный анализ, проведенный нами на основе SNP филогении корового генома 197 штаммов, включающих изоляты из России, дал представление о временной динамике развития и диверсификации вида *B. anthracis*. Результаты анализа отражены на рис. 2.

Согласно результатам проведенного анализа, событие первой дивергенции, вероятно, произошло около 11 тыс. лет назад (9182 г. до н.э., здесь и далее по тексту указана медианная дата дивергенции) и привело к отделению главной генетической линии С. Следующее эволюционное событие, которое привело к дивергенции главных генетических линий А и В, по нашим расчетам, датируется началом пятого тысячелетия до нашей эры (4707 г. до н.э.). Получен-

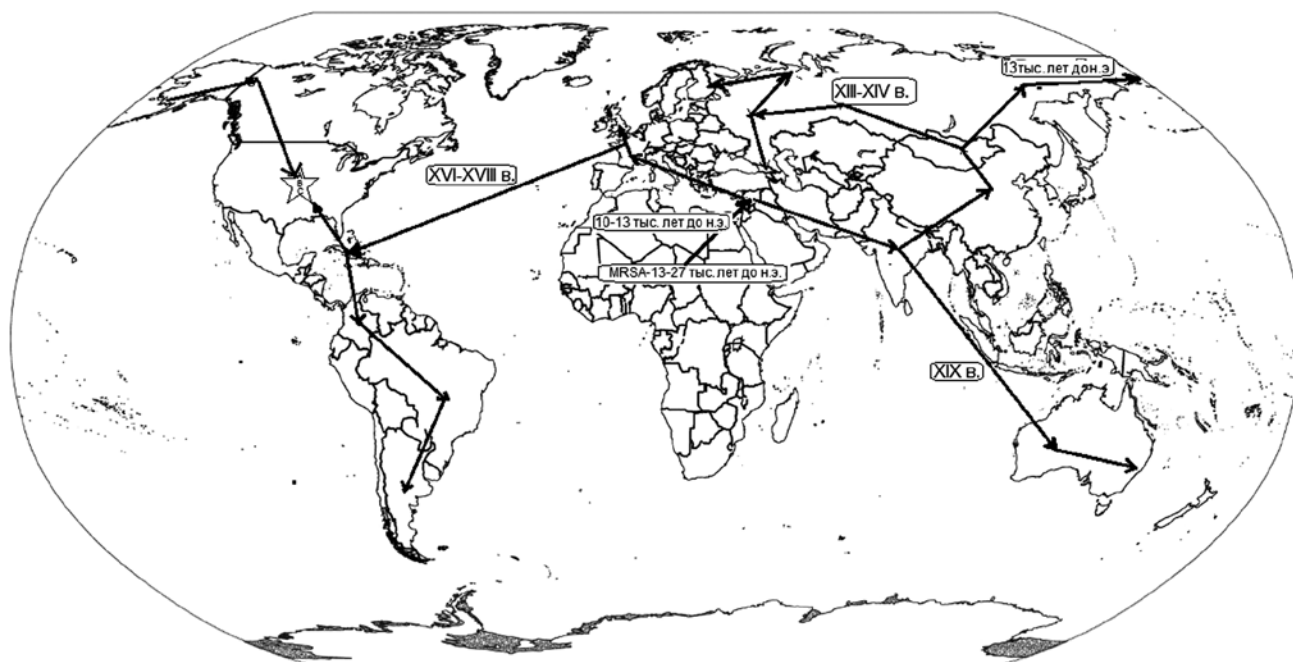


Рис. 2. Предполагаемые пути исторического распространения возбудителя сибирской язвы

394

ные результаты не противоречат моделям «молекулярных часов», основанным на синонимичных заменах в масштабах всего генома, которые показывают, что в среднем Голоцене (от 3277–3064 до 6127–6555 гг. до н.э.) произошло массивное распространение линии A [21].

Главная генетическая линия В, дивергенция которой датируется началом пятого тысячелетия до нашей эры (4707 г. до н.э.), представлена штаммами группы V.Br.004 (V.Br.CNEVA). Более поздние эволюционные события привели к дивергенции других групп: V.Br.018 — 170 г. н.э., V.Br.011 (Kruger V) — 142 г. н.э. и V.Br.013 (ASIA) — 363 г. н.э. Самыми молодыми представителями генетической линии В являются генотипы V.Br.016 (SIBERIA) и V.Br.017 (EUROPE), дивергенция которых от общей предковой линии V.Br.015 датируется серединой XV в. н.э. (1552 г.).

Базальную ветвь генетической линии А, как указывалось ранее, занимают штаммы группы A.Br.034 (Ancient A), дивергенция этой ветви датируется второй половиной VIII в. до н.э. (721 г. до н.э.). Отделение генотипа A.Br.047 (Vollum) от предковой ветви A.Br.010, согласно полученным результатам, вероятно, имело место на рубеже V–VI вв. до н.э. (499 г. до н.э.). Следующее событие дивергенции предковой ветви A.Br.005 на A.Br.008 и A.Br.004 датируется второй половиной IV в. до н.э. (333 г. до н.э.). В эпоху раннего Средневековья (VI–X в. н.э.) происходили эволюционные изменения, связанные с дивергенцией предковой генетической линии A.Br.008. Так, во второй половине VIII в. (771 г.) происходит дивергенция ветвей A.Br.147 (WNA) и A.Br.133 (Carbosap). Дальнейшие эволюционные процессы, вероятно, имевшие место в первой половине X в., привели к дивергенции генетических линий A.Br.161 (Heroin) — 912 г., A.Br.118 (STI) и A.Br.105 (Tsiankovskii) — 941 г.

Дивергенция предковой ветви A.Br.004, давшей начало генетической линии A.Br.004 (V770) и потомственной линии A.Br.003, скорее всего, произошла в конце первого столетия нашей эры (91 г.). Позднее, в начале III в. (220 г.), линия A.Br.003 разделилась на ветвь A.Br.014 (Australia 94) и ветвь A.Br.002. Дивергенция ветви A.Br.002

на ветви A.Br.075 и A.Br.081, соответствующие генотипам Sterne и Ames, согласно полученным данным, вероятнее всего, могла произойти в конце XIII в. (1292 г.). Дивергенция ветви A.Br.029 (Caucasus-East Anatolia) в структуре группы Australia 94, по нашим оценкам, произошла во второй половине XVI в. (1573 г.).

С учетом полученных филогенетических данных и результатов датировки можно предположить следующую модель распространения *B. anthracis* по земному шару.

Весьма вероятно, что предшественник *B. anthracis* сформировался на Африканском континенте более 10 тыс. лет назад. Первичное распространение сибирской язвы по территории Азии во многом связано с появлением и развитием сельского хозяйства на Ближнем Востоке (Плодородный Полумесяц), а также независимо друг от друга — во многих других областях земного шара, таких как Древняя Индия, Древний Китай, Ольмеки (нынешняя Мексика), Северный Чико (нынешнее Перу).

Из Азии произошла и первая интродукция *B. anthracis* на Американский континент — по так называемому Берингову сухопутному мосту предки нынешних штаммов *B. anthracis*, принадлежащих к линии С, были занесены на территорию Северной Америки [19].

Вторая интродукция, линии А, могла произойти значительно позже с мигрантами из Северной Франции более 500 лет тому назад, в XVI в., как следствие работников невольниками из Западной Африки и колонизации Северо-Западной Америки выходцами из России в конце XVII–XVIII вв. [22, 23]. Появление в Северной Америке линии В, которая не подверглась экологической адаптации и проявилась лишь однажды единственным изолятом в 2001 г. из вспышки около Сан-Хосе (Калифорния), связывают с человеческой активностью, вероятно, с импортом товаров.

Человеческая деятельность в области торговли и индустриализации оказала значительное влияние на глобальную структуру популяции *B. anthracis*, приведя к одновременному существованию в одном регионе множества генетически неблизкородственных штаммов. Так, в Соединенном Королевстве присутствуют в качестве

второстепенных генетические типы, более характерные для Южной и Восточной Азии (сублинии A.Br.014 (A.Br. Aust94), A.Br.075 (A.Br.001/002), A.Br.081 (A.Br.Ames)), что согласуется с сообщениями о прослеживании заражения сибирской язвой импортируемых продуктов животного происхождения из этих регионов в XIX и начале XX в. [24–27].

Торговля также представляется наиболее вероятным источником интродукции *B. anthracis* в Австралию. Считается, что возбудитель сибирской язвы был впервые завезен туда в 1847 г. с загрязненными удобрениями на основе костной муки, доставленной из Индии [27]. Примечательно, что именно в этот период из Индии массово ввозился домашний скот, который стал недостающим звеном в обеспечении персистенции возбудителя на континенте. Генетические данные дают некоторое подтверждение этой гипотезе. В частности, все 10 исследованных изолятов из Индии были отнесены к сублинии A.Br.Aust94, которая также является доминирующей сублинией в Австралии. Генетические данные также указывают на эпизоды заноса в Австралию изолятов, принадлежащих к подгруппам A.Br.034 (A.Br.005/006) и A.Br.081 (A.Br.001/002), более характерным для Южной Африки и Восточной Азии.

Таким образом, деятельность человека оказала существенное влияние на современное распространение *B. anthracis*. При этом четко прослеживаются, как минимум, три последовательные этапа действия антропогенного фактора: обширное распространение ветви А в среднем Голоцене, завоз отдельных генотипов *B. anthracis* из Старого Света в Новый Свет и Австралию в период эпохи активной колонизации, повторные завозы более редких генотипов в развитые страны с продуктами животного происхождения [5].

Распространение генетических линий *B. anthracis* в России

К настоящему времени на территории Российской Федерации выявлено 5 из 12 «канонических» линий *B. anthracis* [28–30].

В европейской части России в разное время обнаруживали штаммы ветви A.Br.008 преобладающей трансевразийской линии ТЕА Br.008/11, при этом большинство из них принадлежало группе A.Br.105(Tsiankovskii), меньшая часть — к группе A.Br.118 (STI).

В республиках юга России, а также Ставропольском крае распространены изоляты линии A.Br.014 (A.Br. Aust94). Часть из них принадлежит новой, ранее не описанной группе Caucasus-East Anatolia A.Br.029 (CEA), общей для штаммов с Северного Кавказа, из Закавказья и Турции. Еще одна новая группа — V.Br.017(EUROPE) — включает штаммы линии V.Br.002 (V.Br.001/002), выделенные в Республике Дагестан, Тверской области и Республике Башкортостан [30].

Генотипы штаммов, циркулирующих в азиатской части России, отличаются от указанных выше. Большинство изолятов относятся к линии A.Br.008, группе A.Br.118(STI), только один изученный штамм — к генотипу A.Br.105 (Tsiankovskii).

Большая часть штаммов относилась к трем группам линии V.Br.002 (V.Br.001/002). К их числу, в частности, относится группа V.Br.016 (SIBERIA), которая включает штаммы из Западной Сибири и один штамм из Республики Саха — Якутия. К этой группе отдельной ветвью

примыкает штамм из Республики Татарстан, что может свидетельствовать об общности происхождения группы SIBERIA и европейских штаммов линии V.Br.002 (V.Br.001/002). Вторая группа — V.Br.013 (ASIA) — включает штаммы из республик Тыва и Бурятия, еще одна — V.Br.018 — была представлена двумя штаммами из Омской области.

Эволюционно-филогенетический анализ популяции возбудителя сибирской язвы позволяет приблизительно определить время дивергенции основных генетических линий на территории Российской Федерации. Характер распределения *B. anthracis*, вероятно, обусловлен историческими событиями, связанными с перемещением масс людей и торговлей продуктами животноводства.

Наиболее раннее событие, позволяющее датировать присутствие возбудителя сибирской язвы на территории России, могло произойти в Восточной Сибири (нынешние республики Бурятия и Тыва) и датируется примерно 363 г. н.э. (дивергенция группы ASIA главной генетической линии V).

Следующее по времени филогенетическое событие — дивергенция линий A.Br.118 (STI) и A.Br.105 (Tsiankovskii) — произошло ориентировочно в 941 г. Линия A.Br.118 (STI) (1227 г.) представлена штаммами, выделенными в Восточной Сибири (Республика Бурятия, Красноярский и Приморский края), а также в Западной Сибири (Тюменская и Омская области).

Затем около 1292 г. произошла дивергенция на ветви A.Br.075 (Восточная Сибирь, Республика Тыва) и A.Br.081 (Восточная Сибирь — Республика Бурятия, Хабаровский край, Западная Сибирь — Алтай).

Линия A.Br.105 (Tsiankovskii), представленная штаммами из европейской части Российской Федерации, по нашим расчетам, сформировалась около 1426 г.

В среднем в 1552 г. сформировались генотипы V.Br.016 (SIBERIA — Западная Сибирь — Алтай и Ямало-Ненецкий автономный округ, Восточная Сибирь — Якутия) и V.Br.017 (EUROPE — республики Дагестан и Башкортостан).

Наиболее позднее событие — дивергенция ветви A.Br.029 (Caucasus-East Anatolia, штаммы с Северного Кавказа Российской Федерации) в структуре группы Australia 94, по нашим оценкам, произошла во второй половине XVI в. (1573 г.).

Таким образом, основанное на хронологии событий дивергенции генетических линий распространение возбудителя сибирской язвы на территории России, начавшись с Восточной Сибири, продолжилось к западу и через юг Сибири достигло европейской части Российской Федерации, включая Северный Кавказ.

Учитывая датировку этих филогенетических процессов, можно предположить, что распространению *B. anthracis* по всей Евразии, включая территорию современной России, способствовали два крупных исторических события, сопровождавшиеся перемещением крупных масс людей и животных: первым являлись монгольские завоевания в XIII в. и создание империи, распространившейся из Китая в Восточную Европу; вторым — русская колонизация Сибири и Дальнего Востока в XVI–XIX вв.

Заключение

Филогенетический и эволюционный анализ изолятов *B. anthracis* из разных стран мира, выполненный на основе собственных и литературных данных об однонуклеотид-

ных полиморфизмах полного генома позволил расширить представление о генетической структуре глобальной популяции, эволюционной истории, путей и времени распространения по планете этого патогенного микроорганизма.

Параллельно с длительным историческим процессом распространения шло формирование новых генотипов *B. anthracis*, неравномерно распределенных в разных географических областях. Преобладание штаммов главной генетической линии А в мире и ограниченное географическое распространение и количество изолятов линий В и особенно С может быть связано с их разными универсальными адаптационными возможностями и путями распространения. Штаммы линии С и группы А.Br.WNA встречаются только в Северной Америке. На территории Российской Федерации выделяются штаммы главных генетических линий А и В. На Северном Кавказе России, в Закавказье и Турции распространены родственные штаммы кластера SEA генетической группы линии А.Br.Aust94. Вспышка сибирской язвы среди оленей в Ямало-Ненецком автономном округе Российской Федерации в 2016 г. после 70 лет эпизоотического благополучия была вызвана штаммом линии В и явно несет след давних массовых эпизоотий [31, 32].

Несмотря на впечатляющие достижения в области полногеномного секвенирования и установления филогенетической структуры глобальной популяции *B. anthracis* в последние два десятилетия, представления о естественной истории этого патогена остаются ограниченными в двух главных аспектах.

Во-первых, точный возраст вида *B. anthracis* или даже самого последнего общего предка идентифицированных в настоящее время генетических линий точно не известен. Предварительная датировка образования *B. anthracis* была предложена на основе средней частоты мутаций и оценок циклов заражения в год. Однако, в отличие от других патогенов, особенности жизненного цикла возбудителя сибирской язвы предполагают сложность такого

анализа [6, 33]. Математическая модель «молекулярных часов», применяемая для датировки филогенетических событий, является компромиссом многочисленных допущений, а результаты, получаемые с ее использованием, скорее всего, имеют большую погрешность.

Во-вторых, точное место образования большинства сублиний *B. anthracis* неизвестно и может быть установлено лишь приблизительно. Причина этого — возможность повторного перемещения спор возбудителя с животными продуктами на большие расстояния [34–36].

Геномный анализ вариантов *B. anthracis* привел к пониманию связей генетического разнообразия патогена с процессами одомашнивания животных, расселения народов и более поздними факторами, такими как трансконтинентальная торговля и индустриализация [37, 38]. Можно уверенно констатировать, что своему глобальному распространению возбудитель сибирской язвы во многом обязан именно активности человека.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Рукопись 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. Онищенко — формирование и окончательная редакция статьи; А.Н. Куличенко — поисково-аналитическая работа и подготовка обзора; Е.И. Еременко — поисково-аналитическая работа и подготовка обзора; С.В. Писаренко — собственные филогенетические и эволюционные исследования и редактирование рукописи. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили итоговую версию до публикации.

ЛИТЕРАТУРА

- Carlson CJ, Getz WM, Kausrud KL, et al. Spores and soil from six sides: interdisciplinarity and the environmental biology of anthrax (*Bacillus anthracis*). *Biol Rev Camb Philos Soc.* 2018;93(4):1813–1831. doi: <https://doi.org/10.1111/brv.12420>
- Pilo P, Frey J. Pathogenicity, population genetics and dissemination of *Bacillus anthracis*. *Infect Genet Evol.* 2018;64:115–125. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.06.024>
- Сибирская язва: актуальные проблемы разработки и внедрения медицинских средств защиты / под ред. Г.Г. Онищенко, В.В. Кожухова. — М.: Медицина, 2010. — 424 с. [*Sibirskaya yazva: aktual'nye problemy razrabotki i vnedreniya medicinskih sredstv zashchity* / pod red. GG Onishchenko, VV Kozhuhova. Moscow: Medicina; 2010. 424 s. (In Russ.)]
- Сибирская язва: актуальные проблемы разработки и внедрения медицинских средств защиты / под ред. Г.Г. Онищенко, И.В. Дармова, С.В. Борисевича. — 2-е изд., испр. и доп. — СПб., 2018. — 592 с. [*Sibirskaya yazva: aktual'nye problemy razrabotki i vnedreniya medicinskih sredstv zashchity* / pod red. GG Onishchenko, IV Darmova, SV Borisevicha. 2-e izd., ispr. i dop. Sankt-Peterburg; 2018. 592 s. (In Russ.)]
- Van Ert MN, Easterday WR, Huynh L, et al. Global Genetic Population Structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS One.* 2007;2(5):e461. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000461>
- Sahl JW, Pearson T, Okinaka R, et al. A *Bacillus anthracis* genome sequence from the Sverdlovsk 1979 autopsy specimens. *mBio.* 2016;7(5):e01501-16. doi: <https://doi.org/10.1128/mBio.01501-16>
- Hang'Ombe MB, Mwansa JC, Muwowa S, et al. Human animal anthrax outbreak in the Luangwa valley of Zambia in 2011. *Trop Doct.* 2012;42(3):136–139. doi: <https://doi.org/10.1258/td.2012.110454>
- Ohnishi N, Maruyama F, Ogawa H, et al. Genome sequence of a *Bacillus anthracis* outbreak strain from Zambia, 2011. *Genome Announc.* 2014;6(2):e00116-14. doi: <https://doi.org/10.1128/genomeA.00116-14>
- Derzelle S, Aguilar-Bultet L, Frey J. Comparative genomics of *Bacillus anthracis* from the wool industry highlights polymorphisms of lineage A.Br.Vollum. *Infect Genet Evol.* 2016;46:50–58. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.10.019>
- Price EP, Seymour ML, Sarovich DS, et al. Molecular epidemiologic investigation of an anthrax outbreak among heroin users, Europe. *Emerg Infect Dis.* 2012;18(8):1307–1313. doi: <https://doi.org/10.3201/eid1808.111343>
- Aikembayev AM, Lukhnova L, Temiraliyeva G, et al. Historical distribution and molecular diversity of *Bacillus anthracis*, Kazakhstan. *Emerg Infect Dis.* 2010;16(5):789–796. doi: <https://doi.org/10.3201/eid1605.091427>
- Derzelle S, Girault G, Roest HI, et al. Molecular diversity of *Bacillus anthracis* in the Netherlands: investigating the relationship to the world-

- wide population using whole-genome SNP discovery. *Infect Genet Evol.* 2015;32:370–376. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.03.030>
13. Khmaladze E, Birdsell DN, Naumann AA, et al. Phylogeography of *Bacillus anthracis* in the country of Georgia shows evidence of population structuring and is dissimilar to other regional genotypes. *PLoS One.* 2014;9(7):e102651. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102651>
 14. Pilo P, Perreten V, Frey J. Molecular epidemiology of *Bacillus anthracis*: determining the correct origin. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74(9):2928–2931. doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.02574-07>
 15. Wattiau P, Klee SR, Fretin D, et al. Occurrence and genetic diversity of *Bacillus anthracis* strains isolated in an active wool-cleaning factory. *Appl Environ Microbiol.* 2008;74(13):4005–4011. doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.00417-08>
 16. Simonson TS, Okinaka RT, Wang B, et al. *Bacillus anthracis* in China and its relationship to worldwide lineages. *BMC Microbiol.* 2009;9:71. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-71>
 17. Jung KH, Kim SH, Kim SK, et al. Genetic populations of *Bacillus anthracis* isolates from Korea. *J Vet Sci.* 2012;13(4):385–393. doi: <https://doi.org/10.4142/jvs.2012.13.4.385>
 18. Girault G, Blouin Y, Vergnaud G, et al. High-throughput sequencing of *Bacillus anthracis* in France: investigating genome diversity and population structure using whole-genome SNP discovery. *BMC Genomics.* 2014;15:288. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-288>
 19. Kenefic LJ, Pearson T, Okinaka RT, et al. Pre-Columbian origins for North American anthrax. *PLoS One.* 2009;4(3):e4813. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004813>
 20. Vergnaud G, Girault G, Thierry S, et al. Comparison of French and worldwide *Bacillus anthracis* strains favors a recent, post-Columbian origin of the predominant north-American clade. *PLoS One.* 2016;11(2):e0146216. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146216>
 21. Van Ness GB. Ecology of anthrax. *Science.* 1971;172(3990):1303–1307. doi: <https://doi.org/10.1126/science.172.3990.1303>
 22. Hanson RP. The earliest account of anthrax in man and animals in North America. *J Am Vet Med Assoc.* 1959;1;135:463–465.
 23. Legge TM. The Milroy Lectures on industrial anthrax: Delivered before the Royal College of Physicians of London. *Br Med J.* 1905;1(2306):529–531. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.1.2306.529>
 24. Doig AT, Gemmill JS. Epidemiology of a small outbreak of anthrax. *Lancet.* 1951;1(6662):1011–1012. doi: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(51\)92521-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(51)92521-4)
 25. Jamieson WM, Green DM. Anthrax and bone-meal fertilizer. *Lancet.* 1955;268(6863):560. doi: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(55\)91238-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(55)91238-1)
 26. Green DM, Jamieson WM. Anthrax and bone-meal fertilizer. *Lancet.* 1958;2(7038):153–154. doi: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(58\)92237-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(58)92237-2)
 27. Geering WA. Anthrax in Australia. *UN-WHO Inter-regional Anthrax Workshop.* Kathmandu, Nepal; 1997.
 28. Pisarenko SV, Eremenko EI, Ryazanova AG, et al. Phylogenetic analysis of *Bacillus anthracis* strains from Western Siberia reveals a new genetic cluster in the global population of the species. *BMC Genomics.* 2019;20(1):692. doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6060-z>
 29. Pisarenko SV, Eremenko EI, Kovalev DA, et al. Molecular genotyping of 15 *B. anthracis* strains isolated in Eastern Siberia and Far East. *Mol Phylogenet Evol.* 2021;159:107116. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107116>
 30. Eremenko E, Pechkovskii G, Pisarenko S, et al. Phylogenetics of *Bacillus anthracis* isolates from Russia and bordering countries. *Infect Genet Evol.* 2021;92:104890. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.104890>
 31. Куличенко А.Н., Еременко Е.И., Рязанова А.Г., и др. Биологические свойства и молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных во время вспышки сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г. // *Проблемы особо опасных инфекций.* — 2017. — № 1. — С. 94–99. [Kulichenko AN, Eremenko EI, Ryazanova AG, et al. Biological Properties and Molecular-Genetic Characteristics of *Bacillus anthracis* Strains, Isolated during the Outbreak of Anthrax in the Yamalo-Nenets Autonomous District in 2016. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2017;1:94–99. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2017-1-94-99>
 32. Timofeev V, Bahtejeva I, Mironova R, et al. Insights from *Bacillus anthracis* strains isolated from permafrost in the tundra zone of Russia. *PLoS One.* 2019;14(5):e0209140. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209140>
 33. Pearson T, Okinaka RT, Foster JT, et al. Phylogenetic understanding of clonal populations in an era of whole genome sequencing. *Infect Genet Evol.* 2009;9(5):1010–1019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.05.014>
 34. Keim P, Grunow R, Vipond R, et al. Whole Genome Analysis of Injectional Anthrax Identifies Two Disease Clusters Spanning More Than 13 Years. *EBioMedicine.* 2015;2(11):1613–1618. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2015.10.004>
 35. Pullan ST, Pearson TR, Latham J, et al. Whole-genome sequencing investigation of animal-skin-drum-associated UK anthrax cases reveals evidence of mixed populations and relatedness to a US case. *Microb Genom.* 2015;1(5):e000039. doi: <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000039>
 36. Szablewski CM, Hendricks K, Bower WA, et al. Anthrax Cases Associated with Animal-Hair Shaving Brushes. *Emerg Infect Dis.* 2017;23(5):806–808. doi: <https://doi.org/10.3201/eid2305.161554>
 37. Tatem AJ, Rogers DJ, Hay SI. Global transport networks and infectious disease spread. *Adv Parasitol.* 2006;62:293–343. doi: [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)62009-X](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)62009-X)
 38. Wyres K, Conway T, Garg S, et al. WGS analysis and interpretation in clinical and public health microbiology laboratories: What are the requirements and how do existing tools compare? *Pathogens.* 2014;3(2):437–458. doi: <https://doi.org/10.3390/pathogens3020437>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Еременко Евгений Иванович, д.м.н., профессор [Evgenii I. Eremenko, MD, PhD, Professor]; адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, д. 13–15 [address: 13–15, Sovetskaya str., 355035, Stavropol, Russia]; e-mail: ejer@mail.ru, SPIN-код: 3966-6884, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1117-1185>

Онищенко Геннадий Григорьевич, д.м.н., профессор, академик РАН [Gennadii G. Onishchenko, MD, PhD, Professor, Academician of the RAS]; e-mail: onishchenko@rao.ru, SPIN-код: 8535-6930, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0135-7258>

Куличенко Александр Николаевич, д.м.н., профессор, академик РАН [Alexandr N. Kulichenko, MD, PhD, Professor, Academician of the RAS]; e-mail: kulichenko_an@list.ru, SPIN-код: 5030-2635, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Писаренко Сергей Владимирович, к.х.н. [Sergey V. Pisarenko, PhD in Chemical Sciences]; e-mail: pisarenko_sv@mail.ru, SPIN-код: 7749-6935, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6458-6790>

Е.В. Орлова, А.Б. Бердалин, В.Г. Лелюк

Федеральный центр мозга и нейротехнологий, Москва, Российская Федерация

Клиническая значимость характеристик микроэмболических сигналов, регистрируемых в восстановительном периоде ишемического инсульта, поперечное наблюдательное исследование

Обоснование. Микроэмболы, регистрируемые при транскраниальном доплеровском мониторинге с микроэмболодетекцией (ТКДМ с МЭД), различны по своей природе и, соответственно, по структуре, а также по размерам и последствиям их воздействия на церебральное сосудистое русло. При проведении ТКДМ с МЭД можно оценить следующие биофизические характеристики микроэмболических сигналов (МЭС): частоту, которая косвенно отражает структуру микроэмбола, длительность, косвенно отражающую размер микроэмбола, а также мощность, являющуюся интегральной характеристикой. Вопросы взаимосвязи характеристик МЭС с клиническими показателями в литературе изучены мало. **Цель исследования** — изучение биофизических характеристик МЭС, регистрируемых у пациентов, перенесших ишемический инсульт, а также факторов, влияющих на эти характеристики, клинической и прогностической значимости микроэмболии. **Методы.** Проведенное поперечное наблюдательное исследование является частью проспективного когортного. Включены сведения о 28 больных в восстановительном периоде ишемического инсульта, у которых проанализированы биофизические характеристики МЭС (общее количество случаев в рамках когортного исследования — 1600) и которым были проведены дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий, транскраниальное дуплексное сканирование, ТКДМ с МЭД, трансторакальная эхокардиография, магнитно-резонансная томография головного мозга, электрокардиография. Набор в исследование проводили в период с 2019 по 2021 г. К характеристикам МЭС относили частоту, длительность, мощность, энергетический индекс (произведение мощности и длительности), из которых основной была мощность. **Результаты.** Характеристики МЭС коррелировали с антропометрическими параметрами: средняя продолжительность — с возрастом пациента ($r = 0,421$; $p = 0,029$); средняя частота — с площадью поверхности тела ($r = 0,624$; $p = 0,010$). Средние мощность, продолжительность и энергетический индекс МЭС оказались достоверно больше у лиц с внутрисосудистыми образованиями в сонных артериях ($p < 0,05$). Выявлены корреляции биофизических характеристик МЭС со скоростями кровотока в сосудах мозга (обратная корреляция между продолжительностью МЭС и значением пиковой систолической скорости в М2-сегменте правой СМА $r = -0,529$; $p = 0,02$; корреляции между мощностью МЭС, а также длительностью МЭС с пиковой систолической и конечной диастолической скоростями в V4-сегменте правой ПА $r = 0,481-0,572$; $p = 0,027-0,007$), а также с признаками атрофии височных и затылочных долей головного мозга (обратная корреляция между частотой МЭС и региональной атрофией в височной доле справа $r = -0,434$; $p = 0,038$; обратная корреляция между частотой МЭС и региональной атрофией в височной доле слева $r = -0,422$; $p = 0,045$; обратная корреляция между частотой МЭС и региональной атрофией в затылочной доле слева $r = -0,465$; $p = 0,025$). Обнаружены достоверные различия количества МЭС и их средней мощности, продолжительности, энергетического индекса при наличии и отсутствии фибрилляции предсердий ($p < 0,05$). **Заключение.** Возраст и, по-видимому, вес, а также атеросклероз брахиоцефальных артерий оказывают влияние на развитие микроэмболии. При наличии фибрилляции предсердий наблюдается преимущественно материальная микроэмболия, а количество МЭС и их характеристики, отражающие размер микроэмболов, оказываются достоверно выше. Выявлена взаимосвязь длительности МЭС с характеристиками, отражающими кровоснабжение в бассейне средней мозговой артерии, а также частоты МЭС и наличия региональной атрофии в височной и затылочной долях головного мозга по данным магнитно-резонансной томографии.

Ключевые слова: ишемический инсульт, эмболия, атеросклероз, фибрилляция предсердий

Для цитирования: Орлова Е.В., Бердалин А.Б., Лелюк В.Г. Клиническая значимость характеристик микроэмболических сигналов, регистрируемых в восстановительном периоде ишемического инсульта, поперечное наблюдательное исследование. Вестник РАМН. 2022;77(6):398–407. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2136>

Обоснование

Ишемический инсульт является широко распространенным состоянием и одной из основных причин инвалидизации и смертности в современной России, что обуславливает необходимость разработки и внедрения новых и совершенствования существующих высокоэффективных методов его профилактики, диагностики и лечения [4].

Использование транскраниального доплеровского мониторинга с микроэмболодетекцией (ТКДМ с МЭД) позволяет выявить признаки микроэмболии,

которые могут рассматриваться как предикторы макроэмболии — одной из основных причин развития острой фокальной ишемии и обосновать необходимость адекватной терапии, а в последующем контролировать ее эффективность [2].

Микроэмболы различны по своей природе и, соответственно, по структуре, а также по размерам и последствиям их воздействия на церебральное сосудистое русло. При проведении ТКДМ с МЭД можно оценить следующие биофизические характеристики микроэмболических сигналов (МЭС) [3]: частоту (Гц), которая косвенно от-

ражает структуру микроэмбола, длительность (мс), косвенно отражающую размер микроэмбола, а также мощность (дБ), являющуюся интегральной характеристикой, содержащей информацию относительно структуры и размера микроэмбола. Согласно данным алгоритма измерительно-вычислительного комплекса для исследования потоков жидкости с инородными включениями [3], чем больше частота сигнала, тем сильнее микроэмбол отличается по своим акустическим свойствам от свойств крови, чем выше его длительность — тем больше его размер. Соответственно, важно оценивать не только сам факт наличия микроэмболии, но и биофизические характеристики МЭС. Вопросы взаимосвязи характеристик МЭС с клиническими показателями в литературе изучены мало.

Имеются сведения о наличии взаимосвязи между МЭС и когнитивными нарушениями у лиц с неврологическими расстройствами. Так, посредством 30-минутного ТКДМ с МЭД было выявлено, что по сравнению с группой без нарушений когнитивной функции доля МЭС-положительных была значительно выше у пациентов с когнитивной дисфункцией. По результатам многомерного логистического регрессионного анализа МЭС были независимо связаны с более низким показателем по Монреальской шкале когнитивных оценок

[5]. В то же время для более определенных выводов о зависимости прогрессирующих когнитивных нарушений от наличия и выраженности постоянной церебральной микроэмболии в сосуды мозга требуются дальнейшие исследования.

В исследовании, результаты которого были опубликованы в 2020 г. и включали сведения о 248 пациентах с ишемическим инсультом или транзиторными ишемическими атаками (ТИА), которым проводился ТКДМ с МЭД, МЭС регистрировались в 15% случаев, при этом рецидивы ишемии имели место в 11%. После учета нескольких релевантных кофакторов пациенты с наличием МЭС имели больше лагун, чем таковые без, с большей вероятностью имели рецидив ишемии, чаще переносили в будущем процедуры реваскуляризации, имели большую длительность пребывания в стационаре и более выраженный функциональный дефицит при выписке (модифицированная шкала Рэнкин — 3–6) [6]. Таким образом, наличие МЭС может использоваться при стратификации риска рецидива ишемии и неблагоприятного исхода.

Риск повторных ишемических эмболических состояний после перенесенного ишемического инсульта остается довольно высоким, однако инсульт и/или ТИА развивается не во всех случаях с регистрируемыми МЭС

E.V. Orlova, A.B. Berdalin, V.G. Lelyuk

Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies, Moscow, Russian Federation

Clinical Significance of the Characteristics of Microembolic Signals Recorded in the Recovery Period of Ischemic Stroke, a Cross-Sectional Observational Study

Background. Microembols detected during transcranial Doppler monitoring with microembolodetection (TCDM with MED) are different in nature and, accordingly, in structure, as well as in size and consequences of their impact on the cerebral vessels. The following biophysical characteristics of microembolic signals (MES) can be assessed during TCDM with MED: frequency, which indirectly reflects the structure of the microembolus, duration, which indirectly reflects the size of the microembolus, and power, which is an integral characteristic. The issues of the relationship between characteristics of MES and clinical indicators have been little studied according to literature. **Aims** — study of the biophysical characteristics of microembolic signals recorded in patients with ischemic stroke, as well as the factors affecting these characteristics, the clinical and prognostic significance of microembolism. **Methods.** This is a cross-sectional observational study that is part of a prospective cohort study. Data on 28 patients in the recovery period of ischemic stroke are included, in whom the biophysical characteristics of MES were analyzed (the total number of cases in the cohort study was 1600), and who underwent: duplex scanning of the brachiocephalic arteries, transcranial duplex scanning, TCDM with MED, transthoracic echocardiography, magnetic-resonance tomography of the brain, electrocardiography. Study enrollment was carried out in the period from 2019 to 2021. The MES characteristics included frequency, duration, power, energy index (the product of power and duration), of which the MES power was the main one. **Results.** MES characteristics correlated with anthropometric parameters: average duration - with the patient's age ($r = 0.421$; $p = 0.029$); average frequency — with body surface area ($r = 0.624$; $p = 0.010$). The average power, duration and energy index of MES were significantly higher in persons with intraluminal masses in the carotid arteries ($p < 0.05$). Correlations of biophysical characteristics of MES with blood flow velocities in brain vessels (inverse correlation between the duration of the MES and the value of the peak systolic velocity in the M2 segment of the right MCA $r = -0.529$, $p = 0.02$; correlations between the power of MES, as well as the duration of MES with peak systolic and end-diastolic velocities in the V4 segment of the right VA $r = 0.481-0.572$, $p = 0.027-0.007$), as well as with signs of atrophy of the temporal and occipital lobes of the brain were identified (inverse correlation between MES frequency and regional atrophy in the right temporal lobe $r = -0.434$, $p = 0.038$; inverse correlation between MES frequency and regional atrophy in the left temporal lobe $r = -0.422$, $p = 0.045$; inverse correlation between MES frequency and regional atrophy in the left occipital lobe $r = -0.465$, $p = 0.025$). Significant differences were found in the number of MES and their average power, duration, energy index in the presence and absence of atrial fibrillation ($p < 0.05$). **Conclusions.** Age and, apparently, weight, as well as signs of atherosclerosis of the brachiocephalic arteries, influence the development of microembolism. In the presence of atrial fibrillation, material microembolism is observed predominantly, and the number of MES and their characteristics which reflect the size of microemboli are significantly higher. The relationship between the duration of MES and the characteristics reflecting the blood supply in the basin of the middle cerebral artery, as well as between the frequency of MES and the presence of regional atrophy in the temporal and occipital lobes of the brain according to magnetic resonance imaging was revealed.

Keywords: ischemic stroke, embolism, atherosclerosis, atrial fibrillation

For citation: Orlova EV, Berdalin AB, Lelyuk VG. Clinical Significance of the Characteristics of Microembolic Signals Recorded in the Recovery Period of Ischemic Stroke, a Cross-Sectional Observational Study. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2022;77(6):398–407. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2136>

в церебральных артериях, что связывают с влиянием других факторов [1].

Ряд исследований подтверждает тот факт, что регистрация МЭС выступает независимым маркером увеличения риска развития таких повторных артерио-артериальных эмболических событий, как ипсилатеральный инсульт и ТИА, а регистрация МЭС в средней мозговой артерии в сочетании с ишемической болезнью сердца при отсутствии терапии статинами является предиктором развития церебральных осложнений эмболического характера [1, 7, 8].

ТКДМ с МЭД играет важную роль в уточнении механизмов ишемических повреждений головного мозга у лиц с окклюзиями сонных артерий. Так, в проспективном когортном исследовании с включением госпитализированных в течение 7 дней после ишемического инсульта или ТИА лиц со стенозами $\geq 50\%$ по диаметру по NASCET или окклюзиями сонных артерий ТКДМ с МЭД проводилось в средней мозговой артерии, ипсилатеральной по отношению к симптомной сонной артерии; МЭС были зарегистрированы в 38% случаев, при этом частота регистрации МЭС при окклюзиях и стенозах достоверно не отличалась. Среди лиц с радиологическими верифицированными признаками инфаркта МЭС имели место в 40% случаев при его локализации в зонах смежного кровоснабжения. Достоверных различий частоты повторных инсультов у пациентов с МЭС по сравнению с таковыми без МЭС выявлено не было [9]. Таким образом, речь шла о поступлении микроэмболов в том числе по коллатеральным путям.

МЭС имеют ряд биофизических характеристик, среди которых традиционные и широко известные — мощность, длительность, частота [3], а также используемая реже, в частности энергетический индекс [10]. Последний, как это следует из опубликованных ранее результатов исследований, может быть использован для оценки «злокачественности» МЭС. Так, в исследовании Y. Choi et al. [10] для каждого микроэмбола был рассчитан относительный энергетический индекс, представляющий собой произведение мощности и длительности МЭС. При превышении индексом значения $> 1,0$ Дж сигнал относили к злокачественным. Было выявлено, что злокачественные МЭС распространялись по внутричерепным сосудам дальше, чем доброкачественные.

Из приведенных выше данных следует, что вопросы, связанные с механизмами возникновения, детекцией и оценкой клинической значимости биофизических характеристик микроэмболов, относительно мало изучены [1, 2, 5], что обосновывает актуальность исследований, направленных на изучение неинвазивной диагностики микроэмболии.

Цель исследования — изучение биофизических характеристик микроэмболических сигналов, регистрируемых у пациентов, перенесших ишемический инсульт, а также факторов, влияющих на эти характеристики, клинической и прогностической значимости микроэмболии.

Методы

Дизайн исследования

Данная работа, являющаяся частью большого проспективного когортного исследования, представляет собой поперечное одномоментное обсервационное исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения:

- 1) выраженность текущего неврологического дефицита по модифицированной шкале Рэнкина 3 и меньше;
- 2) подписанное информированное добровольное согласие;
- 3) наличие ишемического или геморрагического инсульта в течение года до включения в исследование;
- 4) выполненное ТКДМ с МЭД;
- 5) наличие данных о биофизических характеристиках микроэмболических сигналов — длительности, частоте, мощности и энергетическом индексе.

Критерии невключения:

- 1) противопоказания к проведению магнитно-резонансной томографии (МРТ), такие как наличие у пациента:
 - искусственного водителя ритма;
 - имплантированного сердечного дефибриллятора;
 - оставленных внутрисердечных электродов;
 - клипс на сосудах головного мозга;
 - нейростимулятора;
 - кохлеарного импланта;
 - брекетов;
 - металлических объектов в орбите;
- 2) наличие в анамнезе серьезных заболеваний центральной нервной системы (опухоль, аневризма, хирургические вмешательства в полости черепа или на спинном мозге, нейродегенеративные заболевания);
- 3) наличие черепно-мозговой травмы в анамнезе;
- 4) беременность.

Условия проведения

Все включенные в исследование лица проходили стационарное лечение в отделениях медицинской реабилитации ФГБУ «ФЦМН» ФМБА России после перенесенного инсульта давностью до года. Во всех случаях учитывались основные демографические и анамнестические показатели, такие как пол, возраст, патогенетический вариант и тяжесть инсульта, курение, употребление алкоголя, индекс массы тела, наличие сопутствующих заболеваний.

ТКДМ с МЭД проводили 515 пациентам по решению группы экспертов по итогам рассмотрения результатов мультимодального инструментального исследования (общее количество рассмотренных случаев в рамках когортного исследования — 1600). Среди этих пациентов у 28 имелись микроэмболические сигналы и были получены биофизические характеристики МЭС, они и были включены в данное исследование.

Продолжительность исследования

Для каждого участника исследование было одномоментным. Включение пациентов проводилось в период с 2019 по 2021 г.

Описание медицинского вмешательства

Всем пациентам были проведены следующие виды исследований.

1. Дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий (ДС БЦА), транскраниальное дуплексное сканирование (ТКДС) и трансторакальная эхокардиография (Эхо-КГ), которые были выполнены на сканере Epiq 7 (Philips, США), экстракраниальные отделы БЦА — широкополосным мультисигментным линейным датчиком с частотой 3–12 МГц, ТКДС и Эхо-КГ — широкополосным мультисигментным секторным датчиком с частотой 1–5 МГц.

2. ТКДМ с МЭД проводилось на сканере «Ангиодин-Универсал» (АО «НПФ БИОСС», Россия) импульсно-волновыми датчиками с частотой 2 МГц, фиксированными с помощью шлема Спенсера. Локация спектров потоков в средней мозговой артерии (СМА) и задней мозговой артерии (ЗМА) с двух сторон выполнялась через височный акустический доступ, длительность мониторинга составила 30 мин для каждого бассейна (60 мин в совокупности) в положении лежа или сидя. Для снижения количества артефактов при проведении исследования использовали минимально возможные уровни усиления и мощности, обеспечивавшие сохранность огибающей доплеровского спектра. При проведении исследования размер метки контрольного объема составлял 15–20 мм, локация производилась на глубине от 45 до 60 мм.

3. МРТ головного мозга выполнялась на томографе Discovery 370 MR (GE, США) с индукцией поля 3 Тл, протокол сканирования включал T1- и T2-взвешенное изображение, импульсную последовательность FLAIR (с изотропным вокселем, толщиной среза 1 мм), диффузионно-взвешенные изображения (DWI), изображения, взвешенные по магнитной восприимчивости (SWAN), диффузионно-тензорные изображения, бесконтрастную перфузию (ASL), времяпролетную ангиографию (3D-TOF) интракраниальных артерий.

4. Электрокардиография (ЭКГ) выполнялась с применением электрокардиографа «Нейрософт» с программным обеспечением «Поли-спектр» («Нейрософт», Россия).

Исходы исследования

Основной исход исследования. Обоснованно выбрать основной оцениваемый показатель из биофизических характеристик МЭС непростой, поскольку разные характеристики отражают различные свойства микроэмболов. В данной работе таковой считается мощность МЭС, поскольку она является интегральной и содержит в себе информацию относительно как структуры (акустической плотности), так и размера микроэмбола.

Дополнительные исходы исследования. Длительность МЭС, частота МЭС, энергетический индекс МЭС оценивались совместно с мощностью и рассмотрены в разделе «Результаты» также совместно с целью сохранения целостности повествования.

Кроме того, собирались данные об антропометрических, демографических и анамнестических характеристиках включенных в исследование пациентов (пол, возраст, рост, масса тела, сопутствующие заболевания, характеристики перенесенного инсульта), результаты ЭКГ (частота сердечных сокращений (ЧСС), положение электрической оси сердца (ЭОС), наличие нарушений ритма и проводимости), Эхо-КГ (конечный диастолический объем (КДО), конечный систолический объем (КСО), конечный систолический размер (КСР), фракция выброса (ФВ) левого желудочка, наличие гипертрофии миокарда, размеры предсердий, наличие зон гипокинеза и/или акинеза, состояние клапанов), ДС БЦА и ТКДС (наличие внутрисосудистых образований, степень стеноза артерий — сонных, позвоночных, основной и интракраниальных, экзогенность атеросклеротических бляшек при наличии, состояние их покрышки, наличие осложнений, пиковые систолические и конечные диастолические скорости кровотока по различным сосудам, диаметры этих сосудов), МРТ головного мозга (выраженность болезни малых сосудов — наличие и выраженность очагов в белом веществе головного мозга,

микрорровоизлияний, лакунарных инфарктов, атрофии коры долей головного мозга, центральной атрофии). Данные показатели использовались в качестве независимых переменных.

Анализ в подгруппах не проводился.

Методы регистрации исходов

Регистрация МЭС и их биофизических характеристик при проведении ТКДМ с МЭД происходила автоматически с использованием программы Vionita Cabinet (Biosoft-M, Россия), дальнейший анализ результатов и дифференцировка МЭС от артефактов проводилась при постобработке и экспертном анализе вручную.

В случае наличия признаков микроэмболии в режиме постобработки мониторинга оценивали интенсивность (количество МЭС в час), для каждого МЭС длительность (мс) — косвенную характеристику размера эмбола, частоту (Гц) — косвенную характеристику структуры эмбола, мощность (дБ) — интегральную характеристику микроэмбола [3]. Пример оценки характеристик МЭС представлен на рис. 1, 2.

Также дополнительно вычислялись энергетические индексы ($\text{Дж} \times 10^{-3}$) МЭС, которые представляют собой произведение мощности (дБ) и длительности сигнала (мс).

Этическая экспертиза

Все пациенты дали письменное информированное согласие на проведение обследования. Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «ФЦМН» ФМБА России (протокол заседания № 04/06-06-22 от 6 июня 2022 г.).

401

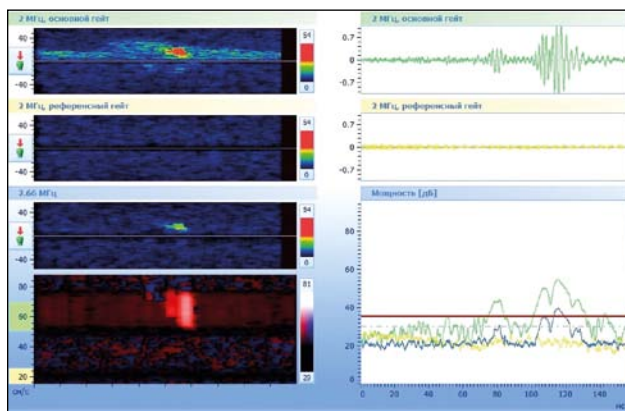


Рис. 1. Экспертный анализ амплитуды и мощности сигнала для сортировки микроэмболических сигналов от артефактных сигналов

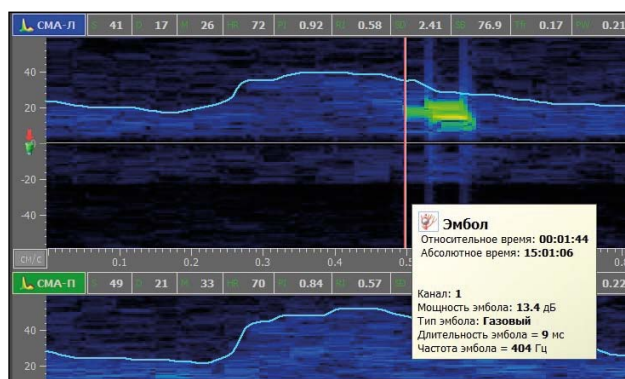


Рис. 2. Оценка биофизических характеристик микроэмболических сигналов при постобработке ТКДМ с МЭД

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки. Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Методы статистического анализа данных. Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием программных пакетов SPSS Statistics версии 26.0 (IBM, США) и R software версии 4.0.2 (R Core Team, Австрия). Нулевую гипотезу отвергали при уровне значимости $p \leq 0,05$. Во всех случаях использовали двусторонние варианты статистических гипотез. Для описания количественных переменных применяли среднее арифметическое и стандартное отклонение или медиану и квартили (в случае несоответствия распределения нормальному), для качественных — частоту и долю (в процентах). Соответствие распределения количественных переменных нормальному проверяли с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Взаимосвязь между количественными и/или порядковыми переменными оценивали при помощи корреляционного анализа по Спирмену. Сравнения значений биофизических показателей МЭС между уровнями качественных показателей (группирующих переменных) осуществляли при помощи критерия Манна–Уитни (для двух уровней) или критерия Краскела–Уоллиса (для трех уровней и более) с последующими попарными сравнениями по Манну–Уитни. Использовали поправку на множественность сравнений по методу Бонферрони.

Результаты

Объекты (участники) исследования

Основные сведения о включенных в исследование пациентах представлены в табл. 1.

Возраст пациентов, включенных в исследование, — от 33 до 78 лет, средний возраст — 58 ± 13 лет.

Инфаркта миокарда, коронарного стентирования, каротидной эндартерэктомии, диссекций брахиоцефальных артерий ни у кого из обследованных в анамнезе не было.

У всех пациентов, включенных в исследование при проведении ТКДМ с МЭД, регистрировались МЭС, общее количество — 938. Подавляющее большинство сигналов детектировано в каротидном бассейне: в правой СМА — 241 МЭС, в левой СМА — 620 МЭС. В заднем бассейне получено 77 МЭС: в правой ЗМА — 27 МЭС, в левой ЗМА — 50 МЭС. Общие сведения по количеству и характеристикам МЭС приведены в табл. 2.

Два пациента среди лиц, включенных в исследование, имели искусственный клапан сердца. Учитывая предложенные ранее в литературе подходы к классификации эмболических сигналов [1, 3], диапазоны значений биофизических характеристик, регистрируемых у этих пациентов МЭС, относились к микроэмболам как материальной, так и газовой природы. Общее количество МЭС, зарегистрированных в этих случаях, составило 109 и 532, в совокупности — 641. Их характеристики для каждого пациента соответственно были следующими: средняя мощность — 7,44 и 16,55 дБ; средняя продолжительность — 7,01 и 21,45 мс; средняя частота — 785,58 и 561,21 Гц; средний энергетический импульс — 0,053 и 0,422 Дж.

Основные результаты исследования

При проведении корреляционного анализа характеристики МЭС оказались связаны с некоторыми антропометрическими параметрами: средняя продолжительность

Таблица 1. Основные сведения о включенных в исследование лицах

Характеристика	Количество, абс.		Доля, %
Пол	Мужской	19	67,9
	Женский	9	32,1
	Всего	28	100,0
Курение	Да	5	17,9
	Нет	23	82,1
	Всего	28	100,0
Патогенетический вариант ишемического инсульта	Атеротромботический	7	25
	Кардиоэмболический	6	21,4
	Криптогенный	14	50
	Лакунарный	1	3,6
	Всего	28	100
Бассейн поражения	Вертебрально-базиллярный	7	25
	Каротидный	21	75
	Всего	28	100
Сторона поражения при ишемическом инсульте	С обеих сторон	4	14,3
	Слева	9	32,1
	Справа	15	53,6
	Всего	28	100
Бассейн поражения при ишемическом инсульте	ПА (ЗНМА)	1	3,6
	ЗМА	4	14,2
	ПМА	1	3,6
	СМА	20	71,4
	ОА	1	3,6
	ЗМА и ОА	1	3,6
	Всего	28	100
Наличие артериальной гипертензии	Нет	6	21,4
	Да	22	78,6
	Всего	28	100,0
Наличие сахарного диабета	Нет	18	64,3
	Да	10	35,7
	Всего	28	100,0
Наличие фибрилляции предсердий	Нет	23	82,1
	Да	5	17,9
	Всего	28	100,0
Прием статинов	Нет	17	60,7
	Да	11	39,3
	Всего	28	100,0
Прием антикоагулянтов	Нет	26	92,9
	Да	2	7,1
	Всего	28	100,0
Прием дезагрегантов	Нет	19	67,9
	Да	9	32,1
	Всего	28	100,0
Прием антиаритмических препаратов	Нет	26	92,9
	Да	2	7,1
	Всего	28	100,0

Примечание. ПА (ЗНМА) — позвоночная артерия (ее ветвь — задняя нижняя мозжечковая артерия); ЗМА — задняя мозговая артерия; ПМА — передняя мозговая артерия; СМА — средняя мозговая артерия; ОА — основная артерия.

Таблица 2. Описательная статистика характеристик МЭС

Характеристика	Среднее	Стандартное отклонение	Медиана	25-й перцентиль	75-й перцентиль	Максимум	Минимум
Общее количество МЭС у пациента	34	105	3	1	10	532	1
Количество МЭС, ед./ч: в СМА справа	16	62	2	0	5	300	0
в СМА слева	30	126	2	0	6	618	0
в ЗМА справа	4	15	0	0	0	54	0
в ЗМА слева	8	25	0	0	2	92	0
Средняя мощность МЭС, дБ	11,06	3,32	10,22	8,31	14,20	17,75	7,28
Средняя продолжительность МЭС, мс	9,06	4,86	7,09	6,00	11,33	23,66	4,67
Средняя частота МЭС, Гц	528,1	241,80	475,92	328,00	750,00	968,00	230,50
Средний ЭИ МЭС, Дж	0,12	0,11	0,06	0,06	0,16	0,46	0,04

Примечание. МЭС — микроэмболические сигналы; ЗМА — задняя мозговая артерия; ПМА — передняя мозговая артерия; СМА — средняя мозговая артерия; ЭИ — энергетический импульс; ОА — основная артерия.

МЭС (мс) — с возрастом пациента ($r = 0,421$; $p = 0,029$); средняя частота МЭС (Гц) — с площадью поверхности тела ($r = 0,624$; $p = 0,010$).

По результатам ДС БЦА с использованием критерия Манна–Уитни для независимых выборок были выявлены достоверные различия средней мощности МЭС (дБ), средней продолжительности МЭС (мс) и среднего энергетического индекса МЭС (Дж) у пациентов с наличием или отсутствием внутрипросветных образований в общей сонной (ОСА) и внутренней сонной артериях (ВСА) без учета стороны эмболии (табл. 3).

Получена обратная корреляционная связь между средней продолжительностью МЭС (мс), которая является косвенной характеристикой размера микроэмболов, и пиковой систолической скоростью в сегменте М2 СМА справа ($r = -0,529$; $p = 0,02$).

Обнаружена прямая корреляционная связь пиковой систолической и конечной диастолической скоростей в сегменте V4 правой позвоночной артерии со средней мощностью МЭС (дБ) и средней продолжительностью МЭС (мс) ($r = 0,481-0,572$; $p = 0,027-0,007$) (рис. 3, 4).

Значимая корреляционная связь также выявлялась между общим количеством МЭС у пациента и диаметром правой позвоночной артерии в сегменте V2 ($r = 0,530$; $p = 0,011$).

Выявлена обратная корреляционная связь между частотой МЭС (Гц), которая является косвенной характеристикой структуры микроэмбола, и наличием региональной атрофии в височной доле справа ($r = -0,434$; $p = 0,038$) и слева ($r = -0,422$; $p = 0,045$), а также наличием региональной атрофии в затылочной доле слева ($r = -0,465$; $p = 0,025$) по данным МРТ головного мозга.

403

Таблица 3. Характеристики МЭС при наличии и отсутствии внутрипросветных образований в сонных артериях

Критерий Манна–Уитни для независимых выборок		Наличие внутрипросветных образований					
		в правой ОСА		в левой ОСА		в левой ВСА	
		Да	Нет	Да	Нет	Да	Нет
Средняя мощность МЭС	Медиана	11,09	8,76	11,70	8,60	10,20	8,91
	25-й квартиль	10,03	7,80	10,03	7,64	8,00	8,01
	75-й квартиль	15,60	10,85	15,60	8,87	15,10	13,10
	Количество наблюдений	10	13	13	9	15	8
	Значимость (p)	$p = 0,107$		$p^* = 0,012$		$p = 0,651$	
Средняя продолжительность МЭС	Медиана	8,15	7,02	9,51	6,25	8,40	5,63
	25-й квартиль	6,33	6,00	7,00	5,00	7,00	5,00
	75-й квартиль	14,00	9,51	13,33	7,02	11,50	6,88
	Количество наблюдений	10	13	13	9	15	8
	Значимость (p)	$p = 0,182$		$p^* = 0,009$		$p^* = 0,017$	
Средний ЭИ МЭС	Медиана	0,08	0,06	0,10	0,05	0,09	0,05
	25-й квартиль	0,06	0,05	0,06	0,05	0,06	0,05
	75-й квартиль	0,22	0,10	0,19	0,06	0,17	0,07
	Количество наблюдений	10	13	13	9	15	8
	Значимость (p)	$p = 0,055$		$p^* < 0,001$		$p^* = 0,039$	

Примечание. МЭС — микроэмболические сигналы; ОСА — общая сонная артерия; ВСА — внутренняя сонная артерия; ЭИ — энергетический импульс. Курсивом выделены значения $p^* < 0,05$, отражающие достоверную взаимосвязь между наличием внутрипросветных образований в сонных артериях и биофизическими характеристиками МЭС.

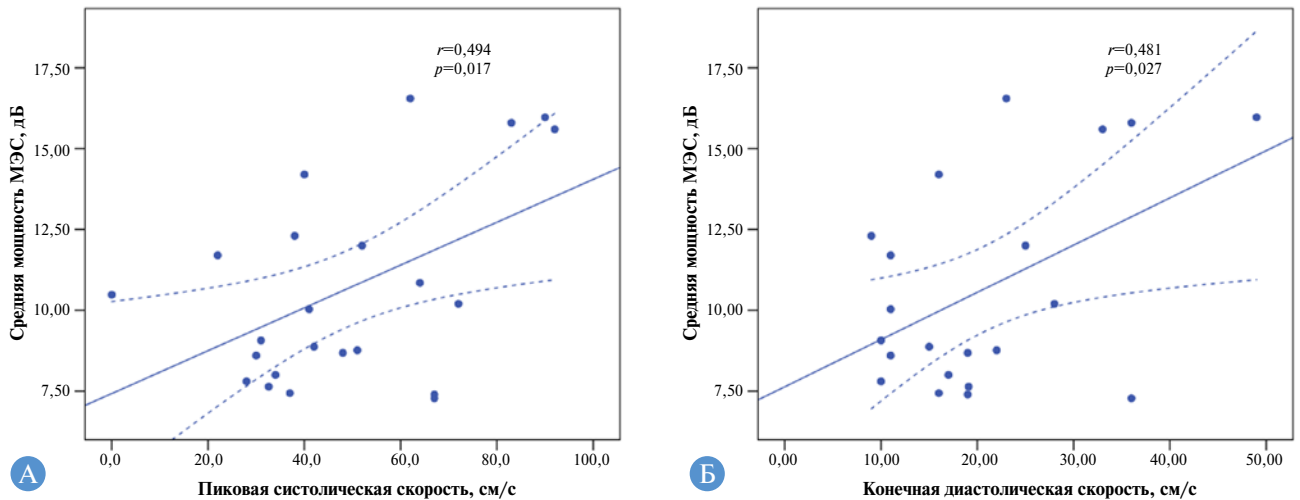


Рис. 3. Корреляция между средней мощностью микроэмболических сигналов и пиковой систолической (А) и конечной диастолической (Б) скоростью в сегменте V4 правой позвоночной артерии

По данным анамнеза и результатам ЭКГ/Эхо-КГ обнаружены достоверные различия количества зарегистрированных МЭС, средней мощности МЭС (дБ), средней продолжительности МЭС (мс), среднего энергетического индекса МЭС (Дж) при наличии и отсутствии фибрилляции предсердий ($p < 0,05$); для частоты МЭС (Гц) различия не были достоверными ($p > 0,05$) (рис. 5).

Также была зафиксирована прямая корреляция между частотой сердечных сокращений по данным ЭКГ и средней продолжительностью МЭС (мс) ($r = 0,425$; $p = 0,043$), а также с энергетическим индексом МЭС (Дж) ($r = 0,431$; $p = 0,040$).

Нежелательные явления

Нежелательные явления в ходе проведения исследования не выявлены.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

При проведении корреляционного анализа характеристики МЭС оказались связаны с антропометрическими параметрами: средняя продолжительность — с возрастом

пациента ($r = 0,421$; $p = 0,029$); средняя частота — с площадью поверхности тела ($r = 0,624$; $p = 0,010$).

Средние мощность, продолжительность и энергетический индекс оказались достоверно больше у лиц с внутрипросветными образованиями в сонных артериях ($p < 0,05$). Выявлены корреляции биофизических характеристик МЭС со скоростями кровотока в сосудах мозга (обратная корреляция между продолжительностью МЭС и значением пиковой систолической скорости в M2-сегменте правой СМА $r = -0,529$; $p = 0,02$; корреляции между мощностью МЭС, а также длительностью МЭС с пиковой систолической и конечной диастолической скоростями в сегменте V4 правой ПА $r = 0,481-0,572$; $p = 0,027-0,007$), а также магнитно-резонансными признаками атрофии височных и затылочных долей головного мозга (обратная корреляция между частотой МЭС и региональной атрофией в височной доле справа $r = -0,434$; $p = 0,038$; обратная корреляция между частотой МЭС и региональной атрофией в височной доле слева $r = -0,422$; $p = 0,045$; обратная корреляция между частотой МЭС и региональной атрофией в затылочной доле слева $r = -0,465$; $p = 0,025$). Обнаружены достоверные различия количества зарегистрированных МЭС и их биофизических характеристик: средней мощности, средней продолжительности, среднего

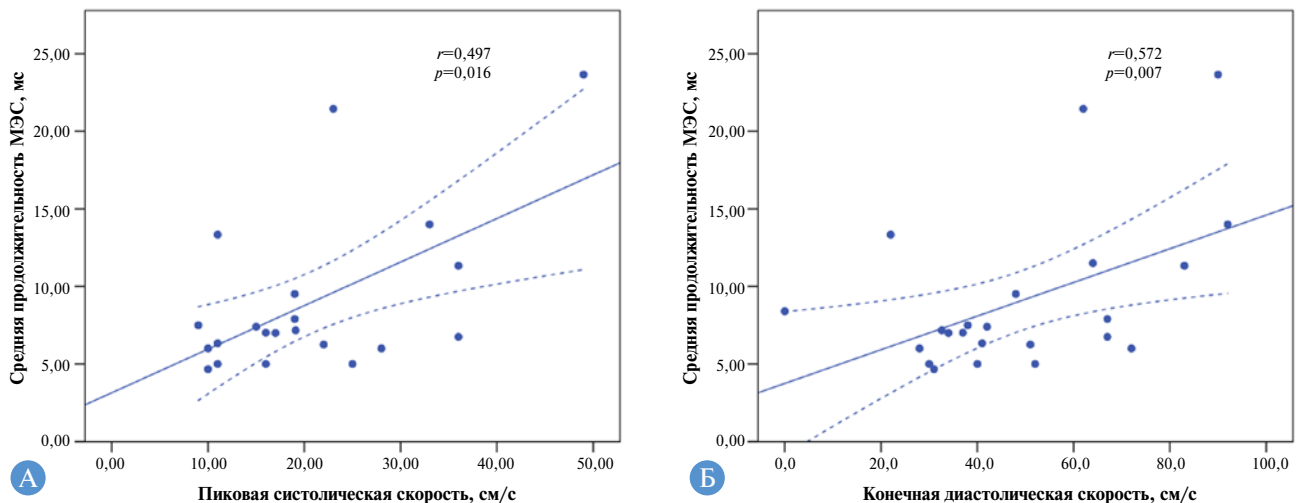


Рис. 4. Корреляция между средней продолжительностью микроэмболических сигналов и пиковой систолической скоростью (А) и конечной диастолической скоростью (Б) в сегменте V4 правой позвоночной артерии

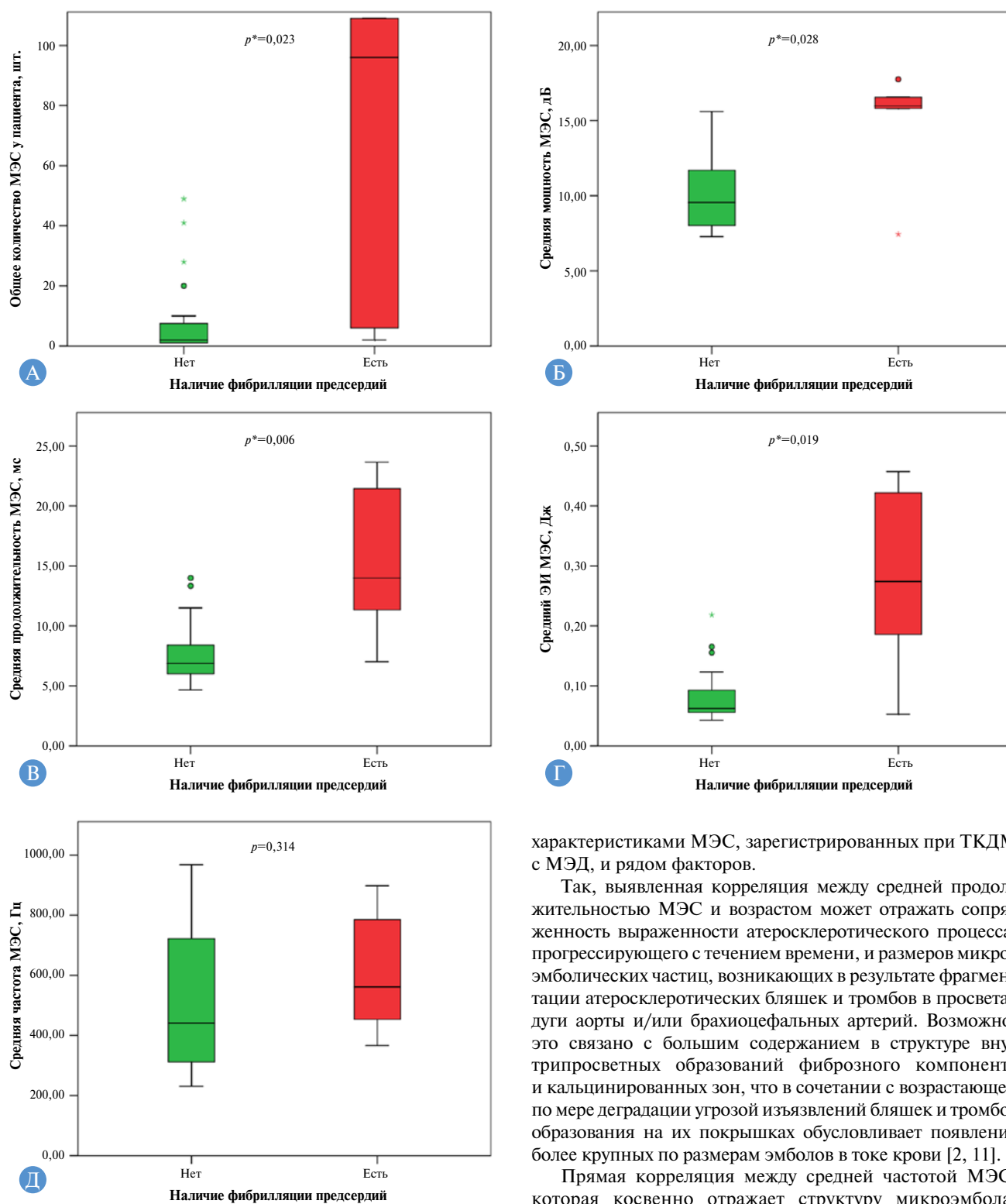


Рис. 5. Различия при наличии и отсутствии фибрилляции предсердий: А — количества МЭС; Б — средней мощности МЭС; В — средней продолжительности МЭС; Г — среднего энергетического индекса МЭС; Д — средней частоты МЭС

энергетического индекса при наличии и отсутствии фибрилляции предсердий ($p < 0,05$). Для частоты МЭС аналогичные различия не были достоверными ($p > 0,05$).

Обсуждение основного результата исследования

В результате проведенного исследования и анализа его результатов были обнаружены зависимости между

характеристиками МЭС, зарегистрированных при ТКДМ с МЭД, и рядом факторов.

Так, выявленная корреляция между средней продолжительностью МЭС и возрастом может отражать сопряженность выраженности атеросклеротического процесса, прогрессирующего с течением времени, и размеров микроэмболических частиц, возникающих в результате фрагментации атеросклеротических бляшек и тромбов в просветах дуги аорты и/или брахиоцефальных артерий. Возможно, это связано с большим содержанием в структуре внутрисосудистых образований фиброзного компонента и кальцинированных зон, что в сочетании с возрастающей по мере дегенерации угрозой изъязвлений бляшек и тромбообразования на их покрышках обуславливает появление более крупных по размерам эмболов в токе крови [2, 11].

Прямая корреляция между средней частотой МЭС, которая косвенно отражает структуру микроэмбола, и площадью поверхности тела, по-видимому, может быть связана с возможным влиянием на возникновение различных сосудистых событий, в том числе эмболического генеза, лишнего веса [4, 12], который, в свою очередь, связан с площадью поверхности тела.

В настоящей работе также было зарегистрировано, что средняя мощность и продолжительность МЭС, а также его средний энергетический индекс оказались достоверно больше у лиц с образованиями в ОСА и ВСА. В связи с этим наиболее обоснованным выглядит предположение о значительном вкладе артерио-артериальной эмболии в патогенез ишемического инсульта у включен-

ных в исследование лиц, что косвенно подтверждалось и ранее [2].

Подавляющее большинство МЭС было зарегистрировано в каротидном бассейне. С позиции индивидуальной клинической значимости микроэмболии выявленная обратная корреляционная связь средней продолжительности МЭС с пиковой систолической скоростью в сегменте М2 средней мозговой артерии с рядом допущений может трактоваться в пользу положения, согласно которому регистрируемые МЭС оказываются связанными с характеристиками, отражающими кровоснабжение в бассейне средней мозговой артерии. (При этом прямая корреляция между пиковой систолической и конечной диастолической скоростями в сегменте V4 позвоночной артерии, с одной стороны, и средней мощностью и продолжительностью МЭС, с другой, вероятно, отражает компенсаторное повышение скорости в артериях вертебрально-базилярной системы при возникновении эмболической нагрузки на каротидный бассейн за счет участия заднего бассейна в коллатеральном перераспределении.)

Влияние микроэмболов различной структуры (газовых, материальных) на возникновение и выраженность, а также прогрессирование неврологического дефицита остается спорным вопросом [1, 2, 5]. В связи с этим зафиксированная обратная корреляционная взаимосвязь между частотой МЭС и наличием МР-признаков региональной атрофии в височных долях справа и слева, а также затылочной доле справа требует дополнительных обсуждений. Частота МЭС является косвенным отражением его структуры — чем выше частота МЭС, тем сильнее микроэмбол отличается по своим акустическим характеристикам от акустических свойств крови, что в большей степени проявляется для газовых эмболов — микропузырьков, значения частоты у которых наиболее высоки.

В отличие от газовой макроэмболии, которая может обуславливать закупорку крупных сосудов, особенно в местах деления артерий на ветви, газовый микроэмбол, сопоставимый по размеру с диаметром капиллярного русла (7–10 мкм), за счет своего малого диаметра предрасположен к схлопыванию под действием сил поверхностного натяжения [13, 14] и по этим причинам может не повышать риск развития фокальной ишемии головного мозга. Таким образом, означенные выше МР-признаки атрофии, вероятно, связаны с материальной микроэмболией, хотя и значимость микроэмболов газовой природы полностью игнорировать невозможно.

Особое место среди причин развития ишемического инсульта занимает хроническая фибрилляция предсердий, имеющая широкое распространение в связи с высокой частотой ишемической болезни сердца в популяции, особенно в средних и старших возрастных группах. Фибрилляция предсердий признается самой частой причиной кардиоцеребральной эмболии [15–17]. Причиной внутрисердечного тромбообразования при наличии этого фактора риска развития ишемического инсульта считают активацию каскадов коагуляции вследствие замедления тока крови в полости левого предсердия, результирующего образование красных тромбов [18, 19]. Риск эмболии особенно высок в первые месяцы существования постоянной формы мерцания [20, 21].

В настоящем исследовании были выявлены достоверные различия количества зарегистрированных МЭС, средней мощности МЭС, средней продолжительности МЭС, среднего энергетического индекса МЭС в зависимости от наличия или отсутствия фибрилляции предсердий, причем эти показатели были достоверно выше у лиц с наличием таковой.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в случае возникновения эмболии ее интенсивность и размер микроэмболов при наличии у пациента фибрилляции предсердий больше, чем при ее отсутствии. Одновременно отсутствие достоверных различий частоты МЭС у лиц с и без фибрилляции предсердий свидетельствует в пользу отсутствия различий структуры микроэмболов и, наиболее вероятно, их материальном (солидном) характере.

Ограничения исследования

Основными ограничениями настоящего исследования являются его обсервационная природа и небольшой объем выборки. Первое ограничение обуславливает известную неопределенность в направлении причинно-следственных связей в рамках озвученных закономерностей, не позволяет исключить наличие взаимовлияния исследуемых факторов (конфаундеров), однако экспериментальный дизайн исследования характеристик МЭС в клинической практике, очевидно, невозможен. Объем выборки, сформированной на основании критериев включения, безусловно, уменьшает мощность проведенного анализа, однако достаточно большое количество самих микроэмболических сигналов, зарегистрированных у пациентов в восстановительном периоде инсульта, позволяет считать оценку влияния их характеристик на показатели визуализирующих методов исследования головного мозга достаточно надежной.

Заключение

Результаты настоящего исследования подтверждают ранее опубликованные данные о том, что возраст и вес, а также атеросклероз брахиоцефальных артерий оказывают влияние на развитие микроэмболии в сосудах мозга.

Согласно полученным данным, при наличии у пациента фибрилляции предсердий, которая признается самой частой причиной кардиоцеребральной эмболии, судя по всему, имела место преимущественно материальная микроэмболия, а ее интенсивность и характеристики, отражающие размер микроэмболов, оказались достоверно выше.

Результаты исследования позволяют предположить наличие прямых доказательств значимости микроэмболии, регистрируемой при проведении ТКДМ с МЭД, поскольку биофизические характеристики МЭС оказались взаимосвязаны с параметрами, отражающими кровоснабжение в бассейне средней мозговой артерии. Взаимосвязь характеристик МЭС, косвенно отражающих структуру микроэмбола, и наличия региональной атрофии в височной и затылочной долях головного мозга по данным МРТ может указывать на то, что, возникновение признаков атрофии связано преимущественно с микроэмболами материальной природы.

Полученные в настоящем исследовании результаты могут позволить повысить диагностическую ценность практического применения метода ТКДМ с МЭД для пациентов с ишемическим инсультом, расширить спектр получаемой информации после исследования. Объективизация наличия эмболии в сосуды мозга посредством ТКДМ с МЭД не имеет альтернатив, а результаты нашего исследования позволяют, помимо важной диагностической информации, получать данные, которые могут быть использованы для стратификации риска повторных инсультов и транзиторных ишемических атак, коррекции профилактической терапии, выбора методов профилактики.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках Государственного задания № 388-00083-22-00 от 30 декабря 2021 г., регистрационный номер НИР 122022100113-7 от 21 февраля 2022 г.

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

Участие авторов. Е.В. Орлова — поисково-аналитическая работа при написании статьи, анализ и описание полу-

ченных результатов; А.Б. Бердалин — статистическая обработка материалов статьи, анализ и участие в написании обсуждения полученных результатов; В.Г. Лелюк — прочтение и анализ, внесение корректировок и одобрение направления рукописи на публикацию. Все авторы внесли существенный вклад в проведение работы и подготовку статьи, прочли и одобрили итоговую версию до публикации.

Выражение признательности. Выражаем признательность Е.Ю. Медведковой, П.Ю. Шаврей, Н.М. Медведевой за участие в формировании базы данных пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

- King A, Markus HS. Doppler embolic signals in cerebrovascular disease and prediction of stroke risk: a systematic review and meta-analysis. *Stroke*. 2009;40(12):3711–3717. doi: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.563056>
- Ritter MA, Dittich R, Thoenissen N, et al. Prevalence and prognostic impact of microembolic signals in arterial sources of embolism. A systematic review of the literature. *J Neurol*. 2008;255(7):953–961. doi: <https://doi.org/10.1007/s00415-008-0638-8>
- Адашкин А.В. Программно-алгоритмическое обеспечение измерительно-вычислительного комплекса для исследования потоков жидкости с инородными включениями на примере комплекса медицинского назначения: автореф. дис. ... канд. техн. наук. — М., 2008. [Adashkin AV. Programmno-algoritmicheskoe obespechenie izmeritel'no-vychislitel'nogo kompleksa dlya issledovaniya potokov zhidkosti s inorodny'mi vklucheniymi na primere kompleksa medicinskogo naznacheniya: avtoref. dis. ... kand. tekhn. nauk. Moscow; 2008. (In Russ.)]
- Скворцова В.И., Чазова И.Е., Стаховская Л.В. Вторичная профилактика инсульта. — М.: ПАГРИ, 2002. — 120 с. [Skvortsova VI, Chazova IE, Stakhovskaya LV. Vtorichnaya profilaktika insul'ta. Moscow: PAGRI; 2002. 120 s. (In Russ.)]
- Yan J, Li Z, Wills M, et al. Intracranial microembolic signals might be a potential risk factor for cognitive impairment. *Neurol Res*. 2021;43(11):867–873. doi: <https://doi.org/10.1080/01616412.2021.1939488>
- Das AS, Regenhardt RW, LaRose S, et al. Microembolic Signals Detected by Transcranial Doppler Predict Future Stroke and Poor Outcomes. *J Neuroimaging*. 2020;30(6):882–889. doi: <https://doi.org/10.1111/jon.12749>
- Moustafa RR, Izquierdo-Garcia D, Fryer TD, et al. Carotid plaque inflammation is associated with cerebral microembolism in patients with recent transient ischemic attack or stroke: a pilot study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2010;3(5):536–541. doi: <https://doi.org/10.1161/CIRCIMAGING.110.938225>
- Van Lammereen GW, Van De Mortel RH, Visscher M, et al. Spontaneous preoperative microembolic signals detected with transcranial Doppler are associated with vulnerable carotid plaque characteristics. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. 2014;55(3):375–380.
- Lieberman AL, Zandieh A, Loomis C, et al. Symptomatic Carotid Occlusion Is Frequently Associated With Microembolization. *Stroke*. 2017;48(2):394–399. doi: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.015375>
- Choi Y, Saqqur M, Stewart E, et al. Relative energy index of microembolic signal can predict malignant microemboli. *Stroke*. 2010;41(4):700–706. doi: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.109.573733>
- Mitchell CC, Wilbrand SM, Kundu B, et al. Transcranial Doppler and Microemboli Detection: Relationships to Symptomatic Status and Histopathology Findings. *Ultrasound Med Biol*. 2017;43(9):1861–1867. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2017.04.025>
- Darke S, Duflou J, Kaye S, et al. Body mass index and fatal stroke in young adults: A national study. *J Forensic Leg Med*. 2019;63:1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jflm.2019.02.003>
- Воронин Д.В. Динамика газового пузырька при его взаимодействии с волнами сжатия и разрежения // Прикладная механика и техническая физика. — 2005. — Т. 46. — № 5. — С. 76–85. [Voronin DV. Dinamika gazovogo puzyr'ka pri ego vzaimodejstvii s volnami szhatiya i razrezheniya. Prikladnaya mexanika i texnicheskaya fizika. 2005;46(5):76–85. (In Russ.)]
- Крылов А.Б. Поверхностное натяжение и связанные с ним явления: учебно-метод. пособие. — Минск: БГМУ, 2008. — 32 с. [Kry'lov AB. Poverxnostnoe natyazhenie i svyazannyye s nim yavleniya: uchebno-metod. posobie. Minsk: BGMU; 2008. 32 s. (In Russ.)]
- Healey JS, Amit G, Field TS. Atrial fibrillation and stroke: how much atrial fibrillation is enough to cause a stroke? *Curr Opin Neurol*. 2020;33(1):17–23. doi: <https://doi.org/10.1097/WCO.0000000000000780>
- Maida CD, Norrito RL, Daidone M, et al. Neuroinflammatory Mechanisms in Ischemic Stroke: Focus on Cardioembolic Stroke, Background, and Therapeutic Approaches. *Int J Mol Sci*. 2020;21(18):6454. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21186454>
- Pistoia F, Sacco S, Tiseo C, et al. The Epidemiology of Atrial Fibrillation and Stroke. *Cardiol Clin*. 2016;34(2):255–268. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2015.12.002>
- Chrzanowski DD. Managing atrial fibrillation to prevent its major complication: ischemic stroke. *Nurse Pract*. 1998;23(5):26–42.
- Migdady I, Russman A, Buletko AB. Atrial Fibrillation and Ischemic Stroke: A Clinical Review. *Semin Neurol*. 2021;41(4):348–364. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0041-1726332>
- Boursier-Bossy V, Zuber M, Emmerich J. Ischemic stroke and non-valvular atrial fibrillation: When to introduce anticoagulant therapy? *J Med Vasc*. 2020;45(2):72–80. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jdmv.2020.01.153>
- Скворцова В.И., Кольцова Е.А., Кимельфельд Е.И. Сравнительный анализ факторов риска и патогенетических вариантов ишемического инсульта в молодом и пожилом возрасте // Человек и его здоровье. — 2012. — № 3. — С. 81–87. [Skvortsova VI, Koltsova EA, Kimelfeld EI. Comparative Analysis of Risk Factors and Pathogenetic Types of Ischemic Stroke in Young and Old Patients. *Humans and Their Health*. 2012;3:81–87. (In Russ.)]

407

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Орлова Екатерина Владимировна, к.м.н. [Ekaterina V. Orlova, MD, PhD]; адрес: 117513, Москва, ул. Островитянова, д. 1, стр. 10 [address: 1/10, Ostrovityanova str., 117513, Moscow, Russia]; e-mail: ekaterina.shlyk@gmail.com, SPIN-код: 3695-9148, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4755-7565>

Бердалин Александр Берикович, к.м.н. [Alexandr B. Berdalin, MD, PhD]; e-mail: alex_berdalin@mail.ru, SPIN-код: 3681-6911, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5387-4367>

Лелюк Владимир Геннадьевич, д.м.н., профессор [Vladimir G. Lelyuk, MD, PhD, Professor]; e-mail: vgllyuk@fccps.ru, SPIN-код: 1066-9840, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9690-8325>

Н.С. Сергеева, Т.А. Кармакова, М.А. Поляк,
И.И. Алентов

Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена,
Москва, Российская Федерация

Системная воспалительная реакция как фактор прогноза при раке молочной железы. Часть II. Гематологические маркеры воспаления

Хроническое воспаление — один из признанных факторов, способствующих возникновению и прогрессии злокачественных новообразований. На системном уровне хронический воспалительный процесс сопровождается изменением содержания в крови медиаторов воспаления и гематологических показателей периферической крови. Соотношение количества определенных популяций клеток крови у онкологических больных, по данным многочисленных клинических исследований, является независимым фактором прогноза при злокачественных опухолях различных локализаций. Настоящий обзор посвящен гематологическим показателям системной воспалительной реакции (СВР) при раке молочной железы (РМЖ). В статье описаны свойства клеток периферической крови (нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов, тромбоцитов), определяющие их связь с развитием онкологической патологии, и способы оценки выраженности СВР с использованием гематологических показателей (индексы NLR, PLR, LMR и др.). Представлен сравнительный анализ данных о взаимосвязи этих показателей с клинико-морфологическими особенностями РМЖ, выживаемостью больных и ответом опухоли на химиотерапию. Рассмотрены комбинированные алгоритмы, включающие клинико-морфологические факторы и гематологические индексы, которые предлагаются для повышения качества прогностической оценки. Накопленные на сегодняшний день данные свидетельствуют о том, что гематологические индексы, отражающие активность СВР у больных РМЖ, могут служить дополнительными независимыми факторами прогноза заболевания. Разработка прогностических алгоритмов, информативных для определенных клинических групп больных РМЖ, является перспективным направлением исследований.

Ключевые слова: рак молочной железы, системная воспалительная реакция, гематологические индексы, прогноз

Для цитирования: Сергеева Н.С., Кармакова Т.А., Поляк М.А., Алентов И.И., Системная воспалительная реакция как фактор прогноза при раке молочной железы. Часть II. Гематологические маркеры воспаления. *Вестник РАМН.* 2022;77(6):408–419. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2235>

Введение

Хроническое воспаление — один из признанных факторов, способствующих возникновению и прогрессии злокачественных новообразований различной локализации, включая рак молочной железы (РМЖ). По существующим представлениям, состояние хронического воспаления создает условия для злокачественной трансформации клеток, их пролиферации, активного ангиогенеза в формирующейся опухоли, ее инвазивного роста и метастазирования, повышает устойчивость клеток новообразования к стрессорным и цитотоксическим воздействиям. Источником провоспалительных стимулов для опухолевых клеток могут служить хронические воспалительные заболевания, непосредственно затрагивающие те или иные органы, системные воспалительные процессы, спровоцированные инфекционным поражением, метаболическими или аутоиммунными нарушениями, а также собственно опухолевая ткань. Активированная мутантными генами секреция провоспалительных цитокинов злокачественными клетками, гипоксия, погибающие вследствие недостатка кислорода и питательных веществ клетки опухоли, продукты деградации нормальных тканей в участках инвазивного роста — все это является триггерным механизмом для возникновения и поддержа-

ния локального хронического воспалительного процесса в опухолевой ткани [1].

Постоянное действие провоспалительных стимулов приводит к структурно-функциональной перестройке микроокружения в опухолевом очаге: накоплению Т-регуляторных клеток и незрелых миелоидных клеток, обладающих супрессорной активностью, перепрограммированию макрофагов, нейтрофилов, фибробластов и лимфоцитов в сторону опухоль-промотирующего фенотипа [2]. Это вызывает подавление местных противоопухолевых иммунных реакций и ведет к истощению возможностей системного иммунного ответа, что выступает одним из ключевых условий роста и диссеминации опухоли [2, 3].

На системном уровне наличие в организме хронического воспалительного процесса сопровождается увеличением содержания в крови медиаторов воспаления (цитокинов, хемокинов, эйкозаноидов, активных форм кислорода и азота), белков острой фазы воспаления и факторов роста, а также активацией факторов свертывания крови [4]. Гуморальные провоспалительные сигналы являются главным регулятором клеточного звена воспалительных и иммунных реакций, а также индуцируют ответ центров кроветворения, что приводит к изменению состава лейкоцитов периферической

крови. Характерные для хронического воспаления изменения клеточных показателей периферической крови у онкологических больных, как правило, проявляются в виде нейтрофилии, лимфопении и тромбоцитоза [5], что расценивают как отражение общего нарушения баланса воспалительных и противоопухолевых иммунных реакций организма-хозяина. По данным клинических исследований, изменение соотношения специфических популяций клеток крови может служить независимым фактором прогноза при злокачественных опухолях различных локализаций [6].

В данной части обзора мы продолжаем рассматривать маркеры системной воспалительной реакции (СВР) у больных РМЖ и представляем анализ сведений о клинической значимости гематологических показателей, основанных на оценке относительного количества нейтрофилов, лимфоцитов, моноцитов и тромбоцитов периферической крови.

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 наименования гематологического индекса («NLR», «PLR», «LMR», «MLR», «SII», «SIRI», «PIV»). Историческая глубина поиска не ограничивалась. Всего рассмотрено 94 источника, для обзора отобрано 70 релевантных публикаций.

Популяции клеток периферической крови, используемые в расчетах гематологических показателей системной воспалительной реакции

Лимфоциты являются важнейшим звеном противоопухолевой защиты организма. Цитотоксические Т-лимфоциты и естественные киллеры способны распо-

знавать и уничтожать мутантные и трансформированные клетки, В-лимфоциты обеспечивают продукцию специфических антител к неоантигенам, клетки пула CD4⁺ Т-лимфоцитов осуществляют разностороннюю регуляцию иммунных реакций [7].

Клинические данные подтверждают, что высокая плотность лимфоцитов, инфильтрирующих опухолевую ткань (tumor-infiltrating lymphocytes, TILs), при РМЖ является благоприятным прогностическим признаком [8], а исходная и развивающаяся после лекарственного и лучевого лечения лимфопения ассоциирована с неблагоприятным течением заболевания [9, 10]. Плотность CD8⁺ TILs в ткани РМЖ прямо коррелирует с абсолютным количеством лимфоцитов и моноцитов в периферической крови [11] и обратным образом — с абсолютным количеством нейтрофилов [12].

Нейтрофилы — наиболее многочисленные лейкоциты в кровотоке. Привлекаемые в зону роста опухоли цитокинами и хемокинами, которые выделяются опухолевыми и стромальными клетками, нейтрофилы продуцируют множество провоспалительных, противовоспалительных и регуляторных пептидов и медиаторов (активные формы кислорода и азота, ФНО- α , интерфероны, ИЛ-1), ферментов (ММР-9, ММР-8, эластазу нейтрофилов, аргиназу 1, индуцируемую синтазу оксида азота), факторов роста (EGF, HGF, PDGF, VEGFA, TGF β), которые играют существенную роль в развитии острой воспалительной реакции и хронического воспаления, в том числе ассоциированного с развитием опухолевого процесса [13]. Факторы, выделяемые нейтрофилами, влияют на различные стадии онкогенеза в молочной железе, включая инициацию РМЖ, его рост и метастатическое распространение [14]. Нейтрофилам, инфильтрирующим ткань опухоли, отводят центральную роль в активации неоангиогенеза, ингибировании активности цитотоксических Т-клеток и естественных киллеров, экстравазации и диссеминации опухолевых клеток, формировании про-

N.S. Sergeeva, T.A. Karmakova, M.A. Polyak, I.I. Alentov

P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute, Moscow, Russian Federation

Systemic Inflammatory Response as a Prognostic Factor in Breast Cancer. Part II. Hematological Markers of Inflammation

Chronic inflammation is one of the recognized factors contributing to the onset and progression of malignant neoplasms. At the systemic level, a chronic inflammatory process is accompanied by an increased levels of inflammatory mediators and a change in hematological parameters of peripheral blood. According to numerous clinical studies, the change in the ratio of blood cell populations in cancer patients is an independent prognostic factor in malignant tumors of various localizations. This review is devoted to hematological parameters of the systemic inflammatory response (SIR) in breast cancer (BC). The review presents the characteristics of blood cells used for calculations of hematological indices (neutrophils, lymphocytes, monocytes, platelets); approaches for assessing SIR using these indices (NLR, PLR, LMR, etc.); comparative analysis of data on the association of the hematological indices with the clinical and morphological features of BC, patient survival and tumor response to chemotherapy. The data indicating the benefit of SIR hematological markers investigation during monitoring after treatment are summarized. Complex algorithms, including clinical, morphological and hematological factors, which are proposed to improve the quality of prognosis assessment, are considered. The information accumulated to date suggests that hematological indices reflecting SIR activity in BC patients can serve as additional independent prognostic factors. The development of the prognostic algorithms that are informative for certain clinical groups of BC patients is a promising area of research.

Keywords: breast cancer, systemic inflammatory response, hematological markers, prognosis

For citation: Sergeeva NS, Karmakova TA, Polyak MA, Alentov II, Systemic Inflammatory Response as a Prognostic Factor in Breast Cancer. Part II. Hematological Markers of Inflammation. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2022;77(6):408–419. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2235>

опухолевого микроокружения, в том числе в метастатических нишах [13, 14].

Тромбоциты, фрагменты цитоплазмы мегакариоцитов, служат источником целого спектра биологически активных веществ, которые задействованы в процессах свертывания крови, воспаления и регенерации тканей [15]. Провоспалительные цитокины, выделяемые клетками опухолевой ткани, стимулируют выработку тромбопоэтина в гепатоцитах, что активирует процесс мегакариоцитопоэза в костном мозге и приводит к увеличению количества тромбоцитов в крови [16]. Активация тромбоцитов при злокачественных опухолях не только является причиной повышения у больных тромбогенного потенциала, но и играет существенную роль в опухолевой прогрессии и развитии опухоль-промотирующего воспаления [16]. С одной стороны, циркулирующие опухолевые клетки индуцируют агрегацию тромбоцитов в кровотоке с образованием кластеров, которые повышают жизнеспособность диссеминирующих клеток. С другой стороны, тромбоциты, рекрутированные в микроокружение опухоли, взаимодействуют непосредственно с опухолевыми клетками. Высвобождение из тромбоцитов ангиогенных и митогенных факторов (TGFβ, PDGF и VEGF и др.) способствует активной пролиферации клеток опухоли, а целый ряд прямых и опосредованных механизмов определяет роль тромбоцитов в подавлении противоопухолевого иммунного ответа [17].

Циркулирующие *моноциты* являются непосредственными предшественниками популяции опухолеассоциированных макрофагов (ОАМ) — одного из наиболее значимых клеточных компонентов микроокружения опухоли. В зависимости от сложившихся локальных условий в ткани мононуклеарные макрофаги, обладая высокой пластичностью фенотипа, могут приобретать провоспалительные (M1) или противовоспалительные (M2) характеристики [18]. Макрофаги M1 продуцируют активные формы кислорода и азота, провоспалительные цитокины (ИЛ-1β, ИЛ-6, ФНО-α) активируют Th1-опосредованные иммунные реакции и могут способствовать уничтожению опухолевых клеток. Макрофаги M2, напротив, принимают участие в разви-

тии Th2-опосредованного иммунного ответа, выделяют противовоспалительные цитокины (ИЛ-10, ИЛ-13 и TGF-β), факторы, способствующие заживлению ран и ремоделированию ткани [18]. За счет продукции факторов роста и цитокинов макрофаги M2 обладают проангиогенными и иммуносупрессивными свойствами, ускоряют прогрессирование и метастазирование опухоли [18], а также играют роль в формировании устойчивости к противоопухолевым воздействиям [19]. По данным экспериментальных исследований, факторы, выделяемые опухолью, не только стимулируют образование клеток миелоцитарного ряда в костном мозге и выход моноцитов в циркуляцию, но и влияют на перепрограммирование моноцитов в сторону опухоль-промотирующего M2-фенотипа уже в периферической крови [20].

Критерии оценки гематологических показателей системной воспалительной реакции

В отличие от морфологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических маркеров, характеризующих воспалительные и иммунные реакции в опухоли, оценка показателей крови не требует получения образцов ткани. Кроме того, определение этих показателей может быть выполнено в динамике, например в процессе лечения больных или в ходе мониторинга после лечения. Исследования могут быть выполнены ретроспективно, с использованием данных клинической документации, включающих общий клинический анализ крови. Благодаря доступности исполнения и возможностям широкого практического применения анализ гематологических маркеров СВР у онкологических больных в последние годы получил широкое распространение в клинических исследованиях.

Изменение состава клеток в системном кровотоке как маркер СВР традиционно оценивают по величине соотношения абсолютного количества нейтрофилов и лимфоцитов (NLR), тромбоцитов и лимфоцитов (PLR), моноцитов и лимфоцитов (MLR или LMR) (табл. 1). Увеличение NLR, PLR, MLR (или снижение LMR), как пра-

Таблица 1. Гематологические индексы, используемые для оценки активности системной воспалительной реакции у больных раком молочной железы

Наименование	Сокращенное обозначение	Формула для расчета	Диапазон вариаций ДУ	Источники
Соотношение количества нейтрофилов и лимфоцитов (neutrophil-to-lymphocyte ratio)	NLR	N/L	1,7 ÷ 5,0	[21, 22]
Соотношение количества тромбоцитов и лимфоцитов (platelet-to-lymphocyte ratio)	PLR	P/L	108 ÷ 300	[23, 24]
Соотношение количества лимфоцитов и моноцитов (lymphocyte-to-monocyte ratio)	LMR	L/M	2,2 ÷ 6,2	[25, 26]
Соотношение количества моноцитов и лимфоцитов (monocyte-to-lymphocyte ratio)	MLR	M/L	0,22 ÷ 0,3	[27, 28]
Системный иммуно-воспалительный индекс (systemic immune-inflammation index)	SII	N × P/L	442 ÷ 624	[29, 30]
Индекс системного воспалительного ответа (systemic inflammation response index)	SIRI	N × M/L	0,52 ÷ 0,785	[31, 32]
Общий иммуно-воспалительный индекс (pan-immune-inflammation value)	PIV	N × P × M/L	285 ÷ 310	[28, 33]

Примечание. N — нейтрофилы; L — лимфоциты; P — тромбоциты; M — моноциты; ДУ — дискриминационный уровень.

вило, коррелирует с меньшей общей выживаемостью (ОВ) больных при солидных опухолях различной локализации, в том числе при РМЖ [34–36].

Дискриминационные уровни (ДУ) для оценки гематологических показателей СВР при РМЖ в разных публикациях существенно варьируют (см. табл. 1). В отдельных работах авторы используют разные пороговые значения гематологических маркеров СВР для разных групп клинических наблюдений [37, 38]. Это обусловлено тем, что для определения оптимального ДУ чаще всего прибегают к ROC-анализу имеющегося пула данных, сопоставляя показатели СВР с клиническими результатами. При этом исходное распределение индивидуальных значений, в частности, NLR и PLR может зависеть от распространенности опухолевого процесса. Так, в исследованиях, включающих больных с I–III стадиями заболевания, показатели NLR и PLR, как правило, ниже, чем в работах, выполненных у больных с метастатическим РМЖ. Кроме того, авторы обзоров обращают внимание на этнические отличия популяций больных, следствием которых могут быть молекулярные и фармакологические особенности, влияющие как на выраженность СВР, так и на эффективность лечения [39]. В целом ряде работ было доказано влияние на гематологические показатели СВР таких факторов, как пол, возраст, раса и образ жизни [40–42]. Эти обстоятельства осложняют сравнение результатов оригинальных исследований и объективно препятствуют созданию универсальных рекомендаций по использованию данных показателей в клинической практике у онкологических больных.

В последние годы предложены новые индексы, основанные на данных о количестве нескольких клеточных популяций и призванные дать более интегральную оценку СВР — SII, SIRI и PIV (см. табл. 1). Вариантом комплексного анализа гематологических показателей СВР является шкала COP–LMR, оценивающая сочетанное повышение индекса LMR и абсолютное количество тромбоцитов в баллах [43].

Интегральные индексы, согласно результатам подавляющего большинства исследований, обладают большей прогностической силой, чем отдельно взятые клеточные показатели СВР [28, 29, 32, 33, 44, 45]. Однако необходимо отметить, что при их использовании также возникает проблема отсутствия согласованной оценки порогового уровня (см. табл. 1).

Гематологические маркеры системной воспалительной реакции и прогноз при раке молочной железы

Достоверная связь гематологических показателей СВР с прогнозом при РМЖ представлена в систематических обзорах и подтверждена результатами метаанализов [39, 46–48].

В 2019 г. W. Guo et al. провели анализ 39 исследований, содержащих данные о NLR и/или PLR до начала лечения у 17 079 больных РМЖ [46]. Исследования, вошедшие в метаанализ, включали разные группы больных как по стадии заболевания, так и по молекулярному подтипу опухоли. Несмотря на это, авторы пришли к заключению, что повышенное NLR при РМЖ с высоким уровнем достоверности коррелирует с неблагоприятным прогнозом в отношении как рецидива заболевания, так и ОВ больных (HR — 1,60 и 1,78 соответственно; $p < 0,001$), причем выраженность этой корреляции

не зависела от распространенности опухолевого процесса на время установления диагноза.

Высокий показатель PLR также достоверно коррелировал с меньшей длительностью безрецидивной выживаемости (БРВ) и ОВ больных (HR — 1,32; $p = 0,002$ и HR — 1,43; $p = 0,009$ соответственно), но по результатам подгруппового анализа эта корреляция сохраняла статистически значимый уровень только при метастатическом РМЖ (HR — 1,69; $p = 0,0004$). Наиболее выраженная связь NLR с длительностью БРВ и ОВ в рамках подгруппового анализа, а также достоверная корреляция PLR с ОВ больных были установлены только в группе тройного негативного РМЖ, но не в случаях опухоли HER2⁺ (другие молекулярные подтипы авторы не выделяли). Кроме того, авторами отмечено, что корреляция NLR с прогнозом более очевидна в азиатских исследованиях (Китай, Япония, Корея), чем в европейских или американских публикациях. Интересно, что для PLR связь прогностической значимости показателя с этнической принадлежностью больных не прослеживалась [46].

Систематический обзор I. Corbeau et al., посвященный клинической значимости только NLR и опубликованный годом позже, построен на данных 41 публикации и включает исследования в группах больных, сформированных соответственно плану лечения [39]. Авторы приходят к заключению, что NLR является надежным прогностическим фактором у больных РМЖ, получающих адъювантное лечение (18 153 пациентки). При этом, по результатам данных многофакторного статистического анализа, в группах, включающих все молекулярные подтипы опухоли, NLR достоверно и независимо коррелировало с БРВ и/или ОВ в 11 из 15 публикаций (73%); в группах, ограниченных тройным негативным РМЖ, — в 3 из 4 работ (75%) [39].

Более осторожны авторы обзора с выводами о прогностической значимости NLR для метастатического РМЖ по причине относительно небольшого количества исследований (8 публикаций, 542 случая), разнородности включенных в эти исследования больных по стадии, молекулярному подтипу опухоли и протоколам лечения. Тем не менее связь высокого NLR с худшей выживаемостью до прогрессирования или ОВ в однофакторном анализе установлена в 7 из 8 исследований, а как независимый фактор прогноза показатель NLR показал себя во всех 4 исследованиях, в которых был использован многофакторный анализ данных [39].

Метаанализ данных о прогностической значимости LMR при РМЖ, опубликованный R.J. Hu et al. в 2018 г. [47], включает данные 10 исследований с участием 5667 больных. Большинство исследований было выполнено в группах больных, смешанных по стадии заболевания и молекулярному подтипу опухоли; 3 исследования — у больных с тройным негативным РМЖ. Результаты метаанализа показали, что низкое LMR достоверно коррелировало с плохой БРВ (HR — 0,60; $p < 0,001$) и ОВ пациенток (HR — 0,65; $p = 0,009$). Связь с неблагоприятным прогнозом оказалась более значимой в азиатских популяциях и в случаях тройного негативного РМЖ, а также в группах пациенток с местнораспространенным РМЖ и смешанных по стадии заболевания. При этом LMR не коррелировало с клинико-патологическими особенностями РМЖ [47].

Число аналитических публикаций об интегральных гематологических показателях СВР существенно меньше.

Метаанализ данных 8 исследований, в которых индекс SII ретроспективно был сопоставлен с прогнозом у боль-

ных РМЖ, получавших различные виды специфического лечения (2642 пациентки), выполненный Y. Zhang et al., показал, что больные с исходно высоким SII имели худшую ОВ (относительный риск (RR) — 1,79; $p < 0,001$), более низкую БРВ (RR — 1,79; $p < 0,001$) и меньшую выживаемость без отдаленных метастазов (HR — 1,64; $p < 0,001$) [48]. Прогностическая значимость высокого SII как независимого фактора неблагоприятного прогноза при местнораспространенном РМЖ подтверждена в последующих исследованиях [49, 50]. Связь вариаций SII до начала лечения с молекулярным подтипом опухоли у больных РМЖ в большинстве опубликованных исследований не описана. Однако W. Li et al. среди пациенток с I–III стадиями заболевания отметили более высокую частоту случаев РМЖ, положительного по экспрессии рецепторов прогестерона, у больных с высокими значениями SII [49].

В целом ряде работ установлено, что повышенный до начала лечения SIRI является независимым фактором неблагоприятного прогноза в отношении ОВ у больных РМЖ I–III стадий, получающих как адьювантное лечение, так и неoadьювантную химиотерапию (НАХТ) [32, 44, 50–53]. В ходе тщательного и всестороннего анализа M. Zhu et al. показали, что в обследованной когорте пациенток высокой SIRI достоверно ассоциирован с низкой БРВ и ОВ при люминальном В HER2-негативном, HER2-позитивном (HER2-enriched) и тройном негативном раке, но не при люминальном А РМЖ [50].

Индекс PIV, по данным F. Ligoio et al., характеризуется большей прогностической силой, чем другие гематологические показатели СВР [28]. Высокие значения PIV, по результатам мультивариантного анализа, являются независимым предиктором низкой ОВ у больных с местнораспространенным и метастатическим РМЖ [28, 33], а также достоверно ассоциированы с меньшей вероятностью полного ответа опухоли на НАХТ [45].

Индекс COP-LMR, по заключению его разработчиков, не зависит от клинических и морфологических факторов прогноза, а его высокое значение достоверно коррелирует с меньшей БРВ и ОВ больных при всех подтипах РМЖ, за исключением случаев HER2-позитивного рака [43].

Перспективные тенденции, выявленные в перечисленных здесь аналитических и оригинальных исследованиях в отношении клинической значимости гематологических маркеров СВР, а также поднятые в них вопросы во многом определили направления дальнейших исследований.

Гематологические маркеры системной воспалительной реакции и оценка эффективности неoadьювантной химиотерапии при раке молочной железы

Анализ данных о прогностической значимости NLR у больных РМЖ, получавших НАХТ, представленный в 2020 г. в систематическом обзоре I. Corbeau et al. [39], оставлял поле для сомнений в отношении связи этого индекса с результатами лечения и наблюдения за пациентками. Достоверная связь NLR с полным ответом опухоли на НАХТ в однофакторном анализе выявлена только в 4 из 8 (50%) исследований; независимая связь показателя с БРВ и опухоль-специфической выживаемостью по результатам многофакторного анализа была установлена только в 3 из 10 исследований, выполненных

в разных по клиническим особенностям и молекулярному типу опухолей группах больных. Авторы обзора заключают, что неоднозначность результатов оценки прогностической значимости NLR в условиях НАХТ может быть обусловлена тем, что в работах по-разному представлены молекулярные подтипы опухолей. Относительная малочисленность наблюдений, имеющихся в распоряжении авторов на время публикации обзора (1558 больных), и малое число задействованных моделей многофакторного анализа не позволили сделать окончательные выводы о предиктивной значимости NLR для клинической группы пациенток, получающих НАХТ [39].

В последние годы пул данных о возможности использования гематологических маркеров СВР как предиктивных факторов оценки вероятности ответа опухоли на НАХТ существенно расширился. Из 20 публикаций 2020–2022 гг., в которых оценивали предиктивную значимость NLR у больных РМЖ, получающих НАХТ, достоверная корреляция этого показателя с полным ответом опухоли на химиотерапию (pathologic complete response, pCR) получена только в 9 (45%) исследований и только в 4 из них NLR являлся независимым фактором прогноза, в том числе в группах, включающих все молекулярные подтипы опухоли [54, 55], у больных HER2-позитивным РМЖ [56] и при люминальном HER2-негативном подтипе РМЖ [57]. Ни в одном из 8 исследований, в которых оценивали БРВ у больных, получавших НАХТ, не было выявлено связи выживаемости с NLR до начала лечения, однако в 4 из 7 работ получена достоверная корреляция показателя с ОВ больных [32, 58–60], причем в 3 из них — в модели мультивариантного анализа.

Аналогичная тенденция прослеживается и для показателя PLR. Из 14 исследований 2018–2022 гг., в которых сопоставляли величины PLR до начала лечения и pCR, достоверная корреляция с ответом опухоли на НАХТ установлена только в 5 (36%) работах [21, 44, 61–63], причем ни в одной из них PLR не показал себя как независимый предикторный фактор эффективности химиотерапии. В 2 исследованиях PLR достоверно коррелировал с длительностью БРВ и/или ОВ независимо от других прогностических факторов [63, 64], в работе C. Jiang et al. — только на уровне одновариантного анализа [60]. Однако в других 4 работах связи с показателями выживаемости больных для PLR не установлено [26, 32, 57, 65].

Данные о предиктивной и прогностической значимости LMR/MLR у больных РМЖ, получавших НАХТ, представлены в 9 публикациях 2018–2022 гг. Из них только в 4 (44%) исследованиях авторам удалось выявить достоверную связь этих параметров с pCR [21, 26, 45, 66], и только в 1 работе эта корреляция достигала статистически значимого уровня в мультивариантном анализе [21]. В 2 работах LMR характеризуют как значимый и независимый фактор прогноза для оценки БРВ и/или ОВ [66, 67]. X. Song et al. выявили достоверную корреляцию LMR с БРВ и ОВ только на уровне одновариантного анализа [68]. В 2 исследованиях [44, 69] не обнаружено достоверных корреляций этого показателя с выживаемостью больных.

Таким образом, актуальные данные последних лет согласуются с заключением I. Corbeau et al. в том, что гематологические маркеры СВР характеризуются слабой предиктивной значимостью в отношении ответа опухоли на НАХТ у больных РМЖ.

Гематологические маркеры системной воспалительной реакции при воспалительном раке молочной железы

Воспалительный РМЖ (ВРМЖ) является особой формой злокачественных новообразований молочной железы. Он отличается быстрой прогрессией заболевания и, как следствие, низкой продолжительностью жизни больных [70]. Современные молекулярно-биологические и генетические исследования еще не дают полного понимания биологических механизмов такого агрессивного поведения опухоли [71]. Предполагается, что ведущую роль в патогенезе ВРМЖ играют особенности провоспалительного опухолевого микроокружения [71], однако специфические терапевтические мишени и прогностические биомаркеры для этой формы заболевания на сегодняшний день отсутствуют.

В подавляющем большинстве исследований прогностической значимости клеточных показателей СВР диагноз ВРМЖ является критерием исключения. Тем не менее, по данным С. Van Berckelaer et al., при ранних стадиях РМЖ показатель NLR в среднем был достоверно выше у больных ВРМЖ, чем у пациенток с невоспалительной формой заболевания, однако эти отличия не наблюдались при местнораспространенном или метастатическом РМЖ [72]. Относительно высокие значения NLR при ВРМЖ были ассоциированы с неблагоприятным исходом (HR — 0,49; $p = 0,05$), а низкие значения PLR достоверно коррелировали с большей продолжительностью БРВ (HR — 0,51; $p = 0,03$) [72].

В исследовании других авторов показано, что у больных ВРМЖ, получающих НАХТ, частота случаев рСР не коррелировала с возрастом, индексом массы тела, размером и гистопатологическими характеристиками опухоли, экспрессией гормональных рецепторов и HER2, а также с исходной величиной PLR, но была достоверно ассоциирована с исходно низким NLR ($p = 0,043$). Пациентки с низким NLR до начала лечения чаще достигали 5-летних БРВ и ОВ (HR — 2,57; $p = 0,01$ и HR — 2,92; $p < 0,001$ соответственно) [73]. PLR в меньшей степени, но также достоверно коррелировало с показателями 5-летней выживаемости больных (HR — 1,95; $p = 0,021$ и HR — 1,82; $p = 0,03$ для БРВ и ОВ соответственно) [73].

Сравнительная оценка гематологических показателей системной воспалительной реакции при раке молочной железы

По результатам прямого сравнения прогностической значимости отдельных гематологических маркеров СВР при РМЖ одни авторы отдают предпочтение NLR [74–77], другие, напротив, получают высокий уровень корреляции с прогнозом для повышенного PLR, но не для NLR или LMR/MLR [29, 78–80]. В отдельных работах показано преимущество LMR по сравнению с NLR и PLR [81–83]. Результаты двух независимых публикаций [24, 84] свидетельствуют о сравнимой прогностической значимости всех трех гематологических показателей.

При сопоставлении данных сравнительных исследований не прослеживается однозначной связи между выявленным авторами преимуществом того или иного показателя и основными клинико-патологическими особенностями РМЖ или менструальным статусом больных. Однако следует принимать во внимание, что прогности-

ческая значимость отдельных гематологических маркеров СВР может быть разной в группах больных, отличающихся по степени распространенности опухолевого процесса и молекулярному подтипу РМЖ [37, 85–87].

Гематологические маркеры системной воспалительной реакции у больных раком молочной железы в динамике

Сложность однозначной интерпретации гематологических показателей СВР для персонализированного прогноза при РМЖ является стимулом к поиску подходов, способных улучшить прогностическую силу этих маркеров. Логичным подходом к решению проблемы стали попытки оценивать изменение величин показателей в динамике — на фоне специфического лечения и после его завершения.

Так, G. Moon et al. установили, что у больных с локализованным и местнораспространенным РМЖ повышение NLR через 4–6 лет после завершения лечения достоверно ассоциировано с развитием рецидива заболевания (HR — 1,448; $p < 0,001$) [88].

J.Y. Kim et al. показали, что повышенные значения NLR и PLR у больных с I–III стадиями РМЖ как до начала, так и через 2–3 года после завершения лечения коррелируют с короткой БРВ (HR — 2,37; $p = 0,005$) [65]. Наиболее значимыми отличиями по длительности БРВ характеризовались группы больных, у которых в процессе динамического наблюдения сохранялись низкие и высокие значения NLR или PLR. Однако независимым фактором прогноза выступала только оценка NLR на этапах мониторинга, причем прогностическая значимость этой оценки не зависела от молекулярного подтипа опухоли [65]. В другом аналогичном исследовании показано, что у больных ТН РМЖ повышенный NLR, зарегистрированный через 6 мес после завершения лечения, достоверно и независимо от других факторов прогноза коррелировал с короткой БРВ ($p < 0,001$) [89].

У больных ТН РМЖ I–IV стадий, получавших как адъювантное, так и неoadъювантное лечение, повышенные значения NLR, регистрируемые в течение 2 лет после завершения лечения, ассоциированы с низкой 5-летней выживаемостью (HR — 10,76; 95%-й ДИ — 4,193–26,58) [38]. Необходимо отметить, что для достижения подобного результата авторы использовали разные пороговые уровни оценки NLR до начала лечения и на этапах мониторинга (2,84 и 7,82 соответственно).

Достоверная корреляция показана между снижением NLR после лечения и лучшей ОВ больных с I–IV стадиями РМЖ, включающего все молекулярные подтипы опухоли (HR — 2,09; $p < 0,001$; одновариантный анализ) [84]; для показателей NLR и PLR — при распространенном гормон-позитивном РМЖ IIIB–C и IV стадий (HR — 5,221; $p = 0,035$; многовариантный анализ) [74]; для LMR — у больных с I–III стадиями РМЖ, получающих радиотерапию (HR — 3,101; $p = 0,009$; мультивариантный анализ) [25]. Увеличение индекса SIRI у больных с операбельным РМЖ через 4 нед после операции по сравнению с его значением до лечения также достоверно коррелировало с меньшей ОВ пациенток ($p < 0,001$) [52].

Определение в динамике NLR или SIRI имеет преимущество по сравнению с оценкой только исходных величин этих показателей и в оценке эффективности НАХТ у больных РМЖ [31, 90].

Все эти данные позволяют полагать, что оценка динамики гематологических показателей СВР в процессе мониторинга больных может предоставить более надежную прогностическую информацию, а также даст возможность преодолеть ограничения, обусловленные высокой вариабельностью их исходных значений.

Комбинированные прогностические алгоритмы, использующие гематологические маркеры системной воспалительной реакции

Для повышения надежности прогноза с целью выбора оптимальной тактики лечения больных РМЖ предпринимаются попытки создания различных комбинированных алгоритмов, включающих гематологические

маркеры СВР (табл. 2). Прогностические номограммы формируются на основе клинико-патологических факторов и гематологических индексов, значимых для оценки прогноза в соответствующих группах больных. Как видно из данных, представленных в табл. 2, использование NLR, PLR, LMR, SIRI или PIV в качестве дополнительных параметров позволяет достичь достаточно высоких прогностических характеристик модели при оценке БРВ, ОВ или ответа опухоли на химиотерапию по результатам ROC-анализа (AUC) или расчета индекса конкордантности (с-индекс). Как правило, это подтверждается прямым сравнением алгоритма с базовой моделью, построенной с применением только традиционных клинико-патологических факторов прогноза [32, 52, 78, 91, 92]

L.F. Orlandini et al. показали, что при раннем РМЖ сочетание исходно высокого NLR и высокого (> 30) индекса

Таблица 2. Комбинированные алгоритмы (номограммы) для оценки прогноза РМЖ на основе клинико-морфологических характеристик заболевания и гематологических маркеров СВР

Характеристика групп больных (стадия, молекулярный подтип)	Параметры, использованные в алгоритме		Клинический критерий оценки прогноза	Эффективность прогностической модели		Источник
	Базовая модель (клинико-морфологические параметры)	Дополнительные (маркеры СВР)		Базовая модель	Базовая модель + дополнительные параметры	
I–IV стадии Все молекулярные подтипы	T, N, M, экспрессия РП	PLR	3- и 5-летняя ОВ	с-индекс 0,77	с-индекс 0,82	[78]
I–III стадии Все молекулярные подтипы	Стадия (TNM), степень злокачественности	SIRI	5-летняя ОВ	AUC 0,64	AUC 0,72	[52]
I–III стадии Все молекулярные подтипы	Стадия (TNM), молекулярный подтип	LMR	5-летняя БРВ	—	с-индекс 0,69	[82]
I–III стадии Все молекулярные подтипы	Гистологический тип, T, N, экспрессия РП, Ki-67	PIV	1-, 3- и 5-летняя ОВ	—	с-индекс 0,759	[33]
II–III стадии Все молекулярные подтипы	сТ	NLR и SIRI	3-, 5- и 8-летняя ОВ	с-индекс 0,513 (TNM)	с-индекс 0,729	[32]
I–III стадии Люминальный В, HER2-позитивный и ТН	Стадия, экспрессия РП	FAR-PLR	3- и 5-летняя БРВ	с-индекс 0,592	с-индекс 0,651	[91]
			3- и 5-летняя ОВ	с-индекс 0,592	с-индекс 0,652	
I–II стадии ТН	Возраст, Т	NLR	10-летняя БРВ	с-индекс 0,59	с-индекс 0,68	[92]
			10-летняя ОВ	с-индекс 0,59	с-индекс 0,69	
I–III стадии Гормон-позитивный HER2-негативный	Экспрессия РЭ, РП и Ki-67	NLR	pCR (НАХТ)	—	с-индекс 0,843	[57]
I–III стадии ТН	сТ	LMR, фибриноген и D-димер	pCR (НАХТ)	—	AUC 0,808	[21]
I–III стадии Все молекулярные подтипы	N, менопауза, гистологический тип опухоли, экспрессия Ki-67	Шкала INPS (NLR, MLR, PNI, AAPR)*	1-, 3- и 5-летняя ОВ	с-индекс 0,714	с-индекс 0,825	[93]

Примечание. ТН — тройной негативный подтип РМЖ; T, сТ, N, M — оценка отдельных индексов по системе TNM; РЭ — рецепторы эстрогенов; РП — рецепторы прогестерона; НАХТ — неоадьювантная химиотерапия; БРВ — безрецидивная выживаемость; ОВ — общая выживаемость; pCR — полный ответ опухоли на НАХТ; AUC (area under curve) — площадь под кривой (ROC-анализ); с-индекс — индекс конкордантности; «—» — сведения в публикации не представлены; * — пояснения см. в тексте.

массы тела было характерно для больных с наименьшей длительностью БРВ и ОВ [76]. Обнаруженные корреляции авторы объясняют тем, что дисрегуляция метаболизма и ассоциированное с гипертрофированной жировой тканью хроническое субклиническое воспаление могут приводить к увеличению в периферической крови уровня провоспалительных цитокинов, что, с одной стороны, стимулирует усиленное образование нейтрофилов в костном мозге и повышение NLR, а с другой — провоцирует раннюю диссеминацию опухолевых клеток [76]. Таким образом, конституциональные особенности пациенток могут быть важным дополнительным фактором в комбинированных алгоритмах для прогноза РМЖ.

Х. Hua et al. использовали многоуровневый подход и разработали прогностический индекс INPS (inflammatory-nutritional prognostic score) на основе оценки NLR, MLR, нутритивного статуса больных (prognostic nutritional index, PNI) и нового опухоль-ассоциированного маркера — соотношения уровней щелочной фосфатазы и альбумина в сыворотке крови больных (albumin-to-alkaline phosphatase ratio, AAPR) [93]. Индекс INPS достоверно коррелировал с ОВ больных локализованным и местнораспространенным РМЖ по результатам мультивариантного анализа. Номограмма, сочетающая оценку параметра N, менопаузального статуса, гистологического типа опухоли, уровня экспрессии Ki-67 и индекса INPS, характеризовалась достаточно высокой прогностической силой как в основной, так и в валидационной когорте больных (см. табл. 2) [93].

Обсуждение

Оценка прогноза при РМЖ является основополагающей в выработке адекватного объема лечебных мероприятий, который обеспечит наилучшие отдаленные результаты. Сегодня при выработке тактики лечения учитывают распространенность опухолевого процесса, молекулярный подтип и степень дифференцировки опухоли, возраст и менструальный статус пациентки, а также некоторые генетические факторы. Однако даже в однородных по этим критериям группах судьба больных различается. Это диктует необходимость поиска дополнительных критериев, которые повысят надежность индивидуального прогноза и, как следствие, будут способствовать выбору оптимального плана лечения. Влияние местных иммуновоспалительных реакций и системного воспаления на развитие опухоли и эффективность противоопухолевой терапии, установленное в клинических и экспериментальных исследованиях, дает основания предполагать, что таким дополнением могут стать факторы, отражающие воспалительные процессы в организме в целом и в опухолевой ткани в частности. Следует отметить, что сегодняшнее понимание роли воспалительных реакций в возникновении и прогрессии злокачественных новообразований приобретает особое значение в свете возможностей применения для лечения больных РМЖ современных методов иммунотерапии [3].

В рамках данного направления определение относительного количества популяций клеток периферической крови является удобным, доступным, недорогим, малоинвазивным и адекватным методом системной оценки состояния про- и противоопухолевых воспалительных и иммунных реакций организма. Выявленные в первых работах корреляции гематологических индексов с течением РМЖ и выживаемостью больных стимулировали

множество исследований в этом направлении, и накопленный на сегодняшний день опыт позволяет сделать определенные обобщения.

Результаты большинства опубликованных исследований свидетельствуют о достоверной взаимосвязи между изменением NLR, PLR, LMR, а также интегральных показателей, включающих оценку 3 и 4 популяций клеток крови (SII, SIRI, PIV), с длительностью безрецидивного периода и выживаемостью больных РМЖ. Гематологические показатели СВР проявляют себя как наиболее надежный прогностический фактор у больных РМЖ, получающих адъювантное лечение. Наименее значимые результаты получены в группах пациенток, получающих НАХТ, как в отношении выживаемости больных, так и при оценке ответа опухоли на это лечение. Индивидуальные особенности опухолевого процесса и исходного провоспалительного статуса пациенток, состоятельность иммунных механизмов противоопухолевой резистентности и реакция опухоли на терапию — все это может по-разному вовлекать в патофизиологические события нейтрофильное, тромбоцитарное или моноцитарное звенья клеточного гомеостаза. Поэтому ожидаемо, что интегральные индексы обладают большей прогностической силой по сравнению с простыми расчетными показателями. Обращает на себя внимание, что во многих исследованиях гематологические индексы выступают как независимые факторы прогноза, т.е. непосредственно не коррелируют с известными клинико-морфологическими характеристиками заболевания, но дополняют их в оценке прогноза. Это повышает ценность данных показателей как прогностических маркеров, а целесообразность их включения в алгоритм прогностической оценки подтверждается существенным улучшением качества комплексных прогностических моделей.

Существенное ограничение применения гематологических показателей СВР для оценки прогноза при РМЖ — их потенциальная зависимость от возраста, этнической принадлежности больных и наличия сопутствующих воспалительных заболеваний, а также вариативность их пороговых уровней. Нет однозначных представлений о прогностической значимости данных маркеров при разных молекулярных подтипах опухоли и разных типах противоопухолевого лечения. Кроме того, на сегодняшний день еще очень слабо изучена динамика гематологических индексов в процессе лечения и наблюдения за больными, в то время как немногочисленные опубликованные данные демонстрируют перспективность такого подхода. В то же время необходимо отметить, что в работах последних лет особое внимание уделяется дифференцированному анализу полученных данных, что создает предпосылки для объективного и всестороннего понимания прогностического потенциала гематологических показателей СВР.

Заключение

Представленные в настоящем обзоре данные свидетельствуют о том, что изменение клеточных гематологических параметров и сывороточных маркеров воспаления — провоспалительных цитокинов и С-реактивного белка, — отражающих выраженность СВР у больных РМЖ, как правило, коррелирует с прогнозом заболевания. Это согласуется со сложившейся парадигмой о потенцирующей роли хронического воспаления, в том числе ассоциированного с опухолью, в прогрессии злокачественных новообразований.

Как показывает анализ опубликованных данных, прогностическая значимость маркеров СВР зависит от стадии РМЖ и вида проводимого лечения. Причины этого в самом общем смысле могут заключаться в особенностях взаимосвязи между опухолью и механизмами противоопухолевой резистентности на разных этапах прогрессии заболевания. При этом на системном уровне крайне затруднительно дифференцировать неспецифическую составляющую хронического воспаления и изменения, непосредственно обусловленные опухолевым процессом, что осложняет возможность однозначной интерпретации получаемых данных. Решение вопросов, связанных с проблемой применения маркеров СВР в качестве критериев прогноза, требует: во-первых, глубокого и всестороннего изучения фундаментальных аспектов патофизиологии СВР у онкологических больных; во-вторых, накопления пула независимых данных, полученных в однородных по клиническому диагнозу и лечению когортах пациентов; в-третьих, анализа этих данных с учетом факторов, способных влиять на показатели СВР; в-четвертых, развития комплексных подходов, основанных на оценке клинических особенностей заболевания и провоспалительного статуса пациента.

Можно ожидать, что в перспективе использование маркеров СВР в комплексных прогностических алгоритмах в качестве дополнения к традиционным кли-

нико-патологическим факторам риска позволит улучшить качество персонализированного прогноза при РМЖ и предоставит новые критерии выбора оптимальной тактики лечения больных.

Дополнительная информация

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

Конфликт интересов. Авторы данного обзора 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. Все авторы внесли существенный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили итоговую версию до публикации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Greten FR, Grivennikov 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>
2. 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>
3. Salemme V, Centonze G, Cavallo F, et al. The crosstalk between tumor cells and the immune microenvironment in breast cancer: Implications for immunotherapy. *Front Oncol*. 2021;11:610303. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.610303>
4. 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>
5. Guner A, Kim HI. 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>
6. Dolan RD, Lim J, McSorley ST, et al. The role of the systemic inflammatory response in predicting outcomes in patients with operable cancer: Systematic review and meta-analysis. *Sci Rep*. 2017;7(1):16717. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-16955-5>
7. Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, et al. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu Rev Immunol*. 2011;29:235–271. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101324>
8. Kotoula V, Chatzopoulos K, Lakis S, et al. Tumors with high-density tumor infiltrating lymphocytes constitute a favorable entity in breast cancer: a pooled analysis of four prospective adjuvant trials. *Oncotarget*. 2016;7(4):5074–5087. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.6231>
9. Venkatesulu BP, Mallick S, Lin SH, et al. A systematic review of the influence of radiation-induced lymphopenia on survival outcomes in solid tumors. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2018;123:42–51. doi: <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2018.01.003>
10. Emile G, Penager S, Levy C, et al. Baseline lymphopenia as prognostic factor in patients with metastatic breast cancer treated with palbociclib. *Oncol Lett*. 2022;23(1):25. doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2021.13143>
11. Lee KH, Kim EY, Yun JS, et al. The prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes and hematologic parameters in patients with breast cancer. *BMC Cancer*. 2018;18(1):938. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4832-5>
12. Yoon CI, Park S, Cha YJ, et al. Associations between absolute neutrophil count and lymphocyte-predominant breast cancer. *Breast*. 2020;50:141–148. doi: <https://doi.org/10.1016/j.breast.2019.09.013>
13. Xiong S, Dong L, Cheng L. Neutrophils in cancer carcinogenesis and metastasis. *J Hematol Oncol*. 2021;14(1):173. doi: <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01187-y>
14. Hajizadeh F, Aghebati Maleki L, Alexander M, et al. Tumor-associated neutrophils as new players in immunosuppressive process of the tumor microenvironment in breast cancer. *Life Sci*. 2021;264:118699. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118699>
15. Margraf A, Zarbock A. Platelets in inflammation and resolution. *J Immunol*. 2019;203(9):2357–2367. doi: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900899>
16. Plantureux L, Mège D, Crescence L, et al. Impacts of cancer on platelet production, activation and education and mechanisms of cancer-associated thrombosis. *Cancers (Basel)*. 2018;10(11):441. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers10110441>
17. Ward MP, Kane LE, Norris LA, et al. Platelets, immune cells and the coagulation cascade; friend or foe of the circulating tumour cell? *Mol Cancer*. 2021;20(1):59. doi: <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01347-1>
18. Chen Y, Song Y, Du W et al. Tumor-associated macrophages: an accomplice in solid tumor progression. *J Biomed Sci*. 2019;26(1):78. doi: <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0568-z>
19. Guo S, Chen X, Guo C, et al. Tumour-associated macrophages heterogeneity drives resistance to clinical therapy. *Expert Rev Mol Med*. 2022;24:e17. doi: <https://doi.org/10.1017/erm.2022.8>
20. Kiss M, Caro AA, Raes G, et al. Systemic reprogramming of monocytes in cancer. *Front Oncol*. 2020;10:1399. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01399>

21. Templeton AJ, McNamara MG, Seruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2014;106(6):dju124. doi: <https://doi.org/10.1093/jnci/dju124>
22. Li B, Zhou P, Liu Y, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio in advanced cancer: Review and meta-analysis. *Clin Chim Acta.* 2018;483:48–56. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.04.023>
23. Mao Y, Chen D, Duan S, et al. Prognostic impact of pretreatment lymphocyte-to-monocyte ratio in advanced epithelial cancers: a meta-analysis. *Cancer Cell Int.* 2018;18:201. doi: <https://doi.org/10.1186/s12935-018-0698-5>
24. Zhang F, Huang M, Zhou H, et al. A nomogram to predict the pathologic complete response of neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer based on simple laboratory indicators. *Ann Surg Oncol.* 2019;26(12):3912–3919. doi: <https://doi.org/10.1245/s10434-019-07655-7>
25. Zhu J, Jiao D, Zhao Y, et al. Development of a predictive model utilizing the neutrophil to lymphocyte ratio to predict neoadjuvant chemotherapy efficacy in early breast cancer patients. *Sci Rep.* 2021;11(1):1350. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80037-2>
26. Ueno A, Maeda R, Kin T, et al. Utility of the absolute lymphocyte count and neutrophil/lymphocyte ratio for predicting survival in patients with metastatic breast cancer on eribulin: A real-world observational study. *Chemotherapy.* 2019;64(5–6):259–269. doi: <https://doi.org/10.1159/000507043>
27. Yao X, Huang J, Zhong H, et al. Targeting interleukin-6 in inflammatory autoimmune diseases and cancers. *Pharmacol Ther.* 2014;141(2):125–139. doi: <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2013.09.004>
28. Nakamoto S, Ikeda M, Kubo S, et al. The systemic immune markers at diagnosis can predict the survival benefit in advanced breast cancer. *Cancer Diagn Progn.* 2021;1(5):471–478. doi: <https://doi.org/10.21873/cdp.10063>
29. Kim D, Bae SJ, Ahn SG, et al. RT-induced dynamic changes in the lymphocyte-to-monocyte ratio in patients with breast cancer indicate poor prognosis. *Breast Cancer Res Treat.* 2022;193(3):637–647. doi: <https://doi.org/10.1007/s10549-022-06601-8>
30. Ma Y, Zhang J, Chen X. Lymphocyte-to-monocyte ratio is associated with the poor prognosis of breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy. *Cancer Manag Res.* 2021;13:1571–1580. doi: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S292048>
31. Deng JP, Hua X, Long ZQ, et al. Prognostic value of skeletal muscle index and monocyte-to-lymphocyte ratio for lymph node-positive breast cancer patients after mastectomy. *Ann Transl Med.* 2019;7(23):775. doi: <https://doi.org/10.21037/atm.2019.11.37>
32. Truffi M, Piccotti F, Albasini S, et al. Preoperative systemic inflammatory biomarkers are independent predictors of disease recurrence in ER+ HER2- early breast cancer. *Front Oncol.* 2021;11:773078. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.773078>
33. Moldoveanu D, Pravongviengkham V, Best G, et al. Dynamic neutrophil-to-lymphocyte ratio: A novel prognosis measure for triple-negative breast cancer. *Ann Surg Oncol.* 2020;27(10):4028–4034. doi: <https://doi.org/10.1245/s10434-020-08302-2>
34. Corbeau I, Jacot W, Guiu S. Neutrophil to lymphocyte ratio as prognostic and predictive factor in breast cancer patients: A systematic review. *Cancers (Basel).* 2020;12(4):958. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers12040958>
35. Azab B, Camacho-Rivera M, Taioli E. Average values and racial differences of neutrophil lymphocyte ratio among a nationally representative sample of United States subjects. *PLoS One.* 2014;9(11):e112361. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112361>
36. Lin BD, Hottenga JJ, Abdellaoui A, et al. Causes of variation in the neutrophil-lymphocyte and platelet-lymphocyte ratios: a twin-family study. *Biomark Med.* 2016;10(10):1061–1072. doi: <https://doi.org/10.2217/bmm-2016-0147>
37. Howard R, Scheiner A, Kanetsky PA, et al. Sociodemographic and lifestyle factors associated with the neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Ann Epidemiol.* 2019;38:11–21.e6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2019.07.015>
38. Jiang L, Fang J, Ding J. High systemic immune-inflammation index predicts poor survival in patients with human epidermal growth factor receptor-2 positive breast cancer receiving adjuvant trastuzumab. *Cancer Manag Res.* 2020;12:475–484. doi: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S231444>
39. He Q, Li JY, Ren Q-L. Efficacy of neoadjuvant single or dual anti-HER-2 therapy combined with chemotherapy in patients with HER-2-positive breast cancer: A single-center retrospective study. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2021;22(5):1467–1475. doi: <https://doi.org/10.31557/APJCP.2021.22.5.1467>
40. Ligorio F, Fucà G, Zattarin E, et al. The pan-immune-inflammation-value predicts the survival of patients with human epidermal growth factor receptor 2 (HER2)-positive advanced breast cancer treated with first-line taxane-trastuzumab-pertuzumab. *Cancers (Basel).* 2021;13(8):1964. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers13081964>
41. Deng Y, Li W, Liu X, et al. The combination of platelet count and lymphocyte to monocyte ratio is a prognostic factor in patients with resected breast cancer. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(18):e18755. doi: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000018755>
42. Chen L, Kong X, Wang Z, et al. Pretreatment systemic inflammation response index in patients with breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy as a useful prognostic indicator. *Cancer Manag Res.* 2020;12:1543–1567. doi: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S235519>
43. Şahin AB, Cubukcu E, Ocak B, et al. Low pan-immune-inflammation-value predicts better chemotherapy response and survival in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Sci Rep.* 2021;11(1):14662. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94184-7>
44. Jiang C, Zhang S, Qiao K, et al. The pretreatment systemic inflammation response index as a useful prognostic factor is better than lymphocyte to monocyte ratio in breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy. *Clin Breast Cancer.* 2022;22(5):424–438. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2022.03.003>
45. Lin F, Zhang LP, Xie SY, et al. Pan-immune-inflammation value: A new prognostic index in operative breast cancer. *Front Oncol.* 2022;12:830138. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.830138>
46. Wang P, Yue W, Li W, et al. Systemic immune-inflammation index and ultrasonographic classification of breast imaging-reporting and data system predict outcomes of triple-negative breast cancer. *Cancer Manag Res.* 2019;11:813–819. doi: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S185890>
47. Hu RJ, Liu Q, Ma JY, et al. Preoperative lymphocyte-to-monocyte ratio predicts breast cancer outcome: A meta-analysis. *Clin Chim Acta.* 2018;484:1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.05.031>
48. Guo W, Lu X, Liu Q, et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio for breast cancer patients: An updated meta-analysis of 17079 individuals. *Cancer Med.* 2019;8(9):4135–4148. doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.2281>
49. Zhang Y, Sun Y, Zhang Q. Prognostic value of the systemic immune-inflammation index in patients with breast cancer: a meta-analysis. *Cancer Cell Int.* 2020;20:224. doi: <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01308-6>
50. Li W, Ma G, Deng Y, et al. Systemic immune-inflammation index is a prognostic factor for breast cancer patients after curative resection. *Front Oncol.* 2021;11:570208. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.570208>
51. Zhu M, Chen L, Kong X, et al. The systemic immune-inflammation index is an independent predictor of survival in breast cancer patients. *Cancer Manag Res.* 2022;14:775–820. doi: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S346406>
52. Hua X, Long ZQ, Huang X, et al. The preoperative systemic inflammation response index (SIRI) independently predicts survival in postmenopausal women with breast cancer. *Curr Probl Cancer.* 2020;44(4):100560. doi: <https://doi.org/10.1016/j.currprobcancer.2020.100560>

53. Wang L, Zhou Y, Xia S, et al. Prognostic value of the systemic inflammation response index (SIRI) before and after surgery in operable breast cancer patients. *Cancer Biomark.* 2020;28(4):537–547. doi: <https://doi.org/10.3233/CBM-201682>
54. Dong J, Sun Q, Pan Y, et al. Pretreatment systemic inflammation response index is predictive of pathological complete response in patients with breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy. *BMC Cancer.* 2021;21(1):700. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-021-08458-4>
55. Eren T, Karacin C, Ucar G, et al. Correlation between peripheral blood inflammatory indicators and pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced breast cancer patients. *Medicine (Baltimore).* 2020;99(22):e20346. doi: <https://doi.org/10.1097/MD.000000000020346>
56. Boér K, Kahán Z, Landherr L, et al. Pathologic complete response rates after neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab with chemotherapy in early stage HER2-positive breast cancer — increasing rates of breast conserving surgery: A real-world experience. *Pathol Oncol Res.* 2021;27:1609785. doi: <https://doi.org/10.3389/pore.2021.1609785>
57. Tang L, Shu X, Tu G. Exploring the influencing factors of the pathologic complete response in estrogen receptor-positive, HER2-negative breast cancer after neoadjuvant chemotherapy: a retrospective study. *World J Surg Oncol.* 2022;20(1):27. doi: <https://doi.org/10.1186/s12957-022-02492-7>
58. Li X, Tan Q, Li H, Yang X. Predictive value of pretreatment peripheral neutrophil-to-lymphocyte ratio for response to neoadjuvant chemotherapy and breast cancer prognosis. *Cancer Manag Res.* 2021;13:5889–5898. doi: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S313123>
59. Muñoz-Montaño W, Cabrera-Galeana P, Alvarado-Miranda A, et al. Prognostic value of the pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio in different phenotypes of locally advanced breast cancer during neoadjuvant systemic treatment. *Clin Breast Cancer.* 2020;20(4):307–316.e1. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2019.12.011>
60. Jiang C, Lu Y, Zhang S, et al. Systemic immune-inflammation index is superior to neutrophil to lymphocyte ratio in prognostic assessment of breast cancer patients undergoing neoadjuvant chemotherapy. *Biomed Res Int.* 2020;2020:7961568. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/7961568>
61. Cuello-López J, Fidalgo-Zapata A, López-Agudelo L, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio as a predictive factor of complete pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *PLoS One.* 2018;13(11):e0207224. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207224>
62. Kaytaz Tekyol K, Gurleyik G, Aktaş A, et al. Pathological complete response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer: The relationship between inflammatory biomarkers and molecular subtypes. *Cureus.* 2021;13(4):e14774. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.14774>
63. Hu Y, Wang S, Ding N, et al. Platelet/lymphocyte ratio is superior to neutrophil/lymphocyte ratio as a predictor of chemotherapy response and disease-free survival in luminal B-like (HER2-) breast cancer. *Clin Breast Cancer.* 2020;20(4):e403–e409. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2020.01.008>
64. Corbeau I, Thezenas S, Maran-Gonzalez A, et al. Inflammatory blood markers as prognostic and predictive factors in early breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy. *Cancers (Basel).* 2020;12(9):2666. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers12092666>
65. Kim JY, Jung EJ, Kim JM, et al. Dynamic changes of neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio predicts breast cancer prognosis. *BMC Cancer.* 2020;20(1):1206. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-020-07700-9>
66. Meng X, Wang X, Jiang C, et al. Correlation analysis of lymphocyte-monocyte ratio with pathological complete response and clinical prognosis of neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Transl Oncol.* 2022;18:101355. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2022.101355>
67. Goto W, Kashiwagi S, Asano Y, et al. Predictive value of lymphocyte-to-monocyte ratio in the preoperative setting for progression of patients with breast cancer. *BMC Cancer.* 2018;18(1):1137. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5051-9>
68. Song X, Ma J, Zhang H, et al. Prognostic significance of the primary tumor site and immune indexes in patients with estrogen receptor-positive, human epidermal growth factor receptor-2-negative breast cancer. *Gland Surg.* 2020;9(5):1450–1468. doi: <https://doi.org/10.21037/gS-20-622>
69. Marín Hernández C, Piñero Madrona A, Gil Vázquez PJ, et al. Usefulness of lymphocyte-to-monocyte, neutrophil-to-monocyte and neutrophil-to-lymphocyte ratios as prognostic markers in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Clin Transl Oncol.* 2018;20(4):476–483. doi: <https://doi.org/10.1007/s12094-017-1732-0>
70. Hester RH, Hortobagyi GN, Lim B. Inflammatory breast cancer: early recognition and diagnosis is critical. *Am J Obstet Gynecol.* 2021;225(4):392–396. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.04.217>
71. Lim B, Woodward WA, Wang X, et al. Inflammatory breast cancer biology: the tumour microenvironment is key. *Nat Rev Cancer.* 2018;18(8):485–499. doi: <https://doi.org/10.1038/s41568-018-0010-y>
72. Van Berckelaer C, Van Geyt M, Linders S, et al. A high neutrophil-lymphocyte ratio and platelet-lymphocyte ratio are associated with a worse outcome in inflammatory breast cancer. *Breast.* 2020;53:212–220. doi: <https://doi.org/10.1016/j.breast.2020.08.006>
73. Al Jarroudi O, El Bairi K, Abda N, et al. Neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios as predictors of outcomes in inflammatory breast cancer. *Biomark Med.* 2021;15(14):1289–1298. doi: <https://doi.org/10.2217/bmm-2020-0717>
74. Takada K, Kashiwagi S, Asano Y, et al. Clinical evaluation of dynamic monitoring of neutrophil-to-lymphocyte and platelet-to-lymphocyte ratios in primary endocrine therapy for advanced breast cancer. *Anticancer Res.* 2019;39(10):5581–5588. doi: <https://doi.org/10.21873/anticancer.13752>
75. Myojin M, Horimoto Y, Ito M, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and histological type might predict clinical responses to eribulin-based treatment in patients with metastatic breast cancer. *Breast Cancer.* 2020;27(4):732–738. doi: <https://doi.org/10.1007/s12282-020-01069-0>
76. Orlandini LF, Pimentel FF, Andrade JM, et al. Obesity and high neutrophil-to-lymphocyte ratio are prognostic factors in non-metastatic breast cancer patients. *Braz J Med Biol Res.* 2021;54(10):e11409. doi: <https://doi.org/10.1590/1414-431X2021e11409>
77. Takamizawa S, Shimoi T, Satomi-Tsushita N, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a prognostic factor for patients with metastatic or recurrent breast cancer treated using capecitabine: a retrospective study. *BMC Cancer.* 2022;22(1):64. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-021-09112-9>
78. Cho U, Park HS, Im SY, et al. Prognostic value of systemic inflammatory markers and development of a nomogram in breast cancer. *PLoS One.* 2018;13(7):e0200936. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200936>
79. Huszno J, Kolosza Z. Prognostic value of the neutrophil-lymphocyte, platelet-lymphocyte and monocyte-lymphocyte ratio in breast cancer patients. *Oncol Lett.* 2019;18(6):6275–6283. doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2019.10966>
80. Wang Y, Huang G, Li Z. Prognostic significance of inflammatory biomarkers in patients with breast cancer skeletal metastases. *Cancer Manag Res.* 2020;12:11463–11475. doi: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S277291>
81. Ji H, Xuan Q, Yan C, et al. The prognostic and predictive value of the lymphocyte to monocyte ratio in luminal-type breast cancer patients treated with CEF chemotherapy. *Oncotarget.* 2016;7(23):34881–34889. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.8993>

82. Yin Y, Zhang Y, Li L, et al. Prognostic value of pretreatment lymphocyte-to-monocyte ratio and development of a nomogram in breast cancer patients. *Front Oncol.* 2021;11:650980. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.650980>
83. Zhang Z, Lin Q, Chen Y, et al. Prognostic evaluation of metastasis-related lymphocyte/monocyte ratio in stage I-III breast cancer receiving chemotherapy. *Front Oncol.* 2022;11:782383. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.782383>
84. Gerrata L, Basile D, Toffoletto B, et al. Biologically driven cut-off definition of lymphocyte ratios in metastatic breast cancer and association with exosomal subpopulations and prognosis. *Sci Rep.* 2020;10(1):7010. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63291-2>
85. Koh YW, Lee HJ, Ahn JH, et al. Prognostic significance of the ratio of absolute neutrophil to lymphocyte counts for breast cancer patients with ER/PR-positivity and HER2-negativity in neoadjuvant setting. *Tumour Biol.* 2014;35(10):9823–9830. doi: <https://doi.org/10.1007/s13277-014-2282-5>
86. Zenan H, Zixiong L, Zhicheng Y, et al. Clinical prognostic evaluation of immunocytes in different molecular subtypes of breast cancer. *J Cell Physiol.* 2019;234(11):20584–20602. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.28662>
87. Tiainen S, Rilla K, Hämäläinen K, et al. The prognostic and predictive role of the neutrophil-to-lymphocyte ratio and the monocyte-to-lymphocyte ratio in early breast cancer, especially in the HER2+ subtype. *Breast Cancer Res Treat.* 2021;185(1):63–72. doi: <https://doi.org/10.1007/s10549-020-05925-7>
88. Moon G, Noh H, Cho JJ, et al. Prediction of late recurrence in patients with breast cancer: elevated neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) at 5 years after diagnosis and late recurrence. *Breast Cancer.* 2020;27(1):54–61. doi: <https://doi.org/10.1007/s12282-019-00994-z>
89. Kim KM, Choi HS, Noh H, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio after treatment completion as a potential predictor of survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Breast Cancer.* 2021;24(5):443–454. doi: <https://doi.org/10.4048/jbc.2021.24.e43>
90. Dan J, Tan J, Huang J, et al. The dynamic change of neutrophil to lymphocyte ratio is predictive of pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Breast Cancer.* 2020;27(5):982–988. doi: <https://doi.org/10.1007/s12282-020-01096-x>
91. Zheng Y, Wu C, Yan H, et al. Prognostic value of combined preoperative fibrinogen-albumin ratio and platelet-lymphocyte ratio score in patients with breast cancer: A prognostic nomogram study. *Clin Chim Acta.* 2020;506:110–121. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.03.011>
92. Polley M-YC, Leon-Ferre RA, Leung S, et al. A clinical calculator to predict disease outcomes in women with triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2021;185(3):557–566. doi: <https://doi.org/10.1007/s10549-020-06030-5>
93. Hua X, Duan F, Zhai W, et al. A novel inflammatory-nutritional prognostic scoring system for patients with early-stage breast cancer. *J Inflamm Res.* 2022;15:381–394. doi: <https://doi.org/10.2147/JIR.S338421>

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: kalmar123@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, SPIN-код: 1805-8141, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7406-9973>

Поляк Марианна Александровна, врач-онколог [*Polyak A. Marianna*, MD]; e-mail: 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, SPIN-код: 9992-7676, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5920-5823>

В.К. Тищенко¹, В.М. Петриев^{1, 2}, О.П. Власова^{1, 3},
А.А. Панкратов⁴, Н.Б. Морозова⁴, П.В. Шегай³,
С.А. Иванов^{1, 5}, А.Д. Каприн^{3, 4, 5}

¹Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба,
Обнинск, Калужская область, Российская Федерация

²Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»,
Москва, Российская Федерация

³Национальный медицинский исследовательский центр радиологии,
Обнинск, Калужская область, Российская Федерация

⁴Московский научный исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена,
Москва, Российская Федерация

⁵Российский университет дружбы народов, Москва, Российская Федерация

Меченные технецием-99m низкомолекулярные ингибиторы простат-специфического мембранного антигена

420

Особое место в ранней диагностике заболеваемости раком предстательной железы (РПЖ) занимают методы ядерной медицины, которые позволяют визуализировать функциональные, метаболические и иные процессы в организме, возникающие при наличии онкологического процесса. Благодаря высокоспецифичному связыванию с простат-специфическим мембранным антигеном (ПСА) и быстрому выведению из организма с мочой именно низкомолекулярные ингибиторы ПСА доминируют при разработке новых радиоиндикаторов для визуализации РПЖ. Технеций-99m остается наиболее подходящим радионуклидом для диагностических исследований благодаря своим оптимальным физико-химическим свойствам и удобству получения. В связи с этим однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) с радиолигандами к ПСА, мечеными ^{99m}Tc, может быть экономически выгодной альтернативой ПЭТ с препаратами на основе ⁶⁸Ga или ¹⁸F. Цель данного обзора — обобщить и проанализировать имеющиеся на сегодняшний день данные о меченных ^{99m}Tc низкомолекулярных ингибиторах ПСА, предназначенных для визуализации метастатического РПЖ.

Ключевые слова: простат-специфический мембранный антиген (ПСА), технеций-99m, низкомолекулярные ингибиторы ПСА, рак предстательной железы, однофотонная эмиссионная компьютерная томография

Для цитирования: Тищенко В.К., Петриев В.М., Власова О.П., Панкратов А.А., Морозова Н.Б., Шегай П.В., Иванов С.А., Каприн А.Д. Меченные технецием-99m низкомолекулярные ингибиторы простат-специфического мембранного антигена. Вестник РАМН. 2022;77(6):420–436. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2207>

Введение

Рак предстательной железы (РПЖ) является вторым по частоте встречаемости онкологическим заболеванием после рака легких и шестой по значимости причиной смерти от рака у мужчин во всем мире [1]. По данным Глобальной онкологической обсерватории (GCO), в 2020 г. было зарегистрировано 1,4 млн случаев РПЖ, из которых умерли 375 тыс. человек [1]. По прогнозам к 2040 г. число пациентов с РПЖ увеличится до 2,3 млн в год, а смертность достигнет 740 тыс. человек в год [1]. В России число пациентов с РПЖ с 2010 по 2020 г. выросло с 76,1 до 183,4 на 100 тыс. населения [2].

Учитывая высокую заболеваемость и смертность, ассоциированные с РПЖ, ранняя диагностика первичной опухоли, а также визуализация очагов метастазирования или рецидивов остаются актуальными проблемами медицины. Раннее и точное обнаружение опухоли имеет большое значение для последующей разработки стратегии лечения, так как позволяет снизить риск возникновения осложнений и улучшить прогноз. У пациентов с локализованным РПЖ 5-летняя выживаемость составляет почти 100%, однако при развитии метастазов этот показатель снижается до 30% [3]. Традиционные методы визуализации, такие как компьютерная томография (КТ), маг-

нитно-резонансная томография (МРТ) и ультразвуковое исследование, имеют ограниченную точность в оценке метастатического и рецидивирующего РПЖ [4]. Получение функциональной информации о распространении РПЖ стало возможным после внедрения в клиническую практику высокочувствительных методов ядерной медицины, таких как однофотонная эмиссионная компьютерная томография (ОФЭКТ) и позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ).

К сожалению, низкий уровень метаболизма глюкозы РПЖ значительно ограничивает диагностическую эффективность ПЭТ визуализации с 2-дезоксид-2-[¹⁸F]фторглюкозой (¹⁸F-ФДГ). ПЭТ/КТ с ¹⁸F- и ¹¹C-холином также характеризовалась низкой чувствительностью и специфичностью, особенно при низком уровне простат-специфического антигена (ПСА) [5]. Поэтому необходимы более специфичные радиоиндикаторы, позволяющие увеличить чувствительность радионуклидной диагностики РПЖ.

Простат-специфический мембранный антиген (ПСА), сверхэкспрессированный на поверхности опухолевых клеток простаты, является важной мишенью для визуализации и терапии РПЖ с помощью высокоаффинных и специфичных к ПСА радиофармацевтических лекарственных препаратов (РФЛП). Еще в 1990-х го-

дах Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) одобрило ^{111}In -капромаб пендетид (ProstaScint®) — препарат на основе мышиных антител к внутриклеточному домену ПСМА — для иммуносцинтиграфии РПЖ. Однако длительный период полувыведения из крови, низкая проницаемость в солидных опухолях и высокая иммуногенность препарата существенно ограничивают его клиническое использование.

Особый интерес представляют низкомолекулярные ингибиторы ПСМА (пептидомиметики), быстро выводимые из кровотока и обеспечивающие высокую контрастность ОФЭКТ- или ПЭТ-изображений [6]. К настоящему времени за рубежом зарегистрировано два радиофармацевтических лекарственных препарата на основе низкомолекулярных ПСМА-ингибиторов: ^{68}Ga -PSMA-11 и ^{18}F -DCFPyL (Pylarify®). Оба препарата предназначены для визуализации РПЖ и его метастазов методом ПЭТ [7]. Однако рутинное клиническое применение РФЛП с ^{68}Ga и ^{18}F ограничено низкой доступностью ПЭТ, а также высокой стоимостью эксплуатации циклотрона и блока радиохимического синтеза [8].

Среди радионуклидов, используемых в настоящее время, технейций-99m ($^{99\text{m}}\text{Tc}$) стал основным в диагностической ядерной медицине, а радиофармацевтические лекарственные препараты на основе $^{99\text{m}}\text{Tc}$ до сих пор являются наиболее используемыми радиотрейсерами в клинической практике [6]. Широкое использование $^{99\text{m}}\text{Tc}$ объясняется характеристиками его ядерного распада ($T_{1/2} = 6,01$ ч; $E_{\gamma} = 140,5$ кэВ; 98,6%), удобством получения с помощью коммерчески доступных генераторов $^{99}\text{W}/^{99\text{m}}\text{Tc}$, а также простотой приготовления радиофармацевтических лекарственных препаратов с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ с использованием готовых наборов (лиофилизатов) в условиях клиники. Кроме того, большая доступность гамма-камер по сравнению с ПЭТ-сканерами, а также их значительные усовершенствования за счет оснащения твердотельными

кристаллами, состоящими из сплава теллуридов кадмия и цинка, и инновационными конструкциями коллиматоров привели к возобновлению интереса к ОФЭКТ-визуализации с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ [9]. Все вышперечисленное делает разработку радиофармацевтических лекарственных препаратов с $^{99\text{m}}\text{Tc}$, нацеленных на ПСМА, весьма перспективным направлением ядерной медицины.

Биология простат-специфического мембранного антигена и структурные особенности его низкомолекулярных ингибиторов

ПСМА, также известный как фолатгидролаза I или глутаматкарбоксипептидаза II, представляет собой трансмембранный несекреторный гликопротеин с молекулярной массой примерно 100 кДа, состоящий из 750 аминокислот. ПСМА характеризуется наличием трех основных сегментов: короткого N-концевого внутриклеточного участка, трансмембранного домена и большого внеклеточного участка (C-конца) [10]. Наиболее важен внеклеточный сегмент, так как именно он содержит каталитический домен и цинксоодержащий субстрат-связывающий сайт, способный взаимодействовать со специфическими ПСМА-ингибиторами.

В норме наличие ПСМА отмечено в клетках и тканях человека, таких как слезные и слюнные железы, предстательная железа, проксимальные каналы почек, тонкая кишка, щитовидная и молочная железы [11]. Все гистологические типы РПЖ, особенно низкодифференцированные, метастатические и гормонорезистентные опухоли, характеризуются повышенной экспрессией ПСМА [12]. Более того, повышенная экспрессия ПСМА отмечена в участках метастазирования первичной опухоли РПЖ в лимфатические узлы и кости, а также в неоваскулярном эпителии многих солидных опухолей различных локализаций: почек, молочной железы, толстой кишки,

421

V.K. Tishchenko¹, V.M. Petriev^{1,2}, O.P. Vlasova^{1,3}, A.A. Pankratov⁴, N.B. Morozova⁴,
P.V. Shegai³, S.A. Ivanov^{1,5}, A.D. Kaprin^{3,4,5}

¹A. Tsyb Medical Radiological Research Centre, Obninsk, Kaluga Region, Russian Federation

²National Research Nuclear University МЕРФИ (Moscow Engineering Physics Institute), Moscow, Russian Federation

³National Medical Research Radiological Centre, Obninsk, Kaluga Region, Russian Federation

⁴P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute, Moscow, Russian Federation

⁵RUDN University, Moscow, Russian Federation

99mTc-Labelled Low Molecular Weight Inhibitors of Prostate-Specific Membrane Antigen

High morbidity and mortality rates of prostate cancer (PCa) determine the requirement of looking for new methods of its early diagnosis. Methods of nuclear medicine have a special place in addressing this problem as they allow functional, metabolic and other processes imaging in body, which occur during the cancer development. This approach supposes the use of radiopharmaceuticals (RP), which are capable of selective binding to a specific biological target, for example, prostate-specific membrane antigen (PSMA), which is known to be overexpressed in PCa. Current development of new radiotracers for PCa imaging is focused on low molecular weight PSMA inhibitors due to their high specific binding to PSMA and rapid urinary excretion. Technetium-99m remains the appropriate radionuclide for diagnostic studies due to its optimal nuclear properties, ease of production and versatile coordination chemistry. Therefore, single-photon emission computed tomography (SPECT) imaging with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA radioligands can be a cost effective alternative to PET with ^{68}Ga - or ^{18}F -labeled RP. The aim of this review is to summarize and analyze currently available data on $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled low molecular weight PSMA inhibitors for metastatic PCa imaging.

Keywords: prostate-specific membrane antigen (PSMA), technetium-99m, low molecular weight PSMA inhibitors, prostate cancer, single-photon emission computed tomography

For citation: Tishchenko VK, Petriev VM, Vlasova OP, Pankratov AA, Morozova NB, Shegai PV, Ivanov SA, Kaprin AD. 99mTc-Labelled Low Molecular Weight Inhibitors of Prostate-Specific Membrane Antigen. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2022;77(6):420–436. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2207>

щитовидной железы и др. [11]. Таким образом, ПСМА представляет собой превосходную молекулярную мишень как для визуализации, так и для терапии РПЖ.

Необходимо подчеркнуть, что из-за экспрессии ПСМА в некоторых здоровых тканях, особенно в почках, слюнных и слезных железах, именно эти органы будут являться «критическими» при проведении радионуклидной диагностики и особенно радионуклидной терапии с низкомолекулярными ингибиторами ПСМА [11]. Поэтому крайне важно оценивать уровни поглощения радиофармацевтических лекарственных препаратов органами, чтобы предотвратить нежелательные побочные эффекты, обусловленные повышенной дозой нагрузкой.

ПСМА обладает двойственной природой, являясь не только рецепторным белком, но и ферментом, обеспечивая протеолиз нейропептида N-ацетил-L-аспартил-L-глутамата в центральной нервной системе и гидролиз поли-γ-глутамилфолата в тонкой кишке [10]. В связи с этим радиолиганды, нацеленные на ПСМА, можно разделить на две группы. К первой относятся специфические моноклональные антитела и аптамеры — короткие одноцепочечные молекулы РНК или ДНК, способные с высокой аффинностью и специфичностью связываться с молекулами-мишенями [10]. Ферментативная активность ПСМА стала мишенью для разработки низкомолекулярных ингибиторов ПСМА. В отличие от антител, низкомолекулярные ингибиторы ПСМА обладают небольшими размерами, что способствует их быстрому клиренсу из крови, лучшему проникновению в опухоль и быстрой экскреции с мочой [6]. После связывания радиолиганда с ПСМА происходит интернализация комплекса внутрь клетки путем клатрин-опосредованного эндоцитоза, после чего он высвобождается в цитоплазме, равномерно распределяясь в ней с течением времени, а рецептор рециклируется [13].

Одним из факторов, определивших широкое распространение низкомолекулярных ингибиторов ПСМА, стало изучение кристаллической структуры ПСМА. Сайт ферментативного связывания ПСМА организован в виде тоннеля неправильной формы длиной ~ 20 Å, который можно условно разделить на три части: участок, или карман, ответственный за распознавание глутамата (glutamate recognition pocket, S1¹); активный центр, содержащий два атома цинка (zinc active site), и входную воронку неправильной формы, соединяющую внеклеточную поверхность ПСМА с активным центром фермента [10, 14]. В воронке также имеются аргининовый участок (arginine patch), дополнительный гидрофобный карман (accessory hydrophobic pocket, S1) и арен-связывающий участок (arene-binding site) [14].

Эти структурные особенности ПСМА отражены в дизайне ингибиторов, которые, как правило, состоят из трех основных частей: 1) специфического ПСМА-связывающего мотива (содержащего глутамат и функциональную группу, координирующую ионы Zn²⁺ активного центра ПСМА); 2) мотива, связывающего радиоактивную метку, (хелатора) и 3) линкерной группы, которая соединяет участок связывания и хелатор [11]. Вообще низкомолекулярные ингибиторы ПСМА очень наглядно демонстрируют зависимость структура–свойство и, соответственно, важность химической природы каждого фрагмента — ПСМА-связывающего мотива, линкера и хелатора — для достижения необходимой фармакокинетики конечной молекулы. Эта конструкция допускает дискретные модификации всех трех структур-

ных элементов с потенциально значительным воздействием на аффинность, фармакокинетику и фармакодинамику молекулы.

Широкое использование ^{99m}Tc в диагностической ядерной медицине способствовало разработке ингибиторов ПСМА с ^{99m}Tc. На сегодняшний день известно три класса ингибиторов ПСМА: 1) лиганды на основе фосфора, 2) тиолы и 3) лиганды на основе мочевины [11, 12]. Наиболее изучены соединения на основе производных мочевины, дошедшие до клинического применения. Базовая химическая структура большинства таких лигандов содержит ПСМА-связывающие фрагменты «глутамат–мочевина–глутамат» (Glu–Urea–Glu, EuE) и «глутамат–мочевина–лизин» (Glu–Urea–Lys, EuK), необходимые для связывания с активным центром ПСМА [12].

Низкомолекулярные ингибиторы простат-специфического мембранного антигена, меченные ^{99m}Tc

Получение ^{99m}Tc из генератора ⁹⁹W/^{99m}Tc возможно только в виде пертехнетата натрия Na^{99m}TcO₄, который необходимо восстанавливать до более низкой степени окисления для введения в структуру биомолекулы. Для этого используют слабый лиганд, который стабилизирует ^{99m}Tc в необходимой степени окисления, а затем этот комплекс конъюгируют с хелатором [15].

Одним из широко используемых комплексов для получения меченных ^{99m}Tc ингибиторов ПСМА является трикарбонил-технеций(I) [^{99m}Tc(CO)₃]⁺. В опубликованной в 2008 г. работе [16] группа исследователей из Медицинского института Джона Хопкинса (Johns Hopkins Medical Institutions, США) сообщила о синтезе соединений с использованием [^{99m}Tc(CO)₃]⁺ на основе Glu–Urea–Lys с линкерами переменной длины и различными хелаторами (бис-пиридил, бис-хинолин и др.) (табл. 1). Исследования показали, что с увеличением длины линкера существенно возрастает аффинность полученных конъюгатов к ПСМА. ОФЭКТ/КТ-визуализация была проведена на мышах SCID, несущих как ксенотрансплантаты ПСМА(+) PC3-PIP, так и ПСМА(–) PC3-flu. Все соединения, за исключением 6 и 7, позволили визуализировать опухоль PC3-PIP. Лиганды (1–3), продемонстрировавшие наиболее высокую контрастность опухоли по отношению к фону в ходе ОФЭКТ/КТ-визуализации, были исследованы *ex vivo*, в результате чего отмечено ПСМА-специфичное поглощение этих соединений опухолью. Максимальное накопление препаратов в опухоли было отмечено уже через 0,5–1 ч после инъекции (7,87 ± 3,95 %/г и 11,56 ± 2,86 %/г для лигандов 1 и 3 соответственно), после чего их содержание быстро снижалось (до ~ 0,75–0,80 %/г через 5 ч после введения). Аналогичный характер распределения был зарегистрирован в почках (до 178,56 ± 35,45 %/г) и селезенке (до 32,07 ± 16,36 %/г) [16].

Позднее той же группой ученых были оценены еще три соединения на основе Glu–Urea–Lys, меченных [^{99m}Tc(CO)₃]⁺ [17] (см. табл. 1). Среди протестированных соединений конъюгат, содержащий лизин, функционализированный 1,4-дизамещенным 1,2,3-триазолом в качестве хелатора (лиганд 8), продемонстрировал наиболее высокое специфическое накопление и длительное удержание в опухоли (28,31 ± 4,4 %/г и 23,22 ± 6,02 %/г через 0,5 и 5 ч соответственно). Также отмечалось высокое поглощение препарата почками в ранние сроки после

Таблица 1. Меченные ^{99m}Tc низкомолекулярные ингибиторы ПСМА

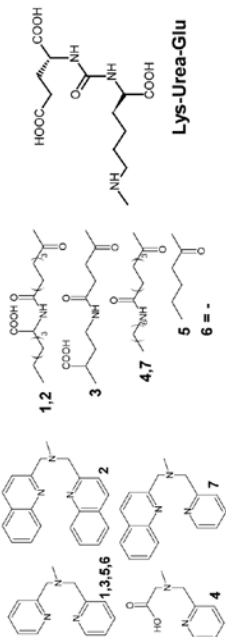
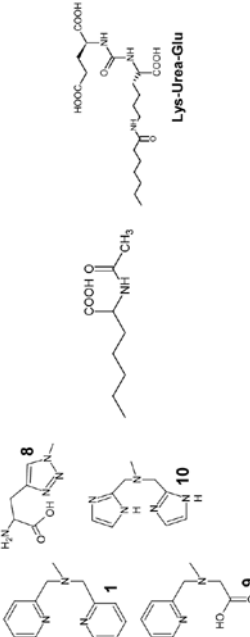
Комплекс с ^{99m} Tc (год публикации)	Хелатор/Линкер/ПСМА-связывающий мотив	Тест-система и опухолевая модель	Основные результаты	Дальнейшее применение в клинике	Ссылка
^{99m} Tc(CO) ₃ ⁺ (2008)		Мыши SCID с ксенотрансплантатами РС3-PIP (ПСМА+) и РС3-Flu (ПСМА-)	ПСМА-специфичное поглощение опухолью (до 7,87 ± 3,95 %/г для 1) с максимальным накоплением через 0,5–1 ч после инъекции. Высокое поглощение почками и селезенкой с последующим быстрым выведением	Нет	[16]
^{99m} Tc(CO) ₃ ⁺ (2013)		Мыши SCID с ксенотрансплантатами РС3-PIP (ПСМА+) и РС3-Flu (ПСМА-)	ПСМА-специфичное поглощение опухолью и длительное удержание (28,31 ± 4,4 и 23,22 ± 6,02 %/г через 0,5 и 5 ч соответственно для 8). Высокое неспецифическое поглощение печенью (до 28,9 ± 17,9 %/г) и селезенкой (21,1 ± 8,5 %/г) через 0,5 ч после инъекции	Нет	[17]
^{99m} Tc(CO) ₃ ⁺ (2013)					

Таблица 1. Продолжение

Комплекс с ^{99m} Tc (год публикации)	Хелатор/Линкер/ПСМА-связывающий мотив	Тест-система и опухолевая модель	Основные результаты	Дальнейшее применение в клинике	Ссылка
[^{99m} Tc(CO) ₃] ⁺ (2016)	<p>15</p> <p>Cys-Urea-Glu</p>	Мыши C.V.-17/1cг +/- JcI и C.V. 17/1cг scid/scid JcI с ксенотрансплантатами LNCaP (ПСМА+) и РС3 (ПСМА-)	ПСМА-специфичное поглощение опухолью (до 12,8 ± 2,2 %/г через 30 мин после введения). Накопление в печени < 5,7 %/г	Нет	[20]
[^{99m} Tc(CO) ₃] ⁺ (2020)	<p>16</p> <p>17</p> <p>Lys-Urea-Glu</p>	Мыши BALB/c nude с ксенотрансплантатами 22Rv1 (ПСМА+)	Умеренное поглощение опухолью (1,48–1,87 %/г через 1 ч и 0,81–2,83 %/г через 4 ч после инъекции). Максимальное поглощение почками не превышало 59,59 ± 2,2 %/г для 16 и 39,68 ± 2,2 %/г для 17	Нет	[21]
[^{99m} Tc(CO) ₃] ⁺ (2020)	<p>18</p> <p>CNGU</p>	Мыши BALB/c nude с ксенотрансплантатами LNCaP (ПСМА+)	ПСМА-специфичное поглощение опухолью (4,86 ± 1,19 %/г через 1 ч после инъекции). Высокое поглощение почками (70,95 ± 12,28 %/г) и селезенкой (5,84 ± 1,51 %/г). Отношения опухоль/кровь и опухоль/мышца составили 2,89 и 12,46 соответственно	Нет	[22]
[TcO] ₄ ³⁺ (2009)	<p>19 A = -</p> <p>20 A = NH-Glu-Phe-CO</p> <p>21 A = NH-(CH₂)₆-Phe-Phe-CO</p> <p>22 A = NH-(CH₂)₆-Phe-Glu-CO</p> <p>23 A = NH-Phe-Glu-Ala-Phe-Phe-CO</p> <p>24 A = NH-(PEG)₆-Phe-CO</p> <p>Dap-Asp-Cys</p>	Бестимусные мыши <i>nu/nu</i> с ксенотрансплантатами LNCaP (ПСМА+)	ПСМА-специфичное поглощение опухолью лигандов 22, 23 и 24 (в среднем 9,8 ± 2,4 %/г через 4 ч после инъекции). Высокое поглощение почками (в среднем 28,3 %/г) и низкое — нецелеными органами (<1 %/г в срок 4 ч)	Нет	[23]

Таблица 1. Продолжение

Комплекс с ^{99m} Tc (год публикации)	Хелатор/Линкер/ПСМА-связывающий мотив	Тест-система и опухолевая модель	Основные результаты	Дальнейшее применение в клинике	Ссылка
[TcO] ³⁺ (2013)	<p> Меркаптоацетил-Гли-Гли-Гли-Гли-Сер-Sер-Sер-MAS3 29 Меркаптоацетил-Гли-Гли-Гли-Гли-Сер-Sер-Sер-MAS3 28 Меркаптоацетил-Гли-Гли-Гли-Гли-Сер-Sер-Sер-MAS3 25 A = Phio 26 A = Phio-Phio 27 Diamidolipol 30 31 X = H 32 X = CH₂COOH </p>	Мыши SCID с ксенотрансплантатами РС3-РiР (ПСМА+) и РС3-flu (ПСМА-)	ПСМА-специфичное поглощение опухолью (42,46 ± 4,37 %/г через 1 ч после инъекции для лиганда 29). Высокое накопление и удержание почками (139,5–162,3 %/г) и селезенкой (45,45–97,78 %/г в течение 5 ч)	Нет	[17]
[TcO] ³⁺ (2017)	<p> MAS3-2-меркаптоацетил-L-Sер-L-Sер-L-Sер 33 mas3-2-меркаптоацетил-D-Sер-D-Sер-D-Sер 34 </p>	Мыши СВ17-SCID с ксенотрансплантатами LNCaP (ПСМА+)	ПСМА-специфичное поглощение опухолью лиганда 34 (8,28 ± 3,27 %/г через 1 ч после инъекции). Высокое накопление почками (186 ± 23 %/г) и селезенкой (47 ± 17 %/г). В остальных органах – менее 3 %/г	Да	[24]
[Tc-HYNIC] ²⁺ (2013)	<p>35</p>	Мыши SCID с ксенотрансплантатами РС3-РiР (ПСМА+) и РС3-flu (ПСМА-)	Высокое и неизбирательное поглощение внутренними органами и тканями	Нет	[17]

Таблица 1. Продолжение

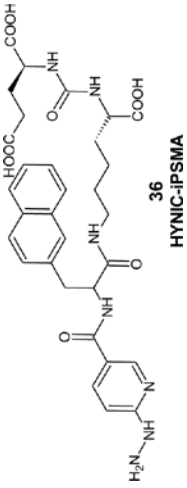
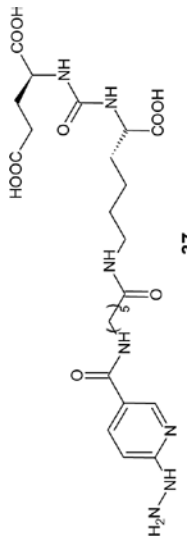
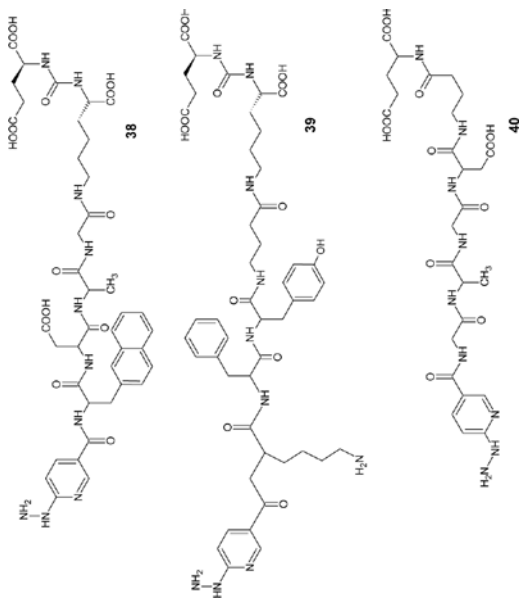
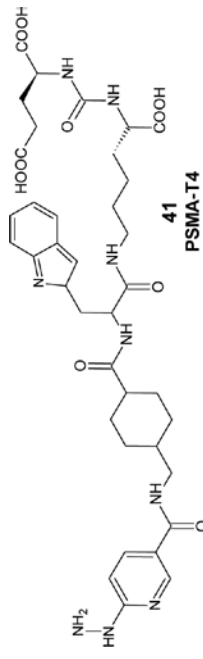
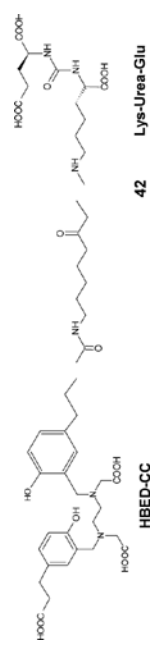
Комплекс с ^{99m} Tc (год публикации)	Хелатор/Линкер/ПСМА-связывающий мотив	Тест-система и опухолевая модель	Основные результаты	Дальнейшее применение в клинике	Ссылка
[Tc-HYNIC] ²⁺ (2017)		Бестимусные мыши с ксенотрансплантатами LNCaP (ПСМА+) и РС3 (ПСМА-)	ПСМА-специфичное поглощение опухолью (до 10,22 ± 2,96 %/г через 1 ч после инъекции). Накопление в почках — до 23,63 ± 3,56 %/г, в печени — до 2,18 ± 0,19 %/г. В остальных органах и тканях — менее 2%/г	Да	[27]
[Tc-HYNIC] ²⁺ (2017)		Мыши SCID с ксенотрансплантатами LNCaP (ПСМА+) и РС3-flu (ПСМА-)	ПСМА-специфичное поглощение опухолью (14,13 ± 2,95; 19,45 ± 2,14 и 11,23 ± 2,8 %/г через 1, 2 и 4 ч после инъекции соответственно). Высокое поглощение почками (> 100 %/г). Накопление в нецелевых органах — не более 3 %/г через 1 ч после введения	Да	[4]
[Tc-HYNIC] ²⁺ (2020)		Бестимусные мыши <i>nu/nu</i> с ксенотрансплантатами LNCaP (ПСМА+) и РС3-flu (ПСМА-)	ПСМА-специфичное поглощение опухолью (3,62 ± 0,78 %/г для лиганда 38; 1,8 ± 0,32 %/г для лиганда 39 и ~1 %/г для лиганда 40 через 1 ч после инъекции). Высокое накопление в почках (~80-100 %/г) и селезенке (~4 %/г)	Нет	[28]

Таблица 1. Окончание

Комплекс с ^{99m} Tc (год публикации)	Хелатор/Линкер/ПСМА-связывающий мотив	Тест-система и опухольная модель	Основные результаты	Дальнейшее применение в клинике	Ссылка
[Tc-HYNIC] ²⁺ (2020)	 <p style="text-align: center;">41 PSMA-T4</p>	Здоровые мышцы BALB/c	Максимальное поглощение отмечалось в почках (37,5 ± 9,4 %/г через 4 ч после инъекции). В остальных органах и тканях содержание препарата было менее 1%/г	Да	[29]
^{99m} TcO ₄ ⁻ (2019)	 <p style="text-align: center;">42 Lys-Urea-Glu</p>	Здоровые мышцы Swiss	Высокое поглощение почками (42,2 ± 2,9 и 29,9 ± 3,8 %/г через 1 и 3 ч после введения соответственно). В остальных органах накопление не превышало 3 %/г	Нет	[30]

Примечание. ПСМА⁺ — опухоль, экспрессирующая ПСМА; ПСМА⁻ — опухоль без экспрессии ПСМА.

введения ($122,70 \pm 14,73$ %/г) и медленное снижение (до $55,31 \pm 1,15$ %/г в течение последующих 5 ч).

Еще одна серия ингибиторов ПСМА с ^{99m}Tc , меченных с помощью $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3]^+$, была разработана компанией MIP (Molecular Insight Pharmaceuticals Inc., США) [18, 19]. Соединения содержали основу Lys–Urea–Glu или Glu–Urea–Glu и были связаны через различные линкеры с четырьмя разными хелаторами (см. табл. 1). Наибольшую аффинность связывания с ПСМА *in vitro* проявляли конъюгаты, содержащие хелаторы CIM и TIM [18].

В экспериментах *in vivo* ^{99m}Tc -MIP-1404 (^{99m}Tc -Trofolastat) продемонстрировал наилучшее сочетание высокого поглощения опухолью и быстрого выведения из почек и нецелевых тканей, что было подтверждено ОФЭКТ/КТ-визуализацией. Исследования на животных моделях с ксенотрансплантатами LNCaP показали высокое поглощение опухолью ^{99m}Tc -MIP-1404 через 1 ч после инъекции ($10,3 \pm 2,5$ %/г), которое сохранялось в течение 4 ч ($11,0 \pm 4,1$ %/г). За счет быстрого выведения препарата из крови, почек и нецелевых тканей отношения опухоль/кровь достигали 79 и 550 через 1 и 4 ч соответственно [19]. ^{99m}Tc -MIP-1404 и ^{99m}Tc -MIP-1405 были выбраны для дальнейших клинических исследований.

В другом исследовании Н. Kimura et al. [20] синтезировали новый анионный ^{99m}Tc -трикарбонильный комплекс (^{99m}Tc -TMCE) с высокой гидрофильностью. ^{99m}Tc -TMCE продемонстрировал высокое сродство к ПСМА *in vitro*, а также высокую аккумуляцию *in vivo* в опухоли ($4,0 \pm 1,2$; $12,8 \pm 2,2$ и $5,0 \pm 2,7$ %/г через 5, 30 и 120 мин после инъекции соответственно) и низкое поглощение печенью ($5,7 \pm 1,0$; $2,3 \pm 0,3$ и $1,1 \pm 0,1$ %/г через 5, 30 и 120 мин после инъекции соответственно) [20]. Особенно высокое накопление было отмечено в почках ($124,9 \pm 26,2$; $136 \pm 6,4$ и $56,8 \pm 20,6$ %/г через 5, 30 и 120 мин после введения) [20]. По сравнению с нейтральными и положительно заряженными радиолигандами с трикарбонильным ядром, полученными S.R. Vanerjee et al. [17], комплекс ^{99m}Tc -TMCE характеризовался ускоренным печеночным и почечным клиренсом.

Подобно карбонильным функциональным группам, изонитрильные группы ($\text{C}=\text{NR}$) являются превосходными лигандами для стабилизации технеция в низких степенях окисления с образованием очень стабильных монокатионных шестикоординированных комплексов типа $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{CN-R})_3]$. В 2020 г. была опубликована работа [21], в которой для визуализации РПЖ были предложены конъюгаты на основе изонитрильных производных ингибиторов ПСМА, меченные с помощью $[\text{Tc}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ (см. табл. 1). Полученные комплексы (^{99m}Tc -16 и ^{99m}Tc -17), содержащие три карбонильные группы и три изонитрильных заместителя ПСМА, могут рассматриваться как мультивалентные ингибиторы, потенциально способные связывать три рецепторных участка ПСМА одновременно. При исследовании биораспределения *ex vivo* было отмечено быстрое накопление ^{99m}Tc -17 (с $1,87 \pm 0,11$ до $2,83 \pm 0,26$ %/г через 1 и 4 ч после введения соответственно). Другой препарат, ^{99m}Tc -16, показал умеренное поглощение опухолью ($1,48 \pm 0,18$ %/г), которое снижалось до $0,81 \pm 0,09$ %/г через 4 ч после инъекции. Выведение осуществлялось преимущественно через почки. ОФЭКТ/КТ-визуализация с новыми радиолигандами продемонстрировала четкую визуализацию опухоли и тканевой, экспрессирующих ПСМА, уже через 1 ч после инъекции [21].

Изонитрильные группы также могут координироваться с Tc(I) с образованием очень стабильных моно-

катионных шестикоординированных гомолептических соединений. Китайскими учеными был получен комплекс $[\text{}^{99m}\text{Tc}(\text{CN-R})_6]^+$ (^{99m}Tc -CNGU) [22] (см. табл. 1). При изучении биораспределения на мышах BALB/c nude с опухолями LNCaP было показано, что комплекс накапливался в опухоли до $4,86 \pm 1,19$ %/г и снижался до $1,74 \pm 0,90$ %/г после предварительной инъекции селективного ингибитора ПСМА [22]. Низкое поглощение печенью ($2,46 \pm 0,72$ %/г) и кишечником ($2,16 \pm 0,34$ %/г) и высокое накопление почками ($70,95 \pm 12,28$ %/г) свидетельствуют о том, что ^{99m}Tc -CNGU выводится через мочевыделительную систему, а не гепатобилиарным путем. Низкое поглощение препарата щитовидной железой ($0,01 \pm 0,00$ %/г) и желудком ($0,64 \pm 0,72$ %/г) указывало на стабильность комплекса *in vivo*. Дальнейшие перспективы авторы связывают с клиническими исследованиями данного препарата.

Для связывания ^{99m}Tc с лигандами, нацеленными на ПСМА, также используют оксотехнеций $[\text{Tc}=\text{O}]^{3+}$. Соединения такого типа образуют очень устойчивые комплексы с хелатирующими агентами в водных растворах, преимущественно с тетраденатными лигандами [15]. Кроме того, такие соединения могут быть представлены в виде цис- и трансизомеров из-за различной ориентации функциональных групп относительно связи Tc=O, которые, однако, легко разделить [11, 15]. Вдобавок комплексы с оксотехнецием $[\text{TcO}]^{3+}$ могут быть получены с высокими радиохимическими выходами в одну стадию [11].

В работе [23] сообщалось о серии соединений, нацеленных на ПСМА и помеченных с использованием $[\text{TcO}]^{3+}$. Было обнаружено, что из шести синтезированных соединений три способны связываться с ПСМА с наномолярным сродством и высокой специфичностью. Те же три радиолиганда (**22–24**) демонстрировали высокое поглощение опухолью LNCaP *in vivo* (в среднем $9,8 \pm 2,4$ %/г через 4 ч после введения) и невысокое (< 1 %/г) накопление в других тканях, кроме почек (до 28,3 %/г) [23].

Серия $[\text{TcO}]^{3+}$ -меченых ингибиторов ПСМА была представлена в работе [17]. Все соединения оценивали *in vivo* с помощью ОФЭКТ/КТ-визуализации на мышах с ксенотрансплантатами ПСМА-позитивной опухоли PC3-PiP. Различия в фармакокинетических профилях и поглощении почками полученных соединений объясняются различными зарядами, полярностью и разным количеством гидрофильных функциональных групп в структуре хелатора. Так, наличие карбоксильных групп на боковой цепи хелатора способствовало более высокому накоплению в опухоли и снижению радиоактивности в здоровых тканях, что приводит к более высоким значениям отношений опухоль/фон [17]. Наиболее благоприятным фармакокинетическим профилем обладал лиганд **29**. В эксперименте *ex vivo* было отмечено высокое накопление этого препарата в опухоли ($30–42,46$ %/г), почках ($139,5–162,3$ %/г) и селезенке ($45,45–97,78$ %/г), что делает невозможным его дальнейшее применение в клинике [17].

В 2017 г. была опубликована работа [24], в которой сообщалось о получении нового РФЛП ^{99m}Tc -PSMA I&S (imaging and surgery), предназначенного для интраоперационного обнаружения единичных и атипично локализованных метастазов в лимфатических узлах (см. табл. 1). Первоначально для ПСМА-радионавигационной хирургии применялись лиганды PSMA-617 и PSMA I&T, меченные ^{111}In [25, 26]. Однако из-за ограниченной до-

ступности и высокой стоимости циклотронного радионуклида ^{111}In ($T_{1/2} = 2,8$ сут; $E_{\gamma} = 171$ кэВ (90,2%); 245 кэВ (94,0%)), а также высокой лучевой нагрузки на пациента и персонал данные РФЛП не получили широкого распространения в клинике [8].

ПСМА-связывающий мотив $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA I&S представлен последовательностью Glu–Urea–Lys, а в качестве хелатирующей группы был использован 2-меркаптоацетил-D-серин-D-серин-D-серин (mas3). Кроме того, параллельно исследовали аналог, содержащий L-аминокислотный хелатор MAS3 ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAS3-y-nal-k(Sub-KuE)), который предположительно может подвергаться протеолитическому расщеплению под действием эндопептидазы.

Препарат $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA I&S продемонстрировал улучшенную интернализацию и высокую стабильность *in vivo* по сравнению с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -MAS3-y-nal-k(Sub-KuE), благодаря чему был выбран для дальнейших исследований *in vivo*. Высокая стабильность $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA I&S *in vivo* обеспечивает длительную доступность индикатора в кровотоке, что с течением времени приведет к постепенному увеличению накопления $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA I&S в опухолевых очагах, экспрессирующих ПСМА, и позволит обеспечить высокую контрастность изображений за счет роста отношений опухоль/фон. Из-за выраженного связывания с белками плазмы $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA I&S продемонстрировал в 7 раз более высокую концентрацию в крови ($1,73 \pm 0,50$ %/г) через 1 ч после инъекции, чем ^{111}In -PSMA-I&T ($0,24 \pm 0,05$ %/г). При этом накопление препаратов в тканях, экспрессирующих ПСМА (селезенка, почки и опухоль LNCaP), было практически одинаковым для $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA I&S и ^{111}In -PSMA-I&T [24]. На основании этих результатов в настоящее время проводятся клинические исследования $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA I&S.

Соединение HYNIC (6-гидразинокотиновая кислота) считается эффективным бифункциональным хелатором для связывания $^{99\text{m}}\text{Tc}$ с ингибиторами ПСМА. Карбоксильная группа используется для конъюгации с фармакофором ПСМА-ингибиторов, в то время как гидразапиридиновая часть прочно связывает $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Поскольку HYNIC может занимать только один или два координационных центра $^{99\text{m}}\text{Tc}$, для завершения координационной сферы технеция необходимы солиганды, которые могут оказать существенное влияние на стабильность, липофильность и биораспределение конъюгатов $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC. Кроме того, такой подход позволяет получать РФЛП с высокой радиохимической чистотой без необходимости дальнейшей очистки, что крайне удобно в клинических условиях. Необходимо подчеркнуть, что структура конъюгатов $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC однозначно не определена, поскольку неизвестно, координируется ли HYNIC с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ только через гидразиновую группу или через гидразиновую и пиридиновую группы [15]. Происходит образование нескольких изомеров, практически не разделяемых и не поддающихся индивидуальной оценке. Впервые использование HYNIC в качестве хелатора для получения меченных $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ингибиторов ПСМА было описано в работе [17] (см. табл. 1). Полученное соединение характеризовалось низким поглощением в ПСМА(+) опухоли и, соответственно, неизбирательным накоплением в остальных органах и тканях [17].

Еще одним примером ингибитора ПСМА, полученного на основе HYNIC, является $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-Lys(Nal)-Urea-Glu ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-iPSMA), разработанный учеными из Мексики [27] (см. табл. 1). Исследования *in vitro* и *in vivo* показали высокую стабильность полученного радиолиганда и специфическое

связывание с ПСМА с последующей интернализацией в клетки. При проведении доклинических исследований на животных с трансплантатом LNCaP поглощение опухолью достигало $10,22 \pm 2,96$ и $9,84 \pm 2,63$ %/г через 1 и 3 ч после введения соответственно. В остальных органах и тканях, за исключением почек и печени, накопление $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -EDDA/HYNIC-iPSMA не превышало 2 %/г [27]. В настоящее время препарат проходит I фазу клинических исследований.

Еще один ингибитор ПСМА ($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-ALUG-Lys-Urea-Glu (ALUG — аминокaproновая кислота)), дошедший до стадии клинических исследований, был разработан в Китае [4]. В экспериментах *ex vivo* препарат накапливался в ксенотрансплантатах ПСМА(+) опухоли LNCaP (до $19,45 \pm 2,14$ %/г через 2 ч после введения). Основными недостатками $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HYNIC-ALUG были высокое поглощение и длительное удержание активности в почках (до $195,50 \pm 7,1$ %/г).

M. Mosayebnia et al. [28] разработали несколько HYNIC-пептидов, несущих фармакофор Glu–Urea–Lys ([Glu-Urea-Lys(OMe)-Gly-Ala-Asp-(Naphthyl)Ala-HYNIC] и [Glu-Urea-Lys(OMe)-GABA-Tyr-Phe-Lys-HYNIC], и новый фармакофор, не содержащий мочевины (Glu-GABA-Asp-Gly-Ala-Gly-HYNIC) (см. табл. 1). Лиганд 38 проявлял наивысшую аффинность связывания, наибольшую стабильность и высокую специфическую аккумуляцию в опухолевых поражениях предстательной железы. Была показана возможность ОФЭКТ/КТ-визуализации опухоли LNCaP уже через 1 ч после введения препарата. Более того, авторы отметили сравнимую эффективность и фармакокинетические свойства [Glu-Urea-Lys(OMe)-Gly-Ala-Asp-(Naphthyl)Ala-HYNIC- $^{99\text{m}}\text{Tc}$] с ^{68}Ga -PSMA-11, что делает его весьма перспективным радиотрейсером для ранней диагностики РПЖ [28].

Недавно в Национальном центре ядерных исследований «Радиоизотопный центр POLATOM» (Польша) разработали новый радиолиганд, названный $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA-T4 (PSMA-T4 = Glu-CO-Lys-L-Trp-4-Amc-HYNIC) [29]. Структурной особенностью препарата является наличие в структуре линкера L-триптофана, что, по мнению авторов, способствовало повышенному сродству к ПСМА *in vivo* и значительному улучшению биораспределения $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA-T4, которое исследовали на здоровых мышцах BALB/C. Показано, что препарат характеризовался низкой аккумуляцией в органах, не являющихся мишенями (< 1 %/г через 4 ч после введения), в частности, наблюдалось относительно низкое поглощение почками ($37,5 \pm 9,5$ %/г) [29]. Дальнейшая оценка препарата осуществлялась уже в рамках клинических исследований и подробно представлена в следующем разделе.

Учеными из Индии была предпринята попытка помечать $^{99\text{m}}\text{Tc}$ лиганд PSMA-11 (HBED-CC-PSMA) [30]. PSMA-11 состоит из мотива Glu–Urea–Lys, конъюгированного с ациклическим хелатором N,N'-бис[2-гидрокси-5-(карбоксиэтил)бензил]-этилендиамин-N,N'-диуксусная кислота (HBED-CC) через линкер из аминоксусановой кислоты (см. табл. 1). $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA-11 обладал высокой специфичностью в отношении ПСМА(+) клеток LNCaP *in vitro* и характеризовался стандартным физиологическим распределением в организме здоровых мышей с преимущественным накоплением в почках и быстрым выведением из крови, печени, кишечника, легких и других органов через 3 ч после введения. Кроме того, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PSMA-11 позволил успешно идентифицировать первичные опухоли, а также метастатические поражения у пациентов с РПЖ [30].

Клинические исследования

Основными требованиями к радиофармацевтическим лекарственным препаратам для клинического применения являются: эффективная процедура маркировки, высокая концентрация в опухоли, высокая специфичность связывания, определяемая накоплением препарата клетками ПСМА(+), более длительное удержание в опухоли по сравнению с почками, а также низкое поглощение нецелевыми органами и тканями, преимущественно печенью и другими органами желудочно-кишечного тракта [15]. Среди вышеупомянутых ^{99m}Tc-меченных ингибиторов ПСМА пять прошли хотя бы одну фазу клинических испытаний, в ходе которой оценивались безопасность и переносимость радиофармацевтических лекарственных препаратов, а также определялись чувствительность и специфичность диагностики с данными препаратами.

Препараты ^{99m}Tc-MIP-1404 и ^{99m}Tc-MIP-1405 стали первыми ингибиторами ПСМА с ^{99m}Tc, достигшими стадии клинических исследований (табл. 2). В I фазе клинического исследования ^{99m}Tc-MIP-1404 и ^{99m}Tc-MIP-1405 участвовали 6 здоровых мужчин и 6 мужчин с рентгенологически подтвержденным метастатическим РПЖ [31]. Оба препарата быстро выводились из кровотока (клиренс ^{99m}Tc-MIP-1404 составил 283 ± 100 мл/ч/кг, ^{99m}Tc-MIP-1405 — 200 ± 45 мл/ч/кг у здоровых мужчин). У здоровых добровольцев и у пациентов с метастатическим РПЖ наиболее высокое поглощение обоих препаратов наблюдалось в околоушных и слюнных железах, печени, почках и желудочно-кишечном тракте. У 5 из 6 пациентов с РПЖ планарное сканирование всего тела с обоими РФЛП позволило четко идентифицировать все метастатические поражения, ранее обнаруженные при сканировании костей. У пациента, перенесшего простатэктомию, визуализация как с ^{99m}Tc-MIP-1404, так и с ^{99m}Tc-MIP-1405 позволила выявить больше метастатических поражений, чем остеосцинтиграфия, проведенная 2 мес назад. Эффективная доза облучения всего тела после однократного введения диагностической дозы ^{99m}Tc-MIP-1404 и ^{99m}Tc-MIP-1405 (740 ± 111 МБк) составила примерно 6 мЗв, что аналогично радиационному облучению после остеосцинтиграфии. Оба радиоконъюгата быстро выводились из организма через почки, причем накопление ^{99m}Tc-MIP-1404 в мочевом пузыре (7% от введенной дозы) было ниже, чем ^{99m}Tc-MIP-1405 (26% от введенной дозы). Предполагается, что из-за этого ^{99m}Tc-MIP-1404 будет иметь преимущество перед ^{99m}Tc-MIP-1405 при визуализации опухолевых поражений в предстательной железе и малом тазу на ранних стадиях заболевания и в случае биохимического рецидива [31].

Фаза II многоцентрового исследования ^{99m}Tc-MIP-1404 была проведена на 105 пациентах с подтвержденным РПЖ с высоким риском метастазирования, у которых была запланирована радикальная простатэктомия в течение 21 дня после визуализации [32]. ОФЭКТ/КТ-визуализация продемонстрировала способность обнаруживать рак простаты у 98 пациентов (94%) с высокой точностью по сравнению с гистологией. Чувствительность и специфичность ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc-MIP-1404 в обнаружении лимфатических узлов составила 50 и 87% соответственно [32].

В работе [33] было показано, что ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc-MIP-1404 позволяет выявлять метастазы в лимфатических узлах и костях с умеренной точностью при первичном стадировании РПЖ и дает возможность прогнозировать появление метастазов с чувствительностью 82% и спе-

цифичностью 76%. Кроме того, достоверность визуальной оценки ПСМА-позитивных поражений можно повысить с помощью количественного анализа изменений поглощения индикатора, измеренного с помощью ОФЭКТ/КТ [34]. Также было обнаружено, что накопление ^{99m}Tc-MIP-1404 в первичной опухоли коррелирует с индексом Глисона и концентрацией ПСА в сыворотке [33, 35–37]. Так, в исследовании [36] с участием 60 пациентов с биохимическим рецидивом РПЖ было установлено, что при уровнях ПСА более 2 нг/мл чувствительность ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc-MIP-1404 (91,4%) и значения SUV для опухолевых поражений были сопоставимы с данными, полученными при проведении ПЭТ/КТ с ⁶⁸Ga-ПСМА-11 (74,2–83,8%). Однако при уровне ПСА ниже 2 нг/мл чувствительность ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc-MIP-1404 составила всего 40,0%, что ниже по сравнению с ⁶⁸Ga-PSMA-11 (68,8%) [36].

Аналогичные результаты были получены С. Schmidkonz et al. [35] в исследовании с участием 225 пациентов с биохимическим рецидивом РПЖ. Была выявлена высокая чувствительность (90%) ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc-MIP-1404 при уровне ПСА выше 2 нг/мл, но если уровень ПСА был ниже 1,0 нг/мл, чувствительность снижалась до 58%. Тем не менее в ретроспективном исследовании [38] была продемонстрирована высокая эффективность ^{99m}Tc-MIP-1404 в выявлении ПСМА-позитивных поражений у пациентов с биохимическим рецидивом РПЖ и низким (от 0,5 до 1 нг/мл) и очень низким (от 0,2 до 0,5 нг/мл) уровнями ПСА в сыворотке. Чувствительность метода в этих подгруппах составила 56 и 44% соответственно [38]. ^{99m}Tc-MIP-1404 также может быть весьма эффективным для оценки ответа на лечение у пациентов с метастатическим РПЖ и биохимическим рецидивом РПЖ, которым проводят андроген-депривационную или дистанционную лучевую терапию [37, 39].

На основании положительных результатов клинических испытаний I и II фазы была проведена III фаза исследования с участием 531 пациента по оценке безопасности и эффективности ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc-MIP-1404 для выявления клинически значимого РПЖ у мужчин с подтвержденным биопсией раком простаты низкой степени злокачественности. Результаты показали, что ^{99m}Tc-MIP-1404 был способен визуализировать клинически значимый РПЖ со специфичностью в диапазоне 71–75%, однако чувствительность составила всего 47–51% [40].

Еще одним меченым ^{99m}Tc радиолигандом к ПСМА, достигшим стадии клинических исследований, является ^{99m}Tc-PSMA I&S — радиотрейсер для радионавигационной хирургии РПЖ (см. табл. 2). Этот метод заключается во внутривенном введении специфически связывающегося с ПСМА РФЛП с ^{99m}Tc и последующем определении локализации метастатических лимфатических узлов или остаточной опухолевой ткани по излучению радионуклида с помощью гамма-зонда. Исследования биораспределения ^{99m}Tc-PSMA I&S у пациента с метастатическим кастрат-резистентным раком предстательной железы (мКРРПЖ) показали относительно медленный клиренс ^{99m}Tc-PSMA I&S из-за значительного связывания с белками плазмы крови (94%), что способствовало эффективному поглощению препарата опухолевыми очагами РПЖ и метастазами в лимфатических узлах, а также неуклонному росту численных значений отношений опухоль/фон, вплоть до 21 ч после инъекции [24]. Пациенту с мКРРПЖ и подтвержденными метастазами в подвздошные и паховые лимфатические узлы была выполнена предоперационная ОФЭКТ/КТ (через 12 ч после инъекции),

Таблица 2. РФЛП на основе низкомолекулярных ингибиторов ПСМА, меченных ^{99m}Tc, находящиеся на стадии клинических исследований

РФЛП, стадия клинического исследования	Показания к применению	Преимущества	Недостатки
^{99m} Tc-MIP-1404 (^{99m} Tc-Troblastat) III фаза: NCT02615067	Первоначальная диагностика РПЖ, мониторинг прогрессирования заболевания и ответа на лечение	Возможность визуализировать РПЖ в области малого таза на ранних стадиях заболевания. Успешное выявление небольших лимфатических поражений в костях (< 10 мм) метастатических поражениях в костях и лимфатических узлах	Чувствительность ОФЭКТ/КТ с ^{99m} Tc-MIP-1404 ниже (40–58%), чем ПЭТ/КТ с ⁶⁸ Ga-PSMA-II, при низких уровнях ПСА (0,2–2 нг/мл)
^{99m} Tc-PSMA I&S II фаза: NCT04832958	Радионавигационная хирургия для обнаружения лимфатических узлов с метастазами или остаточной опухолевой ткани. ОФЭКТ-визуализация РПЖ	Высокая чувствительность визуализации поражений, ранее выявленных с помощью ⁶⁸ Ga-PSMAII. Высокое накопление в лимфоузлах с метастазами, что позволяет проводить точную интраоперационную идентификацию и резекцию во время радионавигационной хирургии	Достаточная для визуализации контрастность опухоль/фон достигается лишь через 5 ч после инъекции. Чувствительность ОФЭКТ с ^{99m} Tc-PSMA I&S у пациентов с биохимическим рецидивом и низким уровнем ПСА (< 4 нг/мл) была существенно ниже по сравнению с ПЭТ-визуализацией с ⁶⁸ Ga-PSMA-II
^{99m} Tc-EDDA/HYNIC-IPPSMA I фаза	Первоначальная диагностика РПЖ и мониторинг прогрессирования заболевания. Подходит для выявления ПСМА+ поражений перед радиолигандной терапией	Быстрое выведение из крови и мочи, что позволяет визуализировать РПЖ в области малого таза уже через 3 ч после введения. Более низкая эффективная доза облучения по сравнению с ^{99m} Tc-MIP-1404. Возможность визуализировать метастазы в костях, лимфатических узлах, головном мозге	Более низкая чувствительность визуализации пораженных небольшого размера по сравнению с ⁶⁸ Ga-PSMA-II (лишь 28% лимфоузлов размером < 10 мм было визуализировано с ^{99m} Tc-EDDA/HYNIC-IPPSMA)
^{99m} Tc-HYNIC-ALUG I фаза	Первоначальная диагностика РПЖ и мониторинг прогрессирования заболевания. Рассматривается возможность применения для радионавигационной хирургии	Эффективное выявление рецидивов РПЖ при уровне ПСА более 1,30 нг/мл. Чувствительность ОФЭКТ/КТ с ^{99m} Tc-HYNIC-ALUG при обнаружении метастазов (78%) выше, чем остеоцинтиграфии (34%) и МРТ (40%)	Высокое накопление в почках затрудняет интерпретацию скинтиграфических изображений
^{99m} Tc-PSMA-T4 I фаза	Первоначальная диагностика РПЖ и мониторинг прогрессирования заболевания и ответа на лечение. Подходит для выявления ПСМА+ поражений перед радиолигандной терапией	Оптимальный фармакокинетический профиль, позволяющий визуализировать ПСМА+ поражения в течение 3 ч после введения	Высокое накопление в почках и почечная экскреция могут затруднять интерпретацию изображений. Более низкая чувствительность визуализации метастазов по сравнению с ⁶⁸ Ga-PSMA-II

которая показала высокое поглощение ^{99m}Tc -PSMA I&S всеми подозрительными поражениями, идентифицированными ранее с помощью ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -PSMA-11. Проведенное спустя 16 ч после инъекции хирургическое вмешательство с интраоперационным радиологическим контролем позволило успешно обнаружить метастазы и провести их резекцию [24].

В работе [41] были ретроспективно проанализированы результаты ПСМА-радионавигационной хирургии с ^{99m}Tc -PSMA I&S у 31 пациента с признаками рецидивирующего РПЖ после радикальной простатэктомии и метастатическими поражениями мягких тканей, ранее выявленными с помощью ^{68}Ga -PSMA-11. Средняя введенная активность составила 571 МБк, среднее время до операции — 19,7 ч. Было обнаружено, что ^{99m}Tc -PSMA I&S правильно идентифицировал и облегчал хирургическое удаление метастазов в диапазоне размеров от 3 до 25 мм. Более того, у двух пациентов ^{99m}Tc -PSMA I&S обнаружил метастазы размером до 3 мм, которые не были визуализированы с помощью предоперационной ПЭТ с ^{68}Ga -PSMA-11. По результатам проведенных исследований чувствительность метода составила 83,6%, специфичность — 100% и точность — 93,0% [41].

Недавно M. Mix et al. [42] продемонстрировали высокую диагностическую эффективность ^{99m}Tc -PSMA I&S *ex situ* для различения лимфатических узлов с опухолью и без нее при проведении радионавигационной хирургии (чувствительность — 76,6%, специфичность — 94,4%). Кроме того, было показано, что радионавигационная хирургия с ^{99m}Tc -PSMA I&S тормозит прогрессирование заболевания у пациентов с рецидивом РПЖ после радикальной простатэктомии, причем у пациентов с единичным очагом рецидива и низким предоперационным уровнем ПСА отмечалась более длительная биохимическая безрецидивная выживаемость [43].

^{99m}Tc -PSMA I&S также может быть полезен для ОФЭКТ-визуализации РПЖ на различных клинических стадиях. В исследовании, включавшем 210 пациентов с РПЖ, чувствительность ОФЭКТ с ^{99m}Tc -PSMA I&S у пациентов с биохимическим рецидивом и низкими уровнями ПСА (< 4 нг/мл) была существенно ниже по сравнению с ПЭТ-визуализацией с ^{68}Ga -PSMA-11 [44]. Однако при уровнях ПСА > 4 нг/мл и 10 нг/мл частота выявления ПСМА-положительных опухолевых очагов с ^{99m}Tc -PSMA I&S составила 82,9 и 100% соответственно. ОФЭКТ с ^{99m}Tc -PSMA I&S также может быть полезным для первичного или повторного стадирования распространенного рецидивирующего РПЖ [44]. Тем не менее полученные результаты требуют более систематического анализа для дальнейшей оценки диагностической эффективности ^{99m}Tc -PSMA I&S при РПЖ.

В сравнительном исследовании, включавшем 28 пациентов с РПЖ, ПЭТ/КТ-визуализация с ^{68}Ga -PSMA-11 позволила обнаружить опухолевые очаги у 25 пациентов (89,2%), в то время как в случае ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -PSMA I&S поражения выявлены только у 20 больных (71,4%) [45]. Было показано, что ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -PSMA I&S обладает такой же чувствительностью, как ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -PSMA-11, при обнаружении метастазов в лимфатических узлах и костях, но меньшей чувствительностью при обнаружении поражений в области ложа предстательной железы. Более того, статистически значимой разницы в чувствительности методов при обнаружении опухолевых очагов у пациентов с уровнем ПСА > 0,5 нг/мл выявлено не было [45].

Дозиметрические исследования ^{99m}Tc -PSMA I&S, проведенные в рамках одноцентрового исследования, показали, что эффективные дозы для ^{99m}Tc -PSMA I&S сопоставимы с таковыми для других РФЛП с ^{99m}Tc и существенно ниже, чем формируемые при введении ^{99m}Tc -MIP-1404, а также ингибиторов ПСМА, меченных ^{68}Ga или ^{18}F (^{99m}Tc -PSMA I&S — 0,0052 мЗв/МБк; ^{99m}Tc -MIP-1404 — 0,0088; ^{68}Ga -PSMA-11 — 0,0236; ^{18}F -PSMA-1007 — 0,022 мЗв/МБк) [46].

Следующим РФЛП, находящимся на стадии клинических исследований, является ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA (см. табл. 2). Первые исследования, проводимые на здоровых людях, показали высокую стабильность ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA в крови, специфическое распознавание ПСМА, высокое поглощение препарата опухолью и быструю элиминацию из крови через почки [27]. Дальнейшие исследования оценивали биокинетiku и дозиметрию ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA у 8 здоровых людей, а также его эффективность в качестве радиоиндикатора ОФЭКТ у 8 пациентов с гистологически подтвержденным РПЖ [47]. ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA характеризовался более быстрым выведением из организма, а также более низкой поглощенной дозой, которая составила 3,42 мЗв / 740 МБк, по сравнению с ^{99m}Tc -MIP-1404 (6,5 мЗв / 740 МБк) и ^{99m}Tc -MIP-1405 (5,82 мЗв / 740 МБк). У всех пациентов отношение опухоль/фон было достаточно высоким: в среднем — $8,99 \pm 3,27$ через 3 ч, что выше, чем для ^{99m}Tc -MIP-1404 (диапазон — 3,8–6,2) [47].

Еще одно клиническое исследование было проведено на 14 пациентах с гистологически подтвержденным РПЖ для оценки чувствительности ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA и ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -PSMA-11 [48]. Всего на ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -PSMA-11 было обнаружено 46 поражений, локализованных в предстательной железе ($n = 10$), лимфатических узлах ($n = 24$) и костях ($n = 12$). Из них ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA выявил 36 опухолевых очагов: предстательная железа — 10/10 (100%), лимфатические узлы — 15/24 (62,5%) и кости — 11/12 (91,7%) с общей чувствительностью 78,3%. Поражения, обнаруженные на ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA, были больше по размеру ($p < 0,001$) и имели более высокий SUV_{max} ($p < 0,001$) по данным ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -PSMA-11 по сравнению с теми поражениями, которые не были визуализированы. Так, ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA обнаружил все лимфатические узлы размером более 10 мм, но лишь 28% узлов размером менее 10 мм [48]. Однако в другом исследовании [49], целью которого являлось качественное и полуколичественное сравнение ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA и ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -PSMA-11 у 23 пациентов с РПЖ и метастазами в кости и лимфоузлы, не было выявлено статистически значимых различий в обнаружении опухолевых поражений между методами. Практически одинаковыми были значения поглощения ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA и ^{68}Ga -PSMA-11 в лимфатических узлах, хотя их размер варьировал от 5 до 21 мм [49]. В работе [50] чувствительность обнаружения метастатических поражений методами ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA и ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -PSMA-11 была практически одинаковой, но ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -PSMA-11 позволила визуализировать больше поражений в области ложа предстательной железы.

Проведение ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA также сравнивали с ^{99m}Tc -MDP в исследовании с участием 41 пациента с гистологически подтвержден-

ным РПЖ для оценки чувствительности обнаружения костных метастазов [51]. Результаты этого предварительного исследования не показали существенных различий между двумя РФЛП в обнаружении костных метастазов, однако ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA продемонстрировал дополнительное преимущество, позволив визуализировать метастазы в лимфатических узлах и рецидив опухоли после радикальной простатэктомии у ряда пациентов.

В недавнем исследовании [52] оценивали возможности ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA для диагностики неоваскуляризации при метастазах в головной мозг и глиомах высокой степени злокачественности. Было отмечено низкое накопление ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA опухолевыми клетками глиом низкой степени злокачественности из-за минимальной экспрессии ПСМА этой тканью. Напротив, повышенное поглощение РФЛП наблюдалось в метастазах головного мозга, в рецидивирующих глиомах и глиомах высокой степени злокачественности из-за сверхэкспрессии ПСМА в эндотелии сосудов этих опухолей. Это позволяет рассматривать ^{99m}Tc -EDDA/HYNIC-iPSMA как потенциальный нейровизуализирующий агент для оценки формирования сосудов опухоли при глиомах и метастазах в головной мозг.

Первое ретроспективное клиническое исследование ^{99m}Tc -HYNIC-ALUG с участием 208 пациентов позволило установить корреляцию между концентрацией ПСМА и чувствительностью ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -HYNIC-ALUG в обнаружении рецидивов РПЖ после радикальной простатэктомии [53] (см. табл. 2). ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -HYNIC-ALUG выявила рецидив заболевания у 151 из 208 пациентов (72,6%), причем для эффективного обнаружения уровень ПСА должен быть выше 1,30 нг/мл. В другом исследовании [54] было показано, что ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -HYNIC-ALUG может идентифицировать больше метастатических поражений и обеспечивает более высокую скорость их обнаружения, чем другие методы визуализации при различных уровнях ПСА у пациентов с РПЖ и биохимическим рецидивом. Так, чувствительность ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -HYNIC-ALUG в обнаружении метастазов составила 78,0%, в то время как при сканировании костей или МРТ эти величины составили 34,0 и 40,0% соответственно [54].

Недавно были проведены исследования ^{99m}Tc -HYNIC-ALUG в качестве радиотрейсера для радионавигационной хирургии [55], а также прогнозирования раннего ответа на лечение после лучевой терапии ионами углерода при РПЖ [56], продемонстрировав положительные результаты в обоих случаях.

Еще одним ингибитором ПСМА, участвующим в клинических исследованиях, является ^{99m}Tc -PSMA-T4 — новый радиофармацевтический лекарственный препарат, разработанный в Польше (см. табл. 2). По результатам пилотного клинического исследования у 31 пациента с РПЖ чувствительность/специфичность ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -PSMA-T4 (310–540 МБк) составили: 92/100% — при первичном РПЖ; 83/100% — при поражении тазовых лимфатических узлов; 100/95% — при поражении других лимфатических узлов и мягких тканей; 100/100% — при обнаружении костных метастазов [57].

В другом исследовании S. Sergieva et al. [58] оценили возможность клинического использования ОФЭКТ-КТ с ^{99m}Tc -PSMA-T4 у 36 пациентов с биохимическим рецидивом РПЖ (уровень ПСА — от 0,12 до 73 нг/мл). Чувствительность, специфичность и точность метода составили 84,37; 100 и 86,11% соответственно. Кроме того, авторы показали, что ^{99m}Tc -PSMA-T4 можно использо-

вать для диагностики рецидива РПЖ и определения тактики лечения для каждого пациента, если уровень ПСА выше 0,5 нг/мл [58].

B. Singh et al. [59] сравнили эффективность ОФЭКТ-КТ с ^{99m}Tc -PSMA-T4 и ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -PSMA-11 при выявлении метастазов РПЖ. ПЭТ/КТ с ^{68}Ga -PSMA-11 позволила визуализировать 112 опухолевых поражений у всех 10 пациентов, тогда как визуализация с ^{99m}Tc -PSMA-T4 обнаруживала лишь 57 поражений (51%) у 9 из 10 пациентов. Однако при использовании региональной ОФЭКТ/КТ с ^{99m}Tc -PSMA-T4 чувствительность метода увеличилась до 61,0%.

Заключение

В последние годы разработка радиофармацевтических препаратов, нацеленных на ПСМА, является одним из наиболее активных и динамично развивающихся направлений радиофармацевтических исследований. Широкое распространение радионуклида ^{99m}Tc в диагностической ядерной медицине и большая доступность ОФЭКТ по сравнению с ПЭТ делают разработку препаратов, меченных ^{99m}Tc , крайне перспективной для диагностики РПЖ. Кроме того, последние достижения в технологиях детекторов и алгоритмах реконструкции изображений ясно показали, что пространственное разрешение ОФЭКТ приближается к разрешению ПЭТ без сопутствующего снижения чувствительности.

Меченные ^{99m}Tc низкомолекулярные ингибиторы ПСМА на основе производных мочевины демонстрируют высокий диагностический потенциал для визуализации первичного или рецидивирующего РПЖ, а также метастазов, особенно при высоких концентрациях ПСА. Однако необходимо проведение более подробных клинических исследований с участием большего числа пациентов, что позволит определить показания к применению ОФЭКТ с мечеными ^{99m}Tc радиофармацевтическими лекарственными препаратами для максимально эффективной визуализации ПСМА-специфичных опухолевых поражений. Наконец, ПСМА-радионавигационная хирургия с использованием ингибиторов ПСМА, меченных ^{99m}Tc , является весьма привлекательной, но недостаточно изученной методикой, позволяющей обнаруживать метастазы в лимфатические узлы с высокой точностью.

Таким образом, вышеизложенные соображения дают основания считать, что роль ПСМА-специфичных радиофармацевтических лекарственных препаратов с ^{99m}Tc в ядерной медицине, в частности диагностике РПЖ, будет только возрастать.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках выполнения в ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России государственного задания (2021–2023 гг.) на тему: «Проведение доклинических исследований безопасности и диагностической ОФЭКТ эффективности разработанного РФЛП на основе ПСМА-специфического лиганда, меченого радионуклидом ^{99m}Tc ».

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

Участие авторов. В.К. Тищенко — анализ источников литературы, сбор и обработка материала, подготовка рукописи статьи, оформление материала; В.М. Петричев — анализ источников литературы, сбор и обработка материала, проверка и редактирование научной части текста, написание заключения; О.П. Власова — анализ источников литературы, сбор и обработка материала; А.А. Панкратов — проверка и редактирование научной части текста, написание заключения; Н.Б. Морозова — анализ источников литературы, сбор и обработка материала; П.В. Шегай — концепция написания статьи, вне-

сение замечаний и предложений клинического характера в области онкоурологии, согласование конечного текста; С.А. Иванов — концепция написания статьи, внесение замечаний и предложений клинического характера в области онкоурологии, согласование конечного текста; А.Д. Каприн — концепция написания статьи, внесение замечаний и предложений клинического характера в области онкоурологии, согласование конечного текста. Все авторы внесли значимый вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию текста перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА

- Global Cancer Observatory. Available from: <https://gco.iarc.fr> (accessed: 12.04.2022).
- Состояние онкологической помощи населению России в 2020 году / под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. — М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. — 239 с. [Sostoyanie onkologicheskoy pomoshchi naseleniyu Rossii v 2020 godu / pod red. AD Kaprina, VV Starinskogo, AO Shahzadovoj. Moscow: MNIOI im. P.A. Gercena — filial FGBU “NMIC radiologii” Minzdrava Rossii; 2021. 239 s. (In Russ.)]
- Mottet N, van den Bergh RCN, Briers E, et al. EAU-EANM-ESTRO-ESUR-SIOG Guidelines on Prostate Cancer-2020 Update. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *Eur Urol.* 2021;79(2):243–262. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.09.042>
- Xu X, Zhang J, Hu S, et al. ^{99m}Tc-labeling and evaluation of a HYNIC modified small-molecular inhibitor of prostate-specific membrane antigen. *Nucl Med Biol.* 2017;48:69–75. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2017.01.010>
- Walker SM, Lim I, Lindenberg L, et al. Positron emission tomography (PET) radiotracers for prostate cancer imaging. *Abdom Radiol (NY).* 2020;45(7):2165–2175. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms23095023>
- Stott Reynolds TJ, Smith CJ, Lewis MR. Peptide-Based Radiopharmaceuticals for Molecular Imaging of Prostate Cancer. *Adv Exp Med Biol.* 2018;1096:135–158. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-99286-0_8
- Kuppermann D, Calais J, Marks LS. Imaging Prostate Cancer: Clinical Utility of Prostate-Specific Membrane Antigen. *J Urol.* 2022; 207(4):769–778. doi: <https://doi.org/10.1097/JU.0000000000002457>
- Леонтьев А.В., Халимон А.И., Кулиев М.Т., и др. Современные возможности применения радиофармпрепаратов на основе лигандов к простатспецифическому мембранному антигену, меченных ^{99m}Tc, при раке предстательной железы // *Онкоурология.* — 2021. — Т. 17. — № 4. — С. 136–150. [Leontyev AV, Khalimon AI, Kuliev MT, et al. Modern possibilities of application ^{99m}Tc-labeled prostate-specific membrane antigen ligands in prostate cancer. *Onkourologiya = Cancer Urology.* 2021;17(4):136–150. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2021-17-4-136-150>
- Duatti A. Review on ^{99m}Tc radiopharmaceuticals with emphasis on new advancements. *Nucl Med Biol.* 2021;92:202–216. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2020.05.005>
- Gourni E, Henriksen G. Metal-Based PSMA Radioligands. *Molecules.* 2017;22(4):523. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules22040523>
- Brunello S., Salvarese N, Carpanese D, et al. A Review on the Current State and Future Perspectives of [^{99m}Tc]Tc-Housed PSMA-i in Prostate Cancer. *Molecules.* 2022;27(9):2617. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27092617>
- Czerwińska M, Bilewicz A, Kruszewski M, et al. Targeted Radionuclide Therapy of Prostate Cancer — From Basic Research to Clinical Perspectives. *Molecules.* 2020;25(7):1743. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25071743>
- Mattias J, Engelhardt J, Schäfer M, et al. Cytoplasmic Localization of Prostate-Specific Membrane Antigen Inhibitors May Confer Advantages for Targeted Cancer Therapies. *Cancer Res.* 2021;81(8):2234–2245. doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-20-1624>
- Kopka K, Benešova M, Barinka C, et al. Glu-Ureido-Based Inhibitors of Prostate-Specific Membrane Antigen: Lessons Learned During the Development of a Novel Class of Low-Molecular-Weight Theranostic Radiotracers. *J Nucl Med.* 2017;58(Suppl 2):17S–26S. doi: <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.186775>
- Марук А.Я., Брускин А.Б., Кодина Г.Е. Новые радиофармпрепараты на основе ^{99m}Tc с применением бифункциональных хелатирующих агентов // *Радиохимия.* — 2011. — Т. 53. — № 4. — С. 289–300. [Maruk AY, Bruskin AB, Kodina GE. Novel ^{99m}Tc radiopharmaceuticals with bifunctional chelating agents. *Radiochemistry.* 2011;53(4):341–353. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.1134/S1066362211040011>
- Banerjee SR, Foss CA, Castanares M, et al. Synthesis and Evaluation of Technetium-99m- and Rhenium-Labeled Inhibitors of the Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA). *J Med Chem.* 2008;51(15):4504–4517. doi: <https://doi.org/10.1021/jm800111u>
- Banerjee SR, Pullambhatla M, Foss CA, et al. Effect of Chelators on the Pharmacokinetics of ^{99m}Tc-Labeled Imaging Agents for the Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA). *J Med Chem.* 2013;56(15):6108–6121. doi: <https://doi.org/10.1021/jm400823w>
- Lu G, Maresca KP, Hillier SM, et al. Synthesis and SAR of ^{99m}Tc/Re-Labeled Small Molecule Prostate Specific Membrane Antigen Inhibitors with Novel Polar Chelates. *Bioorg Med Chem Lett.* 2013;23(5):1557–1563. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.09.014>
- Hillier SM, Maresca KP, Lu G, et al. ^{99m}Tc-Labeled Small-Molecule Inhibitors of Prostate-Specific Membrane Antigen for Molecular Imaging of Prostate Cancer. *J Nucl Med.* 2013;54(8):1369–1376. doi: <https://doi.org/10.2967/jnumed.112.116624>
- Kimura H, Sampei S, Matsuoka D, et al. Development of ^{99m}Tc-labeled asymmetric urea derivatives that target prostate-specific membrane antigen for single-photon emission computed tomography imaging. *Bioorg Med Chem.* 2016;24(10):2251–2256. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.03.051>
- Lodhi NA, Park JY, Kim K, et al. Synthesis and Evaluation of ^{99m}Tc-Tricarbonyl Labeled Isonitrile Conjugates for Prostate-Specific Membrane Antigen (PSMA) Image. *Inorganics.* 2020;8(1):5. doi: <https://doi.org/10.3390/inorganics8010005>
- Xiao D, Duan X, Gan Q, et al. Preparation and Biological Evaluation of [^{99m}Tc]Tc-CNGU as a PSMA-Targeted Radiotracer for the Imaging of Prostate Cancer. *Molecules.* 2020;25(23):5548. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25235548>
- Kularatne SA, Zhou Z, Yang J, et al. Design, Synthesis, and Pre-clinical Evaluation of Prostate-Specific Membrane Antigen Targeted ^{99m}Tc-Radioimaging Agents. *Mol Pharm.* 2009;6(3):790–800. doi: <https://doi.org/10.1021/mp9000712>
- Robu S, Schottelius M, Eiber M, et al. Preclinical Evaluation and First Patient Application of ^{99m}Tc-PSMA-I&S for SPECT Im-

- ging and Radioguided Surgery in Prostate Cancer. *J Nucl Med.* 2017;58(2):235–242. doi: <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.178939>
25. Rauscher I, Duwel C, Wirtz M, et al. Value of ¹¹¹In-prostate-specific membrane antigen (PSMA)-radioguided surgery for salvage lymphadenectomy in recurrent prostate cancer: Correlation with histopathology and clinical follow-up. *BJU Int.* 2017;120(1):40–47. doi: <https://doi.org/10.1111/bju.13713>
 26. Jilg CA, Reichel K, Stoykow C, et al. Results from extended lymphadenectomies with [¹¹¹In]PSMA-617 for intraoperative detection of PSMA-PET/CT-positive nodal metastatic prostate cancer. *EJNMMI Res.* 2020;10(1):17. doi: <https://doi.org/10.1186/s13550-020-0598-2>
 27. Ferro-Flores G, Luna-Gutierrez M, Ocampo-Garcia B, et al. Clinical translation of a PSMA inhibitor for ^{99m}Tc-based SPECT. *Nucl Med Biol.* 2017;48:36–44. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2017.01.012>
 28. Mosayebnia M, Hajimahdi Z, Beiki D, et al. Design, Synthesis, Radiolabeling and Biological Evaluation of New Urea-Based Peptides Targeting Prostate Specific Membrane Antigen. *Bioorg Chem.* 2020;99:103743. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103743>
 29. Sikora AE, Maurin M, Jaron AW, et al. PSMA Inhibitor Derivatives for Labelling with ^{99m}Tc via HYNIC, a Radiopharmaceutical Kit, Radiopharmaceutical Preparations and Their Use in Prostate Cancer Diagnostics. Bulletin Number EP3721907A1. European Patent; 2020.
 30. Vats K, Agrawal K, Sharma R, et al. Preparation and clinical translation of ^{99m}Tc-PSMA-11 for SPECT imaging of prostate cancer. *Medchem-comm.* 2019;10(12):2111–2117. doi: <https://doi.org/10.1039/c9md00401g>
 31. Vallabhajosula S, Nikolopoulou A, Babich JW, et al. ^{99m}Tc-labeled small-molecule inhibitors of prostate-specific membrane antigen: pharmacokinetics and biodistribution studies in healthy subjects and patients with metastatic prostate cancer. *J Nucl Med.* 2014;55(11):1791–1798. doi: <https://doi.org/10.2967/jnumed.114.140426>
 32. Goffin KE, Joniau S, Tenke P, et al. Phase 2 study of ^{99m}Tc-Trofolostat SPECT/CT to identify and localize prostate cancer in intermediate- and high-risk patients undergoing radical prostatectomy and extended pelvic LN dissection. *J Nucl Med.* 2017;58(9):1408–1413. doi: <https://doi.org/10.2967/jnumed.116.187807>
 33. Schmidkonz C, Cordes M, Beck M, et al. SPECT/CT with the PSMA Ligand ^{99m}Tc-MIP-1404 for Whole-Body Primary Staging of Patients With Prostate Cancer. *Clin Nucl Med.* 2018;43(4):225–231. doi: <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000001991>
 34. Schmidkonz C, Atzinger A, Goetz TI, et al. ^{99m}Tc-MIP-1404 SPECT/CT for Patients with Metastatic Prostate Cancer: Interobserver and Intraobserver Variability in Treatment-Related Longitudinal Tracer Uptake Assessments of Prostate-Specific Membrane Antigen-Positive Lesions. *Clin Nucl Med.* 2020;45(2):105–112. doi: <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000002880>
 35. Schmidkonz C, Hollweg C, Beck M, et al. ^{99m}Tc-MIP-1404-SPECT/CT for the Detection of PSMA-Positive Lesions in 225 Patients with Biochemical Recurrence of Prostate Cancer. *Prostate.* 2018;78(1):54–63. doi: <https://doi.org/10.1002/pros.23444>
 36. Reinfelder J, Kuwert T, Beck M, et al. First Experience with SPECT/CT Using a ^{99m}Tc-Labeled Inhibitor for Prostate-Specific Membrane Antigen in Patients with Biochemical Recurrence of Prostate Cancer. *Clin Nucl Med.* 2017;42(1):26–33. doi: <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000001433>
 37. Schmidkonz C, Götz TI, Atzinger A, et al. ^{99m}Tc-MIP-1404 SPECT/CT for Assessment of Whole-Body Tumor Burden and Treatment Response in Patients with Biochemical Recurrence of Prostate Cancer. *Clin Nucl Med.* 2020;45(8):e349–e357. doi: <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000003102>
 38. Schmidkonz C, Goetz TI, Kuwert T, et al. PSMA SPECT/CT with ^{99m}Tc-MIP-1404 in Biochemical Recurrence of Prostate Cancer: Predictive Factors and Efficacy for the Detection of PSMA-Positive Lesions at Low and Very-Low PSA Levels. *Ann Nucl Med.* 2019;33(12):891–898. doi: <https://doi.org/10.1007/s12149-019-01400-6>
 39. Schmidkonz C, Cordes M, Beck M, et al. Assessment of Treatment Response by ^{99m}Tc-MIP-1404 SPECT/CT: A Pilot Study in Patients with Metastatic Prostate Cancer. *Clin Nucl Med.* 2018;43(8):e250–e258. doi: <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000002162>
 40. Ellis WJ, Donnelly BJ, Gorin MA, et al. PD60-11 phase 3 study to evaluate the safety and efficacy of ^{99m}Tc-MIP-1404 SPECT/CT imaging to detect clinically significant prostate cancer in men with biopsy proven low grade prostate cancer who are candidates for active surveillance (PROSPECT-AS). *J Urol.* 2019;201(Suppl4):e1100. doi: <https://doi.org/10.1097/01.JU.0000557222.99762.6b>
 41. Maurer T, Robu S, Schottelius M, et al. ^{99m}Technetium-based Prostate-specific Membrane Antigen-radioguided Surgery in Recurrent Prostate Cancer. *Eur Urol.* 2019;75(4):659–666. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2018.03.013>
 42. Mix M, Schultze-Seemann W, von Büren M, et al. ^{99m}Tc-Labelled PSMA Ligand for Radio-Guided Surgery in Nodal Metastatic Prostate Cancer: Proof of Principle. *EJNMMI Res.* 2021;11(1):22. doi: <https://doi.org/10.1186/s13550-021-00762-1>
 43. Horn T, Kronke M, Rauscher I, et al. Single Lesion on Prostate-specific Membrane Antigen-ligand Positron Emission Tomography and Low Prostate-specific Antigen Are Prognostic Factors for a Favorable Biochemical Response to Prostate-specific Membrane Antigen-targeted Radioguided Surgery in Recurrent Prostate Cancer. *Eur Urol.* 2019;76(4):517–523. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.03.045>
 44. Werner P, Neumann C, Eiber M, et al. [^{99m}Tc]Tc-PSMA-I&S-SPECT/CT: Experience in prostate cancer imaging in an outpatient center. *EJNMMI Res.* 2020;10(1):45. doi: <https://doi.org/10.1186/s13550-020-00635-z>
 45. Albaloooshi B, Al Sharhan M, Bagheri F, et al. Direct Comparison of ^{99m}Tc-PSMA SPECT/CT and ⁶⁸Ga-PSMA PET/CT in Patients with Prostate Cancer. *Asia Ocean J Nucl Med Biol.* 2020;8(1):1–7. doi: <https://doi.org/10.22038/aojnmb.2019.43943.1293>
 46. Urbán S, Meyer C, Dahlbom M, et al. Radiation Dosimetry of ^{99m}Tc-PSMA I&S: A Single-Center Prospective Study. *J Nucl Med.* 2021;62(8):1075–1081. doi: <https://doi.org/10.2967/jnumed.120.253476>
 47. Santos-Cuevas C, Davanzo J, Ferro-Flores G, et al. ^{99m}Tc-labeled PSMA inhibitor: Biokinetics and radiation dosimetry in healthy subjects and imaging of prostate cancer tumors in patients. *Nucl Med Biol.* 2017;52:1–6. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2017.05.005>
 48. Lawal IO, Ankrah AO, Mokgoro NP, et al. Diagnostic sensitivity of Tc-99m HYNIC PSMA SPECT/CT in prostate carcinoma: a comparative analysis with Ga-68 PSMA PET/CT. *Prostate.* 2017;77(11):1205–1212. doi: <https://doi.org/10.1002/pros.23379>
 49. García-Pérez FO, Davanzo J, López-Buenrostro S, et al. Head to Head Comparison Performance of ^{99m}Tc-EDDA/HYNIC-IPPSMA SPECT/CT and ⁶⁸Ga-PSMA-11 PET/CT a Prospective Study in Biochemical Recurrence Prostate Cancer Patients. *Am J Nucl Med Mol Imaging.* 2018;8(5):332–340.
 50. Fallahi B, Khademi N, Karamzade-Ziarati N, et al. ^{99m}Tc-PSMA SPECT/CT Versus ⁶⁸Ga-PSMA PET/CT in the Evaluation of Metastatic Prostate Cancer. *Clin Nucl Med.* 2021;46(2):e68–e74. doi: <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000003410>
 51. Kabunda J, Gabela L, Kalinda C, et al. Comparing ^{99m}Tc-PSMA to ^{99m}Tc-MDP in Prostate Cancer Staging of the Skeletal System. *Clin Nucl Med.* 2021;46(7):562–568. doi: <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000003702>
 52. Vallejo-Armenta P, Soto-Andonaegui J, Villanueva-Pérez RM, et al. [^{99m}Tc]Tc-IPPSMA SPECT Brain Imaging as a Potential Specific Diagnosis of Metastatic Brain Tumors and High-Grade Gliomas. *Nucl Med Biol.* 2021;96–97:1–8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2021.02.003>
 53. Liu C, Zhu Y, Su H, et al. Relationship between PSA Kinetics and Tc-99m HYNIC PSMA SPECT/CT Detection Rates of Biochemical Recurrence in Patients with Prostate Cancer after Radical Prostatectomy. *Prostate.* 2018;78(16):1215–1221. doi: <https://doi.org/10.1002/pros.23696>

54. Su HC, Zhu Y, Ling GW, et al. Evaluation of ^{99m}Tc -Labeled PSMA-SPECT/CT Imaging in Prostate Cancer Patients Who Have Undergone Biochemical Relapse. *Asian J Androl.* 2017;19(3):267–271. doi: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.192638>
55. Su H, Zhu Y, Hu S, et al. The Value of ^{99m}Tc -PSMA SPECT/CT-Guided Surgery for Identifying and Locating Lymph Node Metastasis in Prostate Cancer Patients. *Ann Surg Oncol.* 2019;26(2):653–659. doi: <https://doi.org/10.1245/s10434-018-6805-y>
56. Li P, Liu C, Wu S, et al. Combination of ^{99m}Tc -Labeled PSMA-SPECT/CT and Diffusion-Weighted MRI in the Prediction of Early Response after Carbon Ion Therapy in Prostate Cancer: A Non-Randomized Prospective Pilot Study. *Cancer Manag Res.* 2021;13:2191–2199. doi: <https://doi.org/10.2147/CMAR.S285167>
57. Ćwikła JB, Roslan M, Skoneczna I, et al. Initial Experience of Clinical Use of [^{99m}Tc]Tc-PSMA-T4 in Patients with Prostate Cancer. A Pilot Study. *Pharmaceuticals (Basel).* 2021;14(11):1107. doi: <https://doi.org/10.3390/ph14111107>
58. Sergieva S, Mangalgiev R, Dimcheva M, et al. SPECT-CT Imaging with [^{99m}Tc]PSMA-T4 in Patients with Recurrent Prostate Cancer. *Nucl Med Rev Cent East Eur.* 2021;24(2):70–81. doi: <https://doi.org/10.5603/NMR.2021.0018>
59. Singh B, Sharma S, Bansal P, et al. Comparison of the Diagnostic Utility of ^{99m}Tc -PSMA Scintigraphy versus ^{68}Ga -PSMA-11 PET/CT in the Detection of Metastatic Prostate Cancer and Dosimetry Analysis: A Gamma-Camera-Based Alternate Prostate-Specific Membrane Antigen Imaging Modality. *Nucl Med Commun.* 2021;42(5):482–489. doi: <https://doi.org/10.1097/MNM.0000000000001361>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Власова Оксана Петровна, к.б.н. [*Oksana P. Vlasova*, PhD in Biology]; адрес: 249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, д. 4 [address: 4, Korolyova str., 249036, Obninsk, Kaluga Region, Russia]; e-mail: somina@inbox.ru, SPIN-код: 2554-3985, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5170-9595>

Тищенко Виктория Константиновна, д.б.н. [*Viktoriia K. Tishchenko*, PhD in Biology]; e-mail: vikshir82@mail.ru, SPIN-код: 2724-0930, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8983-5976>

Петриев Василий Михайлович, д.б.н. [*Vasily M. Petriev*, PhD in Biology]; e-mail: petriev@mrrc.obninsk.ru, SPIN-код: 3769-6210, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0231-2177>

Панкратов Андрей Александрович, к.б.н. [*Andrei A. Pankratov*, PhD in Biology]; e-mail: andreimnioi@yandex.ru, SPIN-код: 5463-3790, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7291-9743>

Морозова Наталья Борисовна, к.б.н. [*Natalia B. Morozova*, PhD in Biology]; e-mail: n.b.morozova@yandex.ru, SPIN-код: 1286-6518, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7159-805X>

Шегай Петр Викторович, к.м.н. [*Petr V. Shegai*, MD, PhD]; e-mail: dr.shegai@mail.ru, SPIN-код: 6849-3221, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8901-4596>

Иванов Сергей Анатольевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН [*Sergei A. Ivanov*, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the RAS]; e-mail: oncourolog@gmail.com, SPIN-код: 4264-5167, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7689-6032>

Каприн Андрей Дмитриевич, д.м.н., профессор, академик РАН [*Andrei D. Kaprin*, MD, PhD, Professor, Academician of the RAS]; e-mail: kaprin@mail.ru, SPIN-код: 1759-8101, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

О.О. Янушевич, В.Н. Царев, Е.Н. Николаева,
И.П. Балмасова, Е.В. Ипполитов, Т.В. Царева,
М.С. Подпорин, А.Г. Пономарева

Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова,
Москва, Российская Федерация

Первый отечественный опыт выявления ассоциации анаэробных бактерий *Filifactor alocis* и *Porphyromonas gingivalis* молекулярно-биологическими методами при заболеваниях пародонта и коморбидной патологии (сравнительное исследование)

Обоснование. Повсеместное глобальное увеличение заболеваемости пародонитом и роль его возбудителей в коморбидной патологии и системных осложнениях определяют необходимость создания новых молекулярно-генетических систем для диагностики и использования методов метагеномного и биоинформационного анализа. **Цель исследования** — применение методов микробиологической генодиагностики и биоинформационного анализа для доказательства этиологической и прогностической роли ключевых пародонтопатогенов *Filifactor alocis* и *Porphyromonas gingivalis*, характеризующих степень прогрессирования хронического пародонита и его ассоциации с системным патологическим процессом (сахарным диабетом 2 типа). **Методы.** Сравнительная оценка выявления ключевых пародонтопатогенных видов *P. gingivalis* и *F. alocis* у пациентов с хроническим пародонитом в возрасте от 35 до 65 лет (84 человека) с использованием ранее патентованной системы олигонуклеотидных праймеров у пациентов в четырех группах сравнения, различающихся по степени прогрессирования. У 69 пациентов (в том числе у 38 — с сахарным диабетом 2 типа, гликированный гемоглобин — более 6,0%) проводили 16S секвенирование и биоинформационный анализ. **Результаты.** Установлена более высокая частота выявления пародонтопатогенов у пациентов с выраженной тенденцией к прогрессированию (93 и 100% соответственно). Одновременное наличие *P. gingivalis* и *F. alocis* при хроническом пародоните степени В было отмечено в 20% случаев, а у степени С — в 93% случаев. Однако у здоровых одновременное наличие обоих пародонтопатогенов не отмечено. **Заключение.** Предложенный метод может быть использован для эффективного определения степени прогрессирования пародонита на основе определения олигонуклеотидных праймеров *P. gingivalis* и *F. alocis*, включая коморбидную патологию — пародонит и сахарный диабет 2 типа.

437

Ключевые слова: пародонит, сахарный диабет 2 типа, ПЦР, *P. gingivalis*, *F. alocis*, 16S секвенирование, биоинформационный анализ

Для цитирования: Янушевич О.О., Царев В.Н., Николаева Е.Н., Балмасова И.П., Ипполитов Е.В., Царева Т.В., Подпорин М.С., Пономарева А.Г. Первый отечественный опыт выявления ассоциации анаэробных бактерий *Filifactor alocis* и *Porphyromonas gingivalis* молекулярно-биологическими методами при заболеваниях пародонта и коморбидной патологии (сравнительное исследование). Вестник РАМН. 2022;77(6):437–446. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2262>

Обоснование

Воспалительные заболевания пародонта представляют собой наиболее часто встречающуюся патологию: генерализованный пародонит — тяжелое поражение десен и подлежащих тканей пародонта, которое является шестым по распространенности заболеванием во всем мире среди взрослого работоспособного населения и вторым — среди патологий рта и челюстно-лицевой области после кариеса зубов [1]. Болезни пародонта имеют сложный этиопатогенез и возникают в результате сочетания целого ряда факторов, приводящих к разрушению пародонта, необратимой резорбции костной ткани и потере зубов [2]. Социально-медицинское значение проблемы заболеваний пародонта в последние годы значительно возросло, в том числе из-за увеличившейся частоты локализованного агрессивного пародонита, развивающегося в молодом возрасте. Проблема пародонита активно обсуждается на различных конгрессах, проводимых под эгидой ВОЗ, в связи с признанием того факта, что микробное поражение пародонта тесно связано с рядом системных заболе-

ваний и, возможно, играет важную роль в возникновении коморбидной патологии через иммуно-опосредованные механизмы патогенеза [3–5].

Вопрос о роли отдельных видов, входящих в состав орального микробиома, в развитии патологии рта, системном воспалении и возникновении осложнений (сердечно-сосудистой системы, сахарного диабета 2 типа, ревматоидного артрита) активно обсуждается на протяжении последних десятилетий как в зарубежной [3, 4], так и отечественной литературе [5–7]. Возникающие дискуссии связаны в первую очередь с тем, что данная группа вероятных возбудителей относится к облигатно-анаэробным и труднокультивируемым видам, которые сложны для выявления традиционными методами, а также существующими подходами к классификации [7–9].

Первоначально S.S. Socransky et al. в 1998 г. была предложена классификация, основанная на изучении степени частоты определения представителей микробиоты в очаге воспаления — выделены соответственно «красный», «оранжевый» (наиболее агрессивные) и другие комплексы (в большей степени представляющие нормальную

и транзиторную микрофлору — «желтый», «зеленый», «фиолетовый»). В частности, к «красному» комплексу отнесены *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* (по старой номенклатуре — *Bacteroides forsythus*), а также *Treponema denticola* [9]. Однако в настоящее время эта классификация имеет больше историческое значение, поскольку некоторые возбудители агрессивного пародонтита, например токсигенный серотип *b* актинобациллы *A. actinomycetemcomitans*, были описаны несколько позже [10]. Представители *A. actinomycetemcomitans* по данной классификации вообще относились к «зеленому» комплексу как представители нормальной микрофлоры, не продуцирующей лейкотоксин (т.е. нетоксигенные серотипы).

В отечественной литературе после I Съезда пародонтологов России, состоявшегося в 2005 г., впервые было введено понятие пародонтопатогенных бактерий I порядка, которые обладают сочетанием трех ведущих признаков, таких как вертикальная и горизонтальная передача от человека к человеку, способность к внутриклеточному паразитизму, а также токсигенность (имеется в виду прежде всего продукция экзотоксинов), в отличие от пародонтопатогенов II порядка, которые не имеют полного набора этих признаков. К пародонтопатогенным видам I порядка соответственно были отнесены три возбудителя — *P. gingivalis*, *T. forsythia* и *A. actinomycetemcomitans*, токсигенный серотип *b* [5, 6].

В настоящее время, хотя и признается полимикробная природа пародонтита, а воспалительный ответ организма человека на пародонтопатогенные бактерии считается решающим фактором в развитии и прогрессировании заболевания, исследователями введено понятие «ключевой пародонтопатоген», роль которого по всеобщему признанию отводится бактериям вида *P. gingivalis* из-за их способности модифицировать нормальный состав ми-

кробиоты полости рта до более патогенного, что ускоряет потерю костной массы и развитие системных эффектов [5, 8, 11]. Этот пародонтопатоген характеризуется использованием тактик, позволяющих ему ослаблять или обманывать иммунную систему хозяина вследствие обладания очень широким спектром факторов вирулентности, включая протеолитические ферменты (гингипаины), капсулу, эндотоксины, фимбрии, нуклеозиддифосфаткиназу, церамиды [8, 11, 12].

С внедрением технологий метагеномного анализа, секвенирования, масс-спектрометрии появился еще один претендент на роль ключевого пародонтопатогена — *Filifactor alocis* — грамположительная облигатно-анаэробная бактерия, которая трудно культивируется на искусственных питательных средах и встречается, согласно современным литературным данным, почти исключительно при наличии воспаления тканей пародонта [12]. Вместе с тем этот возбудитель обладает достаточной устойчивостью к оксидативному стрессу [13] и уникальным набором свойств, которые обеспечивают выраженную способность *F. alocis* к формированию микробных ассоциаций с *P. gingivalis* и рядом других пародонтопатогенов [14, 15].

Методы, используемые сегодня в клинической практике для диагностики заболеваний пародонта, не позволяют выявить начало воспаления и выделить пациентов, которые предрасположены к прогрессированию заболевания в будущем, а современные диагностические подходы основываются почти исключительно на клинической оценке стоматологического статуса.

В соответствии с последней международной классификацией заболеваний пародонта (2018 г.), поддержанной ВОЗ, принято выделять три степени прогрессирования: *A* — медленное прогрессирование (нет потери прикрепления десны в течение 5 лет); *B* — средняя скорость прогрессирования (за 5 лет потеря прикрепления

O.O. Yanushevich, V.N. Tsarev, E.N. Nikolaeva, I.P. Balmasova, E.V. Ippolitov,
T.V. Tsareva, M.S. Podporin, A.G. Ponomareva

A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

The First Domestic Experience of Detecting the Association of Anaerobic Bacteria *Filifactor Alocis* and *Porphyromonas Gingivalis* by Molecular Biological Methods in Periodontal Diseases and Comorbid Pathology (Comparative Research)

Background. The widespread global increase in the incidence of periodontitis and the role of its pathogens in comorbid pathology and systemic complications determines the need to create new molecular genetic systems for diagnosis and the use of metagenomic and bioinformatic analysis methods. **Aims** — to use methods of microbiological genodiagnosis and bioinformatic analysis to prove the etiological role of the key periodontal pathogens *Filifactor alocis* and *Porphyromonas gingivalis*, characterizing the degree of progression of chronic periodontitis, and its association with a systemic pathological process (type 2 diabetes mellitus). **Methods.** A comparative assessment of the identification of key periodontopathogenic species *P. gingivalis* and *F. alocis* in different forms of periodontitis according to the degree of progression (84 people) using a previously patented system of primers in patients in 4 comparison groups, differing in the degree of progression. 16S sequencing and bioinformatic analysis were performed in 69 patients (including 38 with type 2 diabetes mellitus). All nondiabetic patients were required to have HbA1c level 6.0%. **Results.** A higher frequency of detection of periodontal pathogens was established in patients of group C with a pronounced tendency to progression (93 and 100% respectively). The simultaneous presence of *P. gingivalis* and *F. alocis* in chronic periodontitis of grade B was noted in 20% of cases, and in grade C — in 93% of cases. **Conclusions.** The proposed method can be used to effectively determine the degree of periodontitis progression based on the determination of oligonucleotide primers of *P. gingivalis* and *F. alocis*, including comorbid pathology — periodontitis and type 2 diabetes mellitus.

Keywords: periodontitis, type 2 diabetes mellitus, PCR, *P. gingivalis*, *F. alocis*, 16S sequencing, bioinformatic analysis

For citation: Yanushevich OO, Tsarev VN, Nikolaeva EN, Balmasova IP, Ippolitov EV, Tsareva TV, Podporin MS, Ponomareva AG. The First Domestic Experience of Detecting the Association of Anaerobic Bacteria *Filifactor Alocis* and *Porphyromonas Gingivalis* by Molecular Biological Methods in Periodontal Diseases and Comorbid Pathology (Comparative Research). *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2022;77(6):437–446. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2262>

менее 2 мм); *C* — быстрая скорость прогрессирования (потеря прикрепления более 2 мм за 5 лет) [16, 17]. Такой клинический подход позволяет констатировать степень прогрессирования заболеваний пародонта, но не прогнозировать ее.

В последние годы перспективным для прогноза развития патологии пародонта, как и других инфекционных заболеваний, стали считать исследование микробиома зубодесневой борозды с обнаружением в ее составе бактерий — ключевых пародонтопатогенов *P. gingivalis* и *F. alocis*, в том числе с использованием моделирования микробной биопленки оральных симбионтов *in vitro* [18, 20, 21].

Наиболее перспективен с этой точки зрения молекулярно-генетический метод, позволяющий выявить фрагменты геномов нескольких видов пародонтопатогенов с помощью мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Эти молекулярно-генетические методы лабораторной диагностики стали применяться в различных странах мира на рубеже XXI в. [22–24]. В 2015 г. вышла работа А. Al-Alimi et al. [25], в которой в состав большой группы пародонтопатогенов, тестируемых методом моноплексной, но не мультиплексной ПЦР в реальном времени, входили *P. gingivalis* и *F. alocis*.

В связи с этим мы предложили использовать идентификацию одновременно ДНК двух ключевых пародонтопатогенных бактерий *F. alocis* и *P. gingivalis* с помощью мультиплексной ПЦР, олигонуклеотидные праймеры и зонды которых имеют отличную от прототипа структуру, что сокращает время исследований и снижает трудозатраты при идентификации бактерий [26]. Кроме того, нами сделана попытка не только идентифицировать указанные виды бактерий при заболеваниях пародонта, но и, используя 16S секвенирование с последующим биоинформационным анализом, установить этиологическую роль этих бактерий при хроническом пародонтите, сочетающемся и не сочетающемся с системным патологическим процессом. В качестве примера системной патологии мы избрали компенсированный сахарный диабет 2 типа.

Цель исследования — применение методов микробиологической генодиагностики и биоинформационного анализа для подтверждения этиологической роли ключевых пародонтопатогенов *Filifactor alocis* и *Porphyromonas gingivalis*, характеризующих степень прогрессирования хронического пародонтита и его ассоциации с системным патологическим процессом (сахарным диабетом 2 типа).

Методы

Дизайн исследования

Критерии включения: пациенты в возрасте от 35 до 65 лет с подтвержденным диагнозом «хронический генерализованный пародонтит», в том числе ассоциированный с сахарным диабетом 2 типа в фазе компенсации.

Критерии исключения: курящие пациенты, пациенты с другими видами коморбидной соматической патологии.

Критерии не включения: возрастные группы младше 35 и старше 65 лет, отсутствие подписанного информированного согласия на участие в исследовании.

Гипотеза: определение генетических маркеров пародонтопатогенных бактерий *Filifactor alocis* и *Porphyromonas gingivalis* позволяет подтвердить их этиологическое и прогностическое значение в патологии пародонта, в том

числе при его сочетании с коморбидной патологией — сахарным диабетом 2 типа.

Условия проведения

Исследование проводилось на базе ФГБУ ВО Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова (МГМСУ им. А.И. Евдокимова) Минздрава России. Пациенты наблюдались сотрудниками кафедры пародонтологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова (зав. кафедрой — академик РАН, профессор О.О. Янушевич) на протяжении не менее 5 лет. Контрольную группу с интактным (здоровым) пародонтом формировали из пациентов, обращавшихся к стоматологу для проведения профилактической санации полости рта. Пациенты четвертой группы проходили лечение на базе кафедры эндокринологии и диабетологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова (заведующий кафедрой — д.м.н., профессор А.М. Мкртумян) и получали соответствующую консультацию стоматолога. Исследование биоматериала от пациентов проводили на кафедре микробиологии, вирусологии, иммунологии и в лаборатории молекулярно-биологических исследований Научно-исследовательского медико-стоматологического института (НИМСИ) МГМСУ им. А.И. Евдокимова (директор НИИ, зав. кафедрой — д.м.н., профессор В.Н. Царев).

Продолжительность исследования

Исследование продолжалось с 2019 по 2022 г.

Описание медицинского вмешательства

После объяснения методики диагностического исследования, возможных рисков и преимуществ включения в группу исследования пациенты подписывали соответствующие информированные согласия, а также согласие на персональную обработку данных. Биообразцы материала, взятые у пациентов, исследовали молекулярно-биологическими методами (ПЦР и метагеномное исследование) с последующим проведением биоинформационного анализа. Все исследования предшествовали проведению лечения пациентов. Лечебных мероприятий, отличных от принятого протокола стоматологического лечения пациентов, не проводили.

В исследование были включены 84 человека, которые обследованы методом мультиплексной ПЦР, в том числе 69 человек — методом 16S секвенирования.

Объекты (участники) исследования

Для исследования методом мультиплексной ПЦР были сформированы четыре группы исследования: первая включала 15 пациентов, у которых хронический пародонтит имел среднюю скорость прогрессирования (степень *B*); в состав второй группы исследования входили 15 человек с хроническим пародонтитом быстрой скорости прогрессирования (степень *C*); третья группа служила контролем и содержала 16 условно здоровых людей, не страдающих хроническим пародонтитом (без признаков воспалительных изменений в тканях десны); четвертая группа (38 пациентов) включала пациентов, у которых пародонтит был ассоциирован с коморбидной патологией — сахарным диабетом 2 типа. Из состава групп исследования были полностью исключены курящие пациенты, поскольку курение способствует включению *F. alocis* в состав микробиома слизистой оболочки полости рта даже у субъектов без признаков заболеваний пародонта [19].

Группы обследуемых пациентов включали примерно равное число мужчин и женщин в возрасте 35–65 лет.

Стоматологический статус пациентов с хроническим пародонтитом оценивали в соответствии с рекомендациями Международной классификации заболеваний пародонта 2018 г. [17]. В качестве критериев для разграничения средней и быстрой (*B* и *C*) степеней прогрессирования заболевания при генерализованном характере поражения служили: *B* — потеря прикрепления (индекс CAL) за 5 лет менее 2 мм; *C* — потеря прикрепления за 5 лет 2 мм и более [16, 17].

Исходы исследования

Основной исход исследования. Забор образцов биологического материала проводили утром натощак, исключая использование зубной щетки, антисептических растворов и прочих индивидуальных гигиенических средств. Из четырех наиболее четко клинически выраженных пародонтальных карманов (или зубодесневой борозды моляров при интактном пародонте) стоматологическими аппликаторами № 30 отбирали образцы биопленок, которые помещали в пробирки с крышкой (Eppendorf), содержащие 0,5 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия. ДНК выделяли методом ускоренной пробоподготовки с помощью коммерческого набора реагентов «Реалекс» (НПФ «Генлаб», Москва) согласно инструкции.

440

Для сочетанной идентификации *F. alocis* и *P. gingivalis* методом мультиплексной ПЦР на основе последовательностей, находящихся в составе генов 16S рРНК соответствующих бактерий и входящих в базу данных генетических последовательностей GenBank [27], на предварительном этапе исследования были синтезированы олигонуклеотидные праймеры, получены флуоресцентно меченные зонды для обнаружения в биологическом материале бактерий видов *F. alocis* и *P. gingivalis* и сформирован набор реагентов для воспроизведения мультиплексной ПЦР [26].

Анализ и интерпретацию результатов проводили с помощью программного обеспечения прибора CFX 96 (BioRad, США). Детекцию осуществляли по каналам ROX, HEX и Cy5. По каналу ROX идентифицировали образцы, содержащие ДНК *P. gingivalis*, по каналу HEX — ДНК *F. alocis* при наличии положительной реакции по каналу Cy5 (внутренний положительный контроль забора биологического материала — ДНК человека).

Для выделения из образцов поддесневой биопленки чистых культур анаэробов пародонтопатогенной группы использовали анаэростаты Himedia Labs (Индия) с вакуум-насосом, обеспечивающим замену атмосферного воздуха на стандартную газовую смесь, включающую азот (N₂) — 80%, углекислый газ (CO₂) — 10% и водород (H₂) — 10%. Посевы проводили на кровяном агаре, приготовленном на основе сердечно-мозгового агара со стандартными питательными добавками — геминном и менадином (Himedia Labs, Индия). Для культивирования *F. alocis* добавляли набор необходимых аминокислот — L-цистеин, аргинин. Моделирование адгезии ассоциации оральной микробиоты осуществляли в чашках Петри с сердечно-мозговым бульоном (с теми же питательными добавками) на подложке из метаметилакрилата («ВладМиВа», Россия) в орбитальном шейкер-инкубаторе ES-20 (BioSan, Латвия), совершающем качательные движения. В соответствии с патентованной методикой срок инкубации составлял 7 сут при температуре 37 °С в анаэробных условиях (микроанаэростат) [21]. Оценку адгезированных клеток возбудителей (клинических изолятов), в том числе на начальном этапе формирования биопленки, проводи-

ли при окраске генцианвиолетом на исследовательском микроскопе с системой цифровой видеорегистрации Eclipse (Nikon, Япония).

Анализ в подгруппах

По результатам проведенной мультиплексной ПЦР с разработанными олигонуклеотидными праймерами для выявления в биологическом материале представителей пародонтопатогенных видов *F. alocis* и *P. gingivalis* проводили сравнительный анализ по частоте положительных реакций с последующим построением ROC-кривых. Кроме того, для выявления соответствия между частотой встречаемости *F. alocis* и *P. gingivalis* и развитием системных эффектов болезней пародонта выполнялось секвенирование методом дробовика в трех группах исследования — у клинически здоровых людей, у пациентов с хроническим пародонтитом степени *C* и у пациентов с хроническим пародонтитом степени *C*, ассоциированным с коморбидной патологией — компенсированным сахарным диабетом 2 типа. У всех пациентов без сахарного диабета уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) был менее 6,0%.

Метод регистрации исходов

Для выполнения исследований из образцов биологического материала в рамках каждой группы исследования готовили смешанные пулы ДНК, включающие равные молярные количества геномной ДНК каждого пациента. Смешанные пулы ДНК подвергались обогащению с помощью системы Nebnext в соответствии с инструкциями производителя. Далее осуществлялось ультразвуковое фрагментирование микробной ДНК с использованием системы Covaris S220 (США) и последующим определением размера фрагментов на биоанализаторе Agilent 2100 (США) согласно инструкции производителя. Следующим этапом служило секвенирование полированных образцов на генетическом анализаторе MiSeq (Illumina) по инструкциям производителя.

Этическая экспертиза

Состав исследуемых групп и план их обследования утверждены межвузовским этическим комитетом г. Москвы (протокол № 13-20 от 2019 г.), все участники исследования подписали информированное согласие на обработку персональных данных.

Статистический анализ

Таксономический анализ данных, полученных при секвенировании гена 16S рибосомальной РНК в составе пулированных образцов с определением родовой принадлежности бактерий, входящих в состав микробиома, выполнялся с использованием биоинформационных систем QIIME2 (Quantitative Insights into Microbial Ecology) [28] и SILVA [29]. Статистическая обработка полученных данных включала тест PERMANOVA для микробных сообществ [30] в сочетании с эволюционной моделью PhiLR [31] и выявлением биомаркеров отдельных групп исследования на основе множественной логистической регрессии.

Результаты

Основные результаты исследования

Первым фрагментом исследования являлось формирование базы данных из числа обследованных пациентов

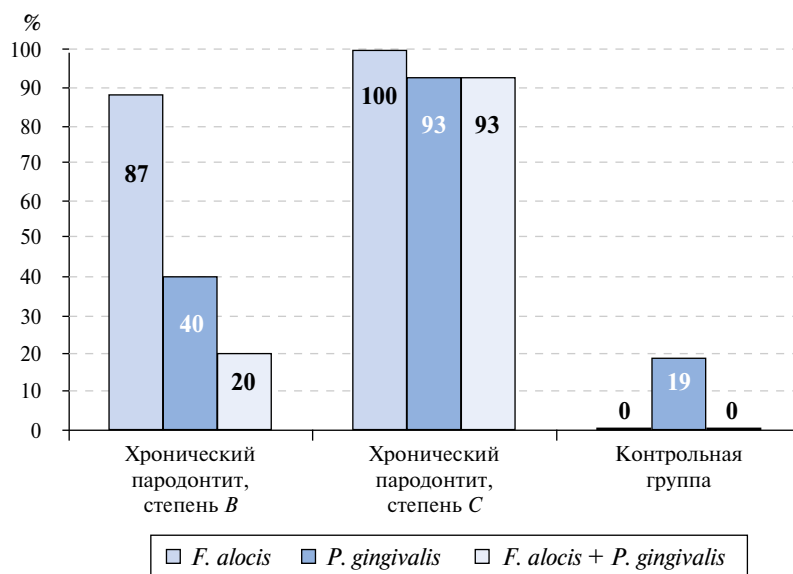


Рис. 1. Частота встречаемости *F. alocis*, *P. gingivalis* и ассоциации этих бактерий в группах больных хроническим пародонтитом и в контроле

групп сравнения по результатам проведения мультиплексной ПЦР. Частота встречаемости *F. alocis*, *P. gingivalis* и ассоциации этих бактерий в группах больных хроническим пародонтитом степеней B и C и в контроле представлены на рис. 1.

Частота обнаружения *F. alocis* при хроническом пародонтите степени B составила 87%, в то время как у здоровых людей эти бактерии не регистрировали. При хроническом пародонтите степени C наличие *F. alocis* было отмечено во всех случаях (100%). Частота встречаемости *P. gingivalis* при хроническом пародонтите степени B составляла 40% и была достоверно (в 2,2 раза) ниже, чем *F. alocis*. При хроническом пародонтите степени C частота регистрации *P. gingivalis* на уровне 93% статистически достоверно не отличалась от таковой для *F. alocis*. У здоровых людей *P. gingivalis* обнаруживались в 19% случаев, что было статистически достоверно ниже по сравнению с больными хроническим пародонтитом, в том числе сочетанным с сахарным диабетом 2 типа.

Особо следует подчеркнуть, что одновременное наличие *P. gingivalis* и *F. alocis* при хроническом пародонтите степени B было отмечено в 20% случаев, т.е. достоверно

реже (соответственно в 4,4 и в 2 раза), чем для каждого из тестируемых пародонтопатогенов в отдельности, хотя у больных хроническим пародонтитом степени C частота встречаемости обоих пародонтопатогенов при использовании мультиплексной ПЦР оставалась на том же высоком уровне — в 93% случаев. Не отмечено одновременного наличия обоих пародонтопатогенов у здоровых людей.

Таким образом, апробация оригинальных тест-систем для идентификации *P. gingivalis* и *F. alocis* методом мультиплексной ПЦР показала возможность их использования для дифференцированного подхода к диагностике хронического пародонтита степеней B и C.

Для подтверждения диагностического значения теста в каждом конкретном случае проводили построение ROC-кривых, характеризующих линейную регрессию между чувствительностью и специфичностью теста в первой и второй группах пациентов при сравнении с контролем. Результаты построения ROC-кривых с определением критерия их количественной оценки в виде площади под ROC-кривой (AUC) показаны на рис. 2.

Диагностическое значение определения *F. alocis* для оценки степени прогрессирования хронического па-

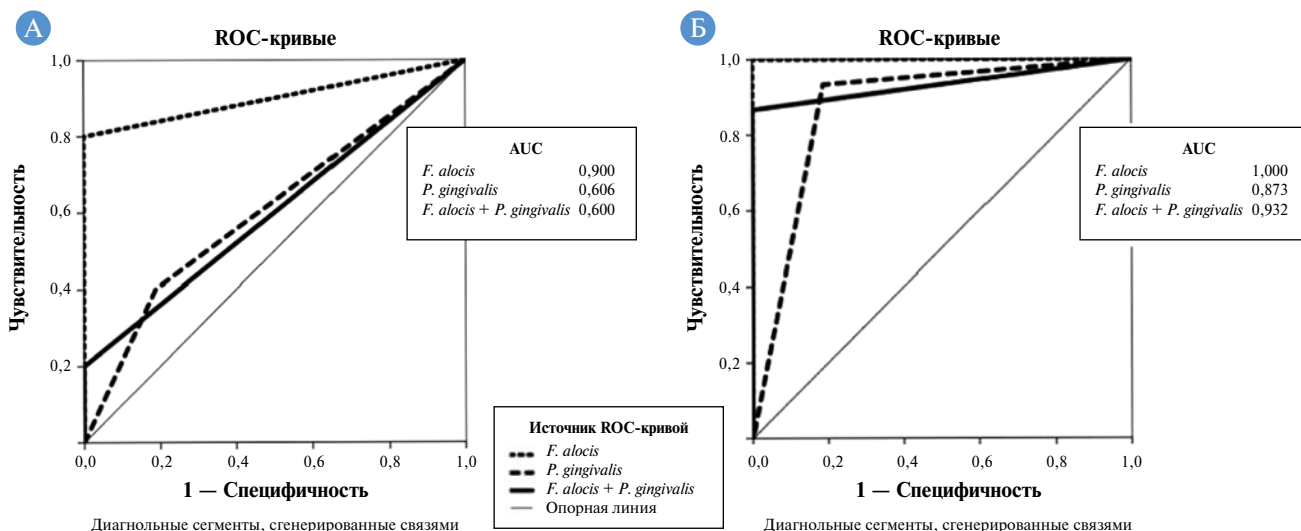


Рис. 2. ROC-кривые диагностической значимости результатов мультиплексной ПЦР при хроническом пародонтите степени B (А) и степени C (Б)

родонтита с помощью мультиплексной ПЦР по данным построения ROC-кривой, в отличие от *P. gingivalis*, было максимально высоким (AUC 0,9–1,0) независимо от быстроты прогрессирования хронического пародонтита.

Построение ROC-кривых для определения диагностической значимости обнаружения *P. gingivalis* в биологическом материале из зубодесневой борозды показало, что у больных хроническим пародонтитом степени В при сравнении с контролем величина AUC составляла 0,6, т.е. не соответствовала высокой диагностической значимости. При хроническом пародонтите степени С AUC в результате построения ROC-кривой по величине (0,873) соответствовала высокой диагностической значимости.

Наконец построение ROC-кривых для ассоциации *P. gingivalis* и *F. alocis* при хроническом пародонтите степени В в сравнении с контролем также не подтвердило высокой диагностической значимости (AUC = 0,6), а при хроническом пародонтите степени С AUC не только оценена как очень высокая (0,932), но и в условиях наших исследований была максимальной.

Учитывая практически неизученную способность *F. alocis* к развитию системных эффектов, сопутствующих заболеваниям пародонта, мы воспользовались данными 16S секвенирования. С использованием сочетания кластерного и регрессионного анализа в ходе биоинформационной обработки полученных данных выявлено шесть категорий дифференциальных межгрупповых признаков (балансов), позволяющих дифференцировать группы исследования, как это представлено в нижней части рис. 3. Наибольшую информативность проявляли баланс D, эффективно выявлявший различия между группой здоровых людей и пациентов с хроническим пародонтитом, и баланс F для сравнения групп пациентов с хроническим пародонтитом, ассоциированным и не ассоциированным с сахарным диабетом 2 типа.

Подобный подход к биоинформационному анализу данных, полученных в ходе 16S секвенирования образцов микробной биопленки полости рта, позволил не только определить преобладающие виды пародонтопатогенов, но и установить степень их участия в формировании биопленки в разных клинических группах. Так, в группе здоровых лиц среди зарегистрированного набора пародонтопатогенов наиболее часто наблюдалось представительство бактерий рода *Fusobacterium*. В группе пациентов с хроническим пародонтитом эти бактерии в значительной степени вытеснялись представителями родов *Treponema*, *Mycoplasma* и особенно *Filifactor*. При ассоциации хронического пародонтита с сахарным диабетом 2 типа опять происходило изменение в представительстве отдельных видов пародонтопатогенов и на первое место по уровню регистрации выходили бактерии родов *Porphyromonas* и *Prevotella*.

Представленная схема смены возбудителей по мере развития хронического генерализованного пародонтита и сопутствующих ему системных патологических процессов совершенно не исключает возможности вхождения бактерий других таксономических групп в состав микробиома при исследованных патологических состояниях. Тем не менее, поскольку в каждой клинической группе нами исследовалось от трех до четырех пулированных образцов материала из зубодесневой борозды и была отмечена повторяемость результатов, мы сочли вполне правомочным выдвижение гипотезы о возможности смены доминирующих представителей пародонтопатогенных бактерий, включающих представителей родов *Filifactor* и *Porphyromonas*, как при развитии, так и при изменении характера патологического процесса.

Дополнительные результаты исследования

Обсуждая таксономию нового пародонтопатогена, нужно отметить, что по старой номенклатуре *F. alocis*

442

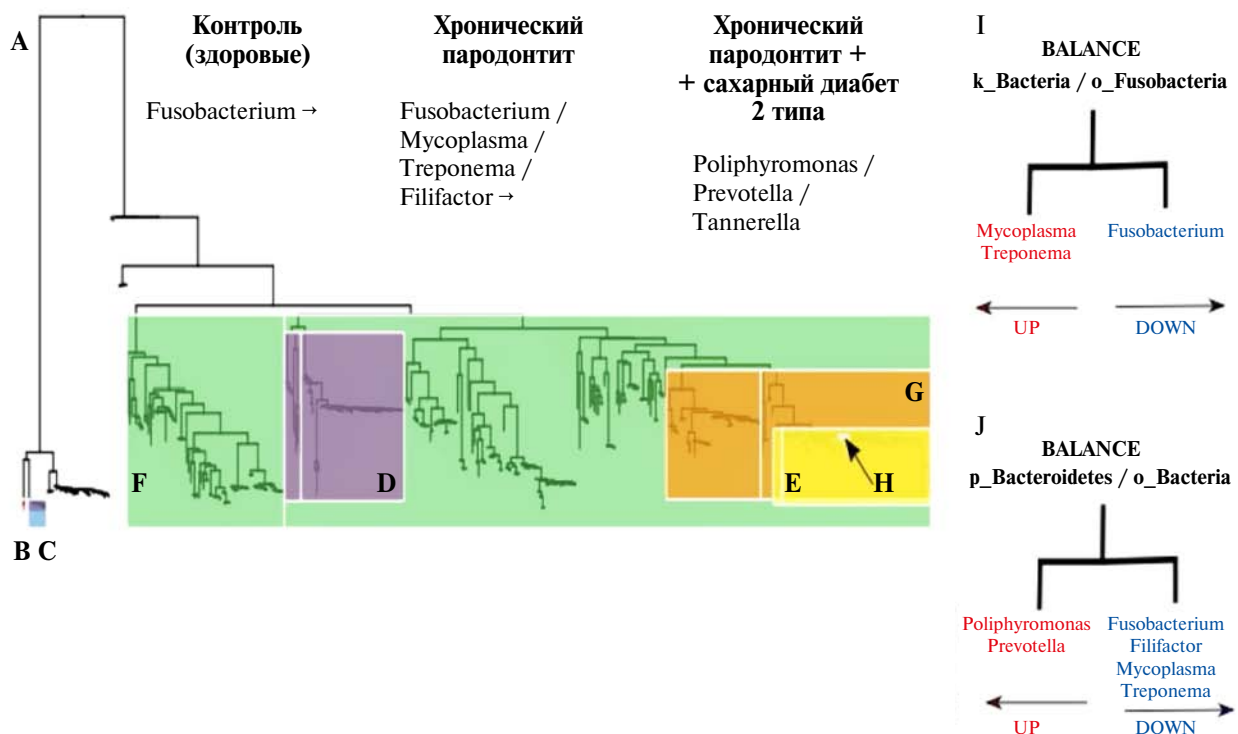


Рис. 3. Таксономические балансы микробиомов зубодесневой борозды при сравнении групп исследования

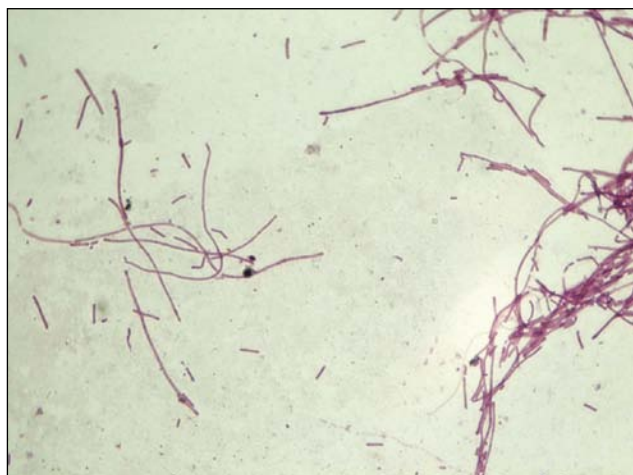


Рис. 4. *Filifactor alocis*. Мазок из чистой культуры. Увеличение $\times 100$, иммерсионный объектив. Окраска по Граму

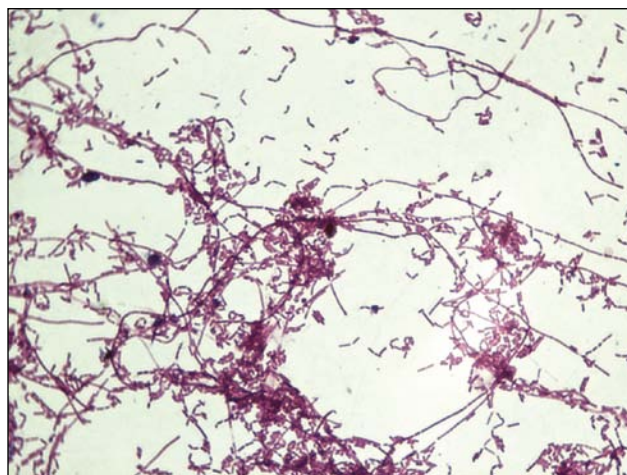


Рис. 5. *Filifactor alocis*. Моделирование биопленки (коагрегация с оральной микробиотой). Увеличение $\times 100$, иммерсионный объектив. Окраска — генцианвиолет

относили к роду фузобактерий (*Fusobacterium alocis*) [6], и, вероятно, поэтому он как филогенетически близкий симбионт подобно фузобактериям принимает активное участие в формировании каркаса поддесневой микробной биопленки, к которому далее прикрепляются другие виды пародонтопатогенных бактерий. Особого внимания заслуживает выявленная в некоторых первых исследованиях способность *F. alocis* формировать переплетающиеся нитевидные элементы, откуда и происходит его первоначальное название «производитель нитей десневой борозды» (лат.) [6, 13, 14].

В наших исследованиях при культивировании на 5%-м кровяном сердцечно-мозговом агаре в анаэробных условиях с добавлением стимуляторов роста (L-цистеина, аргинина) *F. alocis* давал прозрачные, опалесцирующие, мелкие выпуклые колонии, микроскопически представленные нитевидными грамположительными формами (рис. 4). При моделировании трехвидовой микробной биопленки из представителей оральной микробиоты в биокультиваторе на метилметакрилатной подложке в сердцечно-мозговом бульоне [21] мы наблюдали образование нитевидных структур, которые можно расценивать как основу формирования биопленки (рис. 5). При моделировании биопленки на стадии коагрегации при иммерсионном увеличении микроскопа определяются нити, образуемые *F. alocis*, и адгезированные элементы *Streptococcus sanguis*, *P. gingivalis*.

Нежелательные явления

В процессе исследования нежелательных явлений в результате проводимых манипуляций, связанных со взятием биологического материала, у пациентов не отмечено.

Обсуждение

Изучение микробиома организма человека и разработка современных методов исследования, в том числе молекулярно-биологических и биоинформационных, — актуальные проблемы современной медицинской науки [32, 33]. В условиях санкционного режима, проводимого США и странами Евросоюза, особую важность представляют разработка и внедрение в практику клинической лабораторной диагностики отечественных молекулярно-биологических диагностических систем [34].

В соответствии с целью настоящего исследования с использованием методов микробиологической генодиагностики мы проводили анализ возможной этиологической и прогностической роли генетических маркеров ключевых пародонтопатогенов *F. alocis* и *P. gingivalis* и оценку их взаимосвязи с системным патологическим процессом — сахарным диабетом 2 типа. Для идентификации в поддесневой биопленке указанных ключевых пародонтопатогенов, предположительно характеризующих степень прогрессирования пародонтита, особого обсуждения заслуживает как целесообразность выполнения этих исследований, так и возможность использования для этого предложенной авторами отечественной тест-системы для проведения мультиплексной ПЦР. Этиологическая роль *P. gingivalis* как ключевого пародонтопатогенного вида, способного модифицировать нормальный состав микробиоты полости рта до более агрессивного и участвовать в развитии системных эффектов заболеваний пародонта, в настоящее время сомнению не подвергается [2, 5, 7, 19].

Что касается патогенетического значения *F. alocis* как труднокультивируемого патогена, который относительно недавно был отнесен к пародонтопатогенным видам I порядка, то его значение в данном аспекте продолжает оставаться малоизученным. Вместе с тем в настоящее время известно, что обнаружение *F. alocis* в биоматериале поддесневой биопленки указывает на сильную корреляцию с заболеваниями пародонта и практически не регистрируется у здоровых людей [11, 35].

Вследствие выраженной протеазной активности и способности к участию в метаболизме аргинина *F. alocis* не только колонизирует пародонтальные ткани, но и непосредственно влияет на формирование сообщества пародонтопатогенных микроорганизмов [36]. При этом наиболее выраженный синергизм проявляется при взаимодействии *F. alocis* с ключевым пародонтопатогеном *P. gingivalis*, а сочетание этих возбудителей взаимно повышает инвазивные свойства и значительно усиливает процессы формирования биопленки в целом [18, 19], что и побудило нас к созданию праймеров и зондов для мультиплексной ПЦР на основе ассоциации названных пародонтопатогенов [26].

Кроме того, как подчеркивается в одной из публикаций последних лет Е. Aja et al. [37], *F. alocis* выступает новым важным компонентом микробиома пародонта,

и в авторы предлагают использовать его в качестве характерного маркера заболеваний пародонта. Однако из-за отсутствия генетических инструментов для изучения этого микроорганизма о его характеристиках вирулентности мало известно. Именно с этой точки зрения предлагаемая нами тест-система для генодиагностики заболеваний пародонта и подтверждение ее диагностической значимости открывают новые перспективы для исследования этой категории патологических состояний с выраженными системными эффектами.

Роль *P. gingivalis* в патогенезе широкого спектра системных патологических процессов изучена довольно хорошо [6, 7, 36], при этом как в клинике, так и в эксперименте подчеркивается роль этих бактерий в патогенезе сахарного диабета 2 типа и атеросклероза [38]. В то же время этиопатогенетическое значение *F. alocis*, особенно в развитии системных эффектов, в научной литературе описано весьма скудно [18, 37], в частности, на уровне образования внеклеточных везикул при ассоциации заболеваний пародонта и остеопороза [39]. Других указаний на роль *F. alocis* в развитии системных эффектов в настоящее время в доступной литературе мы не встретили.

В данном исследовании для определения взаимосвязи между изучаемыми ключевыми пародонтопатогенами и развитием системных эффектов было использовано 16S секвенирование с последующим биоинформационным анализом, который подтвердил, что развитие системной патологии в виде сахарного диабета 2 типа сопровождалось снижением значения бактерий рода *Filifactor* и возрастанием ключевой роли бактерий рода *Porphyromonas*.

Ограничения в исследовании

В настоящее время не вызывает сомнений, что существует взаимосвязь между заболеваниями пародонта и коморбидной патологией, в данном случае для пародонтита, ассоциированного с сахарным диабетом 2 типа. Однако возникает вопрос: насколько специфичны для системной патологии или, наоборот, универсальны эти мишени? Рабочая гипотеза состоит в том, что соответствие локальной и системной патологии несет в себе как общие закономерности, так и специфические признаки конкретной системной патологии, что в итоге определяет возможность прогнозирования развития основного заболевания. Проверка этой гипотезы на модели взаимосвязи пародонтопатогенных бактерий с сахарным диабетом 2 типа может быть детализирована для других пародонтопатогенных видов с применением использованных в нашем исследовании методик молекулярно-биологической диагностики.

Заключение

Одним из актуальных направлений пародонтологии и связанных с ней системных заболеваний является исследование этиологической роли ассоциации пародонтопатогенных бактерий *Filifactor alocis* и *Porphyromonas gingivalis*. Полученные результаты позволяют обосновать

комплексный подход к использованию результатов микробиологических методов, включающих генодиагностику, 16S секвенирование и последующий биоинформационный анализ.

Расшифровка молекулярно-генетических механизмов взаимного влияния этих бактерий, оценка патогенетического и диагностического значения для формирования названной ассоциации требуют специального методического обеспечения. С этой целью нами предложена тест-система, предназначенная для идентификации *F. alocis* и *P. gingivalis* методом мультиплексной ПЦР, и показана ее диагностическая эффективность при хроническом пародонтите различной степени тяжести.

Параллельно методом 16S секвенирования с последующим биоинформационным анализом на модели хронического пародонтита, сочетанного с сахарным диабетом 2 типа, как системной коморбидной патологии показано, что представители рода *Filifactor* играют существенную этиологическую роль в развитии хронического пародонтита, но при ассоциации этого заболевания с системной патологией ведущая ключевая роль переходит к представителям рода *Porphyromonas*.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках Государственного задания № 056-00035-21-00 от 17 декабря 2020 г. Рукопись подготовлена и публикуется за счет финансирования по месту работы авторов. В работе была использована инфраструктура Уникальной научной установки «Трансгенбанк».

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

Участие авторов. О.О. Янушевич — дизайн исследования, организация групп пациентов и сбора биоматериала, прочтение и направление рукописи на публикацию (разделил ответственность за изложенные данные с коллективом авторов); В.Н. Царев — дизайн исследования, проведение микробиологических и молекулярно-генетических исследований биоматериала, анализ полученных данных, написание статьи; Е.Н. Николаева — проведение микробиологических и молекулярно-генетических исследований биоматериала, анализ полученных данных, написание статьи; И.П. Балмасова — проведение молекулярно-генетических исследований биоматериала, биоинформационный и статистический анализ, написание статьи; Е.В. Ипполитов — сбор биоматериала, пробоподготовка, анализ полученных данных; Т.В. Царева — сбор биоматериала, проведение молекулярно-генетических исследований биоматериала, биоинформационный анализ; М.С. Подпорин — сбор биоматериала, статистический анализ; А.Г. Пономарева — анализ результатов, прочтение и одобрение рукописи для публикации (разделила ответственность за изложенные данные с коллективом авторов). Все авторы внесли значимый вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию текста перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Tonetti MS, Jepsen S, Jin L, et al. Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: a call for global action. *J Clin Periodontol*. 2017;44(5):456–462. doi: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12732>
2. Rafiei M, Kiani F, Sayehmiri K, et al. Prevalence of anaerobic bacteria (*P. gingivalis*) as major microbial agent in the incidence periodontal diseases by meta-analysis. *J Dent (Shiraz)*. 2018;19(3):232–242.

3. Hajishengallis G. Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(1):30–44. doi: <https://doi.org/10.1038/nri3785>
4. Bui FQ, Almeida-da-Silva CLC, Huynh B, et al. Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomed J*. 2019;42(1):27–35. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.12.001>
5. Царев В.Н., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В. Пародонтопатогенные бактерии как основные факторы возникновения и развития пародонтита // *Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии*. — 2017. — № 5. — С. 101–112. [Tsarev VN, Nikolaeva EN, Ippolitov EV. Periodontopathogenic bacteria of the main factors of emergence and development of periodontitis. *J microbiology, epidemiology, immunobiology*. 2017;5:101–112. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2017-5-101-112>
6. Балмасова И.П., Царев В.Н., Янушевич О.О., и др. *Микроэкология пародонта. Взаимосвязь локальных и системных эффектов*. — М.: Практическая медицина, 2021. — 264 с. [Balmasova IP, Tsarev VN, Yanushevich OO, et al. *Microecology of periodontal disease. The relationship of local and systemic effects*. Moscow: Practical Medicine; 2021. 264 p. (In Russ.)]
7. Nikolaeva EN, Tsarev VN, Tsareva TV, et al. Interrelation of Cardiovascular Diseases with Anaerobic Bacteria of Subgingival Biofilm. *Contemp Clin Dent*. 2019;10(4):637–642. doi: https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_84_19
8. Honda K. *Porphyromonas gingivalis* sinks teeth into the oral microbiota and periodontal disease. *Cell Host Microbe*. 2011;10(5):423–425. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2011.10.008>
9. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, et al. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998;25(2):134–144. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x>
10. Ahmed HJ, Svensson JA, Cope LD, et al. Prevalence of cdtABC genes encoding cytolethal-distending toxin among *Haemophilus ducreyi* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains. *J Med Microbiol*. 2001;50(10):860–864. doi: <https://doi.org/10.1099/0022-1317-50-10-860>
11. Hiranmayi KV, Sirisha K, Ramoji Rao MV, et al. Novel pathogens in periodontal microbiology. *J Pharm Bioallied Sci*. 2017;9(3):155–163. doi: https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_288_16
12. Hajishengallis G. Immune evasion strategies of *Porphyromonas gingivalis*. *J Oral Biosci*. 2011;53(3):233–240. doi: <https://doi.org/10.2330/joralbiosci.53.233>
13. Moffatt CE, Whitmore SE, Griffen AL, et al. *Filifactor alocis* interactions with gingival epithelial cells. *Mol Oral Microbiol*. 2011;26(6):365–373. doi: <https://doi.org/10.1111/j.2041-1014.2011.00624.x>
14. Aruni AW, Chioma O, Fletcher HM. *Filifactor alocis*: The newly discovered kid on the block with special talents. *J Dent Res*. 2014;93(8):725–732. doi: <https://doi.org/10.1177/0022034514538283>
15. Wang Q, Wright CJ, Dingming H, et al. Oral community interactions of *Filifactor alocis* in vitro. *PLoS One*. 2013;8(10):e76271. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076271>
16. Caton JG, Armitage G, Berglund T, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions — Introduction and key changes from the 1999 classification. *J Periodontol*. 2018;89(Suppl 1):S1–S8. doi: <https://doi.org/10.1111/jcpe.12935>
17. Graetz C, Mann L, Krois J, et al. Comparison of periodontitis patients' classification in the 2018 versus 1999 classification. *J Clin Periodontol*. 2019;46(9):908–917. doi: <https://doi.org/10.1111/jcpe.13157>
18. Aruni AW, Mishra A, Dou Y, et al. *Filifactor alocis* — a new emerging periodontal pathogen. *Microbes Infect*. 2015;17(7):517–530. doi: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2015.03.011>
19. Aruni AW, Roy F, Fletcher HM. *Filifactor alocis* has virulence attributes that can enhance its persistence under oxidative stress conditions and mediate invasion of epithelial cells by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*. 2011;79(10):3872–3886. doi: <https://doi.org/10.1128/IAI.05631-11>
20. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, et al. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol 2000*. 2014;64(1):57–80. doi: <https://doi.org/10.1111/prd.12002>
21. Ипполитов Е.В., Царев В.Н., Арутюнов С.Д., и др. Способ формирования смешанной биопленки пародонтопатогенных анаэробных бактерий в условиях текучих сред *in vitro*. Патент С12N 1/20 (2006.01). Дата регистрации: 20.11.2015. Опубликовано: 12.05.2017. Бюл. № 14. [Ippolitov EV, Tsarev VN, Arutyunov SD, et al. Method for the formation of a mixed biofilm of periodontopathogenic anaerobic bacteria under fluid conditions *in vitro*. Patent C12N 1/20 (2006.01). Date of filing: 20.11.2015. Publ. 12.05.2017. Byull. No. 14. (In Russ.)]
22. Xiao S, Zhang T, Liu X, et al. Multiple PCR fast detecting method for oral cavity pathogen. Patent CN101270381A. Publ. 24.09.2008. Shuiqing Xiao, China.
23. Shin ES, Song KH. Primers and probes for detecting bacteria related to periodontal disease and method of detecting the same and use thereof. Patent KR20150129484A. Publ. 20.11.2015. Huesteps Inc, Korea.
24. Gokyu M, Hamaide E, Ikeda Y, et al. Oligonucleotide set for detecting periodontal disease bacteria, and detection method of periodontal disease bacteria. Patent JP2016192950A. Publ. 17.11.2016. Dainippon Printing Co Ltd, Univ Tokyo Medical & Dental, Japan.
25. Al-Alimi A, Taiyeb-Ali T, Jaafar N, et al. Qat Chewing and Periodontal Pathogens in Health and Disease: Further Evidence for a Prebiotic-Like Effect. *Biomed Res Int*. 2015;2015:291305. doi: <https://doi.org/10.1155/2015/291305>
26. Царев В.Н., Шеремет О.К., Николаева Е.Н., и др. Способ оценки прогрессирования хронического пародонтита и набор реагентов для его осуществления. Патент RU 2 777 783 C1. Опубликовано: 09.08.2022 [Tsarev VN, Sheremet OK, Nikolaeva EN, et al. Method for assessing the progression of chronic periodontitis and a set of reagents for its implementation. Patent RU 2 777 783 C1. Publ. 09.08.2022. (In Russ.)]
27. Benson DA, Cavanaugh M, Clark K, et al. GenBank. *Nucleic Acids Research*. 2013;41(D1):D36–D42. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gks1195>
28. Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, et al. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods*. 2016;13(7):581–583. doi: <https://doi.org/10.1038/nmeth.3869>
29. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res*. 2013;41(Database issue):D590–596. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
30. Tang ZZ, Chen G, Alekseyenko AV. PERMANOVA-S: association test for microbial community composition that accommodates confounders and multiple distances. *Bioinformatics*. 2016;32(17):2618–2625. doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw311>
31. Lazarevic V, Whiteson K, Huse S, et al. Metagenomic study of the oral microbiota by illumina high-throughput sequencing. *J Microbiol Methods*. 2009;79(3):266–271. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.09.012>
32. Кузьмина Э.М., Янушевич О.О., Кузьмина И.Н. *Стоматологическая заболеваемость населения России. Эпидемиологическое стоматологическое обследование*. — М.: МГМСУ, 2019. — 304 с. [Kuzmina EM, Yanushevich OO, Kuzmina IN. *Dental morbidity of the Russian population. Epidemiological dental examination*. Moscow: MGMSU; 2019. 304 p. (In Russ.)].
33. Сухина М.А., Юдин С.М., Загайнова А.В., и др. Особенности микробиоты у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника (проспективное исследование) // *Вестник РАМН*. — 2022. — Т. 77. — № 3. — С. 165–171. [Sukhina MA, Yudin SM, Zagainova AV, et al. Microbiota features in patients with inflammatory bowel diseases (prospective study). *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2022;77(3):165–171. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.15690/vramn1480>

34. Дятлов И.А., Миронов А.Ю., Шепелин А.П., и др. Состояние и тенденция развития клинической и санитарной микробиологии в Российской Федерации и проблема импортозамещения // *Клиническая лабораторная диагностика*. — 2015. — Т. 60. — № 8. — С. 61–65. [Dyatlov IA, Mironov AYU, Shepelin AP, et al. The state and trends of clinical and sanitary microbiology in the Russian Federation and the problem of import substitution. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2015;60(8):61–65. (In Russ.)]
35. Schulz S, Porsch M, Grosse I, et al. Comparison of the oral microbiome of patients with generalized aggressive periodontitis and periodontitis-free subjects. *Arch Oral Biol*. 2019;99:169–176. doi: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2019.01.015>
36. Балмасова И.П., Царев В.Н., Арутюнов С.Д., и др. *Filifactor alocis* и его роль в этиологии хронического пародонтита // *Стоматология*. — 2020. — Т. 99. — № 3. — С. 78–82. [Balmasova IP, Tsarev VN, Arutyunov SD, et al. *Filifactor alocis* and its role in the etiology of chronic periodontitis. *Dentistry*. 2020;99(3):78–82. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17116/stomat20209903178>
37. Aja E, Mishra A, Dou H, et al. Role of the Filifactor alocis hypothetical protein FA519 in oxidative stress resistance. *Microbiol Spectr*. 2021;9(3):e0121221. doi: <https://doi.org/10.1128/Spectrum.01212-21>
38. Soffientini U, Caridis AM, Dolan S, et al. Intracellular cholesterol transporters and modulation of hepatic lipid metabolism: Implications for diabetic dyslipidaemia and steatosis. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(10):1372–1382. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbailip.2014.07.002>
39. Kim HY, Song M-K, Gho YS, et al. Extracellular vesicles derived from the periodontal pathogen Filifactor alocis induce systemic bone loss through Toll-like receptor 2. *J Extracell Vesicles*. 2021;10(12):e12157. doi: <https://doi.org/10.1002/jev2.12157>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Царев Виктор Николаевич, д.м.н., профессор [Viktor N. Tsarev, MD, PhD, Professor]; адрес: 127473, Москва, ул. Десятская, д. 20/1 [address: 20/1, Delegatskaya str., 127473, Moscow, Russia]; e-mail: nikola777@rambler.ru, SPIN-код: 8180-4941, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3311-0367>

Янушевич Олег Олегович, д.м.н., профессор, академик РАН [Oleg O. Yanushevich, MD, PhD, Professor, Academician of the RAS]; e-mail: rectorat.mgmsu@gmail.com, SPIN-код: 1452-1387, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0059-4980>

Николаева Елена Николаевна, д.м.н., профессор, главный научный сотрудник [Elena N. Nikolaeva, MD, PhD, Professor, Chief Scientific Officer]; e-mail: el.nikolaeva@bk.ru, SPIN-код: 9150-4102, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7854-3262>

Балмасова Ирина Петровна, д.м.н., профессор [Irina P. Balmasova, MD, PhD, Professor]; e-mail: iri.balm@mail.ru, SPIN-код: 8025-8611, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8194-2419>

Ипполитов Евгений Валерьевич, д.м.н., профессор [Evgeny V. Ippolitov, MD, PhD, Professor]; e-mail: ippo@bk.ru, SPIN-код: 3002-7360, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1737-0887>

Царева Татьяна Викторовна, к.м.н., доцент [Tatiana V. Tsareva, MD, PhD, Assistant Professor]; e-mail: tancha-leo84@mail.ru, SPIN-код: 2028-8404, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9571-0520>

Подпорин Михаил Сергеевич, к.м.н., научный сотрудник [Mikhail S. Podporin, MD, PhD, Research Associate]; e-mail: podporin.mikhail@yandex.ru, SPIN-код: 1937-4996, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6785-0016>

Пonomарева Анна Геннадиевна, д.м.н., профессор [Anna G. Ponomareva, MD, PhD, Professor]; e-mail: lara12346@yandex.ru, SPIN-код: 3930-5307, ORCID: <https://orcid.org/0000-00012-2685-7235>

И.В. Гмошинский¹, Д.Б. Никитюк^{1, 2}¹Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи,
Москва, Российская Федерация²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
(Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

Полярный стресс: механизмы и моделирование в эксперименте

Пребывание человека в полярных регионах сопровождается развитием стресса, вызванного сочетанием пониженной температуры и влажности воздуха, гиподинамией, гипоксией, нарушениями нормальной продолжительности светового дня. Это указывает на повышенные требования, предъявляемые к охране здоровья и профилактике заболеваемости населения полярных регионов. Целью обзора является анализ данных научной литературы по вопросу о патофизиологических механизмах полярного стресса, существующих методах его моделирования в эксперименте, информативных биомаркерах и перспективах диетической коррекции. Отбор публикаций для анализа проводили с использованием сетевых ресурсов PubMed, Web of Science и Scopus за период преимущественно 2010–2022 гг. Установлено, что в основе реакции на неблагоприятные условия среды Заполярья лежат универсальные механизмы, связанные с возбуждением центров среднего мозга (в первую очередь гипоталамуса) и сопровождаемые развитием гормонального ответа со стороны пептидных гормонов, кортикостероидов, катехоламинов, тиреоидных гормонов. Вторичными мишенями этих воздействий являются мышечная ткань, эндотелий, белая и бурая жировая ткань, клетки иммунной системы. Для воспроизведения состояний, связанных с полярным стрессом, разработан ряд моделей на лабораторных животных, включая различные виды острого, подострого и хронического холодового воздействия, а также его комбинирование с форсированной физической нагрузкой и дополнительными стрессогенными факторами. Чувствительными биомаркерами полярного стресса являются содержание в плазме крови, органах и отделах головного мозга кортикостероидов, катехоламинов, нейропептидов, микро-РНК, уровни экспрессии разобщающих белков (UCP) в бурой жировой ткани, показатели окислительного стресса, цитокины и хемокины, включая IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17, IL-33, RANTES, FGF21 и различные формы их рецепторов, экспрессия генов сигнальных молекул (протеинкиназ). В вопросе диетической коррекции нарушений, вызванных полярным стрессом, основное место уделяется использованию антиоксидантных факторов диеты (витаминов E и C, селена, цинка, коэнзима Q10, коричневых кислот и биофлавоноидов). Таким образом, имеющиеся в мировой литературе данные создают основу для дальнейшего изучения молекулярных механизмов «полярного стресса» и патогенетически обоснованных методов его диетической коррекции.

Ключевые слова: Арктика, низкие температуры, реакции холодового стресса, биомаркеры, диетическая коррекция

Для цитирования: Гмошинский И.В., Никитюк Д.Б. Полярный стресс: механизмы и моделирование в эксперименте. Вестник РАМН. 2022;77(6):447–457. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2209>

447

I.V. Gmoshinski¹, D.B. Nikityuk^{1, 2}¹Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russian Federation²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation

Arctic Stress: Mechanisms and Experimental Models

Human's stay in the Polar regions results in the development of stress caused by a combination of factors such as low air temperature, hypodynamia, hypoxia, and disruption of the daylight cycle. All this strongly indicates the increased requirements for health protection and prevention of morbidity in the population of the Arctic. The problem is topical of search for optimal biological models of Arctic stress intended for preclinical testing of pharmacological and dietary correction of its consequences. Aim — analysis of literature data on the pathophysiological mechanisms of polar stress, existing methods for its modeling in the experiment, informative biomarkers and prospects for dietary correction. Selection by keywords and analysis of literary sources using PubMed, Web of Science and Scopus online resources for the period, mainly, 2010–2022. The reaction to adverse environmental conditions in the Arctic is based on universal mechanisms associated with the excitation of midbrain centers (primarily the hypothalamus) with the development of a subsequent hormonal response from peptide hormones, corticosteroids, catecholamines, and thyroid hormones. The secondary targets of these effects are muscle tissue, endothelium, white and brown adipose tissue, cells of the immune system, in which changes occur aimed at neutralizing external adverse effects. A number of laboratory animal models have been developed to reproduce conditions associated with polar stress, including various types of acute, subacute and chronic cold exposure, as well as its combination with forced physical activity and additional stress factors. Sensitive biomarkers that allow monitoring the severity of polar stress are, firstly, the content of corticosteroids, catecholamines, neuropeptides, micro-RNA (miR-210) in blood plasma, organs and compartments of the brain, expression levels of uncoupling proteins (UCP) in brown adipose tissue, indicators of oxidative stress (lipoperoxide and malondialdehyde content, activity of antioxidant defense enzymes — GPX, GR, SOD, catalase and others), levels of bioantioxidants (vitamin E, ascorbic acid, carotenoids, GSH), cytokines and chemokines, including IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17, IL-33, RANTES, FGF21 and various forms of their receptors, gene expression of signaling molecules (protein kinases). In the issue of dietary correction of disorders caused by polar stress, the main place is given to the use of dietary antioxidant factors (vitamins E and C, selenium, zinc, coenzyme Q10, cinnamic acids and bioflavonoids). The data available in the world literature form the basis for further study of the molecular mechanisms of polar stress and pathogenetically substantiated methods of its dietary correction.

Keywords: Arctic, low temperatures, cold-stress reaction, biomarkers, diet therapy

For citation: Gmoshinski IV, Nikityuk DB. Arctic Stress: Mechanisms and Experimental Models. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2022;77(6):447–457. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2209>

Введение

Длительное пребывание в полярных и приполярных регионах способно оказывать разнообразное неблагоприятное влияние на состояние здоровья человека. Согласно имеющимся данным, даже у изначально здоровых людей в течение нескольких недель нахождения в условиях Заполярья развиваются состояния, характеризующие термином «болезни дизадаптации», которые включают недостаточность циркуляторной функции, полиэндокринные расстройства, гиперкоагуляцию крови, иммунную недостаточность, психоэмоциональные расстройства [1]. При этом у больных, страдающих заболеваниями сердечно-сосудистой системы, инфекционными, аутоиммунными, эндокринными (включая сахарный диабет) и психическими заболеваниями, пребывание в Заполярье может значительно увеличить тяжесть их протекания. Имеются недостаточно подтвержденные клиническими данными сведения о наличии прямой корреляции между географической широтой и риском развития некоторых форм рака [2, 3].

Неблагоприятное влияние на состояние здоровья человека в условиях Заполярья оказывают экстремально низкие температуры, резко пониженная влажность воздуха, гиподинамия, десинхроноз вследствие слишком короткого (полярная ночь) или, наоборот, слишком продолжительного (полярный день) фотопериода [4]. В условиях высокогорья к этому добавляется гипоксия [5]. Ввиду этого актуально создание новых подходов к профилактике и коррекции «полярной» патологии, в первую очередь с использованием фактора питания. Это ставит на повестку дня, наряду с собственно клиническими исследованиями, моделирование доклинической и клинической «полярной патологии» в экспериментах на лабораторных животных с целью разработки и апробации новых диетических и фармакологических лечебно-профилактических технологий.

Целью настоящего обзора является рассмотрение данных литературы о природе и механизмах «полярной патологии», существующих методах ее моделирования в эксперименте и влиянии на указанные типы расстройств различных диетических факторов. Поиск литературных источников проводили по различным сочетаниям ключевых слов «(cold OR polar OR Arctic) AND stress AND biomarker* AND (diet OR dietary)» в международных сетевых реферативных базах данных PubMed, Web of Science (WoS) и Scopus. Всего за период с 1984 по 2022 г. было выявлено 102 источника (статей в рецензируемых периодических научных изданиях), удовлетворяющего условиям поиска. Из них для анализа было отобрано 64 источника преимущественно за период с 2010 по 2022 г., не противоречащие данным последующих работ и удовлетворяющие критериям научной достоверности и полноты.

Механизмы полярного стресса

Нейрогормональная регуляция стрессорных реакций

В высоких широтах у человека развивается комплекс симптомов и патофизиологических явлений, характеризующий терминами «северный стресс» или «полярное напряжение» [1] (далее мы будем использовать обобщенный термин «полярный стресс»). Согласно теории адаптационного синдрома Селье, под стрессом понимается комплекс реакций организма, вызванных действием неблагоприятных факторов окружающей среды, опосре-

дуемых центральной нервной системой и направленных на борьбу с неблагоприятным фактором, его элиминацию или бегство от него [6]. В условиях стресса преобладают катаболические реакции, вызывающие всплеск энерговыделения и физической активности. Механизмы, запускающие стрессорные реакции, сосредоточены в нейрогуморальной системе, в первую очередь в гипоталамусе. Путем передачи сигнала по гипоталамо-гипофизарно-адренальной оси происходит высвобождение ряда гормонов, из которых главную роль играют глюкокортикоиды (кортизол, кортикостерон), минералокортикоиды (альдостерон) и катехоламины (эпинефрин, норэпинефрин, дофамин и др.), которые направляют метаболизм в сторону быстрой деградации пищевых компонентов и накопленных запасов энергии, таких как углеводы, жиры и белки [5]. Практически во всех известных случаях развития полярного стресса у человека отмечается повышение уровня кортизола, катехоламинов, а вследствие этого — вторичных гормональных реакций, а также инсулина, глюкагона, гормона роста и тиреоидных гормонов в кровотоке. Наблюдается повышенная резистентность к инсулину. Такие изменения способствуют окислению жиров вместо углеводов из-за усиления липолиза и могут привести к кетогенезу. Другим следствием развития стрессорной реакции является усиление катаболизма белка, проявлением чего выступает возрастание скорости реакций протеолиза, приводящее к поступлению дополнительных количеств аминокислот в метаболический путь глюконеогенеза за счет активации пируват-аланинового пути обмена в противовес аспартат-оксалоацетатному. В результате аминокислотный пул в скелетных мышцах может быть использован для биосинтеза глюкозы (аланиновый цикл) в печени. Эти изменения, в свою очередь, приводят к повышенному образованию мочевины и отрицательному балансу азота [5].

Окислительные реакции

Помимо влияния на метаболизм, нежелательным вторичным последствием физиологической стрессорной реакции является так называемый окислительный стресс, т.е. возрастание во внутренней среде организма уровней реакционноспособных форм кислорода (РСК) и продуктов их взаимодействия с липидами (липоперекисей). Проксидантный эффект развивается вследствие комплекса факторов, из которых следует выделить, во-первых, обусловленную действием гормонов стресса активацию клеток иммунной системы — нейтрофилов и макрофагов, являющихся агентами воспаления и активными продуцентами РСК [7]. Во-вторых, активизация процессов перекисного окисления является побочным следствием усиления внутриклеточного катаболизма, включающего пероксисомное β-окисление жирных кислот [8]. Развитие окислительных процессов при холодовом стрессе обусловлено эффектами синергизма гормональных факторов, включая тиреоидные гормоны и катехоламины [9]. В-третьих, существует предположение, что ряд неблагоприятных факторов Заполярья (аномальные геомагнитные поля, гипоксия и др.) способен усиливать процессы перекисного окисления непосредственно [1].

В числе мишеней действия РСК выступают в первую очередь клеточные мембраны, повреждение липидной кислоты которых приводит к грубому нарушению функции клетки. В результате действия продуктов перекисного окисления липидов активируется сигнальная система CD95/Fas с формированием «домена клеточной смерти» FADD и запуском опосредуемого каспазой-8 апоптоза

[10]. Другая группа процессов связана с воздействием окислителей на молекулы ДНК с образованием внутри-молекулярных сшивок, мутаций и нарушением клеточного цикла, также влекущего гибель клетки. На тканевом и органном уровнях мишенями окислителей являются, в частности, клетки эндотелия, что приводит к развитию в нем локальной воспалительной реакции с дальнейшим провоцированием атеросклеротического повреждения сосуда [11]. Считается, что этот патофизиологический каскад вносит существенный вклад в развитие обусловленных полярными факторами различных видов сердечно-сосудистой патологии [1].

Еще одним неблагоприятным последствием развития окислительного стресса выступает истощение в организме запасов биоантиоксидантов, в первую очередь витаминов С и Е, а также восстановленного глутатиона, карнозина и других веществ со сходной функцией, что может усугубляться недостаточным пищевым поступлением этих нутриентов в полярных условиях [1]. В результате вторичные патологические проявления окислительного стресса могут значительно усиливаться и обуславливать формирование порочного круга в снижении антиоксидантной защиты [12].

Эффекты со стороны кишечной микробиоты

Микробиота кишечника и биологические ритмы — ключевые факторы в модуляции разнообразных физиологических и метаболических процессов. В работе [13] было изучено влияние длительности короткого фотопериода на состав фекальной микробиоты и связи этих изменений с развитием диет-индуцированного ожирения. Секвенирование микробиальной 16S-рибосомальной РНК в фекалиях показало значительное воздействие фотопериода на состав микробиоты, особенно у крыс, получавших гиперкалорийный рацион («диету кафетерия»). Эти изменения коррелировали с приростом массы тела и жировой ткани.

Таким образом, в настоящее время патогенетические механизмы полярного стресса можно считать в основном выявленными (рис. 1), и моделирование данного состояния в эксперименте должно быть направлено на создание изменений в организме лабораторных животных, состоящих в перенапряжении гипоталамо-гипофизарно-адреналовой сигнальной оси с гиперпродукцией гормонов и активацией их клеточных мишеней — различных сигнальных молекул, развитии стресс-индуцированных изменений в функции центральной нервной, эндокринной и иммунной систем, формировании окислительного стресса с ростом уровней в тканях оксидантов и продуктов перекисного окисления липидов и перенапряжении защитной антиоксидантной системы организма.

Экспериментальные модели полярного стресса

Факторы, приводящие к развитию полярного стресса, воздействуют на человека в течение всего периода его пребывания в Заполярье, т.е. длительное время и в комплексе. Подверженность человека влиянию всех этих вредных факторов и вероятность развития серьезной дезадаптации зависят от многих причин, включая генотип индивидуума, его образ жизни, пищевые стереотипы, наличие вредных привычек и др. В процессе экспериментального моделирования этих состояний на животных необходимо создать такие условия, в которых наиболее

физиологически значимые признаки полярного стресса проявились бы в кратчайшее время и были максимально воспроизводимыми.

Наиболее популярные модели полярного стресса используют лабораторных грызунов: крыс (51 публикация в период с 1984 г. по настоящее время) и мышей (35 публикаций). Достоинствами этих моделей являются хорошо разработанные методы содержания лабораторных грызунов и работы с ними, наличие подробных сведений об их геноме, взаимосвязи и регуляции функционально значимых генов, норме биохимических и физиологических реакций в зависимости от возраста, пола и линии. В экспериментальных исследованиях использовали как конвенциональные (стандартные ин- и аутбредные) линии мышей и крыс, так и мутантных животных, таких как бестимусные животные линии *pu*, нокаутные по гену нейропептида Y (NPY) [14], JAK2 киназы [15] и некоторые другие. Помимо грызунов, отдельные исследования были проведены с использованием сельскохозяйственных животных, включая цыплят [16], уток [17], кур-несушек и крупный рогатый скот [18]. Имеются примеры моделирования эффектов, связанных с полярным стрессом, на клеточных культурах [19]. Воздействие на биологические объекты факторов полярного окружения (низких температур, иммобилизации, сокращенного фотопериода) может осуществляться как изолированно, так и в сочетании с потреблением гиперкалорийного рациона с избытком жира и/или легкоусвояемых углеводов — так называемой диеты кафетерия [20], что может соответствовать некоторым характерным нарушениям питания в арктической зоне. Далее будут рассмотрены основные подходы к моделированию воздействия полярных условий на лабораторных животных.

Воздействие низких температур (холодовой стресс)

Содержание животных при низких температурах окружающей среды (в холодильнике или климатической камере) — наиболее популярный метод воспроизведения полярного стресса (59 публикаций за период с 1984 г. по настоящее время). Степень холодового воздействия при этом может быть различной и зависеть от холодовой устойчивости вида животных и задач эксперимента. Так, применительно к мышам — мелким животным с высокой интенсивностью энергетического метаболизма оптимальная температура окружающей среды составляет порядка +30 °С, и уже содержание при температуре +22 °С способно вызывать у них существенную стрессорную нагрузку [14]. Однако эти животные могут переносить и гораздо более жесткие холодовые нагрузки, например +5 °С в течение 5 ч [21]. Для крыс температурой, способной оказать выраженное стрессогенное воздействие уже при однократной экспозиции (0,5–12 ч), является +4 °С [15, 22]. Сообщается о возможности содержания крыс при температуре +14 °С в течение 14 дней [20].

Достаточно распространены модели, в которых грызунов подвергают подострому холодовому стрессу, т.е. периоды охлаждения чередуются с содержанием животных при комфортной для них температуре на протяжении длительного времени (нескольких недель). Так, нашла применение модель так называемого повторяющегося холодового стресса (SART), состоящая в помещении крыс или мышей в камеру с температурой –3 °С на 17 ч в темное время суток [23]. В более мягком варианте мышей подвергают охлаждению до +4 °С по 8 ч в день в течение 14 дней [24], а крыс — до +5 °С на 2 ч в течение 4 нед [25].

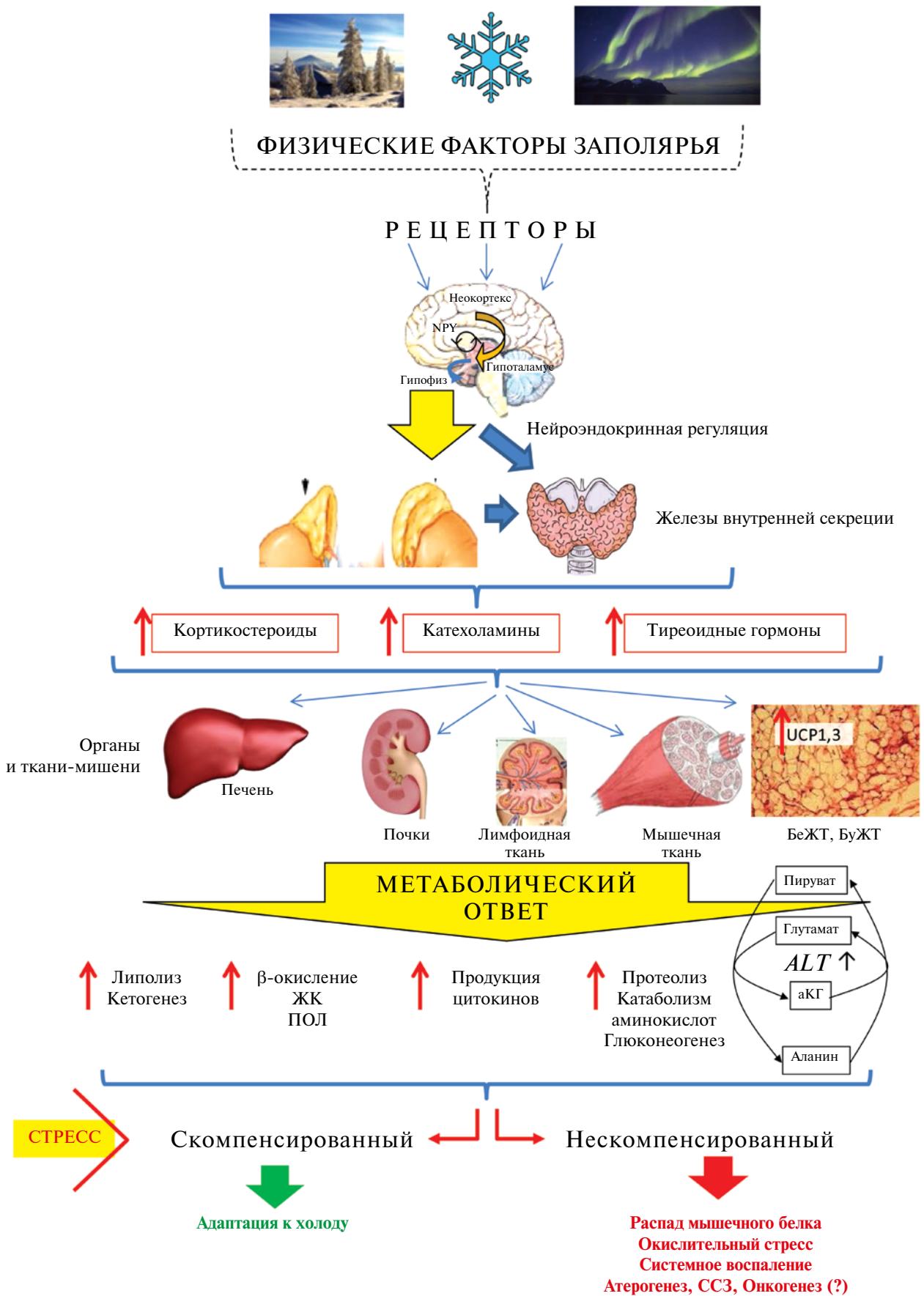


Рис. 1. Схема основных физиологических и метаболических звеньев развития полярного стресса и его патологических последствий: БеЖТ — белая жировая ткань; БуЖТ — бурая жировая ткань; UCP — разобщающий белок бурых адипоцитов; АЛТ — аланиновая аминотрансфераза; αКГ — альфа-кетоглутарат; ЖК — жирные кислоты; ПОЛ — перекисное окисление липидов; ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, NPY — нейропептид Y

Влияние факторов полярного стресса (в первую очередь низких температур) на потомство имеет эпигенетическую природу. Данная группа эффектов может быть смоделирована путем содержания беременных самок грызунов в условиях холода. Так, в работе [26], выполненной с использованием беременных самок американской древесной мыши, было показано, что изменения в скорости созревания бурой жировой ткани (БЖТ), вызванные холодным стрессом, воспроизводятся у потомства в первом поколении.

Комбинированное воздействие с иммобилизацией

Значительного усиления стрессогенного воздействия низких температур на грызунов можно достичь путем сочетания холодового стресса с иммобилизацией, которая чаще всего осуществляется путем их помещения в пластиковые трубки, куда они охотно заходят под влиянием безусловного «норкового рефлекса». Применительно к крысам данное комбинированное воздействие может производиться как однократно, так и в варианте подострого эксперимента, например ежедневно на протяжении 3 нед [27]. Мыши, в отличие от крыс, по-видимому, значительно хуже переносят сочетание иммобилизации с охлаждением. Фактором, усиливающим действие холодового стресса у мышей, является также кратковременное голодание в течение 20 ч [28].

Погружение в холодную воду

Помимо содержания при низких температурах окружающей среды, распространенным подходом к воспроизведению холодового стресса является погружение лабораторных грызунов в холодную воду с температурой от 0 °С (ледяная вода) до приблизительно 15–20 °С. Данное воздействие может осуществляться в вариантах как иммобилизации [29], так и свободного плавания [30]. У мышей использовали погружение в ледяную воду с иммобилизацией на 1 ч в сутки в течение недели [31]. Относительно высокая выживаемость мышей при таком экстремальном воздействии была предположительно обусловлена тем, что в эксперимент вводили животных с избытком жировой массы, вызванным потреблением гиперкалорийного рациона.

Биологические маркеры полярного стресса в эксперименте

Биологическое моделирование патологических состояний требует использования информативных биомаркеров, объективно характеризующих состояние подопытных животных. Согласно определению Национального института здоровья США (NIH), под биомаркером понимается любая объективно измеряемая характеристика, которая может служить в качестве индикатора физиологических и патологических биологических процессов или фармакологических ответов на терапевтическое вмешательство [32]. В таком аспекте биомаркерами могут рассматриваться всевозможные физиологические и интегральные показатели жизнедеятельности, включая кровяное давление, частоту пульса, температуру тела, физическую работоспособность, разнообразные количественно оцениваемые поведенческие реакции (когнитивная функция, уровень тревожности, локомоторная активность). В более узком смысле под биомаркерами подразумеваются химические соединения (как естественные метаболиты, так и экзогенно вводимые вещества),

факт присутствия или уровень которых в биосубстратах дают информацию о наличии, стадии, тяжести и прогнозе патологического процесса и характере воздействия на него применяемых терапевтических интервенций. Далее мы будем использовать термин «биомаркер» в широком смысле.

Гормоны коры надпочечников (кортикостероиды)

Кортикостероиды представляют собой производные холестерина, вырабатываемые корковым слоем надпочечников. Экспрессия ферментов биосинтетического пути кортикостероидов регулируется гипофизарным гормоном кортикотропином (адренокортикотропным гормоном, АКТГ), который, в свою очередь, находится под контролем гипоталамического кортикотропин-рилизинг-фактора CRFR 1-го типа и ряда его аналогов [21]. Помимо этого основного пути регуляции, метаболические пути синтеза и метаболизма кортикостероидов находятся под влиянием различных, в том числе алиментарных, факторов (жир и углеводы диеты [33], метаболиты витаминов А [34] и D3 [35]). Всего из надпочечников выделено более 40 кортикостероидов, из которых не менее 8 проявляют гормональную активность. Наибольшее значение в качестве гормона имеют альдостерон (минералокортикоид, регулирующий преимущественно обмен ионов K^+ и Na^+), кортизол и кортикостерон (глюкокортикоиды, функция которых состоит преимущественно в регуляции углеводного обмена). В то время как альдостерон синтезируется в физиологически значимых количествах у большинства видов млекопитающих, образование глюкокортикоидов имеет видовые особенности. Так, у человека и приматов, овец, мышей, морских свинок кора надпочечников синтезирует преимущественно кортизол, а у кроликов и крыс основной синтезируемой формой является кортикостерон [36].

Кортизол в качестве биомаркера холодового стресса используется главным образом в клинических наблюдениях. Так, M. Eimonte et al. отмечали повышение уровня этого гормона у здоровых добровольцев при погружении в холодную воду (14 °С) на 10 мин. Подъем уровня кортизола коррелировал со стрессорной физиологической реакцией, проявляющейся гипервентиляцией и усилением мышечной дрожи, метаболической выработкой тепла и повышением частоты сердечных сокращений, снижением продукции провоспалительного цитокина TNF- α [37]. У добровольцев, получавших добавки аминокислоты тирозина (предшественника дофамина), кортизол определяли в качестве биомаркера повышения устойчивости к холодовому стрессу [38]. В эксперименте уровень кортизола использовали в качестве биомаркера развития холодового стресса у мышей [39, 40].

Кортикостерон и кортикостерон-связывающий глобулин (СВГ) являются информативными биомаркерами изменений, вызываемых жестким холодным и другими видами стресса у крыс [36]. У этих животных как в молодом возрасте, так и в период старения холодовой стресс в сочетании с иммобилизацией сопровождался резким возрастанием уровня кортикостерона, что коррелировало с показателями окислительного стресса в печени и эритроцитах [41]. В отличие от крыс, у мышей, по данным [23], кортикостерон, по-видимому, не является информативным маркером стресса, вызванного охлаждением и системным воспалением.

Гормоны щитовидной железы

Гормоны щитовидной железы Т3 и Т4 играют важную роль в регуляции окислительного стресса, вызываемого

охлаждением (главным образом подострого, в интервале от нескольких дней до нескольких недель) у крыс и мышей [9]. Биохимические изменения, лежащие в основе термогенной реакции на холод, а также те, которые приводят к окислительному стрессу, требуют синергизма между сигналами, генерируемыми Т3 и норадреналином. Т4 вносит опосредованный вклад в качестве предшественника Т3 в индуцированное холодом окислительное повреждение БУЖТ. В адипоцитах БУЖТ при холодовом стрессе усиливается термогенез, движущей силой чего является превращение Т4 в Т3 под влиянием тканевых дейодиназ. Данный процесс регулируется белком А-ФАВР, связывающим жирные кислоты и одновременно обладающим плейотропной функцией адипокина [42]. Мыши с нокаутом белков *FABP4,5*, переносящих жирные кислоты, характеризуются выраженной гипертермией, более глубокими нарушениями углеводного и липидного обмена и функцией термогенеза в БУЖТ по сравнению с нормальными животными [28].

Катехоламины

Ответ катехоламинов характеризует ранние стадии реакции организма на стрессогенные воздействия и должен учитываться при моделировании полярного стресса [3]. Так, было показано, что при многократном воздействии холодной воды на мышью отмечается повышенный уровень норадреналина и адреналина в селезенке и половых путях, что коррелирует с повышением чувствительности к хламидийной инфекции [43]. Эти эффекты в значительной степени снижались у мышей с нокаутом генов β -адренорецепторов ($\beta 1\text{Adr}/\beta 2\text{Adr}$). В клинических наблюдениях у здоровых неаклиматизированных молодых взрослых мужчин (в возрасте 20–30 лет) при погружении в холодную воду 14 °С на 10 мин отмечали стрессовую физиологическую реакцию гипервентиляции и усиления мышечной дрожи, с метаболической выработкой тепла и ростом частоты сердечных сокращений, чему соответствовали повышенные уровни эпинефрина, норэпинефрина, а также кортизола [37].

Роль тирозина как предшественника катехоламинов в ответе на холодовой стресс подтверждается способностью этой аминокислоты, назначаемой в виде добавки к рациону, улучшать когнитивную функцию, нарушенную при холодовом стрессе [38].

Протеомные маркеры

В протеоме плазмы крови крыс выявлено 1085 белков, дифференциально экспрессируемых при холодовом стрессе; из них 39 были подвергнуты масс-спектрометрическому скринингу, в том числе 29 белков с повышающей регуляцией и 10 белков с отрицательной регуляцией. Три важных дифференциально экспрессируемых белка, связанных с холодовым стрессом, были идентифицированы с помощью биоинформатического анализа (минорный белок гистосовместимости *HA-1*, *Has*-родственный белок *Rar-1b*, интегрин β -1) [44].

Состав липидов жировой ткани

Липидом, т.е. совокупный состав всех фракций липидов, в печени, плазме крови, белой жировой ткани (БЖТ) и БУЖТ мышей специфически изменялся при мягком (22 °С) или жестком (5 °С) холодовом стрессе. Всего были выявлены вариации в содержании 239 липидов в плазме, 134 — в БУЖТ и 51 — в печени. В частности, в плазме содержание ацилкарнитинов и свободных жирных кислот повышалось при 5 °С, а триглицеридов — снижалось

при 22 и 5 °С. Эфирные липиды явились новым классом липидов, индуцируемых холодом. В БУЖТ содержание триглицеридов значительно снижалось как при 22 °С, так и при 5 °С. В печени триглицериды были наиболее изменяемым классом липидов, количеством которых увеличивалось при 5 °С. При этом в большей степени накапливались триглицериды, содержащие более длинные и ненасыщенные жирные кислоты [45].

Микро-РНК

Микро-РНК (miRs) оказывают разнообразные регуляторные воздействия на экспрессию в клетке громадного числа генов. Однако роль этих молекул в развитии холодового стресса изучена недостаточно. В работе [46] у крыс, подвергшихся однократному холодовому стрессу, в печени возрастала экспрессия *miR-210*. С помощью биоинформатического анализа выявлены гены — потенциальные мишени действия *miR210*, включая *E2F3*, *RAD52*, *ISCU* и *Ephrin-A3*, участвующие в регуляции процессов пролиферации и апоптоза.

В другом исследовании в печени крыс при холодовом стрессе гиперэкспрессия *miR-210* оказывала влияние на процессы гликолиза, апоптоза и экспрессию большого числа (более 500) генов [47].

Сигнальные молекулы

При анализе механизмов холодового стресса важно выявление сигнальных молекул, осуществляющих передачу информации в ядро клетки о внешних неблагоприятных факторах, с последующей экспрессией соответствующих групп генов.

Было показано, что при охлаждении в клетках *HepG2* обратимо усиливается фосфорилирование *c-Jun-N* терминальной киназы *JNK1* [19]. При холодовом стрессе с иммобилизацией у мышью быстро развиваются язвенные поражения желудка, в которых отмечается повышенная экспрессия *JNK*. *JNK*-дефицитные мутантные мыши в значительной степени устойчивы к развитию язвенных поражений при таком виде стресса. Под влиянием атропина развитие язв слизистой и экспрессия *JNK* блокировались, что указывает на вовлеченность вагус-холинэргического механизма в этом эффекте.

Экспрессия при низких температурах активирует *MAPK*-сигнальный путь и апоптоз в гиппокампе молодых мышью [48]. Механизм реакции на холод, изначально опосредуемый гиперпродукцией кортизола у мышью, включает экспрессию *APMK*-киназы, вызывающей усиление транслокации транскрипционного фактора *NRF-2* в ядро клетки печени [40].

Экспрессия янус-киназы *JAK-2* повышается у мышью в БУЖТ при холодовом стрессе в сочетании с потреблением высокожирового рациона, приводя к усилению экспрессии термогенных разобщающих белков *UCP-1* и *-3*. При нокауте гена *JAK-2* эффекты влияния холода на БУЖТ блокируются. Эти данные позволили сделать вывод о главенствующей роли *JAK-2* как сигнального белка при холодовом стрессе [15].

В ряде исследований показана роль цинк-зависимых сигнальных молекул в развитии явлений, сопровождающих пребывание в полярных условиях. Так, *Zfp516* является транскрипционным активатором белка *UCP1*, что определяет адаптацию адипоцитов БУЖТ к развитию холодового стресса [49]. Холодовой стресс у мышью вызывает побурение белого жира, повышенную экспрессию в скелетных мышцах маркеров БУЖТ *PGC1 α* , *UCP2*, *UCP3*, *COX1*. Эти явления блокируются у животных

с нокаутом гена Zn- α 2-гликопротеина (ZAG), представляющего собой адипокин БуЖТ. При инъекции мышам плазмид гена ZAG их нормальный ответ на холодовой стресс восстанавливается [50].

Экспрессия гена Vaspin (специфического ингибитора сериновых протеаз) снижается в БуЖТ у мышей при холодовом стрессе и под воздействием высокожирового рациона [51].

Роль транслоказы жирных кислот CD36 в адаптации БуЖТ к холоду была раскрыта в работе [52], где было показано, что при нокауте этого гена в БуЖТ и мышцах развивается комплекс изменений в липидном обмене, аналогичный наблюдаемому при холодовом стрессе.

Пептидные гормоны

Пептидные гормоны, в том числе принадлежащие к семейству нейропептидов, по имеющимся данным, играют важную роль в развитии реакции на холодовое воздействие и другие неблагоприятные факторы, лежащие в основе полярного стресса.

Известно, что при мягком холодовом стрессе у мышей повышаются энергозатраты термогенеза, чему соответствует «побурение» БуЖТ с ростом экспрессии в ней разобщающего белка UCP-1, а также снижение минерализации костей. При нокауте гена нейропептида Y (NPY) эффекты повышения энергозатрат и UCP-1 потенцировались, а снижение минерализации костей, напротив, отменялось [14]. У мышей с ожирением, вызванным высокожировым рационом, холодовой стресс (погружение в ледяную воду) вызывает повышение гликемии, массы тела, экспрессии в миндалине головного мозга NPY совместно с сигнальными молекулами c-Fos и BDNF, что, как полагают, свидетельствует о роли NPY-эргических нейронов в развитии ожирения, стимулированного холодовым стрессом [31].

Маркеры окислительного стресса

В клинических наблюдениях установлено, что явления окислительного стресса и перекисного окисления липидов, вызванные физическими упражнениями у спортсменов, потенцируются при занятиях в условиях низких температур [53].

По данным многочисленных ранних исследований, холодовой стресс в сочетании с иммобилизацией у крыс сопровождался резким возрастанием уровня липоперекисей, увеличением активности глутатионпероксидазы (GPX), глутатионредуктазы (GR), снижением запасов восстановленного глутатиона (GSH). Указанные изменения выявлены в печени и эритроцитах, но не в головном мозге. С возрастом у крыс указанные эффекты изменялись незначительно.

При холодовом стрессе у крыс развивались окислительные процессы в печени, головном мозге и сердце по показателям содержания малонового диальдегида, диеновых конъюгатов, карбонилированных белков, нитротирозина, активности каталазы, супероксиддисмутазы (SOD), GPX, запасов GSH, витамина E и аскорбиновой кислоты. Эти явления могли быть устранены путем инъекций карнозина в дозе 250 мг/кг в течение 3 нед [27]. В условиях повторяющегося на протяжении 4 нед холода у крыс отмечено повышение уровней в плазме крови малонового диальдегида, карбонилированных белков, липоперекисей. При внутривенном введении животным аскорбиновой кислоты эти эффекты ингибировались [25].

В исследовании [41] показано развитие процессов перекисного окисления липидов, снижение активности

антиоксидантных ферментов, истощение запасов GSH в головном мозге, печени, почках, сердце и желудке крыс, подвергнутых подострому воздействию низкой температуры в течение 15 сут.

Усиление перекисного окисления липидов при холодовом стрессе находится, по данным работы [54], под влиянием опиоидных рецепторов, на что указывает ингибирование этих процессов у животных, которым вводили налоксон.

Цитокины и адипокины

Цитокины и адипокины являются чувствительными биомаркерами системного воспаления, вызванного холодовым стрессом и другими факторами полярной среды.

Концентрация провоспалительного IL-6 повышалась под влиянием холода в легких, печени, головном мозге и сердце крыс [55]. При сочетанном воздействии низких температур и инъекций адреномедуллина (гипотензивного пептида мозгового слоя надпочечников) эффект повышения IL-6 потенцировался в головном мозге и сердце и подавлялся в легких и печени. В гиппокампе мышей холодовой стресс вызывает повышение экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, TNF- α за счет активации NF- κ B-сигнального пути с развитием воспаления микроглии. Одновременно отмечается повышенная экспрессия индуцибельной синтазы окиси азота (iNOS) и пониженная — сиртуина (Sirt-1) [56].

Многочисленное воздействие холодной воды на мышей приводит к повышенной продукции IL-1 β , TNF- α , IL-6 и окиси азота в перитонеальных макрофагах, что сопровождается усилением тяжести хламидийной генитальной инфекции и последующим более высоким уровнем бесплодия [43].

У мышей, подвергавшихся воздействию экстремально низкой температуры -20°C в течение 10 мин, наблюдались повышенная продукция IL-10 макрофагами, а также налоксон-зависимая стимуляция выработки TNF- α . Существенного влияния на продукцию IL-1 β в данных условиях выявлено не было. Согласно проведенному фармакологическому анализу, данный тип цитокин-зависимого воспаления опосредовался активностью опиоидных рецепторов [54].

В бронхоальвеолярном лаваже мышей, подвергнутых воздействию липополисахарида, холодовой стресс увеличивал содержание макрофагов и нейтрофилов, а также IL-12, IL-17 и MIG [24]. В клетках эпителия тонкой кишки у мышей под воздействием низких температур отмечалось усиление продукции IL-33, что может рассматриваться как один из факторов, усиливающих вероятность аллергической сенсибилизации по IgE-зависимому (немедленному) типу. Данный тип цитокинового ответа развивался в зависимости от уровня кортизола и АКГГ [39].

В клинических наблюдениях у добровольцев повышенная выработка IL-6 в сочетании со сниженными уровнями противовоспалительных цитокинов отмечалась в работах [37, 57].

Мыши с глобальным двойным нокаутом гена CCL5 (RANTES) и его рецептора CCR5 имели более высокий расход энергии, вызванный холодовым стрессом, и AMPK-опосредованную термогенную функцию в БуЖТ, чем мыши дикого типа. Делеция CCL5/CCR5 дополнительно способствовала индуцированной холодом экспрессии генов, связанных с окислительным фосфорилированием и путями метаболизма липидов. Напротив, сверхэкспрессия CCL5 и CCR5 путем локальной инъекции их ДНК в лентивирусном векторе подавляла липо-

литические процессы, вызванные холодным стрессом, и термогенную активность [58].

Роль адипокина жировой ткани FGF21 в иммунной реакции при холодном стрессе у мышей с диет-индуцированным ожирением была показана в экспериментах, когда имитирующие этот фактор антиидиотипические антитела вызывали резкие сдвиги в генной экспрессии в макрофагах с их трансформацией из M1- в M2-тип [20]. При холодном воздействии у мышей сигнальный путь FGF21 определяет процесс трансформация БеЖТ в БуЖТ (так называемое побурение жира). Биологическими маркерами этого процесса являются повышенная экспрессия разобщающего белка UCP-1, а также дифференциальная экспрессия сигнальных молекул ADRB3, PGC1 α и самого FGF21 [59].

Поведенческие реакции

По данным ряда ранних работ, при повторяющемся холодном стрессе у мышей развивался повышенный уровень тревожности, что проявлялось в сокращении времени пребывания в открытых рукавах установки в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (тест ПКЛ). При других изученных видах стресса такой эффект отсутствовал. При этом холодный стресс не влиял на показатели подвижности животных в тесте ПКЛ. Обнаруженный эффект, согласно проведенному фармакологическому анализу, был связан с функцией серотониновых и бензодиазепиновых рецепторов центральной нервной системы.

В исследовании [60] крыс подвергали холодному стрессу в состоянии покоя и в ходе выполнения теста распознавания предметов (когнитивная функция). Воздействие холода достоверно снижало когнитивные функции, что коррелировало с ростом уровня норадреналина, свободных жирных кислот в крови, повышенной экспрессией UCP1 в БуЖТ.

В клинических наблюдениях у здоровых добровольцев при многократных погружениях в холодную воду наблюдается холодная адаптация, проявлявшаяся в улучшении показателей в тестах когнитивной и психомоторной функций. Данные эффекты, однако, не удалось сопоставить с какими-либо определенными изменениями на электроэнцефалограмме [61].

Влияние биологически активных веществ на показатели полярного стресса

В ходе медико-биологических исследований полярного стресса возникает актуальная задача поиска профилактических диетических факторов, в первую очередь биологически активных веществ, способных осуществлять профилактику и корректировать неблагоприятное действие факторов полярной зоны на организм. Однако данные по этому вопросу, имеющиеся в доступной литературе, в настоящее время фрагментарны. Наибольшее число работ в этом направлении связано с лечебно-профилактическим применением биоантиоксидантов.

У цыплят в результате холодного стресса развиваются процессы перекисного окисления липидов в крови и мышцах, нарушаются показатели холестерина обмена, что может быть блокировано при снабжении селеном в форме бактериальной биомассы [16]. В результате потребления добавок цинка и корицы (источник коричных кислот) у кур, подвергавшихся холодному стрессу, повышалась яйценоскость, увеличивалась масса

яиц и нормализовались уровень глюкозы и липидограмма плазмы крови [62].

По данным [25], введение крысам аскорбиновой кислоты и витамина Е снижало проявления окислительного стресса, вызванного воздействием повторяющегося холода. Снабжение витаминами А, Е и К восстанавливало функцию иммунитета и повышало адаптационный потенциал у крыс, плавающих в холодной воде [30]. В печени крыс окислительные процессы в печени, головном мозге и сердце, развивающиеся при холодном стрессе, могли быть устранены путем инъекций карнозина в дозе 250 мг/кг в течение 3 нед [27]. В изолированном сердце крыс, подвергнутых кратковременному жесткому (острому) холодному стрессу, резко снижается сократительная активность миокарда и нарушается его ультраструктура. Эти неблагоприятные явления могли быть блокированы пероральным снабжением крыс в течение 5 сут, предшествующих эксперименту, коэнзимом Q10 в дозе 10 мг [63].

Растительные экстракты, содержащие источники биофлавоноидов, устраняли дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов, вызванных холодным стрессом с иммобилизацией у крыс. Введение в рацион крыс «термогенных» (т.е. способствующих повышению температуры тела) добавок — экстрактов черного перца и корицы — приводило к нормализации уровней норадреналина и свободных жирных кислот в крови и способствовало повышению экспрессии разобщающего белка UCP-1 в БуЖТ [60].

В начальный период холодного стресса у крыс отмечалось снижение активности алкогольдегидрогеназы и уровней эндогенного этанола и ацетальдегида в плазме крови. Введение животным в невысоких дозах экзогенного этанола позволяло корректировать эти изменения [64].

Заключение

В основе реакции организма на условия Заполярья лежат процессы, связанные с возбуждением центров среднего мозга и развитием последующего системного гормонального ответа. Вторичными мишенями этих воздействий являются мышечная ткань, эндотелий, БеЖТ и БуЖТ, клетки иммунной системы, в которых происходят изменения, направленные на нейтрализацию внешнего неблагоприятного воздействия. Однако при некомпенсированном стрессе эти реакции вторичных органов-мишеней приобретают патологический характер, приводящий к развитию окислительного стресса, системного воспаления и, как следствие, сердечно-сосудистых, аутоиммунных и других заболеваний.

Разработка методов профилактики и коррекции патологии, связанной с полярным стрессом, требует наличия адекватных моделей *in vivo*. Такие модели, разработанные в настоящее время, включают различные виды острого или подострого (многодневного) холодного воздействия на лабораторных животных как изолированно, так и в сочетании с иммобилизацией или, наоборот, с форсированной физической нагрузкой в качестве дополнительных стрессогенных факторов.

Наиболее чувствительными и специфичными биомаркерами дизадаптации, сопровождающей полярный стресс, являются уровни в плазме крови, органах и в отделах головного мозга кортикостероидов, катехоламинов, нейропептидов, микро-РНК (miR-210), изменения в экспрессии генов сигнальных молекул и разобщающих белков (UCP) в БуЖК, показатели окислительного стресса

(содержание липоперекисей и малонового диальдегида, активность ферментов антиоксидантной защиты — GPX, GR, SOD, каталазы и др.), содержание биоантиоксидантов (витамина Е, аскорбиновой кислоты, каротиноидов, GSH), цитокины и хемокины, включая IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17, IL-33, RANTES, FGF21 и различные формы их рецепторов.

Перечисленный перечень биомаркеров создает основу для лабораторного моделирования условий Заполярья, что является необходимым звеном в системе доклинической апробации специализированных диетических профилактических продуктов, лечебно-профилактических диет и биологически активных добавок к пище, рекомендуемых для диетической коррекции неблагоприятных последствий полярного стресса.

Вопрос о диетической коррекции и профилактике последствий полярного стресса в литературе изучен недостаточно. Основная роль в этом уделяется антиоксидантным факторам диеты, в числе которых следует указать витамины Е и С, селен, цинк, коэнзим Q10, коричневые кислоты и биофлавоноиды. Однако для обоснования схем и доз эффективного клинического применения указан-

ных биологически активных добавок необходимы дополнительные исследования.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований (тема Минобрнауки России № FGMF-2022-0001).

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

Участие авторов. И.В. Гмошинский — отбор литературных источников, систематизация данных, иллюстрации, написание исходного варианта статьи; Д.Б. Никитюк — разработка концепции исследования, редактирование финального варианта статьи, взаимодействие с источником финансирования. Все авторы внесли значимый вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию текста перед публикацией.

ЛИТЕРАТУРА

- Хаснулин В.И. *Введение в полярную медицину*. — Новосибирск: СО РАМН, 1998. — 337 с. [Khasnulin VI. *Introduction to polar medicine*. Novosibirsk: SO RAMN; 1998. 337 p. (In Russ.)]
- Sharma A, Verma HK, Joshi S, et al. A link between cold environment and cancer. *Tumour Biol.* 2015;36(8):5953–5964. doi: <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3270-0>
- Bandyopadhyaya S, Ford B, Mandal CC. Cold-hearted: A case for cold stress in cancer risk. *J Therm Biol.* 2020;91:102608. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2020.102608>
- Okimura K, Nakane Y, Nishiwaki-Ohkawa T, et al. Photoperiodic regulation of dopamine signaling regulates seasonal changes in retinal photosensitivity in mice. *Sci Rep.* 2021;11(1):1843. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81540-w>
- Srivastava KK, Kumar R. Human nutrition in cold and high terrestrial altitudes. *Int J Biometeorol.* 1992;36(1):10–13. doi: <https://doi.org/10.1007/BF01208728>
- Glanz K, Bishop DB. The role of behavioral science theory in development and implementation of public health interventions. *Annu Rev Public Health.* 2010;31:399–418. doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.012809.103604>
- Salim S. Oxidative stress: a potential link between emotional wellbeing and immune response. *Curr Opin Pharmacol.* 2016;29:70–76. doi: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2016.06.006>
- Okumoto K, Tamura S, Honsho M, et al. Peroxisome: Metabolic functions and biogenesis. *Adv Exp Med Biol.* 2020;1299:3–17. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-60204-8_1
- Venditti P, Di Stefano L, Di Meo S. Oxidative stress in cold-induced hyperthyroid state. *J Exp Biol.* 2010;213(Pt 17):2899–2911. doi: <https://doi.org/10.1242/jeb.043307>
- Dzietko M, Boos V, Siffringer M, et al. A critical role for Fas/CD-95 dependent signaling pathways in the pathogenesis of hyperoxia-induced brain injury. *Ann Neurol.* 2008;64(6):664–673. doi: <https://doi.org/10.1002/ana.21516>
- Förstermann U, Xia N, Li H. Roles of vascular oxidative stress and nitric oxide in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ Res.* 2017;120(4):713–735. doi: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309326>
- Коденцова В.М., Вржесинская О.А., Мазо В.К. Витамины и окислительный стресс // *Вопросы питания*. — 2013. — Т. 82. — № 3. — С. 11–18. [Kodentsova VM, Vrzhesinskaya OA, Mazo VK. Vitamins and oxidative stress. *Voprosy pitaniya*. 2013;82(3):11–18. (In Russ.)]
- Arreaza-Gil V, Escobar-Martínez I, Suárez M, et al. Gut seasons: photoperiod effects on fecal microbiota in healthy and cafeteria-induced obese Fisher 344 rats. *Nutrients.* 2022;14(3):722. doi: <https://doi.org/10.3390/nu14030722>
- Wee NKY, Nguyen AD, Enriquez RF, et al. Neuropeptide Y regulation of energy partitioning and bone mass during cold exposure. *Calcif Tissue Int.* 2020;107(5):510–523. doi: <https://doi.org/10.1007/s00223-020-00745-9>
- Shi SY, Zhang W, Luk CT, et al. JAK2 promotes brown adipose tissue function and is required for diet- and cold-induced thermogenesis in mice. *Diabetologia.* 2016;59(1):187–196. doi: <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3786-2>
- Yang J, Zhang M, Zhou Y. Effects of selenium-enriched *Bacillus* sp. compounds on growth performance, antioxidant status, and lipid parameters breast meat quality of Chinese Huainan partridge chicks in winter cold stress. *Lipids Health Dis.* 2019;18(1):63. doi: <https://doi.org/10.1186/s12944-019-1015-6>
- Cui Y-M, Wang J, Zhang H-J, et al. Effects of photoperiod on performance, ovarian morphology, reproductive hormone level, and hormone receptor mRNA expression in laying ducks. *Poult Sci.* 2021;100(4):100979. doi: <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.01.002>
- Xu Q, Wang YC, Liu R, et al. Differential gene expression in the peripheral blood of Chinese Sanhe cattle exposed to severe cold stress. *Genet Mol Res.* 2017;16(2). doi: <https://doi.org/10.4238/gmr16029593>
- Ohsaka Y, Ohgiya S, Hoshino T, et al. Phosphorylation of c-Jun N-terminal kinase in human hepatoblastoma cells is transiently increased by cold exposure and further enhanced by subsequent warm incubation of the cells. *Cell Physiol Biochem.* 2002;12(2–3):111–118. doi: <https://doi.org/10.1159/000063787>
- Chang JC, Durinck S, Chen MZ, et al. Adaptive adipose tissue stromal plasticity in response to cold stress and antibody-based metabolic therapy. *Sci Rep.* 2019;9(1):8833. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45354-1>
- Kuperman Y, Weiss M, Dine J, et al. CRFR1 in AgRP neurons modulates sympathetic nervous system activity to adapt to cold stress and fasting. *Cell Metab.* 2016;23(6):1185–1199. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.017>
- Guo W-J, Lian S, Guo J-R, et al. Biological function prediction of mir-210 in the liver of acute cold stress rat. *Sheng Li Xue Bao.* 2016;68(2):165–170.

23. Miyamoto T, Funakami Y, Kawashita E, et al. Enhanced hyperthermic responses to lipopolysaccharide in mice exposed to repeated cold stress. *Pharmacology*. 2017;99(3–4):172–178. doi: <https://doi.org/10.1159/000454815>
24. Joo S-Y, Park M-J, Kim K-H, et al. Cold stress aggravates inflammatory responses in an LPS-induced mouse model of acute lung injury. *Int J Biometeorol*. 2016;60(8):1217–1225. doi: <https://doi.org/10.1007/s00484-015-1116-5>
25. Asha Devi S, Manjula KR, Subramanyam MVV. Protective role of vitamins E and C against oxidative stress caused by intermittent cold exposure in aging rat's frontoparietal cortex. *Neurosci Lett*. 2012;529(2):155–160. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2012.09.041>
26. Robertson CE, McClelland GB. Ancestral and developmental cold alter brown adipose tissue function and adult thermal acclimation in *Peromyscus*. *J Comp Physiol B*. 2021;191(3):589–601. doi: <https://doi.org/10.1007/s00360-021-01355-z>
27. Kalaz EB, Evran B, Develi-İş S, et al. Effect of carnosine on prooxidant-antioxidant balance in several tissues of rats exposed to chronic cold plus immobilization stress. *J Pharmacol Sci*. 2012;120(2):98–104. doi: <https://doi.org/10.1254/jphs.12107fp>
28. Syamsunarno MR, Iso T, Yamaguchi A, et al. Fatty acid binding protein 4 and 5 play a crucial role in thermogenesis under the conditions of fasting and cold stress. *PLoS One*. 2014;9(6):e90825. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090825>
29. Liu Y-L, Bi H, Fan R, et al. Effect of compound nutrients on acute immobilization and cold water-immersion stress-induced changes of Th1/Th2 cytokines. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. 2012;28(6):601–603.
30. Авакян А.Р., Бровкина И.Л., Лазарев А.И., и др. Иммуномодулирующее действие препаратов жирорастворимых витаминов после интенсивных физических нагрузок, выполняемых при низкой температуре окружающей среды // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. — 2002. — Т. 3. — С. 26–29. [Avakyan AR, Brovkina IL, Lazarev AI, et al. Immunomodulatory effect of fat-soluble vitamin preparations after intense physical exertion performed at low ambient temperatures. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2002;3:26–29. (In Russ.)]
31. Zhu P, Zhang Z-H, Huang X-F, et al. Cold exposure promotes obesity and impairs glucose homeostasis in mice subjected to a high-fat diet. *Mol Med Rep*. 2018;18(4):3923–3931. doi: <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9382>
32. Пешков М.Н., Шарова Е.И., Клубуков И.Д. Использование постгеномных технологий для диагностики онкологических заболеваний на примере рака предстательной железы // *Российский онкологический журнал*. — 2015. — Т. 20. — № 2. — С. 29–32. [Peshkov MN, Sharova EI, Klubukov ID. The use of post-genomic technologies for the diagnosis of oncological diseases on the example of prostate cancer. *Rossiyskiy onkologicheskii zhurnal*. 2015;20(2):29–32. (In Russ.)]
33. Duthiel S, Ota KT, Wohleb ES, et al. High-fat diet induced anxiety and anhedonia: impact on brain homeostasis and inflammation. *Neuropsychopharmacology*. 2016;41(7):1874–1887. doi: <https://doi.org/10.1038/npp.2015.357>
34. Zinder R, Cooley R, Vlad LG, et al. Vitamin A and wound healing. *Nutr Clin Pract*. 2019;34(6):839–849. doi: <https://doi.org/10.1002/ncp.10420>
35. Camargo A, Dalmagro AP, Rikel L, et al. Cholecalciferol counteracts depressive-like behavior and oxidative stress induced by repeated corticosterone treatment in mice. *Eur J Pharmacol*. 2018;833:451–461. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.07.002>
36. Opperhuizen AL, van Kerkhof LW, Proper KI, et al. Rodent models to study the metabolic effects of shiftwork in humans. *Front Pharmacol*. 2015;6:50. doi: <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00050>
37. Eimonte M, Paulauskas H, Daniuseviciute L, et al. Residual effects of short-term whole-body cold-water immersion on the cytokine profile, white blood cell count, and blood markers of stress. *Int J Hyperthermia*. 2021;38(1):696–707. doi: <https://doi.org/10.1080/02656736.2021.1915504>
38. Mahoney CR, Castellani J, Kramer FM, et al. Tyrosine supplementation mitigates working memory decrements during cold exposure. *Physiol Behav*. 2007;92(4):575–582. doi: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2007.05.003>
39. Liu J-Q, Hu T-Y, Diao K-Y, et al. Cold stress promotes IL-33 expression in intestinal epithelial cells to facilitate food allergy development. *Cytokine*. 2020;136:155295. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155295>
40. Xu B, Lang L-M, Li S-Z, et al. Cortisol excess-mediated mitochondrial damage induced hippocampal neuronal apoptosis in mice following cold exposure. *Cells*. 2019;8(6):612. doi: <https://doi.org/10.3390/cells8060612>
41. Sahin E, Gumuslu S. Cold-stress-induced modulation of antioxidant defence: role of stressed conditions in tissue injury followed by protein oxidation and lipid peroxidation. *Int J Biometeorol*. 2004;48(4):165–171. doi: <https://doi.org/10.1007/s00484-004-0205-7>
42. Shu L, Hoo RL, Wu X, et al. A-FABP mediates adaptive thermogenesis by promoting intracellular activation of thyroid hormones in brown adipocytes. *Nat Commun*. 2017;8:14147. doi: <https://doi.org/10.1038/ncomms14147>
43. Belay T, Woart A, Graffeo V. Effect of cold water-induced stress on immune response, pathology and fertility in mice during *Chlamydia muridarum* genital infection. *Pathog Dis*. 2017;75(5):ftx045. doi: <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx045>
44. Liu Y-Z, Guo J-R, Peng M-L, et al. Screening differentially expressed plasma proteins in cold stress rats based on iTRAQ combined with mass spectrometry technology. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*. 2015;31(5):392–395,400.
45. Pernes G, Morgan PK, Huynh K, et al. Characterization of the circulating and tissue-specific alterations to the lipidome in response to moderate and major cold stress in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2021;320(2):R95–R104. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00112.2020>
46. Guo W-J, Lian S, Guo J-R, et al. Biological function prediction of mir-210 in the liver of acute cold stress rat. *Sheng Li Xue Bao*. 2016;68(2):165–170.
47. Guo W, Lian S, Zhen L, et al. The favored mechanism for coping with acute cold stress: upregulation of miR-210 in rats. *Cell Physiol Biochem*. 2018;46(5):2090–2102. doi: <https://doi.org/10.1159/000489449>
48. Xu B, Lian S, Guo J-R, et al. Activation of the MAPK signaling pathway induces upregulation of pro-apoptotic proteins in the hippocampi of cold stressed adolescent mice. *Neurosci Lett*. 2019;699:97–102. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.12.028>
49. Dempersmier J, Sambeat A, Gulyaeva O, et al. Cold-inducible Zfp516 activates UCP1 transcription to promote browning of white fat and development of brown fat. *Mol Cell*. 2015;57(2):235–246. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2014.12.005>
50. Fan G, Li Y, Ma F, et al. Zinc-α2-glycoprotein promotes skeletal muscle lipid metabolism in cold-stressed mice. *Endocr J*. 2021;68(1):53–62. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ20-0179>
51. Weiner J, Rohde K, Krause K, et al. Brown adipose tissue (BAT) specific vaspin expression is increased after obesogenic diets and cold exposure and linked to acute changes in DNA-methylation. *Mol Metab*. 2017;6(6):482–493. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.03.004>
52. Putri M, Syamsunarno MR, Iso T, et al. CD36 is indispensable for thermogenesis under conditions of fasting and cold stress. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;457(4):520–525. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.12.124>
53. Martarelli D, Cocchioni M, Scuri S, et al. Cold exposure increases exercise-induced oxidative stress. *J Sports Med Phys Fitness*. 2011;51(2):299–304.

54. Гейн С.В., Шаравьева И.Л. Влияние холодового стресса на функциональную активность перитонеальных макрофагов мыши в условиях блокады опиатных рецепторов // *Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова*. — 2016. — Т. 102. — № 2. — С. 188–194. [Gein SV, Sharav'eva IL. The effect of cold stress on the functional activity of mouse peritoneal macrophages under conditions of blockade of opiate receptors. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. I.M.Sechenova*. 2016;102(2):188–194. (In Russ.)]
55. Yildirim NC, Yurekli M. The effect of adrenomedullin and cold stress on interleukin-6 levels in some rat tissues. *Clin Exp Immunol*. 2010;161(1):171–175. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2010.04156.x>
56. Xu B, Lang L-M, Lian S, et al. Neuroinflammation induced by secretion of acetylated HMGB1 from activated microglia in hippocampi of mice following chronic cold exposure. *Brain Res*. 2020;1726:146495. doi: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146495>
57. LaVoy EC, McFarlin BK, Simpson RJ. Immune responses to exercising in a cold environment. *Wilderness Environ Med*. 2011;22(4):343–351. doi: <https://doi.org/10.1016/j.wem.2011.08.005>
58. Chan P-C, Hung L-M, Huang J-P, et al. Augmented CCL5/CCR5 signaling in brown adipose tissue inhibits adaptive thermogenesis and worsens insulin resistance in obesity. *Clin Sci (Lond)*. 2022;136(1):121–137. doi: <https://doi.org/10.1042/CS20210959>
59. Piao Z, Zhai B, Jiang X, et al. Reduced adiposity by compensatory WAT browning upon iBAT removal in mice. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;501(3):807–813. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.05.089>
60. Pandit C, Sai Latha S, Usha Rani T, et al. Pepper and cinnamon improve cold induced cognitive impairment via increasing non-shivering thermogenesis; a study. *Int J Hyperthermia*. 2018;35(1):518–527. doi: <https://doi.org/10.1080/02656736.2018.1511835>
61. Jones DM, Bailey SP, De Pauw K, et al. Evaluation of cognitive performance and neurophysiological function during repeated immersion in cold water. *Brain Res*. 2019;1718:1–9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.04.032>
62. Toriki M, Akbari M, Kaviani K. Single and combined effects of zinc and cinnamon essential oil in diet on productive performance, egg quality traits, and blood parameters of laying hens reared under cold stress condition. *Int J Biometeorol*. 2015;59(9):1169–1177. doi: <https://doi.org/10.1007/s00484-014-0928-z>
63. Murad N, Takiuchi K, Lopes AC, et al. Coenzyme Q10 exogenous administration attenuates cold stress cardiac injury. *Jpn Heart J*. 2001;42(3):327–338. doi: <https://doi.org/10.1536/jhj.42.327>
64. Kolosova ON, Kershengolts BM. Stabilization of homeostasis in rats during cold exposure with ethanol. *Bull Exp Biol Med*. 2016;160(3):300–303. doi: <https://doi.org/10.1007/s10517-016-3156-1>

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Гмошинский Иван Всеволодович, д.б.н. [*Ivan V. Gmshinski*, PhD in Biology]; 1091240, Москва, Устьинский проезд, д. 2/14 [address: 2/14 Ust'insky proezd, 109240, Moscow, Russia]; e-mail: gmosh@ion.ru, SPIN-код: 4501-9387, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>

Никитюк Дмитрий Борисович, д.м.н., профессор, академик РАН [*Dmitry B. Nikityuk*, MD, PhD, Professor, Academician of the RAS]; e-mail: mailbox@ion.ru, SPIN-код: 1236-8210, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4968-4517>

Л.В. Осадчук, А.В. Осадчук

Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация

Влияние ожирения и малоподвижного образа жизни на уровень тестостерона и основные показатели метаболического статуса молодых мужчин

Обоснование. Снижение мужского репродуктивного потенциала наблюдается в различных странах на протяжении последних десятилетий. Предполагается, что происходит это частично за счет влияния факторов индивидуального образа жизни, в частности избыточного питания и снижения физической активности, приводящих к ожирению. Однако влияние ожирения в сочетании с малой подвижностью или физически активным образом жизни на уровень репродуктивных гормонов и метаболический гомеостаз изучено недостаточно. **Цель исследования** — изучить эффекты ожирения в сочетании с малоподвижностью или физически активным образом жизни на уровень репродуктивных гормонов и основные показатели метаболического статуса у молодых мужчин. **Методы.** Молодым мужчинам-добровольцам (медиана возраста — 23 года, $n = 295$) из общей популяции проводилась антропометрия, которая включала измерение роста и массы тела, окружности талии и бедер, оценку индекса массы тела (ИМТ), а также анонимное и добровольное анкетирование, содержащее вопросы относительно индивидуального образа жизни. Оценивалась концентрация лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, тестостерона, эстрадиола и ингибина В, а также триглицеридов (ТГ), общего холестерина (ОХ), холестерина липопротеидов высокой (х-ЛПВП) и низкой (х-ЛПНП) плотности, глюкозы и мочевой кислоты в сыворотке крови. **Результаты.** Наиболее важные нарушения липидного обмена, наблюдаемые при избыточном весе и ожирении у молодых мужчин, включали увеличение уровня ТГ, ОХ, х-ЛПНП и снижение уровня х-ЛПВП. Избыточная масса тела и ожирение сопровождалось увеличением окружности талии и бедер, снижением уровня тестостерона и ингибина В в сыворотке крови, причем недостаток тестостерона усугублялся с ростом ИМТ, достигая при ожирении значений, характерных для гипогонадизма. У мужчин с ожирением, ведущих малоподвижный образ жизни, отмечены увеличение окружности талии, более низкий уровень тестостерона (медиана — 13,6 против 18,0 нмоль/л) и повышенный уровень глюкозы (медиана — 5,8 против 4,9 ммоль/л) по сравнению с мужчинами, страдающими ожирением, но ведущими физически активный образ жизни или предпочитающими спорт как вид отдыха. **Заключение.** У мужчин ожирение негативно влияет на уровень тестостерона и метаболический профиль, усиливает накопление висцерального жира, но физически активный образ жизни и занятия спортом способствуют повышению уровня тестостерона и нормализации метаболических показателей.

Ключевые слова: ожирение, физическая активность, гормональный и метаболический статус, тестостерон

Для цитирования: Осадчук Л.В., Осадчук А.В. Влияние ожирения и малоподвижного образа жизни на уровень тестостерона и основные показатели метаболического статуса молодых мужчин. *Вестник РАМН.* 2022;77(6):458–466. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2114>

Обоснование

Для России, как и для большинства экономически развитых стран мира, серьезной проблемой является снижение численности населения, причем низкие показатели естественного прироста населения наблюдаются в странах с высоким качеством жизни [1]. Снижение рождаемости отмечается в большинстве европейских стран, включая Россию, где семьи, как правило, имеют одного или двух детей, что меньше, чем необходимо (2,2 ребенка) для простого воспроизводства населения. С другой стороны, повышается распространенность бесплодных браков: в Центральной или Восточной Европе они составляет 20%, в России на период до 2015 г. количество бесплодных супружеских пар составляло 16%, а частота мужского фактора бесплодия могла достигать 50% в зависимости от региона [1, 2].

Помимо социально-экономических причин, ведущее место в демографическом кризисе отводится снижению мужского репродуктивного здоровья. Считается установленным фактом тренд снижения мужского репродуктивного потенциала, который отмечается в различных странах на протяжении последних десяти-

летий [3]. Согласно нашему популяционному исследованию мужчин-добровольцев ($n = 1236$), проживающих в Сибирском регионе России, 42,2% участников, не страдающих соматической патологией, характеризовались патозооспермией, что указывает на снижение мужской фертильности [4]. Предполагается, что снижение мужской фертильности может формироваться за счет влияния средовых (социальных) и генетических факторов. Быстро растущая в последние десятилетия частота мужского бесплодия и субфертильности указывает, что средовые факторы, включая индивидуальный образ жизни, могут вносить существенный вклад в снижение мужской фертильности [5]. Одни из наиболее часто обсуждаемых причин ухудшения репродуктивного здоровья мужчин — сниженный уровень физической активности и избыточное питание, приводящие к ожирению. Генетические факторы, хотя и предрасполагают к развитию ожирения [6], не могут объяснить быстрый рост ожирения в последние десятилетия. Именно изменения в физической активности и рационе питания мужчин находятся в центре внимания при объяснении негативной тенденции снижения мужской фертильности [7–9]. Уровень физической активности снижается,

а малоподвижный образ жизни (например, длительный просмотр телевизора или работа с компьютером) широко распространяется не только в экономически развитых странах, но и в странах с низким и средним уровнями дохода. Не только физическая активность, но и соблюдение сбалансированной диеты как основы здорового образа жизни способствует сохранению фертильности [10]. На сегодняшний день опубликован ряд работ по негативному влиянию ожирения и малоподвижного образа жизни на мужскую фертильность, включая уровень репродуктивных гормонов, однако представленные данные часто противоречивы, неоднозначны и неубедительны [7–9, 11, 12].

Избыточная масса тела и ожирение влияют на многие физиологические системы, включая обмен веществ и гормональный статус. Взаимосвязь ожирения и целого ряда заболеваний хорошо известна, более того, ожирение становится мишенью при профилактике мультиморбидности [13]. Известно, что ожирение существенно увеличивает риск сахарного диабета, сердечно-сосудистых заболеваний, эндокринных и метаболических нарушений, апноэ во сне, остеоартрита, некоторых видов рака, а также ряда психологических проблем и повышает смертность, ассоциированную с этими заболеваниями [14]. Наиболее характерные нарушения липидного обмена, наблюдаемые при избыточном весе и ожирении, включают увеличение уровня триглицеридов, общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой плотности и снижение уровня холестерина липопротеинов высокой плотности [15–17]. Самое яркое проявление гормональных изменений у мужчин при избыточном весе и ожирении — снижение уровня общего тестостерона в сыворотке крови, причем подобная ассоциация наблюдается у мужчин

с ожирением вне зависимости от этнической принадлежности [16, 18, 19].

Физиологические изменения в мужской репродуктивной системе при гиподинамии, оказывающие негативное влияние на фертильность, остаются еще недостаточно изученными. Существующие исследования влияния гиподинамии на мужскую фертильность указывают на противоречивость и неоднозначность результатов, предполагая, что различия в дизайне исследования могли бы объяснить результаты. Вопрос о том, улучшают ли физические упражнения мужскую фертильность, включая гипоталамо-гипофизарно-тестикулярную систему, по-прежнему остается дискуссионным [5, 7–9, 11]. По отношению к российским популяциям опубликовано мало данных о влиянии физически активного образа жизни или гиподинамии у мужчин с избыточной массой тела на уровень репродуктивных гормонов как существенных компонентов мужской фертильности.

Цель исследования — изучение эффектов ожирения и малоподвижности на уровень репродуктивных гормонов и основные показатели метаболического статуса у молодых мужчин.

Методы

Дизайн исследования

Проведено двучетровое наблюдательное популяционное исследование.

Критерии соответствия

Формирование выборки мужчин проводилось на основании единых критериев включения: возраст —

L.V. Osadchuk, A.V. Osadchuk

The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

The Influence of Obesity and Sedentary Lifestyle on Testosterone Level and the Main Indicators of the Metabolic Status in Young Men

Background. It is considered an established fact that there is an adverse trend in the male reproductive potential, which has been observed in various countries over the past decades. It is assumed that it can be formed due to the influence of individual lifestyle factors, in particular, a decrease in the level of physical activity and excessive nutrition, leading to obesity. However, the effect of obesity combined with sedentary or physically active lifestyle on the reproductive hormone level and metabolic homeostasis has not been studied well. **Aims** — the aim of the work was to study the effects of obesity combined with sedentary or active physical lifestyle on the level of reproductive hormones and the main indicators of metabolic status of young men. **Methods.** In young male volunteers (median age — 23 years, $n = 295$) from the general population, anthropometry was performed, which included body height and weight, waist and hip circumference, and body mass index (BMI); and they were also asked to fill out a questionnaire containing questions about individual lifestyle. In addition, serum concentrations of follicle stimulating and luteinizing hormones, testosterone, estradiol, inhibin B and triglycerides, total cholesterol, high and low density lipoprotein cholesterol, glucose, uric acid were evaluated. **Results.** The most important lipid metabolism disorders observed in overweight and obesity included an increase in triglycerides, total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol and a decrease in high-density lipoprotein cholesterol. Overweight and obesity in men was accompanied by an increase in waist and hip circumference, a decrease in the serum level of testosterone and inhibin B reaching in obese men the testosterone values characteristic for hypogonadism. Sedentary obese men had the increased waist circumference, lower testosterone level (median — 13.6 vs. 18.0 nmol/L), elevated glucose level (median — 5.8 vs. 4.9 mmol/L) compared to physically active obese men or those who prefer sports or physical recreation. **Conclusions.** In men, obesity negatively affects the serum level of testosterone and glucose, increases the accumulation of visceral fat, but a physically active lifestyle and sports give significant advantages to obese men, as it contributes to an increase in testosterone levels and normalization of metabolic parameters.

Keywords: obesity, physical activity, sedentary lifestyle, hormonal and metabolic status, testosterone

For citation: Osadchuk LV, Osadchuk AV. The Influence of Obesity and Sedentary Lifestyle on Testosterone Level and the Main Indicators of the Metabolic Status in Young Men. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2022;77(6):458–466. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn2114>

18–40 лет, постоянное проживание в данной местности не менее 5 лет, отсутствие на момент исследования любых заболеваний в острой форме или хронических в фазе обострения, применение анаболиков и антибиотиков.

Условия проведения

В исследовании принимали участие молодые мужчины-добровольцы из городов Западной Сибири (Новосибирска и Кемерова). Как правило, участники считали себя здоровыми и ранее не обращались к врачам по поводу хронических заболеваний.

Продолжительность исследования

Обследование испытуемых лиц проводилось в осенние или весенние месяцы в период 2013–2014 гг.

Описание медицинского вмешательства

Обследование мужчин включало анкетирование, антропометрию и взятие образцов периферической крови. Мужчины заполняли анонимные анкеты, включающие вопросы о возрасте, месте рождения, национальности, профессии, характере труда, давали самооценку малоподвижности, указывали на занятия спортом или рекреационную физическую активность, отмечали службу в армии, курение и употребление алкоголя, перенесенные и текущие заболевания. Антропометрия состояла из измерения роста, массы тела, окружности талии и бедер, определения индекса массы тела (ИМТ) как основного антропометрического индикатора ожирения [14]. Малоподвижность участников исследования идентифицировалась как результат самооценки своего образа жизни в качестве малоподвижного или физически активного, имея в виду занятия спортом, физическую рекреацию или работу, связанную с физическим трудом. Образцы крови брали натощак из локтевой вены с 8 до 11 ч утра. Кровь центрифугировали в течение 15–20 мин при 1500 об./мин. Собранную сыворотку хранили при -40°C до определения в ней гормонов и метаболитов. Результаты анкетных данных, антропометрических и биохимических измерений заносились в электронную базу данных.

Исходы исследования

Основной исход исследования. Основными результатами исследования служили антропометрические (масса тела, рост, окружности талии (ОТ) и бедер (ОБ)); гормональные (лютеинизирующий (ЛГ) и фолликулостимулирующий (ФСГ) гормоны, общий тестостерон (Т), эстрадиол (E_2) и ингибин В) и метаболические (триглицериды (ТГ), общий холестерин (ОХ), холестерин липопротеинов низкой плотности (х-ЛПНП), холестерин липопротеинов высокой плотности (х-ЛПВП), глюкоза, мочево́вая кислота) показатели. По всем указанным показателям сравнивались три стратифицированные группы с различным ИМТ, соответствующим норме, избыточному весу и ожирению. Для оценки влияния малоподвижности на перечисленные антропометрические, гормональные и метаболические показатели в каждой группе ИМТ сравнивались подгруппы мужчин с малоподвижностью и физически активным образом жизни.

Анализ в подгруппах

Из исследуемой выборки мужчин, согласно рекомендациям ВОЗ [14], были сформированы три группы: с нормальной массой тела — $25 > \text{ИМТ} \geq 18,5 \text{ кг/м}^2$; с избыточной массой тела — $30 > \text{ИМТ} \geq 25 \text{ кг/м}^2$ и с ожирением — $\text{ИМТ} \geq 30 \text{ кг/м}^2$. Сравнение трех групп

участников с нормальной или избыточной массой тела и ожирением позволило выявить влияние избыточной массы тела и ожирения на широкий спектр перечисленных выше антропометрических, гормональных и метаболических показателей. Затем в каждой группе ИМТ проводилось сравнение двух подгрупп: с малоподвижностью и физически активным образом жизни (занятия спортом, рекреационная физическая активность или работа, связанная с физическим трудом). Такое сравнение позволяет в каждой ИМТ-категории мужчин выявить влияние малоподвижности на все исследуемые параметры, причем особый интерес представляет категория мужчин с ожирением.

Методы регистрации исходов

Антропометрическое обследование проводили по стандартным методикам. Массу тела оценивали в килограммах, ОТ и ОБ — в сантиметрах. ИМТ как основной антропометрический индикатор ожирения рассчитывали по формуле: $\text{Масса тела (кг)} / \text{Рост тела (м)}^2$ [14]. Концентрацию ЛГ, ФСГ, Т, E_2 и ингибина В в сыворотке крови определяли иммуноферментным методом коммерческими наборами («Алкор Био», «Хема», Россия; Beckman Coulter, США) по прилагаемой инструкции. Концентрацию ТГ, ОХ, х-ЛПВП, глюкозы и мочево́вой кислоты в сыворотке крови определяли ферментативным колориметрическим методом в плащечной модификации коммерческими наборами («Вектор Бест», Россия) по прилагаемой инструкции. Уровень х-ЛПНП рассчитывали по формуле Фридевальда [20].

Диапазон референсных значений, полученный для нашей выборки здоровых мужчин в возрасте от 18 до 40 лет ($25 > \text{ИМТ} \geq 18,5$), составил: ЛГ — $1,3\text{--}6,7 \text{ мМЕ/мл}$; ФСГ — $1,3\text{--}8,8 \text{ мМЕ/мл}$; Т — $11,7\text{--}38,2 \text{ нмоль/л}$; E_2 — $0,10\text{--}0,35 \text{ нмоль/л}$; ингибин В — $75,3\text{--}333,8 \text{ пг/мл}$; ТГ — $0,3\text{--}2,0 \text{ ммоль/л}$; ОХ — $2,5\text{--}5,3 \text{ ммоль/л}$; х-ЛПВП — $0,7\text{--}1,9 \text{ ммоль/л}$; х-ЛПНП — $0,9\text{--}3,8 \text{ ммоль/л}$; глюкоза — $3,3\text{--}6,6 \text{ ммоль/л}$; МК — $196\text{--}464 \text{ мкмоль/л}$.

Этическая экспертиза

Все мужчины, включенные в исследование, подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Следует отметить, что представленная работа является небольшим, но самостоятельным фрагментом многолетнего, широкомасштабного и многопланового популяционного исследования мужской фертильности урбанизированного населения Российской Федерации, которое еще полностью не закончено. В связи с необходимостью публикации его отдельных частей этический комитет Федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» одобрил исследование (протокол № 160 от 17 сентября 2020 г.).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки. Размер выборки предварительно не рассчитывался.

Методы статистического анализа данных. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета компьютерных программ Statistica 8.0. Для всех исследуемых показателей вычисляли медиану (25; 75), где (25; 75) — 25-й и 75-й перцентили. Проверку на нормальность распределения изучаемых параметров проводили при помощи теста Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллифорса. Поскольку большинство параметров не подчинялось нормальному распределению (ОТ, уровни ЛГ,

ФСГ, E₂, ТГ, глюкозы), был проведен однофакторный дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса (Kruskal–Wallis ANOVA) для сравнения нескольких независимых групп, чтобы найти различия в антропометрических, метаболических и гормональных параметрах. В рамках дисперсионного анализа для попарного сравнения групп применяли тест Дункана (Duncan's test). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принят равным $\leq 0,05$.

Результаты

Объекты (участники) исследования

Общий размер выборки составлял 295 молодых мужчин-добровольцев из общей популяции городского населения, из них подавляющее большинство на момент исследования — студенты, аспиранты и сотрудники высших учебных заведений. Основная масса участников принадлежала к славянской этнической группе ($n = 234$; 79,3%), остальные — к другим этническим группам ($n = 7$; 2,3%) либо были потомками смешанных браков ($n = 54$; 18,3%). Медианы возраста участников составила 23 года, а массы тела — 80 кг. Медиана ИМТ всей выборки — 25,0 кг/м², причем 49,2% мужчин характеризовались нормальной массой тела, 40,6% — избыточной, а 10,2% — ожирением. Только 6,4% участников имели детей ($1,2 \pm 0,1$ ребенка), 28,5% — курили ($11,6 \pm 0,7$ сигареты/день), 77,6% употребляли алкоголь ($0,8 \pm 0,1$ раз/нед). Медианы концентрации репродуктивных гормонов и метаболических показателей в периферической крови находились в пределах диапазона референсных значений, полученных на нашей популяционной выборке здоровых мужчин.

Основные результаты исследования

Влияние избыточной массы тела и ожирения на антропометрические, гормональные и метаболические показатели мужчин. Антропометрические, гормональные и метаболические показатели молодых мужчин с различным ИМТ представлены в табл. 1. Антропометрические показатели (масса тела, ОТ и ОБ, ИМТ) достоверно отличались между всеми группами ИМТ, градуально и достоверно увеличиваясь от нормы к ожирению ($p \leq 0,05$). Уровень ингибина В был достоверно снижен у групп с избыточной массой тела и ожирением по сравнению с нормой ($p \leq 0,05$). Наиболее впечатляющие гормональные различия получены по уровню тестостерона, когда снижение уровня гормона на 20,4% наблюдалось у группы с избыточной массой тела и на 42,2% — у группы с ожирением по сравнению с нормой ($p \leq 0,05$). Уровни ТГ и ОХ достоверно отличались между всеми группами, градуально и достоверно увеличиваясь от нормы к ожирению ($p \leq 0,05$). Уровни х-ЛПВП, х-ЛПНП, глюкозы и мочевой кислоты не отличались между группами с избыточной массой тела и ожирением, но у этих групп уровень х-ЛПВП был достоверно ниже, а х-ЛПНП, глюкозы и мочевой кислоты — достоверно выше по сравнению с нормой ($p \leq 0,05$). Не было получено достоверных различий между группами с различным ИМТ по возрасту, росту, уровню ЛГ, ФСГ и эстрадиола. Кроме того, группы с различным ИМТ не различались по количеству курящих мужчин или по интенсивности курения, а также по количеству мужчин, употребляющих алкоголь, или по частоте его употребления (данные не представлены).

Влияние малоподвижного образа жизни на антропометрические, гормональные и метаболические показатели у молодых мужчин. Значения антропометрических, гормональных и метаболических показателей у подгрупп с малоподвижностью и физически активным образом жизни для каждой категории ИМТ (норма, избыточная масса тела и ожирение) представлены в табл. 2. У мужчин с нормальной и избыточной массой тела не выявлено достоверного влияния малоподвижности на все исследуемые показатели, кроме возраста и уровня ФСГ, причем уровни ФСГ оказались ниже у подгруппы с нормальной массой тела и малоподвижностью по сравнению с подгруппой с нормальной массой тела, но физически активным образом жизни (см. табл. 2). В то же время в подгруппе мужчин с ожирением и малоподвижностью отмечена тенденция к более высоким значениям ОТ ($p = 0,061$) и уровня глюкозы ($p = 0,088$) и достоверно более низкий уровень тестостерона по сравнению с подгруппой мужчин с ожирением, но с физически активным образом жизни ($p \leq 0,05$). Кроме того, подгруппы с физически активным образом жизни и малоподвижностью в любой категории ИМТ не различались по количеству курящих мужчин или по интенсивности курения, а также по количеству мужчин, употребляющих алкоголь, или по частоте его употребления (данные не представлены).

Нежелательные явления

Нежелательные явления в данном исследовании не оценивались.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

У молодых мужчин-добровольцев из общей популяции избыточная масса тела и ожирение ассоциированы с нарушениями липидного обмена, в частности с увеличением уровня триглицеридов, общего холестерина, холестерина липопротеидов низкой плотности и снижением уровня холестерина липопротеидов высокой плотности, а также с увеличением уровня глюкозы и мочевой кислоты в сыворотке крови. Наиболее важные гормональные изменения при избыточной массе тела и ожирении выражались в снижении уровня тестостерона и ингибина в сыворотке крови, причем дефицит тестостерона усиливался с ростом ИМТ. Мужчины с ожирением и малоподвижностью характеризовались снижением уровня тестостерона и тенденцией к повышению уровня глюкозы по сравнению с мужчинами с ожирением, но с физически активным поведением.

Обсуждение основного результата исследования

Образ жизни существенно отражается на здоровье мужчин и их репродуктивных способностях. Одни из важнейших факторов образа жизни — избыточная масса тела и ожирение, которые затрагивают многие аспекты физиологии человека и признаются ключевыми факторами риска развития дислипидемии, атеросклероза, сердечно-сосудистой патологии, диабета 2 типа, остеоартрита и репродуктивных проблем [5, 8, 21–23]. Следует подчеркнуть, что в последние десятилетия в обществе формируется модель поведения, способствующая росту числа людей, страдающих избыточным весом. Она включает общее снижение физической активности, связанное с автоматизацией труда, широкое распространение транспортных средств, преимущественно личных автомоби-

Таблица 1. Демографические, антропометрические, гормональные и метаболические показатели у молодых мужчин с различным ИМТ

Показатель	Вся выборка (n = 295)	Норма (25 > ИМТ ≥ 18,5) (n = 145)	Избыточный вес (30 > ИМТ ≥ 25) (n = 120)	Ожирение (ИМТ ≥ 30) (n = 30)
Возраст, лет	23 (21–25)	23 (22–25)	23 (21–26)	23 (21–29)
Масса тела, кг	80 (71–87)	71 (65–76) ^a	85 (81–90) ^b	106 (101–113) ^c
Рост, см	179 (175–184)	179 (174–184)	180 (176–185)	181 (176–185)
ОТ, см	84 (79–91)	79 (76–83) ^a	89 (84–93) ^b	103 (98–108) ^c
ОБ, см	100 (110–117)	96 (91–99) ^a	105 (100–108) ^b	114 (110–117) ^c
ИМТ	25,0 (22,2–27,0)	22,1 (20,9–23,4) ^a	26,3 (25,6–27,7) ^b	32,3 (30,8–34,7) ^c
ЛГ, мМЕ/мл	3,2 (2,5–4,3)	3,0 (2,4–4,1)	3,5 (2,6–4,5)	3,0 (2,3–3,9)
ФСГ, мМЕ/мл	3,1 (2,0–4,3)	2,9 (1,9–4,1)	3,4 (2,2–4,7)	2,8 (1,8–3,9)
Тестостерон, нмоль/л	21,0 (15,9–26,9)	23,9 (19,0–28,5) ^a	19,3 (14,7–25,5) ^b	14,3 (11,7–18,9) ^c
Эстрадиол, нмоль/л	0,17 (0,13–0,22)	0,17 (0,13–0,21)	0,19 (0,14–0,23)	0,16 (0,14–0,23)
Ингибин, пг/мл	174,0 (136,3–227,7)	189,7 (153,8–248,6) ^a	165,9 (125,6–205,9) ^b	168,2 (103,7–201,4) ^b
Триглицериды, ммоль/л	0,9 (0,6–1,4)	0,8 (0,6–1,1) ^a	1,0 (0,7–1,5) ^b	1,6 (1,1–2,4) ^c
Общий холестерин, ммоль/л	3,9 (3,3–4,4)	3,6 (3,1–4,2) ^a	3,9 (3,4–4,6) ^b	4,4 (4,0–5,1) ^c
х-ЛПВП, ммоль/л	1,2 (1,0–1,4)	1,3 (1,0–1,5) ^a	1,1 (0,9–1,3) ^b	1,0 (0,9–1,3) ^b
х-ЛПНП, ммоль/л	2,1 (2,0–3,2)	2,0 (1,4–2,5) ^a	2,3 (1,7–2,9) ^b	2,4 (2,0–3,2) ^b
Глюкоза, ммоль/л	4,7 (4,2–5,2)	4,5 (4,0–5,1) ^a	4,7 (4,3–5,3) ^b	5,1 (4,6–5,8) ^b
Мочевая кислота, мкмоль/л	358 (308–408)	345 (299–383) ^a	381 (330–427) ^b	421 (308–514) ^b

Примечание. Данные представлены как медиана (25–75), где (25–75) – 25-й и 75-й перцентили; ОТ – окружность талии; ОБ – окружность бедер; ИМТ – индекс массы тела; ЛГ – лютеинизирующий гормон; ФСГ – фолликулостимулирующий гормон; х-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности; х-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности; ^{a, b, c} – значения показателя с различными суперскриптами, достоверно различаются между группами ИМТ (p ≤ 0,05).

Таблица 2. Влияние малоподвижности на антропометрические, гормональные и метаболические показатели у молодых мужчин с различным ИМТ

Показатель	Норма (25 > ИМТ > 18,5)		Избыточный вес (30 > ИМТ > 25)		Ожирение (ИМТ > 30)	
	Физическая активность (n = 80)	Малоподвижность (n = 65)	Физическая активность (n = 65)	Малоподвижность (n = 55)	Физическая активность (n = 14)	Малоподвижность (n = 16)
Возраст, лет	22 (22–24)	23 (22–26)* p = 0,030	23 (20–25)	23 (21–29)	22 (20–27)	24 (228–34)
Масса тела, кг	70 (64–76)	71 (67–75)	85 (81–89)	86 (80–92)	106 (102–113)	107 (95–113)
Рост, см	179 (173–184)	179 (175–183)	179 (175–182)	180 (176–185)	183 (181–186)	177 (172–183)* p = 0,027
ОТ, см	79 (76–84)	79 (76–83)	88 (83–93)	90 (85–94)	102 (97–103)	106 (102–111)+ p = 0,061
ОБ, см	96 (90–100)	95 (92–99)	105 (99–107)	104 (100–108)	114 (1101–117)	113 (111–117)
ИМТ	22,1 (20,8–23,4)	22,2 (21,0–23,3)	26,3 (25,7–27,7)	26,5 (25,5–27,8)	31,1 (30,5–34,0)	33,2 (31,2–34,8)
ЛГ, мМЕ/л	3,3 (2,4–4,3)	2,9 (2,2–3,7)	3,6 (2,9–4,5)	3,4 (2,3–4,6)	3,2 (2,6–5,1)	3,0 (2,3–3,6)
ФСГ, мМЕ/л	3,6 (2,2–4,5)	2,4 (1,8–3,4)* p = 0,010	3,0 (2,2–4,9)	3,6 (2,6–4,3)	2,5 (1,7–4,7)	2,8 (1,9–3,7)
Тестостерон, нмоль/л	24,1 (20,0–28,4)	22,9 (17,4–29,3)	20,6 (15,2–25,9)	17,8 (14,5–22,4)	18,0 (13,6–19,2)	13,6 (9,9–15,8)* p = 0,028
Эстрадиол, нмоль/л	0,16 (0,13–0,21)	0,17 (0,12–0,21)	0,19 (0,13–0,23)	0,19 (0,15–0,23)	0,18 (0,14–0,30)	0,16 (0,13–0,20)
Ингибин, пк/мл	194,8 (147,8–245,1)	182,7 (154,9–267,0)	165,0 (129,3–214,5)	167,5 (123,3–200,6)	137,5 (90,5–198,4)	171,5 (120,3–221,2)
Триглицериды, ммоль/л	0,8 (0,5–1,1)	0,8 (0,6–1,1)	1,0 (0,3–3,2)	1,0 (0,7–1,5)	1,6 (1,0–2,2)	2,0 (1,4–3,4)
Общий холестерин, ммоль/л	3,5 (3,1–4,2)	3,6 (3,1–4,1)	3,9 (3,5–4,5)	3,9 (3,4–4,7)	4,2 (3,8–5,2)	4,5 (4,1–5,0)
х-ЛПВП, ммоль/л	1,3 (1,0–1,5)	1,2 (1,0–1,4)	1,1 (1,0–1,3)	1,1 (0,9–1,3)	1,1 (0,9–1,2)	1,0 (0,8–1,3)
х-ЛПНП, ммоль/л	2,0 (1,4–2,6)	2,1 (1,5–2,4)	2,2 (1,7–2,8)	2,4 (1,6–3,1)	2,3 (2,0–3,3)	2,4 (2,1–3,0)
Глюкоза, ммоль/л	4,5 (4,1–5,0)	4,6 (3,9–5,1)	4,6 (4,3–5,24)	4,7 (4,4–5,3)	4,9 (4,7–5,2)	5,8 (4,5–6,5)+ p = 0,088
Мочевая кислота, мкмоль/л	343 (303–378)	351 (298–384)	380 (331–428)	386 (329–426)	392 (326–464)	443 (290–521)

Примечание. Данные представлены как медиана (25–75), где (25–75) — 25-й и 75-й перцентили; ОТ — окружность талии; ОБ — окружность бедер; ИМТ — индекс массы тела; ЛГ — лютеинизирующий гормон; ФСГ — фолликулостимулирующий гормон; х-ЛПВП — холестерин липопротеинов высокой плотности; х-ЛПНП — холестерин липопротеинов низкой плотности; * — достоверность; + — тенденция различий между мужчинами с физической активностью и малоподвижностью в каждой группе ИМТ.

лей, популяризацию «фастфуда» (быстрого питания), содержащего большое количество рафинированных жиров и легко усваиваемых углеводов и сниженное количество волокон, а также высокий уровень стресса у людей, живущих в мегаполисах. Все перечисленное можно обозначить термином «синдром цивилизации».

Наши данные показывают, что у молодых мужчин с ожирением наблюдается существенное снижение уровня тестостерона в сыворотке крови, что подразумевает снижение гормональной активности семенников, близкое к гипогонадизму. Полученные данные подтверждают связь ожирения с гипогонадизмом у мужчин, которая установлена ранее [21–23]. Гормональные нарушения, в частности гипогонадизм, связывают с особенностью процессов, происходящих в висцеральной жировой ткани у мужчин, где происходит ароматизация андрогенов в эстрогены и продуцируется лептин, который угнетает продукцию тестостерона клетками Лейдига в семенниках. В свою очередь, гипогонадизм сопровождается снижением мышечной массы и способствует дальнейшему накоплению висцерального жира, замыкая порочный круг [21–23].

Частое репродуктивное последствие ожирения — эректильная дисфункция, которая имеет четкую связь с сопутствующими ожирению метаболическими и гормональными нарушениями [24]. В обзоре [23] указывается, что у 79% российских мужчин с ИМТ выше 25 кг/м² риск эректильной дисфункции наблюдается в 3 раза чаще, чем в общей популяции, а степень эректильной дисфункции у мужчин с ожирением выше, чем без ожирения. Наиболее тесную связь с ожирением имеет васкулогенная форма эректильной дисфункции по сравнению с ее другими формами. Связующим звеном между ожирением и эректильной дисфункцией является высокий уровень свободных жирных кислот и адипокинов в крови [23].

Установлена связь повышенного ИМТ со снижением мужской фертильности, что проявляется уменьшением концентрации и доли подвижных сперматозоидов в эякуляте, увеличением фрагментации ДНК сперматозоидов и изменением профиля репродуктивных гормонов [25, 26]. Наше предыдущее исследование также установило негативное влияние висцерального ожирения на показатели спермограммы у российских мужчин [19]. Однако некоторыми исследователями связь между ожирением и концентрацией, подвижностью или морфологией сперматозоидов не была подтверждена даже тогда, когда было найдено влияние избыточного веса и ожирения на уровень репродуктивных гормонов [21]. Основным механизмом снижения мужской фертильности при ожирении считается действие окислительного стресса на уровне микроокружения яичка вследствие жировых отложений в паховой области, приводящих к угнетению сперматогенеза из-за повышения температуры в мошонке [22]. Существует несколько исследований, которые установили, что повышение температуры мошонки наблюдается у водителей или при ношении тесного нижнего белья, что негативно влияло на качество спермы [27, 28], а экспериментальная транзиторная гипертермия мошонки обратимо снижала сперматогенез с вовлечением в этот процесс окислительного стресса [29]. Кроме того, показано, что снижение качества спермы может быть связано с сидячей работой и ожирением [30]. Авторы предполагают, что снижение качества спермы человека за последние десятилетия обусловлено изменением образа жизни, характеризующимся гиподинамией, высоким потреблением энергии и повышенной распространенностью ожирения.

В нашем исследовании половина мужчин (53,3%), страдающих ожирением, указала в анкете на малоподвижный образ жизни и отсутствие регулярных занятий спортом как одного из видов отдыха. Несмотря на субъективность самооценки малоподвижности, мы наблюдали снижение уровня тестостерона в сыворотке крови у тучных мужчин с малоподвижным образом жизни по сравнению с тучными мужчинами, ведущими физически активный образ жизни. Результаты нашего исследования согласуются с данными других авторов, установивших снижение уровня тестостерона, ЛГ и ФСГ у мужчин с малоподвижностью [7]. В частности, у молодых здоровых мужчин с малоподвижностью (средний возраст — 19 лет, ИМТ — в пределах нормы) уровень тестостерона был достоверно ниже по сравнению с аналогичной группой мужчин, но с активным образом жизни ($6,49 \pm 0,80$ и $7,68 \pm 0,77$ мкг/л, среднее \pm SD). Малоподвижность участников оценивалась субъективно по отсутствию физической нагрузки и занятий спортом в течение предыдущего года. Авторы считают, что причинами более высокого уровня тестостерона во время физической тренировки могут быть изменение уровня катехоламинов и простагландинов и повышение кровотока яичек, которые оказывают стимулирующее влияние на гипоталамо-гипофизарно-тестикулярную ось [7]. В другом исследовании у молодых мужчин (медиана возраста — 19,1 года), которые по многу часов смотрели телевизор, по мере увеличения периода времени, потраченного на просмотр телевизора, наблюдалось увеличение ИМТ и уровня фолликулостимулирующего гормона и снижение уровня тестостерона [11]. Временные интервалы телевизионных просмотров составляли 0,1–2,5; 2,6–5,0 и более 5,0 ч, и гормональные изменения наблюдались вне зависимости от физической активности участников. Авторы заключают, что малоподвижный образ жизни, обусловленный многочасовым просмотром телевизора, приводит к ухудшению функции семенников даже у физически активных мужчин. В работе Н. Kumagai et al. [31] у мужчин с избыточным весом и ожирением (ИМТ = 29,1) измеряли уровень тестостерона в сыворотке крови и количество шагов в день как индикатор высокой и низкой физической активности. После 12-недельного эксперимента уровень холестерина и триглицеридов в сыворотке крови достоверно снижался по сравнению с исходными значениями (холестерин — $5,2 \pm 0,3$ и $4,6 \pm 0,2$ ммоль/л; триглицериды — $1,9 \pm 0,3$ и $1,0 \pm 0,3$ ммоль/л соответственно), а уровень тестостерона увеличивался только в группе с высокой физической активностью по сравнению с группой с низкой физической активностью (12,5 и 15,0 нмоль/л соответственно). Эта и другие работы [9, 12, 32] подтверждают, что повышенная и регулярная физическая активность способна повышать уровень тестостерона в крови как у мужчин с нормальным ИМТ, так и при ожирении. Кроме того, данные указывают на то, что андрогены могут стимулировать физическую активность и адаптацию к силовым тренировкам у мужчин [32].

В последнее время все большее распространение приобретает точка зрения, что неблагоприятные тенденции в состоянии мужского репродуктивного здоровья в основном сопряжены с изменениями в индивидуальном образе жизни, который в индустриально развитых странах характеризуется преобладанием высококалорийного питания, несбалансированной диеты, гиподинамией, повышенного уровня социального стресса, связанного с урбанизацией, широким распространением курения сигарет и различ-

ных курительных смесей, злоупотреблением алкоголем, бесконтрольным приемом лекарств, использованием мобильных телефонов и ноутбуков как источников электромагнитного излучения [5, 7–12, 21, 22, 27]. Таким образом, изучение причин и механизмов ослабления мужской фертильности должно включать не только избыточную массу тела и гиподинамию, но и другие факторы риска в контексте их влияния на репродуктивное здоровье.

Ограничения исследования

Преимущество нашего исследования состояло в том, что объектами изучения выступали молодые мужчины-добровольцы из общей популяции, которые не были отобраны по антропометрическим, гормональным или метаболическим показателям, поэтому наша исследуемая когорта была репрезентативна молодой части населения, что позволяет экстраполировать результаты на общую популяцию, в то время как в большинстве других исследований данной проблемы используются специально подобранные группы участников. Кроме того, наши участники были постоянными жителями двух сибирских городов, близких по экологическим и социокультурным параметрам. Во всех городах применялись одни и те же стандартизированный протокол исследования и анкета, а исследовательские группы были схожи по социальному статусу. Лабораторные анализы проводились одной и той же исследовательской группой с использованием одних и тех же реактивов.

Хотя результаты данного сравнительного исследования, которое включает «естественный эксперимент», позволяют судить о количественных изменениях гормонального и метаболического статуса у мужчин при избыточной массе тела и малоподвижности, тем не менее важно провести специальный («лабораторный») эксперимент. Для дополнительного подтверждения положительных эффектов физической активности на репродуктивное здоровье мужчин исследование должно включать более значительные по величине выборки и контролируемые показатели физической активности. Таким образом, в данном контексте настоящее исследование можно рассматривать как перспективное пилотное. Интервенционное исследование, в котором группа мужчин с ожирением, гиподинамией и ослабленным сперматогенезом будет подвергаться регулярной контролируемой физической нагрузке разной интенсивности и длительности, дало бы дополнительную информацию о том, что гиподинамия ослабляет мужскую фертильность, а изменение образа жизни (физическая активность) приводит к положительному результату.

Многие факторы современного образа жизни (ожирение, гиподинамия, курение, алкоголь и др.) могут оказывать негативное влияние на метаболический и эндокринный гомеостаз, что делает исследование этой проблемы актуальным как в фундаментальном, так и прикладном аспектах. Часто публикации по вышеупомянутым факторам образа жизни представляют конфликтующие данные,

интерпретация которых неоднозначна. Можно предположить, что если фактор индивидуального образа жизни имеет даже небольшой эффект, то комбинация нескольких негативных факторов может оказывать кумулятивный эффект и значительно усиливать негативное действие за счет специфического взаимодействия. Наше исследование проводилось без учета возможного взаимодействия с другими факторами индивидуального образа жизни. Очевидные преимущества будет иметь комплексное исследование ключевых факторов образа жизни, взаимное влияние которых на исследуемые показатели возможно оценить только на значительно большей выборке мужчин, чем в данной работе. С другой стороны, эффекты факторов образа жизни скорее всего будут проявляться при выраженном или длительном воздействии, поэтому важно исследовать их действие во временном аспекте, например учитывать длительность их действия. Ожирение и гиподинамия у мужчин, исследуемые в настоящей работе, относятся к числу потенциальных факторов риска ослабления репродуктивного здоровья, однако их негативное воздействие частично преодолевается, как предполагают наши результаты, физическим образом жизни.

Заключение

У молодых мужчин ожирение негативно влияет на уровень тестостерона, ингибина В, триглицеридов, холестерина, х-ЛПВП, х-ЛПНП, мочевой кислоты и глюкозы в сыворотке крови, но повышение уровня физической активности может способствовать улучшению метаболического и гормонального гомеостаза.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 19-15-00075-П).

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

Участие авторов. Л.В. Осадчук — проведение обследования участников, анкетирование участников, определение гормонов и метаболитов, написание и направление рукописи на публикацию; А.В. Осадчук — планирование исследования, статистический анализ полученных данных, написание и оформление рукописи. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Выражение признательности. Выражаем благодарность и признательность андрологам Медицинского центра «Эргин» г. Кемерово Н.Н. Кузнецовой и М.В. Шамину, инженеру-исследователю ИЦиГ Н.В. Гуровой за помощь в организации и проведении обследования мужчин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аполихин О.И., Москалева Н.Г., Комарова В.А. Современная демографическая ситуация и проблемы улучшения репродуктивного здоровья населения России // *Экспериментальная и клиническая урология*. — 2015. — № 4. — С. 4–14. [Apolikhin OI, Moskaleva NG, Komarova VA. Contemporary demographic situation and problems of improving the reproductive health of Russian population. *Experimental and Clinical Urology*. 2015;4:4–14. (In Russ.)]
2. Лебедев Г.С., Голубев Н.А., Шадеркин И.А., и др. Мужское бесплодие в Российской Федерации: статистические данные за 2000–2018 годы // *Экспериментальная и клиническая урология*. — 2019. — № 4. — С. 4–12. [Lebedev GS, Golubev NA, Shaderkin IA, et al. Male infertility in the Russian Federation: statistical data for 2000–2018. *Experimental and Clinical Urology*. 2019;4:4–12. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.29188/2222-8543-2019-11-4-4-12>

3. Осадчук Л.В., Осадчук А.В. Популяционные исследования мужского репродуктивного потенциала: качество сперматозоидов как маркер репродуктивного здоровья // *Урология*. — 2020. — № 3. — С. 111–120. [Osadchuk LV, Osadchuk AV. Epidemiological studies of the male reproductive potential: sperm quality as a marker of reproductive health. *Urologiia*. 2020;3:111–120. (In Russ.)]. doi: <https://dx.doi.org/10.18565/urology.2020.3.111-120>
4. Osadchuk L, Shantanova L, Troev I, et al. Regional and ethnic differences in semen quality and reproductive hormone levels in Russia: a Siberian population-based cohort study of young men. *Andrology*. 2021;9(5):1512–1525. doi: <https://doi.org/10.1111/andr.13024>
5. Leisegang K, Dutta S. Do lifestyle practices impede male fertility? *Andrologia*. 2021;53(1):e13595. doi: <https://doi.org/10.1111/and.13595>
6. Crovesy L, Rosado EL. Interaction between genes involved in energy intake regulation and diet in obesity. *Nutrition*. 2019;67–68:110547. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.06.027>
7. Vaamonde D, Da Silva-Grigoletto ME, García-Manso JM, et al. Physically active men show better semen parameters and hormone values than sedentary men. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112(9):3267–3273. doi: <https://doi.org/10.1007/s00421-011-2304-6>
8. Ibañez-Perez J, Santos-Zorroza B, Lopez-Lopez E, et al. An update on the implication of physical activity on semen quality: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. 2019;299(4):901–921. doi: <https://doi.org/10.1007/s00404-019-05045-8>
9. Lavín-Pérez AM, Collado-Mateo D, Villafaina S, et al. The role of exercise to reduce the impact of diabetes in the seminal quality: a systematic review. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(2):159. doi: <https://doi.org/10.3390/medicina57020159>
10. Gaskins AJ, Chavarro JE. Diet and fertility: a review. *Am J Obstet Gynecol*. 2018;218(4):379–389. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2017.08.010>
11. Priskorn L, Jensen TK, Bang AK, et al. Is sedentary lifestyle associated with testicular function? A cross-sectional study of 1,210 men. *Am J Epidemiol*. 2016;184(4):284–294. doi: <https://doi.org/10.1093/aje/kwv338>
12. Minas A, Fernandes ACC, Maciel Júnior VL, et al. Influence of physical activity on male fertility. *Andrologia*. 2022;54(7):e14433. doi: <https://doi.org/10.1111/and.14433>
13. Kivimäki M, Strandberg T, Pentti J, et al. Body-mass index and risk of obesity-related complex multimorbidity: an observational multicohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2022;10(4):253–263. doi: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(22\)00033-X](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(22)00033-X)
14. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser. 2000;894:i–xii, 1–253.
15. Осадчук Л.В., Попова А.В., Туманик О.В., и др. Андрогенный дефицит у мужчин с избыточной массой тела и ожирением // *Проблемы репродукции*. — 2012. — № 4. — С. 76–79. [Osadchuk LV, Popova AV, Tumanik OV, et al. Androgens deficiency in men with overweight and obesity. *Russian Journal of Human Reproduction*. 2012;4:76–79. (In Russ.)]
16. Осадчук Л.В., Гуторова Н.В., Петрова П.Г., и др. Гормональный и метаболический статус у мужчин якутской этнической принадлежности с избыточной массой тела и ожирением // *Проблемы репродукции*. — 2014. — № 2. — С. 78–83. [Osadchuk LV, Gutorova NV, Petrova PG, et al. Hormonal and metabolic status in men of Yakut ethnic group with overweight and obesity. *Russian Journal of Human Reproduction*. 2014;2:78–83. (In Russ.)]
17. Hasan B, Nayfeh T, Alzuabi M, et al. Weight loss and serum lipids in overweight and obese adults: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(12):dgaa673. doi: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa673>
18. Осадчук Л.В., Гуторова Н.В., Людинина А.Ю., и др. Изменение гормонального и метаболического статуса у мужчин этнической группы коми с избыточной массой тела и ожирением // *Ожирение и метаболизм*. — 2013. — Т. 10. — № 2. — С. 28–32. [Osadchuk LV, Gutorova NV, Ludinina AYU, et al. Changes in hormonal and metabolic status in men of an ethnic group Komi with overweight and obesity. *Obesity and metabolism*. 2013;10(2):28–32. (In Russ.)]. doi: <http://dx.doi.org/10.14341/2071-8713-4821>
19. Гуторова Н.В., Клещёв М.А., Типисова Е.В., и др. Влияние избыточной массы тела и ожирения на показатели спермограммы и уровень репродуктивных гормонов у мужского населения Европейского Севера России // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. — 2014. — Т. 157. — № 1. — С. 108–111. [Gutorova NV, Kleshchyov MA, Tipisova EV, et al. Effects of overweight and obesity on the spermogram values and levels of reproductive hormones in the male population of the European North of Russia. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2014;157(1):95–98. (In Russ.)]
20. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem*. 1972;18(6):499–502.
21. Aggerholm AS, Thulstrup AM, Toft G, et al. Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? *Fertil Steril*. 2008;90(3):619–626. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.07.1292>
22. Durairajanayagam D. Lifestyle causes of male infertility. *Arab J Urol*. 2018;16(1):10–20. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aju.2017.12.004>
23. Гамидов С.И., Шатылко Т.В., Гасанов Н.Г. Мужское здоровье и ожирение — диагностика и терапевтические подходы // *Ожирение и метаболизм*. — 2019. — Т. 16. — № 3. — С. 29–36. [Gamidov SI, Shatylo TV, Gasanov NG. Male health and obesity — diagnostic and therapeutic approach. *Obesity and metabolism*. 2019;16(3):29–36. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/omet10314>
24. Saad F, Grahl AS, Aversa A, et al. Effects of testosterone on erectile function: implications for the therapy of erectile dysfunction. *BJU Int*. 2007;99(5):988–992. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2007.06756.x>
25. Jensen TK, Andersson AM, Jørgensen N, et al. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil Steril*. 2004;82(4):863–870. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2004.03.056>
26. Liu Y, Ding Z. Obesity, a serious etiologic factor for male subfertility in modern society. *Reproduction*. 2017;154(4):R123–R131. doi: <https://doi.org/10.1530/REP-17-0161>
27. Bujan L, Daudin M, Charlet JP, et al. Increase in scrotal temperature in car drivers. *Hum Reprod*. 2000;15(6):1355–1357. doi: <https://doi.org/10.1093/humrep/15.6.1355>
28. Mínguez-Alarcón L, Gaskins AJ, Chiu YH, et al. Type of underwear worn and markers of testicular function among men attending a fertility center. *Hum Reprod*. 2018;33(9):1749–1756. doi: <https://doi.org/10.1093/humrep/dey259>
29. Rao M, Zhao XL, Yang J, et al. Effect of transient scrotal hyperthermia on sperm parameters, seminal plasma biochemical markers, and oxidative stress in men. *Asian J Androl*. 2015;17(4):668–675. doi: <https://doi.org/10.4103/1008-682X.146967>
30. Magnusdottir EV, Thorsteinsson T, Thorsteinsdottir S, et al. Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male subfertility. *Hum Reprod*. 2005;20(1):208–215. doi: <https://doi.org/10.1093/humrep/deh569>
31. Kumagai H, Zempo-Miyaki A, Yoshikawa T, et al. Increased physical activity has a greater effect than reduced energy intake on lifestyle modification-induced increases in testosterone. *J Clin Biochem Nutr*. 2016;58(1):84–89. doi: <https://doi.org/10.3164/jcbn.15-48>
32. Kraemer WJ, Ratamess NA, Hymer WC, et al. Growth hormone(s), testosterone, insulin-like growth factors, and cortisol: roles and integration for cellular development and growth with exercise. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:33. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00033>

466

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Осадчук Людмила Владимировна, д.б.н., профессор [Ludmila V. Osadchuk, PhD in Biology, Professor];
адрес: 630090, Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, д. 10 [address: 10, Lavrentiev Av., 630090, Novosibirsk, Russia];
e-mail: losadch@bionet.nsc.ru, SPIN-код: 2924-3468, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7597-9204>

Осадчук Александр Владимирович, к.б.н., доцент [Alexander V. Osadchuk, PhD in Biology, Assistant Professor];
e-mail: osadchuk@bionet.nsc.ru, SPIN-код: 4023-5070, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4210-7354>