

ISSN 1726-9784 (Print)
ISSN 1726-9792 (Online)



Российский Биотерапевтический Журнал

Rossijskij bioterapevticeskij zurnal



Russian Journal
of Biotherapy

4

TOM/VOL. 23
2024

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук.

Журнал зарегистрирован в CrossRef, статьи индексируются с помощью цифрового идентификатора DOI.

Российский Биотерапевтический Журнал

Rossijskij bioterapevticeskij zurnal

теоретический и научно-практический рецензируемый журнал

Основная задача издания – публикация информации о современных достижениях в области изучения патогенеза, диагностики и терапии иммуноопосредованных и онкологических заболеваний, результатов научных исследований, национальных и международных доклинических и клинических исследований.

Цели журнала – информирование читателя о результатах изучения новых биомаркеров онкологических и иммуноопосредованных заболеваний, использования биомаркеров в диагностике и терапии злокачественных новообразований и патологий иммунной системы, исследований в области лекарственной и клеточной терапии, а также по вопросам технологии создания лекарств, биомедицинских клеточных продуктов и биоматериалов, проведения доклинических и клинических исследований новых препаратов и методов лечения; обобщение научных и практических достижений в области диагностики и терапии иммунологических и онкологических заболеваний.

ОСНОВАН В 2002 г. профессором А.Ю. Барышниковым

4^{ТОМ 23}
'24

Учредитель:

ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России

Адрес учредителя и редакции:
115478, Москва, Каширское
шоссе, 24, стр. 2.

Тел.: +7 (499) 324-10-65
Факс: +7 (499) 324-22-74

E-mail: biotherapy_rbj@mail.ru
rbjournal@ronc.ru

Адрес издательства:

115478, Москва, Каширское
шоссе, 24, стр. 15, НИИ
канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел./факс: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru

www.abvpress.ru

Редактор Ю.Н. Бирюкова
Корректор Н.А. Виленкина

Дизайн: Е.В. Степанова
Верстка: О.В. Гончарук

*Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных
технологий и массовых
коммуникаций. Регистрационный
номер: № 77-11695 от 21.01.2002,
ПИ № ФС77-53039 от 04.03.2013.*

**При полной или частичной
перепечатке материалов
ссылка на журнал «Российский
биотерапевтический журнал»
обязательна.**

ISSN 1726-9784 (Print)
ISSN 1726-9792 (Online)

Российский биотерапевтический журнал.
2024. Том 23. № 4. 1–84.

© Оформление, верстка.

ООО «ИД «АБВ-пресс», 2024

Подписной индекс в каталоге агентства
«Роспечать» – 81679.

Отпечатано в типографии «Лайдер принт».
105082, Москва, Переведеновский пер., 13, стр. 16.

Тираж 1000 экз. Бесплатно.

<http://bioterapevt.elpub.ru>

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Киселевский Михаил Валентинович, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточного иммунитета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Караулов Александр Викторович, академик РАН, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Шпрах Зоя Сергеевна, д.фарм.н., заведующая лабораторией химико-фармацевтического анализа ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, профессор кафедры фармации Института фармации им. П.А. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Соколова Зинаида Александровна, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Балдуева Ирина Александровна, д.м.н., доцент, заведующая научным отделом онкоиммунологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России (Санкт-Петербург, Россия)

Бунятян Наталья Дмитриевна, д.фарм.н., профессор, главный научный сотрудник Центра клинической фармакологии ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, профессор кафедры фармации Института фармации им. П.А. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Евсегнеева Ирина Валентиновна, д.м.н., профессор, профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Краснов Виктор Павлович, д.х.н., профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией асимметрического синтеза Института органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения РАН (Екатеринбург, Россия)

Курбатова Екатерина Алексеевна, д.м.н., профессор, заведующая лабораторией терапевтических вакцин ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (Москва, Россия)

Меерович Игорь Геннадьевич, к.б.н., научный сотрудник департамента фармации Eurofins Lancaster Laboratories, Inc. (Каламазу, США)

Мисюрин Андрей Витальевич, д.б.н., генеральный директор ООО «Генотехнология» (Москва, Россия)

Набиев Игорь Руфаилович, д.х.н., профессор, профессор лаборатории по исследованиям в области нанонаук Реймского университета (Реймс, Франция), ведущий ученый лаборатории нанобиоинженерии Национального исследовательского ядерного университета «МИФИ» (Москва, Россия)

Новиков Виктор Владимирович, д.б.н., профессор, профессор кафедры молекулярной биологии и иммунологии Института биологии и биомедицины Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, заведующий лабораторией иммунохимии ФБУН «Нижегородский Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» (Нижний Новгород, Россия)

Оборогова Наталья Александровна, д.фарм.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории разработки лекарственных форм ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Панкратов Андрей Александрович, к.б.н., руководитель отделения модификаторов и протекторов противоопухолевой терапии Московского научного исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (Москва, Россия)

Петров Александр Юрьевич, д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармации и химии Уральского государственного медицинского университета (Екатеринбург, Россия)

Рапорт Наталья Яковлевна, д.х.н., профессор, почетный профессор департамента биомедицинской инженерии Университета Юты (Солт-Лейк-Сити, США)

Соколова Татьяна Михайловна, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (Москва, Россия)

Степанова Евгения Владиславовна, д.м.н., советник вице-президента РАН (Москва, Россия)

Титов Константин Сергеевич, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник ГБУЗ «Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы», профессор кафедры онкологии и рентгенодиагностики им. академика В.П. Харченко Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», президент АНО «Национальный альянс специалистов по опухолям наружных локализаций» (Москва, Россия)

Уласов Илья Валентинович, д.б.н., ведущий научный сотрудник, лидер группы экспериментальной биотерапии и диагностики Института регенеративной медицины ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

Эстрин Юрий Захарович, д.ест.н., почетный доктор РАН, действительный член Австралийской академии наук, иностранный член РАН, профессор департамента материаловедения и инжиниринга Университета им. Монаша (Клэйтон, Австралия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Барышникова Мария Анатольевна, к.фарм.н., заведующая лабораторией экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Бочарова Ольга Алексеевна, д.б.н., профессор, заведующая лабораторией иммунофармакологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Демидов Лев Вадимович, д.м.н., профессор, заведующий хирургическим отделением № 10 биотерапии опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Иванов Павел Константинович, д.м.н., заведующий лабораторией медицинской биотехнологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кадагидзе Заира Григорьевна, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник централизованного клинико-лабораторного отдела ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Косоруков Вячеслав Станиславович, к.б.н., директор НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кубасова Ирина Юрьевна, к.м.н., ученый секретарь ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Шубина Ирина Жановна, д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточного иммунитета ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

The "Russian Journal of Biotherapy" is put on the Higher Attestation Commission list of periodicals (the list of leading peer-reviewed scientific journals recommended to publish the basic research results of doctor's and candidate's theses). Journal has been registered with CrossRef; its papers are indexed with the digital object identifier (DOI).

Russian Journal of Biotherapy

Peer-reviewed theoretical and SCIENTIFIC AND PRACTICAL JOURNAL

The main objective of Russian Journal of Biotherapy is a publication of current achievements in the study of pathogenesis, diagnostics, and therapy of immune-mediated and oncological diseases, results of the research studies, and results of national and international pre-clinical and clinical studies.

The publication aim is to present the results of the studies of new biomarkers of oncological and immune diseases, the use of biomarkers in diagnostics and therapy of tumors and disorders of the immune system, studies in the field of drug and cell therapy, studies of drug development technologies, biomedical cell products and biomaterials, pre-clinical and clinical studies of new medicines and methods of treatment. The main focus of the journal is to summarize scientific and practical achievements in the field of immunological and oncological diseases therapy.

FOUNDED IN 2002 by Professor A.Yu. Baryshnikov

4^{VOL. 23}
'24

Founder:

N.N. Blokhin National Medical Research
Center of Oncology of the Ministry
of Health of the Russian Federation

Founder and editorial office:

Bld. 2, 24 Kashirskoye Shosse,
Moscow 115478.

Tel.: +7 (499) 324-10-65

Fax: +7 (499) 324-22-74

e-mail: biotherapy_rbj@mail.ru
rjournal@ronc.ru

Publishing office:

Research Institute of Carcinogenesis,
Floor 3, Bld. 15, 24 Kashirskoye
Shosse, Moscow 115478.

Tel./Fax: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru

www.abvpress.ru

Editor Yu.N. Biriukova
Proofreader N.A. Vilenkina
Designer E.V. Stepanova
Maker-up O.V. Goncharuk

The journal is registered

*at the Federal Service for Supervision
of Communications, Information
Technology, and Mass Media
Registration number: ПИ № 77-11695
dated 21.01.2002;
ПИ № ФС77-53039
dated 04.03.2013*

**If materials are reprinted in whole
or in part, reference must necessarily be
made to the "Rossijskij
bioterapevticeskij zurnal".**

ISSN 1726-9784 (Print)

ISSN 1726-9792 (Online)

Rossijskij bioterapevticeskij zurnal. 2024.
Volume 23. No 4. 1–84.

© Design, layout PH "ABV-Press", 2024

Rospechat' catalogue index: 81679.

Printed at the Leader Print Ltd
Bld. 16, 13 Perevedenovsky lane,
Moscow 105082.

1,000 copies. Free distribution

<http://bioterapevt.elpub.ru>

EDITOR-IN-CHIEF

Kiselevskiy, Mikhail V., PhD, DSc, Professor, Head of Laboratory of Cell Immunity, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

DEPUTIES EDITOR-IN-CHIEF

Karaulov, Alexander V., Academician of the Russian Academy of Sciences, PhD, DSc, Professor, Head of Chair of Clinical Immunology and Allergology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University) (Moscow, Russia)

Shprakh, Zoya S., PhD, DSc, Professor of Chair of Pharmacy, P.A. Nelyubin Institute of Pharmacy, Head of Laboratory of Chemical-Pharmaceutical Analysis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Professor of Chair of Pharmaceutical Technology and Pharmacology of the Institute of Professional Education, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University) (Moscow, Russia)

EXECUTIVE EDITOR

Sokolova, Zinaida A., PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Experimental Diagnostic and Biotherapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EDITORIAL BOARD

Baldueva, Irina A., PhD, DSc, Associate Professor, Head of Research Department of Oncoimmunology, N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Saint Petersburg, Russia)

Bunyatyan, Natalia D., PhD, DSc, Professor, Major Researcher of Center of Clinical Pharmacology, Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health of Russia, Professor of Chair of Pharmacy, P.A. Nelyubin Institute of Pharmacy, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University) (Moscow, Russia)

Evsegneeva, Irina V., MD, PhD, DSc, Professor, Professor of Chair of Clinical Immunology and Allergology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University) (Moscow, Russia)

Krasnov, Viktor P., PhD, DSc, Professor, Major Researcher, Head of Laboratory of Asymmetrical Synthesis, I.Ya. Postovsky Institute of Organic Synthesis, Ural Branch of Russian Academy of Sciences (Ekaterinburg, Russia)

Kurbatova, Ekaterina A., PhD, DSc, Professor, Head of Laboratory of Therapeutic Vaccines, I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera (Moscow, Russia)

Meerovich, Igor G., PhD, Scientist II of Pharma Department, Eurofins Lancaster Laboratories, Inc. (Kalamazoo, USA)

Misyurin, Andrey V., PhD, DSc, General Director of LLC "Gene Technology" (Moscow, Russia)

Nabiev, Igor R., PhD, DSc, Professor, Professor of Laboratory of Studies in the Field of Nanoscience, University of Reims (Reims, France), Leading Scientist of Laboratory Nanobioengineering, National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute) (Moscow, Russia)

Novikov, Viktor V., PhD, DSc, Professor, Professor of Chair of Molecular Biology and Immunology of the Institute of Biology and Biomedicine, N.I. Lobachevsky Nizhegorodsky State University, Head of Laboratory of Immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology (Nizhny Novgorod, Russia)

Oborotova, Natalia A., PhD, DSc, Professor, Leading Researcher of Laboratory of Development of Drug Forms, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Pankratov, Andrey A., PhD, Chief of Department of Modifiers and Protectors of Anti-tumor Therapy, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Petrov, Alexander Yu., PhD, DSc, Professor, Head of Chair of Pharmacy, Ural's State Medical University (Ekaterinburg, Russia)

Rapoport, Natalya Ya., PhD., DSc., Research Professor Emerita, Department of Biomedical Engineering, University of Utah (Salt Lake City, USA)

Sokolova, Tatiana M., PhD, DSc, Leading Researcher of Laboratory of Cell Engineering, N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Stepanova, Eugenia V., PhD, DSc, Advisor to the Vice-President of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

Titov, Konstantin S., MD, PhD, DSc, Professor, Leading researcher at the "Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center named after S.P. Botkin of the Moscow Department of Health, Professor of the Department of Oncology and Radiology named after Academician V.P. Kharchenko of the Medical Institute of the "Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia", President of the National Alliance of Specialists in Tumors of External Localization (Moscow, Russia)

Ulasov, Ilya V., PhD, DSc, Leading Researcher, Leader of the Experimental Biotherapy and Diagnostics Group of the Institute of Regenerative Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University) (Moscow, Russia)

Estrin, Yuri Z., PhD, DSc, Honorary Doctor of the Russian Academy of Sciences, Fellow of the Australian Academy of Science, Foreign member of the Russian Academy of Sciences, Professor of Department of Materials Science and Engineering, Monash University (Clayton, Australia)

EDITORIAL COUNCIL

Baryshnikova, Maria A., PhD, Head of Laboratory of Experimental Diagnostic and Biotherapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Bocharova, Olga A., PhD, DSc, Professor, Head of Laboratory of Immunopharmacology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Demidov, Lev V., MD, PhD, DSc, Professor, Head of Surgical Department No 10 of Biotherapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Ivanov, Pavel K., PhD, DSc, Head of Laboratory of Medical Biotechnology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kadagidze, Zaira G., MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher of Centralized Clinical-Laboratory Department, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kosorukov, Vyacheslav S., PhD, Director of Research Institute of Experimental Diagnostics and Therapy of Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Kubasova, Irina Yu., PhD, Scientific Registrar, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Shubina, Irina Zh., PhD, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Cell Immunity, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

- Л.Г. Соленова, Н.И. Рыжова, Г.А. Белицкий, И.А. Антонова,
К.И. Кирсанов, М.Г. Якубовская*
Микробиота в диагностике, терапии и профилактике рака 10
- К.С. Титов, М.В. Сорокина, О.В. Паклина, М.В. Киселевский,
С.С. Лебедев, А.В. Лунина*
Влияние спонтанной регрессии опухоли на прогрессию меланомы 22
- М.А. Моногарова, Б.Н. Исич, А.В. Броссе, А.Л. Истранов, Д.О. Иванов, Р.А. Насыров,
И.А. Горланов, Е.М. Бит-Сава*
**Частота послеоперационных осложнений и уровень качества жизни
у больных раком молочной железы при реконструктивно-пластических операциях
в зависимости от вида имплантата 30**

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Д.В. Новиков, Х.М. Ариуа, О.А. Коровин, А.В. Калугин, С.В. Шумилова, А.В. Алясова,
Л. Хамидани, В.В. Новиков*
**Уровень мРНК FCGR3A (CD16A) и FCGR3B (CD16B) в крови больных
раком предстательной железы 39**
- В.М. Косман, М.В. Карлина, Т.Н. Барыбина, Н.М. Фаустова, А.А. Матичин,
В.Г. Макаров, М.Н. Макарова, А.А. Дмитриева, Е.В. Шипаева, А.И. Подолякина,
О.В. Филон, М.Ю. Самсонов, В.Г. Игнатьев*
**Сравнительное изучение фармакокинетики препаратов пембролизумаба
при однократном внутривенном введении яванским макакам 49**
- А.А. Мальченкова, Е.Н. Кособокова*
**Изменение STR-профиля клеток в процессе получения стабильной
клеточной линии 61**
- М.И. Трещалин, В.А. Полозкова, С.Г. Язерян, Э.Р. Переверзева*
**Особенности беспородных крыс и крыс линии Wistar как биомоделей
для доклинических исследований 68**

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

- З.С. Шпрах, Е.В. Игнатьева, М.Н. Краева, И.В. Ярцева, Д.В. Гусев, М.В. Дмитриева*
**Экспериментальное исследование липофильности аналога
соматостатина цифетрилина 77**

ЮБИЛЕЙ

- К юбилею Ольги Алексеевны Бочаровой 83**

REVIEW

Liya G. Solenova, Natalia I. Ryzhova, Gennady A. Belitsky, Irina A. Antonova, Kirill I. Kirsanov, Marianna G. Yakubovskaya
Microbiota in cancer diagnosis, therapy and prevention 10

Konstantin S. Titov, Margarita V. Sorokina, Oxana V. Paklina, Mikhail V. Kiselevskiy, Sergey S. Lebedev, Anastasia V. Lunina
The effect of spontaneous tumor regression on melanoma progression 22

Maria A. Monogarova, Bechir N. Isich, Alexander V. Brosse, Andrey L. Istranov, Dmitry O. Ivanov, Ruslan A. Nasyrov, Igor A. Gorlanov, Elena M. Bit-Sava
Frequency of postoperative complications and level of quality of life in breast cancer patients during constructive plastic surgery depending on the type of implant 30

ORIGINAL REPORTS

Dmitry V. Novikov, Khalil M. Arioua, Oleg A. Korovin, Alexandr V. Kalugin, Svetlana V. Shumilova, Anna V. Alyasova, Lydia Hamidani, Viktor V. Novikov
FCGR3A (CD16A) and FCGR3B (CD16B) mRNA levels in the blood of prostate cancer patients 39

Vera M. Kosman, Marina V. Karlina, Tatyana N. Barybina, Natalia M. Faustova, Aleksandr A. Matichin, Valery G. Makarov, Marina N. Makarova, Anastasia A. Dmitrieva, Elena V. Shipaeva, Anna I. Podolyakina, Olga V. Filon, Mikhail Yu. Samsonov, Vasiliy G. Ignatiev
Comparative pharmacokinetics of pembrolizumab after single intravenous administration to Macaca fascicularis 49

Anastasiia A. Malchenkova, Ekaterina N. Kosobokova
Changes in the STR profile of cells in the process of obtaining a stable cell line 61

Michael I. Treshchalin, Vasilisa A. Polozkova, Sofiya G. Yazeryan, Eleonora R. Pereverzeva
Features of albino rats and Wistar rats as biomodels for preclinical research. 68

BRIEF REPORT

Zoya S. Shprakh, Elena V. Ignateva, Marina N. Kraeva, Irina V. Yartseva, Dmitriy V. Gusev, Maria V. Dmitrieva
Experimental study of somatostatin analogue cyphetrylin lipophilicity 77

JUBILEE

To the anniversary of Olga Alekseevna Bocharova 83

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-10-21>

Микробиота в диагностике, терапии и профилактике рака

Л.Г. Соленова¹, Н.И. Рыжова¹, Г.А. Белицкий¹, И.А. Антонова¹, К.И. Кирсанов^{1,2}, М.Г. Якубовская^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

Контакты: Лия Геннадьевна Соленова lsolenova@mail.ru

Введение. Углубленное изучение участия микробиоты в патогенезе опухолей открыло новые возможности для разработки альтернативных подходов к диагностике, терапии и профилактике злокачественных новообразований.

Цель исследования – обобщить данные практического использования особенностей профиля микробиоты в качестве маркера канцерогенеза и диагностики, а также рассмотреть ее участие в комбинированном лечении и профилактике рака.

Материалы и методы. Проведен поиск литературы по базам данных NCBI MedLine (PubMed), Scopus, Web of Science с использованием ключевых слов, определяющих цель исследования. Анализировали результаты оригинальных исследований, метаанализов, рандомизированных контролируемых клинических исследований, рассматривали традиционные, систематические и зонтичные обзоры, опубликованные в последние годы.

Результаты. Качественные и количественные изменения состава микробиоты, связанные с патогенезом онкологических заболеваний, дают возможность их использования в качестве маркеров для определения риска злокачественных новообразований и прогноза широкого спектра опухолей. Механизмы, определяющие использование микробиоты в противоопухолевой терапии, разнообразны. Действие на иммунную систему является наиболее значимым. Большой интерес представляют искусственно создаваемые гибридные наночастицы, покрытые мембраной бактериальных везикул и опухолевых клеток для активации специфического противоопухолевого иммунитета. Для профилактики рака фундаментальное обоснование получило использование про-, пре- и синбиотиков, открытых И.И. Мечниковым.

Заключение. Комплекс научных геномных и эпигенетических данных, полученных в механистических и эпидемиологических исследованиях, посвященных роли микробиоты в патогенезе опухолей, в настоящее время оценивается как наиболее значимый результат, обосновывающий ее практическое применение в качестве компонента диагностики, терапии и профилактики рака.

Ключевые слова: микробиота, злокачественные новообразования, диагностика, противоопухолевая терапия, профилактика

Для цитирования: Соленова Л.Г., Рыжова Н.И., Белицкий Г.А. и др. Микробиота в диагностике, терапии и профилактике рака. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):10–21.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-10-21>

Microbiota in cancer diagnosis, therapy and prevention

Liya G. Solenova¹, Natalia I. Ryzhova¹, Gennady A. Belitsky¹, Irina A. Antonova¹, Kirill I. Kirsanov^{1,2}, Marianna G. Yakubovskaya^{1,2}

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

²Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia

Contacts: Liya Gennadievna Solenova lsolenova@mail.ru

Background. An in-depth study of the participation of the microbiota in the pathogenesis of tumors has opened up new opportunities for the development of alternative approaches to the diagnosis, therapy and prevention of malignant neoplasms.

Aim. To summarize the data on the practical use of microbiota profile features as a marker of carcinogenesis and diagnosis, as well as to consider its participation in the combined treatment and prevention of cancer.

Materials and methods. A literature search was carried out in the databases NCBI MedLine (PubMed), Scopus, Web of Science using keywords that determine the purpose of the study. Results from original studies, meta-analyses, randomized controlled clinical trials, and traditional, systematic, and umbrella reviews published in recent years were analysed.

Results. Qualitative and quantitative changes in the composition of the microbiota associated with the pathogenesis of oncological diseases make it possible to use them as markers for determining the risk of developing malignant neoplasms and predicting a wide range of tumors. The mechanisms that determine the use of the microbiota in anticancer therapy are diverse. The effect on the immune system is the most significant. Of great interest are artificially created hybrid nanoparticles covered with a membrane of bacterial vesicles and tumor cells to activate specific antitumor immunity. In terms of cancer prevention, the use of probiotics, prebiotics and synbiotics discovered by I.I. Mechnikov was fundamentally substantiated.

Conclusion. The complex of scientific genomic and epigenetic data obtained in mechanistic and epidemiological studies on the role of the microbiota in the pathogenesis of tumors is currently evaluated as the most significant result justifying its practical application as a component of cancer diagnosis, therapy and prevention.

Keywords: microbiota, malignant neoplasms, diagnostics, antitumor therapy, prevention

For citation: Solenova L.G., Ryzhova N.I., Belitsky G.A. et al. Microbiota in cancer diagnosis, therapy and prevention. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2024;23(4):10–21. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-10-21>

Введение

Эмпирические попытки связать канцерогенез с микроорганизмами и использовать эту связь для лечения онкологических заболеваний предпринимались многократно. В 1868 г., еще до признания великих открытий Роберта Коха, Вильгельм Буш, а позднее в 1882 г. Фридрих Фелайзен сообщили о регрессии нагнаивающихся опухолей, инфицированных *Streptococcus pyogenes*, вызывающем рожистое воспаление [1, 2]. Ранний и успешный опыт бактериотерапии путем введения живых или инактивированных возбудителей рожистого воспаления, по-видимому, гемолитических стрептококков, опубликован в работах Вильяма Коули, который начиная с 1891 г. в течение 40 лет пролечил более 1000 больных с неоперабельными опухолями. Наилучшие паллиативные эффекты были получены при лечении сарком костей и мягких тканей. Из 140 больных с неоперабельными саркомами при использовании токсинов *Erysipelas* и *Bacillus prodigiosus* у 24 больных наблюдалась частичная или полная регрессия опухолей, у 16 больных она была полной. Период выживаемости в 8 случаях был от 3 до 6 лет, 9 пациентов прожили менее 3 лет, 4 больных — 9 мес, 3 умерли в течение 7 мес [3].

Это были первые опыты иммунотерапии опухолей, но широкого распространения они не получили ввиду несовершенства микробиологических методик и тяжелых токсических осложнений. В дальнейшем, в эпоху открытия возбудителей инфекционных заболеваний, предпринимались многочисленные попытки высеять «раковый микроб», но ввиду безуспешности этот вопрос был надолго закрыт.

В настоящее время на основе молекулярно-генетических данных о механизмах канцерогенеза и идеи

метаболического взаимодействия организма с микробиотой возобновился интерес к пониманию роли микробного фактора в физио- и патологии человеческого организма, в том числе в этиологии и патогенезе злокачественного роста. Известно, что микробное сообщество (бактерии, вирусы и грибы), обитающее как вне опухоли, так и внутри нее, обладает иммуномодулирующим действием, способным через влияние на врожденный и адаптивный иммунитет ингибировать или стимулировать злокачественный рост. Это создает новые направления для терапии и профилактики онкологических заболеваний. В то же время изучение этого вопроса сложно, поскольку в случае терапевтических воздействий необходимо учитывать не только наличие ассоциированных с опухолью микробных популяций, но и их взаимодействие с микробиотой тканей, окружающих опухоль, а также с микроорганизмами дыхательной, желудочно-кишечной, половой систем, распространяющимися по организму свои метаболиты. Кроме того, эффекты микробиоты реципрокно зависят от взаимодействия с иммунными клетками организма и множеством активных молекул клеточного обмена. Для исследования этих вопросов разработаны методики, позволяющие не только количественно оценивать микробиом, но и охарактеризовать его функциональную активность [4].

Секвенирование универсального микробного гена *16S* рибосомных РНК (рРНК) дает количественную оценку состава микробных сообществ и в ряде случаев идентификацию отдельных штаммов. Более точно это позволяют методы длинных прочтений, такие как Oxford Nanopore MinION и PacBio, которые обнаруживают присутствие даже малочисленных

членов микробного сообщества. Shotgun – метагеномика, секвенирующая одновременно множество образцов [5].

Метатранскриптомный анализ или мРНК могут показать, какие организмы активны и какие микробные гены экспрессировались на момент исследования, а методы протеомики определяют, какие при этом синтезировались белки. Метаболомика, определяющая все метаболиты образца, независимо от их происхождения (хозяина или микроба), используется для изучения взаимного влияния микробиоты и хозяина. Все эти инструменты дают представление о совокупном метаболизме голобионта, т. е. суперорганизма, состоящего из хозяина и симбиотических микроорганизмов, и предоставляют новые возможности не только для экспериментальных и диагностических исследований, но и для направления терапевтических воздействий [4].

Цель обзора – обобщить данные практического использования особенностей профиля микробиоты в качестве маркера канцерогенеза и диагностики, а также рассмотреть ее участие в комбинированном лечении и профилактике рака.

Особенности профиля микробиоты – маркер канцерогенеза

Качественные и количественные изменения состава микробиоты при патологических состояниях логично привели к обоснованию возможности их использования в качестве маркеров опухолевого процесса в организме человека для определения риска, ранней диагностики онкологических заболеваний, клинического применения и прогноза широкого спектра опухолей [6, 7]. Особенно важно то, что их практическое применение носит неинвазивный характер. В этом отношении, например, микробиота ротовой полости представляет собой легкодоступный биомаркер риска заболевания, охватывающий биологические, поведенческие и экологические факторы [8]. Использование ее для ранней диагностики представляется перспективным, в первую очередь, при опухолях полости рта, поскольку в случае их распространенных и запущенных форм даже применение современных комбинированных методов лечения не оказывает существенного влияния на 5-летнюю выживаемость больных [9]. В таком качестве панель биомаркеров микробиома полости рта и цитокинов в слюне пациентов перспективна для более эффективного скрининга и раннего выявления рака этой локализации [10].

Ось микробиома полости рта и кишечника, играющая существенную роль в регулировании патогенеза различных заболеваний, в первую очередь в системе желудочно-кишечного тракта, включая возникновение злокачественных новообразований (ЗНО), по-

зволяет рассматривать изменения микробиоты в этих органах в качестве клинического биомаркера диагностики и прогноза опухолей [11–13]. Так, в работах японских авторов продемонстрирована роль *Fusobacterium nucleatum*, обитающей в основном в полости рта, как прогностического биомаркера при развитии рака пищевода и ее связь с клиническими исходами. Ее присутствие в опухолях показало более низкую выживаемость пациентов (относительный риск 2,01, 95 % доверительный интервал 1,22–3,23; $p = 0,0068$) [14].

Весьма вероятное участие дисбиоза оральной микробиоты в генезе колоректального рака (КРР) иллюстрирует исследование мазков из полости рта с последующим секвенированием *16S* рРНК у 161 пациента с КРР, 34 пациентов с аденомой прямой кишки и 58 здоровых лиц, которое выявило значительные различия по составу и разнообразию микроорганизмов между этими группами. Это не только предполагает потенциальную связь между дисбиозом микробиома полости рта и КРР, но и обосновывает возможность использования микробиоты полости рта для прогнозирования рисков развития аденомы прямой кишки и КРР [15].

Метаболом кишечника (совокупность метаболитов – малых молекул с молекулярной массой менее 1 кДа) служит химическим посредником между хозяином и кишечной микробиотой. В американском исследовании микробиома и метаболома в совокупности с характеристикой профиля микробиоты кишечника выявлена значимость кишечных метаболитов и особенности их взаимодействия с кишечными микроорганизмами на ранних стадиях патогенеза КРР. Обнаружено несколько химических сигнатур колоректальной аденомы, которые были связаны с некоторыми кишечными микробами и потенциально указывали на трансформацию аденомы в КРР, что делает перспективным их использование в ранней диагностике и эффективной профилактике КРР. В частности, содержание в образцах кала биоактивных липидов, включая полиненасыщенные жирные кислоты, вторичные желчные кислоты и сфинголипиды, было повышено у пациентов с аденомой по сравнению с контрольной группой. У пациентов с КРР большинство этих метаболитов демонстрировало направленные изменения, что позволяет предположить, что они могут представлять раннее проявление канцерогенеза [16].

Перспективным направлением использования состава микробиоты для ранней диагностики доброкачественных и ЗНО органов пищеварения является анализ кала [17]. Многочисленные данные, иллюстрирующие вероятное участие микробиоты кишечника в патогенезе опухолей отдаленных органов, предполагают использование характеристики ее

количественного и качественного состава для оценки патологии этих органов. У китайских пациентов выявлены существенные различия в составе фекальной микробиоты при раке пищевода, желудка, толстой и прямой кишки в сравнении со здоровыми лицами. У больных с этими опухолями ($n = 130$) существенно ниже было содержание *Faecalibacterium prausnitzii*, *Clostridium clostridioforme* и *Bifidobacterium adolescentis* и значимо выше – содержание *Bacteroides fragilis*, *Akkermansia muciniphila*, *Clostridium hathewayi* и *Alistipes finegoldii*, чем у здоровых лиц ($n = 147$), при значимых функциональных различиях метаболизма и клеточной биологии этих микроорганизмов ($p < 0,05$) [18].

На основе секвенирования 419 образцов кала больных гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК), циррозом печени и здоровых лиц, проживавших в разных географических районах Китая, был охарактеризован микробиом кишечника обследованных лиц, идентифицированы микробные маркеры и построен их классификатор. Микробное разнообразие в фекалиях и изменение состава микробиоты нарастало с тяжестью патологии. Характерным было уменьшение числа бактериальных родов, продуцирующих бутират, и увеличение продуцентов липополисахаридов. Идентифицировано 30 возможных микробных маркеров, характеризующих разную патологию печени и степень ее тяжести, что позволяет рассматривать их в качестве потенциальных неинвазивных инструментов для ранней диагностики ГЦК [19].

В патогенезе рака желчевыводящих путей и желчного пузыря также показано воздействие микробов, в том числе микробиома желудочно-кишечного тракта посредством реципрочно связанной оси «кишечник – печень». По механизму этой оси бактериальная флора кишечника влияет на состав жирных кислот, которые, в свою очередь, регулируют ее популяцию. Желчные кислоты влияют на канцерогенез в печени посредством воздействия на содержание в ее ткани противоопухолевых Т-киллеров, накопление которых стимулируется первичными желчными кислотами и ингибируется вторичными. Образующиеся в печени первичные желчные кислоты – холевая и хенодезоксихолевая – поступают в кишечник в виде неактивных комплексов с глицином или таурином. Их деконъюгация с высвобождением первичных желчных кислот зависит от обитающих в кишечнике бактерий родов *Clostridium*, *Enterococcus*, *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, которые экспрессируют гидролазы. В связи с этим изменение количества и состава данных микроорганизмов существенно влияет на гепатоканцерогенез. Для первичных опухолей рака печени (внутрипеченочной холангиокарциномы и ГЦК), часто выявляемых на поздней стадии и характеризующихся плохим прогнозом, рассматривается сходный

с обнаружением ГЦК подход, основанный на выявлении связи между относительным обилием определенных микробов, который может быть использован для ранней диагностики, прогноза и, возможно, терапии [20, 21].

Китайское исследование 87 пациентов с раком легкого (РЛ) и 34 здоровых лиц показало возможность использования различий микробиоты кишечника для диагностики опухолей данной локализации. Контрольная группа имела более высокое содержание бактериального типа *Actinobacteria* и рода *Bifidobacterium*, в то время как у пациентов с РЛ наблюдался повышенный уровень *Enterococcus* [22].

В другом исследовании модель, созданная на основе сопоставления сигнатур микробиоты кишечника при РЛ на ранних стадиях заболевания ($n = 42$) и здоровых лиц ($n = 65$), позволила с высокой точностью (92,4 %) идентифицировать больных. Она включала 13 таксономических единиц – биомаркеров. Ее предсказательная точность была проверена в другой группе (34 больных РЛ и 40 здоровых лиц), где точность составила 67,7 %, что, по мнению авторов, делает ее перспективной для выявления РЛ на ранних стадиях [23]. Сопоставление микробиоты кала и метаболитов сыворотки, взятых у больных РЛ и здоровых лиц, показало, что некоторые метаболиты (глицерофосфолипиды и имидазопиримидины), ассоциированные с определенными видами кишечных микроорганизмов, также могут быть возможными диагностическими биомаркерами РЛ [24].

Число микроорганизмов, предположительно участвующих в генезе ЗНО различных локализаций, не исчерпывается приведенными ранее примерами. Важно, что их количественное соотношение в микробиоте также может быть специфическим индикатором патологического процесса. В то же время прослеживается активное участие в патогенезе многих опухолей *Helicobacter pylori* и *F. nucleatum*, которые на данный момент могут рассматриваться как наиболее вероятные маркеры повышенного онкологического риска ряда локализаций. Обоснованно можно предполагать, что с прогрессом в области метагеномных исследований их количество будет расти.

Микробиота в противоопухолевой терапии

Наряду с тем, что микробиота вносит существенный вклад в канцерогенез различных органов, ее участие в противоопухолевой терапии рассматривается как новый и перспективный подход [25]. Имунная система играет ключевую роль в ингибировании опухолевого процесса. В последнее время иммунотерапия широко используется в качестве метода лечения пациентов с различными видами рака. Набирает популярность блокада иммунных контрольных точек (ИКТ), которые служат в клеточном иммунитете

распознаванию «свой–чужой» и предотвращают ауто-иммунные реакции. Для этого на поверхности нормальных клеток находятся ИКТ-лиганды, при контакте с которыми отключается цитотоксическое действие иммунных клеток. Блокирование этих точек на поверхности опухолевых клеток делает их уязвимыми для иммунной атаки. В частности, клиническое применение получила блокада PD-L1 – лиганда трансмембранного белка клеточной гибели (programmed cell death protein 1 – PD-1). Микроорганизмы способны инициировать и активировать гуморальные и адаптивные иммунные реакции, модулируя противоопухолевый иммунитет хозяина и тем самым влияя на эффективность ингибитора ИКТ [26, 27].

Все больше данных свидетельствует о том, что микробиом кишечника может способствовать позитивным результатам лечения: повышать эффективность терапии (в частности, преодолевать резистентность к анти-PD-1), снижать тяжесть побочных эффектов посредством нормализации микробиоты кишечника, например пересадкой фекальной микробиоты [28], пробиотической терапией [29, 30].

Успешность иммунотерапии на основе анти-PD-1 оказалась зависимой от состава микробиома как у пациентов с метастатической меланомой, так и в хронических опытах на мышах. Обнаружена значимая связь между комменсальным микробным составом и клиническим ответом. Бактериальные виды, более распространенные у пациентов с положительным эффектом лечения, включали *Bifidobacterium longum*, *Collinsella aerofaciens* и *Enterococcus faecium*. Введение мышам фекального материала этих пациентов усиливало активность Т-клеток и эффективность иммунотерапии анти-PD-L1. То же самое наблюдали и при лечении солидных опухолей различного гистогенеза [26, 27, 31].

Во время химиотерапии (ХТ) микробиота претерпевает изменения, поэтому целесообразен динамический мониторинг микробиоты кишечника для раннего выявления наступающей резистентности к ХТ или ее токсичности. Мониторинг позволяет проводить своевременную корректировку курса лечения или восстановление состава микробиома путем использования пробиотических препаратов с целью предотвращения дисбактериоза. В этом отношении исследования микробиома определяют новое направление улучшения ответа на системную терапию, которое активно разрабатывается, например, для терапии рака поджелудочной железы (РПЖ), отличающегося низкой выживаемостью пациентов и резистентностью к ХТ.

В рамках этого направления изучаются возможности ингибирования *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. Данный микроорганизм широко распространен в природе, отнесен к группе возбудителей

особо опасных инфекционных болезней, в частности контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота, патогенна для человека [32]. Как выяснилось, эта микоплазма является одним из факторов, которые играют существенную роль в развитии резистентности клеток РПЖ к гемцитабину (2'-дезоксидеокси-2',2'-дифторцитидину) – препарату 1-й линии лечения РПЖ. Противоопухолевое действие гемцитабина оказывают 2 его метаболита: ди- и трифосфатные нуклеозиды. Показано, что микоплазма синтезирует ферменты, метаболизирующие нуклеозиды, в частности цитидиндезаминазы, препятствующие активации гемцитабина. Указанный процесс потенцирует и другой фермент микоплазмы – пиримидиннуклеозидфосфорилаза. В связи с этим с целью восстановления чувствительности клеток РПЖ к гемцитабину разрабатываются методы подавления антибиотиками роста микоплазмы и использования ингибиторов дезаминирующих и дефосфорилирующих ферментов [33]. Существенно то, что модуляция микробиома усиливает противоопухолевый иммунный ответ и обеспечивает более успешную иммунотерапию РПЖ [34, 35].

Важным источником информации, необходимой для улучшения результатов комбинированного лечения, является метатранскриптомика. У пациентов с меланомой, проходящих иммунотерапию, фекальная микробиота была охарактеризована до лечения с использованием гена *16S* рРНК и подходов шотган-метагеномики ($n = 27$). Изучение ассоциации таксонов и метагеномных путей с выживаемостью без прогрессирования (ВБП) опухоли показало, что обилие *Bacteroides ovatus*, *B. dorei*, *B. massiliensis*, *Ruminococcus gnavus* и *Blautia producta* было связано с более низкой ВБП, напротив, обилие фекальных бактерий *F. prausnitzii*, *Coprococcus eutactus*, *Prevotella stercorea*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus anginosus* и бактерии *Lachnospiraceae* 3146FAA – с более продолжительной ВБП. В аналогичных исследованиях преобладание в кишечной флоре *Faecalibacterium* наряду с положительным эффектом анти-PD-1 иммунотерапии сочеталось с повышенным содержанием Т-киллеров и эффекторных CD4⁺ Т-клеток в периферической крови и опухоли. При этом был четко выражен благоприятный цитокиновый ответ и понижено содержание ингибиторов клеточного иммунитета, Т-супрессоров и миелоидных супрессорных клеток. Преобладание *Bacteroidales* коррелировало с обратным эффектом [36].

Использование сигнатуры фекального микробиома в диагностических или терапевтических целях продемонстрировал и метаанализ 4 работ, посвященных иммунотерапии метастазирующей меланомы. У пациентов, отвечавших на иммунотерапию ИКТ, в сигнатуре фекального микробиома которых преобладали таксоны *Faecalibacterium*, также наблюдалось чрезвычайно высокое содержание *Barnesiella*

intestinihominis и компонентов метаболизма витамина В [37]. При терапии антибиотиками, подавляющими кишечные бактерии и ухудшающими эффективность блокаторов ИКТ, пересадка фекальной микробиоты или добавление пробиотиков могут содействовать восстановлению бактериального баланса в кишечнике [38].

Имеющиеся данные позволяют идентифицировать транскрипционно выраженные метагеномные пути, которые способствуют направленному поиску микробных терапевтических мишеней для улучшения результатов иммунотерапии [39].

Эффективным средством, влияющим на различные виды обмена, клеточный цикл и пути апоптоза, являются бактериальные токсины [40]. Так как их действие неспецифично, создаются химерные токсины — рекомбинантные производные бактериальных токсинов в сочетании со специфичными для определенного типа опухолей моноклональными антителами. Это позволяет препарату избирательно связываться с поверхностными рецепторами опухолевой клетки, а бактериальному токсину, например дифтерийному, подавлять трансляцию белка [41]. Химерный противораковый токсин шигеллы, соединенный с моноклональным антителом, вызывает апоптоз опухолевой клетки эндотелиального генеза путем подавления экспрессии антиапоптотического белка Mcl-1, являющегося членом семейства Bcl-2 [42, 43].

Механизмы, посредством которых микробиота может влиять на терапевтический эффект, разнообразны. Помимо указанных они включают: стимулирование воспаления, сопровождающееся выработкой провоспалительных цитокинов; конкуренцию микроорганизмов за питательные вещества при их проникновении в солидную опухоль; секрецию бактериями бактериоцинов, проявляющих противоопухолевую активность и способных действовать как синергические агенты по отношению к противоопухолевым препаратам [44].

Показано, что представители интратуморальной микробиоты различаются по чувствительности к действию противоопухолевых препаратов, в частности, фторпиримидинов. Высокой чувствительностью к ним обладает *F. nucleatum*; а *B. fragilis*, *B. breve* и *P. micra* — резистентны. Клетки *Escherichia coli* не только резистентны к 5-фторурацилу, но также инактивируют его, ослабляя локальную эффективность антиметаболита, который является препаратом 1-й линии при лечении КРР. Эти результаты подтверждают преимущества учета ассоциированной с опухолью микробиоты при разделении пациентов по уровню резистентности к 5-фторурацилу, особенно в условиях неoadьювантной ХТ перед резекцией опухоли. Очевидно, что в протоколах ХТ необходимо учитывать состав микробиоты на основе микробиологического профилирования биоптатов КРР [45].

Весьма перспективно использование так называемых бактериальных нановезикул (БНВ), представляющих собой внеклеточные образования, продуцируемые бактериями, в качестве носителей противоопухолевых агентов в терапии опухолей. Эти образования секретируются мембранами как комменсальных бактерий и пробиотиков, так и патогенных. Они имеют диаметр 20–400 нм и покрыты мембраной, состоящей из липидного бислоя, внутри которого могут находиться нуклеиновые кислоты, белки и другие активные молекулы. В клетки хозяина БНВ размером 20–100 нм проникают преимущественно путем эндоцитоза, а БНВ размером 90–450 нм — макропиноцитоза [46, 47].

При нормальном состоянии кишечника прямые контакты клеток микробиоты и хозяина невозможны, поскольку муцин 2, секретируемый бокаловидными клетками, образует двойной слой слизи, компактная часть которого содержит антимикробные компоненты, секретируемые эпителиальными и иммунными клетками [48, 49]. Помимо слоя муцина, контакту кишечного содержимого с клетками подслизистой препятствует механический барьер кишечного эпителия, прочно скрепленного белками плотных контактов. БНВ патогенных бактерий ослабляют их и делают возможным проникновение патогенов в подслизистую, где они, изменяя активность нейтрофилов, дендритных клеток и макрофагов, определяют тяжесть инфекции. Механизм этого процесса состоит в том, что после эндоцитоза везикул грамотрицательных бактерий эпителиальными клетками кишечника образовавшиеся ранее эндосомальные мембраны разрушаются каспазами, и в цитозоль попадают бактериальные липополисахариды. Активируемая ими каспаза-5 фосфорилирует киназу Lyn, что способствует транслокации в ядро транскрипционного фактора Snail/Slug, регулирующего эпителиально-мезенхимальный переход, снижению экспрессии E-кадгерина и нарушению кишечного барьера. Кроме липополисахаридов, везикулы некоторых патогенных бактерий содержат протеингидролазы, непосредственно расщепляющие белки плотных контактов. БНВ *Clostridium difficile* стимулируют в эпителиальных клетках кишечника экспрессию провоспалительных цитокинов, включая интерлейкины (IL) 1 β , 6, 8 и моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 [50].

Так, БНВ *F. nucleatum* — бактерии, связанной с возникновением колита и КРР, способствуют поляризации макрофагов по типу M1 и индуцируют в кишечном эпителии некроптоз через путь «протеинкиназа 1 — каспаза 3». В мононуклеарах периферической крови они повышают уровень провоспалительных фактора некроза опухолей α и интерферона γ , ингибируют противовоспалительный IL-10 и также стимулируют поляризацию макрофагов по типу M1. В экспериментах *in vivo* они делают летальным течение

колита, вызываемого у мышей сульфатом натрия. Аналогичными свойствами обладают БНВ *Clostridium difficile*, *E. coli* BL21 и некоторых др. [51].

Альтернативный механизм предполагает проникновение в кишечный эпителий БНВ в зависимости от диаметра, как уже указывалось, путем эндо- или макропиноцитоза. Большинство сигнальных молекул БНВ представляют собой структуры, тропные к Толл-подобным рецепторам соматических клеток. Неоднозначная роль БНВ выявлена и в отношении предраковых заболеваний кишечника, каковыми являются неспецифический язвенный колит и болезнь Крона, которые сопровождаются и поддерживаются дисбалансом кишечной микрофлоры [52, 53].

В бактериальном сообществе БНВ кишечной микробиоты играют важную роль в регуляции ее баланса. Перенос факторы адгезии, секретлируемые, например, *Bifidobacterium longum*, они способствуют образованию колоний бактерий различных видов, а в случае переноса ингибиторов — диссеминации бактериальной флоры данного вида. В связи с этим БНВ предполагается использовать для лечения предраковых состояний, в качестве стимуляторов колонизации пробиотиков или ингибиторов колонизации патогенов. БНВ некоторых комменсалов и пробиотиков укрепляют кишечный барьер и предотвращают предраковые воспалительные процессы. В частности, везикулы молочнокислой бактерии *Pediococcus pentosaceus*, обладающие мощной противовоспалительной активностью, способствуют поляризации макрофагов в направлении M2. Такой же эффект по иным механизмам оказывают пробиотики *E. coli* Nissle 1917 EV, *L. paracasei* и *L. reuteri* ВВС3, которые подавляют экспрессию провоспалительных фактора некроза опухоли α , IL-1 β , 6, 8 и 17 и стимулируют противовоспалительные IL-10 и трансформирующий фактор роста β [54].

Показано, что БНВ некоторых бактерий обладают прямым противоопухолевым действием, вызывая апоптоз в опухолевых клетках, а везикулы *L. paracasei* и *Salmonella typhimurium* подавляют их пролиферацию, миграцию и инвазивную способность *in vivo* и *in vitro*, индуцируя апоптоз через сигнальный путь PDK1/АКТ/Vcl-2 [55].

Следует сказать еще об одном направлении использования БНВ, привлекающем в настоящее время внимание исследователей, а именно о разработке композитных биопленок, которые могут сочетать свойства различных типов клеточных мембран для формирования многофункциональных систем эффективной адресной доставки в опухоль лекарств. Большой интерес представляют искусственно создаваемые гибридные мембраны из оболочек везикул бактерий и соматических клеток. Так, сочетание БНВ с наружной мембраной клеток опухоли позволило

создать везикулу, которая, кроме лекарственной нагрузки, вызывала отторжение опухоли после поглощения клетками меланомы. Гибридная мембрана несет бактериальные антигены, которые находятся на поверхности опухолевой клетки, поглотившей везикулу. На нее реагируют иммунные клетки, а включенный в гибридную оболочку химиопрепарат оказывает свое цитотоксическое действие [56–58]. Такие комплексы, покрытые композитной оболочкой, состоящей из смеси белков везикул внешней мембраны *Salmonella* или *E. coli* и соматических клеток (эритроцитов или опухолевых), гораздо дольше циркулируют в кровяном русле, поскольку имитируют собственные клетки организма. Белковые оболочки бактерий несут в опухоль адгезивные белки, антигены или специфические молекулы, которые в случае появления на поверхности опухолевой клетки могут повышать ее иммуногенность. В форме комплексов они малодоступны метаболизирующим ферментам, а за счет использования мембран опухолевых клеток обладают таргетной доставкой в опухоль. Они более эффективны и менее токсичны для иммунных и других нормальных клеток [59]. Очевидно, что БНВ являются перспективным объектом исследования и использования в терапии опухолей.

Противоопухолевые вакцины, полученные путем слияния мембраны опухолевых клеток с цитоплазматической мембраной *E. coli*, т. е. сконструированные на основе эукариотических-прокариотических систем, также оказались эффективными в экспериментах *in vivo* на многих видах опухолей. Фрагмент бактериальной мембраны быстро распознавался иммунной системой, что инициировало Т-клетки, вызывало опухолеспецифический иммунный ответ, приводило к лизису опухоли и предотвращало рецидив [60]. Все это открывает новые возможности для развития инновационных технологий доставки лекарств в опухоль и улучшения терапевтического эффекта.

Следует отметить также и проблемы, препятствующие широкому применению бактериальной терапии опухолей. Одна из них заключается в трудности подбора оптимальной дозы бактериального препарата. Слишком высокая может вызвать тяжелое инфекционное заболевание, а слишком низкая не будет эффективна. Другая проблема состоит в том, что этот вид лечения чаще всего не приводит к полному лизису опухоли и его приходится комбинировать с ХТ, что значительно усложняет процесс. Серьезной проблемой видится и невозможность воздействия бактерий на мелкие метастазы, не имеющие гипоксической области и центрилобулярного некроза, к которым они тропны как к питательному субстрату. Еще одна трудность связана с частым мутированием бактерий, включая генно-модифицированные штаммы, несущие

опухолевые супрессоры или противоопухолевые токсины. В этом случае любая мутация или эпигенетическое нарушение экспрессии противоопухолевого агента может обернуться серьезными осложнениями, в том числе стимуляцией роста и метастазирования опухоли [61]. Несмотря на все это, микробному фактору отводится существенная роль в современных терапевтических подходах, называемых персонализированной медициной, в которой он, по-видимому, является одним из наиболее интересных аспектов будущих исследований и рассматривается как важная составляющая терапии онкологических заболеваний [62].

Микробиота и профилактика рака

Изменять состав микробиоты кишечника, регулирующий метаболический и иммунный статус организма, могут определенные диетические схемы (например, животная, вегетарианская или средиземноморская диеты), отличающиеся содержанием белка, витаминов и глюкозы и влияющие в итоге на индекс массы тела, который коррелирует с заболеваемостью и прогнозом опухолей различной локализации. Это приводит к идее использования микробиоты не только в лечении, но и профилактике рака [38, 63, 64]. В набор средств воздействия на микробиоту человека могут входить микробные добавки, такие как пробиотики (живые полезные бактерии, которые могут восстановить дисбиотическую микробиоту), пребиотики (пищевые волокна, не перевариваемые пищевыми ферментами организма человека, но перерабатываемые полезной микрофлорой кишечника), синбиотики (содержат комбинацию из про- и пребиотиков), антибиотики. Изменение состава микробиоты кишечника с помощью этих добавок может быть важным вспомогательным средством лечения ожирения, являющегося значимым фактором риска ряда ЗНО. Изменяя состав и/или метаболическую активность микробиоты кишечника, микробные добавки могут модулировать экспрессию генов и метаболизм хозяина и тем самым положительно влиять на состояние жировой ткани человека и препятствовать метаболическим нарушениям [65]. В ходе клинических испытаний пробиотики показали улучшение качества жизни, снижение токсичности, связанной с терапией, и послеоперационных осложнений у пациентов с раком толстой кишки [66] и другими локализациями [67]. Метаанализ 24 популяционных исследований показал снижение риска рака молочной железы на 12 % при потреблении пищевых волокон. Профилактический эффект был наиболее выражен у женщин, находящихся в постменопаузе [68].

Среди метаболитов, продуцируемых микробиотой и выполняющих основные функции для установления симбиотических взаимоотношений с организмом

человека, короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК) играют основную роль в регуляции физиологии толстой кишки и изменении кишечной среды. Недавние исследования показали, что КЦЖК не только влияют на передачу сигнала в кишечнике, но, циркулируя в крови, достигают тканей и органов за его пределами. Результаты текущих исследований подтверждают роль КЦЖК как ключевых медиаторов канцерогенеза толстой кишки. Бутират является одной из наиболее важных КЦЖК, ингибирующих рост опухоли *in vitro* и способствующих апоптозу. Показана связь между диетами с высоким содержанием клетчатки, которой питаются бактерии, продуцирующие бутират, и снижением риска развития КРР [63, 64, 69].

Фрукто- и галактоолигосахариды — две важные группы пребиотиков, благотворно влияющих на здоровье человека, которые можно производить в промышленном масштабе. Преимущества производства и хранения по сравнению с пробиотиками делают их перспективными кандидатами для улучшения состояния здоровья человека в качестве замены или в сочетании с пробиотиками [70].

Поскольку последние достижения молекулярной биологии дают более широкое понимание функций микробиоты и определяют ее отличительные особенности при здоровых и болезненных состояниях, программы скрининга, включающие исследование микробиоты, могут быть полезны для выявления лиц, находящихся в группах онкологического риска, и для разработки адекватных подходов к профилактике в соответствии с индивидуальным уровнем риска [71].

Из данных о влиянии микробиоты полости рта на риск различных локализаций опухолей вытекает практический вывод, важный для профилактики рака, — необходимость соблюдения гигиены полости рта, снижающей возможность размножения большого числа микроорганизмов и уменьшающей их разнообразие. В этом случае инструментом профилактики рака выступает такая простая гигиеническая процедура, как чистка зубов, а также контроль их состояния и своевременное лечение [72].

Периодонтит и воспалительные заболевания кишечника — сложные хронические заболевания, основными из которых являются болезнь Крона и неспецифический язвенный колит, характеризующиеся aberrантным иммунным ответом хозяина и нарушением регуляции микробиоты. При наличии дисбиоза в полости рта и кишечнике их связь повышает онкологический риск. В то же время имеющиеся данные о влиянии лечения заболеваний пародонта на течение воспалительных заболеваний кишечника, которые снижают системную иммунную активацию, подчеркивают важность распознавания и лечения

обоих состояний для профилактики перехода их в канцерогенез [73].

Среди факторов, связывающих онкологическую заболеваемость с микробиомом, заслуживает внимания вопрос о роли центральной нервной системы, которая участвует в поддержании гомеостаза пищеварительного тракта. Заболевания нервной системы, стресс или негативные эмоции приводят к рефлекторному ослаблению перистальтики кишечника, неполному перевариванию пищи и накоплению продуктов бактериального метаболизма, вызывающих дисбиоз. В результате этого нарушается барьерная функция слизистой оболочки, и патогенные виды бактерий проникают в подслизистый слой, вызывая воспаление. Поступление в кровоток токсических продуктов дисбиоза, в свою очередь, отражается на состоянии нервной системы, вызывая, в частности, хроническую усталость, депрессию и различные психосоматические заболевания. Возникает порочный круг, поддерживающий хроническое воспаление и аутоиммунные реакции, характерные для таких предраковых заболеваний, как болезнь Крона и неспецифический язвенный колит [74, 75].

Таким образом, в контексте современных знаний о микробиоме и его участии в канцерогенезе давно известный тезис о необходимости лечения хронических фоновых и предопухолевых заболеваний в целях профилактики рака получил не только дополнительный стимул, но и научные обоснования для разра-

ботки новых комплексных подходов к его практической реализации.

Заключение

Многочисленные микробиологические, генетические и эпидемиологические исследования с использованием омиксных технологий существенно расширили знания о влиянии различных микроорганизмов на канцерогенез, показав их противоположные роли в этом процессе. Например, прослеживается активное участие в патогенезе многих опухолей *H. pylori* и *F. nucleatum*, которые на данный момент могут рассматриваться как наиболее вероятные маркеры повышенного онкологического риска ряда локализаций, с одной стороны. С другой стороны, модуляция микробиотой противоопухолевого иммунитета человека, применение химерных бактериальных токсинов и БНВ открывают возможные пути их использования в лечении рака. Оценку особенностей микробиоты в качестве маркеров опухолевого процесса для определения риска и прогноза широкого спектра опухолей, ранней диагностики онкологических заболеваний, проведенную с помощью молекулярных, геномных и эпидемиологических исследований, можно рассматривать как наиболее значимый результат для практического применения. В свете современных представлений о роли микробиоты в канцерогенезе представляется важным активное воздействие на нее в виде про-, пре- и синбиотиков для профилактики рака.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Busch W. Aus der Sitzung der medicinischen Section vom 13 November 1867. Berlin Klin Wochenschr. 1868;5:137. (Ger).
2. Fehleisen F. Ueber die Züchtung der Erysipelkokken auf künstlichem Nährboden und ihre Übertragbarkeit auf den Menschen. Dtsch Med Wochenschr 1882;8:553–4. (In Germ.).
3. Coley W.B. The treatment of malignant inoperable tumors with the mixed toxins of erysipelas and *Bacillus prodigiosus*. Brussels: M Weissenbruch, 1914. URL: https://archive.org/details/McGillLibrary-osl_treatment-tumors_C69588t1914-17842/page/n3/mode/2up
4. Yen S., Johnson J.S. Metagenomics: a path to understanding the gut microbiome. Mamm Genome 2021;32(4):282–96. DOI: 10.1007/s00335-021-09889-x
5. Wensel C.R., Pluznick J.L., Salzberg S.L., Sears C.L. Next-generation sequencing: insights to advance clinical investigations of the microbiome. J Clin Invest 2022;132(7):e154944. DOI: 10.1172/JCI154944
6. Shirazi M.S.R., Al-Alo K.Z.K., Al-Yasiri M.H. et al. Microbiome dysbiosis and predominant bacterial species as human cancer biomarkers. J Gastrointest Cancer 2020;51(3):725–8. DOI: 10.1007/s12029-019-00311-z
7. Dan W., Peng L., Yan B. et al. Human microbiota in esophageal adenocarcinoma: pathogenesis, diagnosis, prognosis and therapeutic implications. Front Microbiol 2022;12:791274. DOI: 10.3389/fmicb.2021.791274
8. Zhang X., Hoffman K.L., Wei P. et al. Baseline oral microbiome and all-cancer incidence in a cohort of nonsmoking Mexican American women. Cancer Prev Res (Phila) 2021;14(3):383–92. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-20-0405
9. Su S.C., Chang L.C., Huang H.D. et al. Oral microbial dysbiosis and its performance in predicting oral cancer. Carcinogenesis 2021;42(1):127–35. DOI: 10.1093/carcin/bgaa062
10. Rai A.K., Panda M., Das A.K. et al. Dysbiosis of salivary microbiome and cytokines influence oral squamous cell carcinoma through inflammation. Arch Microbiol 2021;203(1):137–52. DOI: 10.1007/s00203-020-02011-w
11. Park S.Y., Hwang B.O., Lim M. et al. Oral-gut microbiome axis in gastrointestinal disease and cancer. Cancers (Basel) 2021;13(9):2124. DOI: 10.3390/cancers13092124
12. Sun J., Tang Q., Yu S. et al. Role of the oral microbiota in cancer evolution and progression. Cancer Med 2020;9(17):6306–21. DOI: 10.1002/cam4.3206
13. Stasiewicz M., Kwaśniewski M., Karpiński T.M. Microbial associations with pancreatic cancer: a new frontier in biomarkers. Cancers (Basel) 2021;13(15):3784. DOI: 10.3390/cancers13153784

14. Yamamura K., Baba Y., Nakagawa S. et al. Human microbiome *Fusobacterium nucleatum* in esophageal cancer tissue is associated with prognosis. *Clin Cancer Res* 2016;22(22):5574–81. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1786
15. Zhang S., Kong C., Yang Y. et al. Human oral microbiome dysbiosis as a novel non-invasive biomarker in detection of colorectal cancer. *Theranostics* 2020;10(25):11595–606. DOI: 10.7150/thno.49515
16. Kim M., Vogtmann E., Ahlquist D.A. et al. Fecal metabolomic signatures in colorectal adenoma patients are associated with gut microbiota and early events of colorectal cancer pathogenesis. *mBio* 2020;11(1):e03186–19. DOI: 10.1128/mBio.03186-19
17. Gao R., Wang Z., Li H. et al. Gut microbiota dysbiosis signature is associated with the colorectal carcinogenesis sequence and improves the diagnosis of colorectal lesions. *J Gastroenterol Hepatol* 2020;35(12):2109–21. DOI: 10.1111/jgh.15077
18. Li N., Bai C., Zhao L. et al. Characterization of the fecal microbiota in gastrointestinal cancer patients and healthy people. *Clin Transl Oncol* 2022;24(6):1134–47. DOI: 10.1007/s12094-021-02754-y
19. Ren Z., Li A., Jiang J. et al. Gut microbiome analysis as a tool towards targeted non-invasive biomarkers for early hepatocellular carcinoma. *Gut* 2019;68(6):1014–23. DOI: 10.1136/gutjnl-2017-315084
20. Wheatley R.C., Kilgour E., Jacobs T. et al. Potential influence of the microbiome environment in patients with biliary tract cancer and implications for therapy. *Br J Cancer* 2022;126(5):693–705. DOI: 10.1038/s41416-021-01583-8
21. Kirishima M., Yokoyama S., Matsuo K. et al. Gallbladder microbiota composition is associated with pancreaticobiliary and gallbladder cancer prognosis. *BMC Microbiol* 2022;22(1):147. DOI: 10.1186/s12866-022-02557-3
22. Zhuang H., Cheng L., Wang Y. et al. Dysbiosis of the gut microbiome in lung cancer. *Front Cell Infect Microbiol* 2019;9:112. DOI: 10.3389/fcimb.2019.00112
23. Zheng Y., Fang Z., Xue Y. et al. Specific gut microbiome signature predicts the early-stage lung cancer. *Gut Microbes* 2020;11(4):1030–42. DOI: 10.1080/19490976.2020.1737487
24. Zhao F., An R., Wang L. et al. Specific gut microbiome and serum metabolome changes in lung cancer patients. *Front Cell Infect Microbiol* 2021;11:725284. DOI: 10.3389/fcimb.2021.725284
25. Laliani G., Ghasemian Sorboni S., Lari R. et al. Bacteria and cancer: different sides of the same coin. *Life Sci* 2020;246:117398. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117398
26. Nomura M. Association of the gut microbiome with cancer immunotherapy. *Int J Clin Oncol* 2023;28(3):347–53. DOI: 10.1007/s10147-022-02180-2
27. Matson V., Fessler J., Bao R. et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science* 2018;359(6371):104–8. DOI: 10.1126/science.aao3290
28. Davar D., Dzutsev A.K., McCulloch J.A. et al. Fecal microbiota transplant overcomes resistance to anti-PD-1 therapy in melanoma patients. *Science* 2021;371(6529):595–602. DOI: 10.1126/science.abf3363
29. Tomita Y., Ikeda T., Sakata S. et al. Association of probiotic *Clostridium butyricum* therapy with survival and response to immune checkpoint blockade in patients with lung cancer. *Cancer Immunol Res* 2020;8(10):1236–42. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-20-0051
30. Gupta K.H., Nowicki C., Giurini E.F. et al. Bacterial-based cancer therapy (BBCT): recent advances, current challenges, and future prospects for cancer immunotherapy. *Vaccines (Basel)* 2021;9(12):1497. DOI: 10.3390/vaccines9121497
31. Routy B., Le Chatelier E., Derosa L. et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science* 2018;359(6371):91–7. DOI: 10.1126/science.aan3706
32. Лаптева О.Г. Разработка способа глубинного культивирования вакцинного штамма *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. *Ветеринария сегодня* 2023;12(2):158–63. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-158-163
33. Lapteva O.G. Development of submerged cultivation method for vaccine *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* strain. *Veterinariya segodnya = Veterinary Science Today* 2023;12(2):158–63. (In Russ.). DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-158-163
34. Vitiello G.A., Cohen D.J., Miller G. Harnessing the microbiome for pancreatic cancer immunotherapy. *Trends Cancer* 2019;5(11):670–6. DOI: 10.1016/j.trecan.2019.10.005
35. Leinwand J., Miller G. Regulation and modulation of antitumor immunity in pancreatic cancer. *Nat Immunol* 2020;21(10):1152–9. DOI: 10.1038/s41590-020-0761-y
36. Gopalakrishnan V., Spencer C.N., Nezi L. et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science* 2018;359(6371):97–103. DOI: 10.1126/science.aan4236
37. Limeta A., Ji B., Levin M. et al. Meta-analysis of the gut microbiota in predicting response to cancer immunotherapy in metastatic melanoma. *JCI Insight* 2020;5(23):e140940. DOI: 10.1172/jci.insight.140940
38. Szczyrek M., Bitkowska P., Chunowski P. et al. Diet, microbiome, and cancer immunotherapy – a comprehensive review. *Nutrients* 2021;13(7):2217. DOI: 10.3390/nu13072217
39. Peters B.A., Wilson M., Moran U. et al. Relating the gut metagenome and metatranscriptome to immunotherapy responses in melanoma patients. *Genome Med* 2019;11(1):61. DOI: 10.1186/s13073-019-0672-4
40. Sharma P.C., Sharma D., Sharma A. et al. Recent advances in microbial toxin-related strategies to combat cancer. *Semin Cancer Biol* 2022;86(Pt 3):753–68. DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.07.007
41. Khoshnood S., Fathizadeh H., Neamati F. et al. Bacteria-derived chimeric toxins as potential anticancer agents. *Front Oncol* 2022;12:953678. DOI: 10.3389/fonc.2022.953678
42. Erwert R.D., Eiting K.T., Tupper J.C. et al. Shiga toxin induces decreased expression of the anti-apoptotic protein Mcl-1 concomitant with the onset of endothelial apoptosis. *Microb Pathog* 2003;35(2):87–93. DOI: 10.1016/s0882-4010(03)00100-1
43. Robert A., Wiels J. Shiga toxins as antitumor tools. *Toxins (Basel)* 2021;13(10):690. DOI: 10.3390/toxins13100690
44. Trivanović D., Pavelić K., Peršurić Ž. Fighting cancer with bacteria and their toxins. *Int J Mol Sci* 2021;22(23):12980. DOI: 10.3390/ijms222312980
45. LaCourse K.D., Zepeda-Rivera M., Kempchinsky A.G. et al. The cancer chemotherapeutic 5-fluorouracil is a potent *Fusobacterium nucleatum* inhibitor and its activity is modified by intratumoral microbiota. *Cell Rep* 2022;41(7):111625. DOI: 10.1016/j.celrep.2022.111625
46. Kim O.Y., Dinh N.T., Park H.T. et al. Bacterial protoplast-derived nanovesicles for tumor targeted delivery of chemotherapeutics. *Biomaterials* 2017;113:68–79. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.10.037
47. Sartorio M.G., Pardue E.J., Feldman M.F., Haurat M.F. Bacterial outer membrane vesicles: from discovery to applications. *Annu Rev Microbiol* 2021;75:609–30. DOI: 10.1146/annurev-micro-052821-031444
48. Tropini C., Earle K.A., Huang K.C., Sonnenburg J.L. The gut microbiome: connecting spatial organization to function. *Cell Host Microbe* 2017;21(4):433–42. DOI: 10.1016/j.chom.2017.03.010
49. Turner L., Bitto N.J., Steer D.L. et al. *Helicobacter pylori* outer membrane vesicle size determines their mechanisms of host cell entry and protein content. *Front Immunol* 2018;9:1466. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01466

50. Patten D.A., Hussein E., Davies S.P. et al. Commensal-derived OMVs elicit a mild proinflammatory response in intestinal epithelial cells. *Microbiology (Reading)* 2017;163(5):702–11. DOI: 10.1099/mic.0.000468
51. Wang X., Ni J., You Y. et al. SNX10-mediated LPS sensing causes intestinal barrier dysfunction via a caspase-5-dependent signaling cascade. *EMBO J* 2021;40(24):e108080. DOI: 10.15252/embj.2021108080
52. Francescone R., Hou V., Grivennikov S.I. Cytokines, IBD, and colitis-associated cancer. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21(2):409–18. DOI: 10.1097/MIB.0000000000000236
53. Wong S.H., Yu J. Gut microbiota in colorectal cancer: mechanisms of action and clinical applications. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2019;16(11):690–704. DOI: 10.1038/s41575-019-0209-8
54. Bian X., Yang L., Wu W. et al. *Pediococcus pentosaceus* LI05 alleviates DSS-induced colitis by modulating immunological profiles, the gut microbiota and short-chain fatty acid levels in a mouse model. *Microb Biotechnol* 2020;13(4):1228–44. DOI: 10.1111/1751-7915.13583
55. Shi Y., Meng L., Zhang C. et al. Extracellular vesicles of *Lactocaseibacillus paracasei* PC-H1 induce colorectal cancer cells apoptosis via PDK1/AKT/Bcl-2 signaling pathway. *Microbiol Res* 2021;255:126921. DOI: 10.1016/j.micres.2021.126921
56. Fernández-Borbolla A., García-Hevia L., Fanarraga M.L. Cell membrane-coated nanoparticles for precision medicine: a comprehensive review of coating techniques for tissue-specific therapeutics. *Int J Mol Sci* 2024;25(4):2071. DOI: 10.3390/ijms25042071
57. Liang X., Dai N., Sheng K. et al. Gut bacterial extracellular vesicles: important players in regulating intestinal microenvironment. *Gut Microbes* 2022;14(1):2134689. DOI: 10.1080/19490976.2022.2134689
58. Wang D., Liu C., You S. et al. Bacterial vesicle-cancer cell hybrid membrane-coated nanoparticles for tumor specific immune activation and photothermal therapy. *ACS Appl Mater Interfaces* 2020;12(37):41138–47. DOI: 10.1021/acsami.0c13169
59. Meng Y., Chen S., Wang C., Ni X. Advances in composite biofilm biomimetic nanodrug delivery systems for cancer treatment. *Technol Cancer Res Treat* 2024;23:15330338241250244. DOI: 10.1177/15330338241250244
60. Chen Q., Huang G., Wu W. et al. A hybrid eukaryotic-prokaryotic nanoplatfrom with photothermal modality for enhanced antitumor vaccination. *Adv Mater* 2020;32(16):e1908185. DOI: 10.1002/adma.201908185
61. Rommasi F. Bacterial-based methods for cancer treatment: what we know and where we are. *Oncol Ther* 2022;10(1):23–54. DOI: 10.1007/s40487-021-00177-x
62. Behrouzi A., Nafari A.H., Siadat S.D. The significance of microbiome in personalized medicine. *Clin Transl Med* 2019;8(1):16. DOI: 10.1186/s40169-019-0232-y
63. Partula V., Mondot S., Torres M.J. et al. Associations between usual diet and gut microbiota composition: results from the Milieu Intérieur cross-sectional study. *Am J Clin Nutr* 2019;109(5):1472–83. DOI: 10.1093/ajcn/nqz029
64. Koponen K.K., Salosensaari A., Ruuskanen M.O. et al. Associations of healthy food choices with gut microbiota profiles. *Am J Clin Nutr* 2021;114(2):605–16. DOI: 10.1093/ajcn/nqab077
65. da Silva T.F., Casarotti S.N., de Oliveira G.L.V., Penna A.L.B. The impact of probiotics, prebiotics, and synbiotics on the biochemical, clinical, and immunological markers, as well as on the gut microbiota of obese hosts. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2021;61(2):337–55. DOI: 10.1080/10408398.2020.1733483
66. Serban D.E. Gastrointestinal cancers: influence of gut microbiota, probiotics and prebiotics. *Cancer Lett* 2014;345(2):258–70. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.08.013
67. Vivarelli S., Falzone L., Basile M.S. et al. Benefits of using probiotics as adjuvants in anticancer therapy (Review). *World Acad Sci J* 2019;1(3):125–35. DOI: 10.3892/wasj.2019.13
68. Chen S., Chen Y., Ma S. et al. Dietary fibre intake and risk of breast cancer: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. *Oncotarget* 2016;7(49):80980–9. DOI: 10.18632/oncotarget.13140
69. Cong J., Zhou P., Zhang R. Intestinal microbiota-derived short chain fatty acids in host health and disease. *Nutrients* 2022;14(9):1977. DOI: 10.3390/nu14091977
70. Davani-Davari D., Negahdaripour M., Karimzadeh I. et al. Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods* 2019;8(3):92. DOI: 10.3390/foods8030092
71. Hamada T., Nowak J.A., Milner D.A. Jr. et al. Integration of microbiology, molecular pathology, and epidemiology: a new paradigm to explore the pathogenesis of microbiome-driven neoplasms. *J Pathol* 2019;247(5):615–28. DOI: 10.1002/path.5236
72. Yano Y., Abnet C.C., Poustchi H. et al. Oral health and risk of upper gastrointestinal cancers in a large prospective study from a high-risk region: golestan cohort study. *Cancer Prev Res (Phila)* 2021;14(7):709–18. DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-20-0577
73. Newman K.L., Kamada N. Pathogenic associations between oral and gastrointestinal diseases. *Trends Mol Med* 2022;28(12):1030–9. DOI: 10.1016/j.molmed.2022.05.006
74. Teratani T., Mikami Y., Nakamoto N. et al. The liver-brain-gut neural arc maintains the Treg cell niche in the gut. *Nature* 2020;585(7826):591–6. DOI: 10.1038/s41586-020-2425-3
75. Mikami Y., Tsunoda J., Kiyohara H. et al. Vagus nerve-mediated intestinal immune regulation: therapeutic implications of inflammatory bowel diseases. *Int Immunol* 2022;34(2):97–106. DOI: 10.1093/intimm/dxab039

Вклад авторов

Л.Г. Соленова: концепция и дизайн исследования, сбор и анализ данных, написание текста;

Н.И. Рыжова: сбор, анализ, интерпретация данных;

Г.А. Белицкий: внесение принципиальных позиций в концепцию исследования, доработка текста;

И.А. Антонова: формирование и работа со списком литературы;

К.И. Кирсанов: редактирование, подготовка текста к публикации;

М.Г. Якубовская: концепция и дизайн исследования, сбор, анализ, интерпретация данных, редактирование.

Все авторы внесли эквивалентный вклад в подготовку статьи и утвердили окончательный вариант, одобренный к публикации.

Author's contributions

L.G. Solenova: concept and design of the study, data collection, analysis, writing of the text;

N.I. Ryzhova: collection, analysis, interpretation of data;

G.A. Belitsky: introduction of fundamental positions into the study concept, text revision;

I.A. Antonova: processing of the references list;

K.I. Kirsanov: editing, preparation of the text for publication;

M.G. Yakubovskaya: concept and design of research, data collection, analysis, interpretation, editing.

All authors made equivalent contributions to the preparation of the article and approved the final version for publication.

ORCID авторов / ORCID of author

Л.Г. Соленова / L.G. Solenova: <https://orcid.org/0000-0002-4443-8376>

Н.И. Рыжова / N.I. Ryzhova: <https://orcid.org/0000-0002-4224-6303>

Г.А. Белицкий / G.A. Belitsky: <https://orcid.org/0000-0002-3167-7204>

И.А. Антонова / I.A. Antonova: <https://orcid.org/0009-0004-3482-8954>

К.И. Кирсанов / K.I. Kirsanov: <https://orcid.org/0000-0002-8599-6833>

М.Г. Якубовская / M.G. Yakubovskaya: <https://orcid.org/0000-0002-9710-8178>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда (№ 23-65-00003).

Funding. The work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 23-65-00003).

Статья поступила: 19.09.2024. Принята в печать: 21.10.2024. Опубликовано онлайн: **.*.2024.

Article submitted: 19.09.2024. Accepted for publication: 21.10.2024. Published online: **.*.2024.

Влияние спонтанной регрессии опухоли на прогрессию меланомы

К.С. Титов^{1,2}, М.В. Сорокина¹, О.В. Паклина³, М.В. Киселевский⁴, С.С. Лебедев^{1,5}, А.В. Лунина¹

¹ГБУЗ г. Москвы «Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский проезд, 5;

²ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;

³ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 111123 Москва, шоссе Энтузиастов, 86;

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

⁵ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Россия, 125993 Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

Контакты: Маргарита Викторовна Сорокина wwwdelicious@rambler.ru

Введение. Меланома кожи (МК) – злокачественная неэпителиальная опухоль из трансформированных меланоцитов с преимущественной локализацией на коже (более 90 % случаев). Согласно статистике за 2021 г., в России МК составила 1,82 % всех злокачественных новообразований взрослого населения и 12,65 % всех опухолей кожи. Отмечается неуклонный и ежегодный рост заболеваемости МК во всем мире, особенно в странах с населением преимущественно европеоидной расы. В России за последние 10 лет смертность от МК увеличилась на 17,6 %. МК – гетерогенная опухоль с высоким метастатическим потенциалом, вследствие чего, помимо стандартных клинических и патоморфологических прогностических факторов, выявление дополнительных факторов прогрессии и неблагоприятного прогноза заболевания остается актуальной и не решенной до конца проблемой современной онкологии.

Цель исследования – определить роль спонтанной регрессии опухоли при возникновении прогрессии МК на основе анализа данных литературы и их систематизации.

Результаты. Представленный обзор литературы отражает различные мировые данные исследователей о роли спонтанной регрессии МК при прогрессировании. Спонтанная регрессия МК представляет собой иммунологический процесс, при котором наблюдается исчезновение опухолевых клеток, что приводит к разделению опухоли на отдельные островки с промежуточными участками неопухолевой ткани. Механизм возникновения спонтанной регрессии первичной МК, как и ее прогностическая значимость, недостаточно понятен и изучен. Большинство исследователей в первую очередь связывают возникновение спонтанной регрессии меланомы с иммунным ответом, так как во всех случаях регрессии отмечалась лимфоцитарная инфильтрация опухоли. Наличие лимфоидной инфильтрации, а также количественное и качественное соотношение ее клеток имеют значение в развитии опухолевого процесса, влияют на эффективность иммунотерапии и являются в большей степени фактором благоприятного прогноза для пациента.

Заключение. Прогностическая роль спонтанной регрессии меланомы до сих пор остается нерешенным и спорным вопросом. Интересно то, что ряд исследований демонстрируют следующее: регрессия есть независимый предиктор прогрессирования МК.

Ключевые слова: меланома, риск рецидива, лимфоидная инфильтрация опухоли, регрессия меланомы, прогноз

Для цитирования: Титов К.С., Сорокина М.В., Паклина О.В. и др. Влияние спонтанной регрессии опухоли на прогрессию меланомы. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):22–9.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-22-29>

The effect of spontaneous tumor regression on melanoma progression

Konstantin S. Titov^{1,2}, Margarita V. Sorokina¹, Oxana V. Paklina³, Mikhail V. Kiselevskiy⁴, Sergey S. Lebedev^{1,5}, Anastasia V. Lunina¹

¹S.P. Botkin Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center, Moscow Healthcare Department; 5 2nd Botkinsky Proezd, Moscow 125284, Russia;

²Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia;

³A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow Healthcare Department; 86 Entuziastov Shosse, Moscow 111123, Russia;

⁴N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

⁵Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia; Build. 1, 2/1 Barricadnaya St., Moscow 125993, Russia

Contacts: Margarita Viktorovna Sorokina wwwdelicious@rambler.ru

Background. Skin melanoma (SM) is a malignant non-epithelial tumor of transformed melanocytes with predominant localization on the skin (more than 90 % of cases). According to statistics for 2021, SM in Russia accounted for 1.82 % of all malignant neoplasms of the adult population and 12.65 % of all skin tumors. There has been a steady and annual increase in the incidence of SM throughout the world, especially in countries with a predominantly Caucasian population. In Russia, over the past 10 years, mortality from SM has increased by 17.6 %. SM is a heterogeneous tumor with a high metastatic potential, because in addition to standard clinical and pathomorphological prognostic factors, the identification of additional factors of progression and unfavorable prognosis of the disease remains an urgent and unresolved problem of modern oncology.

Aim. To determine the role of spontaneous tumor regression in the occurrence of SM progression based on the analysis of literature data and their systematization.

Results. This literature review reflects various global research data on the role of spontaneous regression of SM in progression. Spontaneous regression of SM is an immunological process in which the disappearance of tumor cells is observed, which leads to the division of the tumor into separate islands with intermediate areas of non-tumor tissue. The mechanism of spontaneous regression of primary SM, as well as its prognostic significance, is not well understood and studied. Of course, most researchers primarily associate the occurrence of spontaneous regression of melanoma with an immune response, since lymphocytic infiltration of the tumor was noted in all cases of regression. The presence of lymphoid infiltration, as well as the quantitative and qualitative ratio of its cells, are important in the development of the tumor process, affect the effectiveness of immunotherapy and is to a greater extent a factor in a favorable prognosis.

Conclusion. The prognostic role of spontaneous melanoma regression is still an unresolved and controversial issue. Interestingly, a number of studies demonstrate that regression is an independent predictor of the progression of SM.

Keywords: melanoma, risk of recurrence, lymphoid infiltration of the tumor, regression of melanoma, prognosis

For citation: Titov K.S., Sorokina M.V., Paklina O.V. et al. The effect of spontaneous tumor regression on melanoma progression. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2024;23(4):22–9. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-22-29>

Введение

Развитием меланомы предопределяется 70,3 % смертельных исходов от всех онкологических заболеваний кожи [1, 2]. Отмечается ежегодный рост заболеваемости меланомой как в мире, так и в Российской Федерации [3]. Меланома является гетерогенной и агрессивной опухолью с высоким метастатическим потенциалом, потому выявление дополнительных факторов прогрессирования и неблагоприятного прогноза заболевания остается актуальной проблемой.

Известно, что меланома кожи (МК) — иммунногенная опухоль, т.е. она способна индуцировать противоопухолевый иммунный ответ, на что указывает прежде всего позитивный ответ на иммунотерапию, наличие лимфоидной инфильтрации вокруг опухолевых комплексов и внутри них в большинстве случаев, а также феномен частичной спонтанной регрессии (до 30 %). Полная регрессия первичной злокачественной меланомы — редкое явление, которое наблюдается в 0,22–0,27 % случаев [4]. Мнения о значении первичной регрессии для прогноза больных

меланомой противоречивы. С одной стороны, приводятся данные о частоте метастатического поражения на фоне полной регрессии первичного очага 4–10 %. С другой стороны, имеется информация о значительном увеличении случаев метастазирования тонкой меланомы с обширной (>50 %) регрессией [5]. Полная регрессия толстой первичной меланомы на фоне метастатического заболевания может предвещать плохой прогноз. В частности, Н. Khosravi и соавт. продемонстрировали случай полной регрессии толстой первичной злокачественной меланомы с быстрым развитием метастатического заболевания и смертью [6].

Цель нашего исследования — определить роль спонтанной регрессии опухоли при возникновении прогрессии МК на основе анализа данных литературы и их систематизации.

Механизм спонтанной регрессии меланомы

Механизм спонтанной регрессии опухоли до конца не изучен, иммунологические факторы считаются

ключевым аспектом этого процесса. Одно из возможных объяснений спонтанной регрессии — противоопухолевая активность цитотоксических Т-лимфоцитов, которая, однако, не проявляется в отношении метастазов меланомы [7]. Спонтанная регрессия меланомы может быть результатом аутоиммунных реакций, инициируемых цитотоксическими Т-лимфоцитами и естественными клетками-киллерами (NK-клетками) в ответ на опухолеассоциированные антигены. Большинство антигенов меланогенного пути, таких как гликопротеин 100 (gp100), меланома-ассоциированный антиген, распознаваемый Т-клетками 1 (MART-1), тирозиназа, распознаваемых цитотоксическими Т-лимфоцитами, экспрессируются как клетками меланомы, так и нормальными меланоцитами, что объясняет, почему спонтанная регрессия меланомы может быть результатом нескольких аутоиммунных реакций (вызывающих не только регрессию меланомы, но и витилиго — аутоиммунного заболевания, часто связанного с меланомой) [8]. У пациентов, которые получают лечение ингибиторами иммунных контрольных точек, развиваются схожие аутоиммунные реакции, которые коррелируют с лучшими терапевтическими результатами, что объясняет аутоиммунный характер спонтанной регрессии меланомы [9]. Витилиго, лейкодермия и регрессия меланомы, очевидно, имеют сходные механизмы, являясь следствием иммунного ответа против антигенов, общих для меланомных клеток и нормальных меланоцитов. У большинства пациентов как с витилиго, так и с меланомой обнаруживались меланоцит-специфические CD8⁺-Т-лимфоциты и лимфоидные инфильтраты на краях регрессии первичного опухолевого узла [10]. Таким образом, цитотоксические CD8⁺-Т-клетки рассматриваются как основные эффекторы, специфически распознающие опухолеассоциированные антигены, и их значительное присутствие в очагах меланомы при регрессии подтверждает участие данных клеток в иммуопосредованной регрессии [11]. Однако не все исследователи разделяют эту точку зрения, поскольку не удается выявить различий в инфильтрации CD8⁺-Т-клеток при сравнении групп с наличием или отсутствием регрессии опухоли либо регрессировавших и нерегрессировавших участков одних и тех же новообразований [12]. Такое расхождение результатов может быть связано как с различными параметрами оценки опухолинфильтрирующих лимфоцитов (tumor infiltrating lymphocytes — TILs), так и с анализом, проводимым на разных этапах регрессии, поэтому остается неясным, является ли инфильтрация CD8⁺-Т-клеток причиной или следствием регрессии опухоли [13]. Кроме CD8⁺-Т-клеток, CD56⁺-NK-клетки участвуют в механизме регрессии меланомы во время ранней фазы ее регрессии [14], что подтверждается активацией

NK-клеточных рецепторов в ложе опухоли и увеличением количества NK-клеток при регрессирующей меланоцитарных поражениях [15]. Эпидермальные клетки, в частности кератоциты, являются продуцентами хемокинов — лигандов хемокинов мотива C-X-C 9 и 10. Этот градиент хемокинов поддерживает непрерывную миграцию меланоцит-специфических эффекторных CD8⁺-Т-клеток. Хемокинзависимое рекрутирование и позиционирование CD8⁺-Т-клеток приводит к гибели как меланоцитов, так и клеток меланомы. Данные о В-клетках, инфильтрирующих регресс меланомы человека, ограничены, и их участие в этом процессе остается неясным. При этом наличие аутоантител к меланоцитам наблюдается у 80 % больных меланомой и у 83 % — витилиго [16]. Несомненно, что в механизме спонтанной регрессии остается недооцененной роль опухолинфильтрирующих макрофагов. На фоне воспалительной фазы происходит стимуляция местного ангиогенеза и рекрутирование макрофагов за счет продукции лейкоцитарных инфильтратов цитокинов и хемокинов. Привлеченные в эту область макрофаги активируются под воздействием провоспалительного микроокружения и начинают продуцировать токсичные свободные радикальные молекулы. Накопление свободных радикалов приводит к неспецифической гибели окружающих клеток, как опухолевых, так и нетрансформированных меланоцитов и кератоцитов и их замещению фиброзной тканью [17]. Вполне вероятно, что воспалительная фаза, сопровождаемая высвобождением медиаторов воспаления, формированием эктопических сосудов, способствует транслокации меланомных клеток в кровотоки и стимулирует метастазирование.

Регрессия меланомы представляет собой иммунологический процесс, при котором наблюдается спонтанное исчезновение опухолевых клеток, что приводит к разделению опухоли на отдельные островки с промежуточными участками неопухолевой ткани. Процесс регрессии меланомы подразделяют на 3 основные фазы. На ранней (воспалительной) фазе участок опухоли заполнен плотными лимфоцитарными инфильтратами с наличием гнезд меланоцитов. В промежуточной фазе регрессии наблюдается уменьшение или исчезновение опухоли в сосочковом слое дермы, а иногда и в вышележащем эпидермисе, поскольку опухоль заменяется лимфоцитами и фиброзом. На этой стадии отмечаются эктопические сосуды и пигментированные макрофаги. В поздней фазе регрессии наблюдается область выраженной регрессии с полным исчезновением опухоли, которая замещена плотной фиброзной тканью с сосудами и меланофагами, небольшим количеством или отсутствием лимфоцитов [18]. В поздней фазе регрессии меланомы происходит дегенерация клеток опухоли

и кератиноцитов и их замещение фиброзной тканью [19].

Опухольинфильтрирующие лимфоциты как опухолевое микроокружение при меланоме кожи

Определено, что TILs — это совокупность иммунокомпетентных клеток опухоли как проявление иммунологической реакции организма. TILs в основном относятся к Т-клеткам (CD4⁺ и CD8⁺) [20]. Установлено, что выраженная инфильтрация опухоли цитотоксическими CD8⁺-Т-клетками напрямую коррелировала с лучшей выживаемостью пациентов и хорошим ответом на иммунотерапию [21]. При выраженной TILs-инфильтрации общая выживаемость (ОВ) больных (5 и 10 лет) с МК в фазе вертикальной роста составила 77 и 55 % соответственно и 27 % — при ее отсутствии.

В настоящее время нет полного согласия относительно благоприятной прогностической роли TILs опухолевого микроокружения при МК. По данным С. Camisaschi и соавт., сообщалось о примерах, показывающих, что TILs могут даже способствовать росту и метастазированию меланомы [22]. В исследовании R.C. Taylor выраженность TILs-инфильтрации взаимосвязана с наличием метастазов меланомы в сторожевых лимфатических узлах (СЛУ). У пациентов с метастазами в СЛУ при выраженной TILs-инфильтрации в течение 30 мес также наблюдалась лучшая безрецидивная выживаемость (БРВ) — 81,3 % по сравнению с пациентами с невыраженной TILs-инфильтрацией — 46,8 % и пациентами с ее отсутствием — 29,3 % [23].

Прогностическая значимость CD4⁺-Т-лимфоцитов в противоопухолевом ответе остается спорным вопросом. Имеются данные о том, что CD4⁺-Т-лимфоциты активируют цитотоксические Т-лимфоциты CD8⁺, при этом Т-reg (Т-регуляторные) клетки, экспрессирующие на мембране такие маркеры, как CTLA-4 (гликопротеин цитотоксических Т-лимфоцитов 4) и FoxP3 (forkhead box протеин 3), имеют возможность подавлять цитотоксическую активность CD8⁺-лимфоцитов. Данный путь приводит к снижению противоопухолевого иммунитета и прогрессированию опухоли [24, 25]. Опухолевые клетки способны обходить иммунный контроль, а Т-reg-клетки имеют антигензависимую супрессорную активность. Опухолевые клетки привлекают и активируют Т-reg клетки, но их мишенями становятся другие иммунные клетки [26]. По данным исследования, проведенного в Швейцарии, высокий уровень FoxP3⁺-Т-лимфоцитов в инфильтрате опухоли ухудшает БРВ и ОВ пациентов и является независимым предиктором развития меланомы [27]. Это подтверждается и данными А.С. Kno1 и соавт.: повышение FoxP3⁺-Т-лимфоцитов коррелировало с прогрессированием за-

болевания [28]. В исследовании Н. Fuji и соавт. содержание FoxP3⁺ не влияло на появление у пациентов метастазов в СЛУ [29]. Трудности в изучении лимфоидного инфильтрата заключаются в неоднородности клеток системы иммунитета. В опухоли одновременно присутствуют противоопухолевые иммунные клетки и клетки, стимулирующие опухолевый рост; также непосредственно сами опухолевые клетки способны менять функцию присутствующих иммунных клеток в опухоли [30].

Полная регрессия меланомы — чрезвычайно редкое явление, она составляет не более 1–2 % подобных случаев. При полностью регрессировавшей меланоме эпидермис, как правило, поврежден, чаще атрофичен, но возможна гиперплазия отдельных участков. Отмечается ангиоматоз и фиброз дермы, иногда с очагами опухолевого меланоза и выраженным лимфоцитарным инфильтратом на месте регрессии [31].

Частичная регрессия при МК не является редкостью и составляет от 10 до 35 % независимо от толщины опухоли по Бреслоу. Имеются данные о том, что тонкие меланомы (толщиной менее 1 мм) демонстрируют частичную регрессию в 61 % всех опухолевых поражений. При частичной регрессии можно обнаружить остаточные клетки меланомы вокруг или внутри области фиброза; в некоторых случаях инвазивный компонент полностью исчезает, в то время как интраэпидермальный компонент, или *in situ*, — сохраняется.

У пациентов с регрессией опухоли первичный очаг меланомы чаще локализован на коже туловища или нижних конечностей, при этом отмечается явное преобладание лиц мужского пола с показателем среднего возраста приблизительно 48 лет [32].

Взаимосвязь спонтанной регрессии с иммунным ответом опухоли

Большинство исследователей в первую очередь связывают возникновение спонтанной регрессии меланомы с иммунным ответом, так как во всех случаях регрессии отмечалась лимфоцитарная инфильтрация опухоли. По некоторым данным, один из механизмов, который может вызвать регрессию меланомы, — снижение активности транскрипционного фактора микрофалма (MITF) в меланоцитах. Другой механизм, предложенный В.С. Bastian, предполагает, что снижение активности теломеразы может привести к аномальной функции теломер и таким образом вызвать репликативное старение в клетках меланомы, что приводит к образованию апоптотических телец и реакции Т-лимфоцитов. Отчетливые различия наблюдались в Т-reg-клетках FoxP3⁺ и NK-клетках CD56. Т-reg и NK-клетки являются основными эффекторными клетками, что позволяет предположить, что они могут модифицировать микроокружение опухоли, подавляя ее рост, и останавливать прогрессию опухоли [33–35].

Недавнее исследование показало, что сверхэкспрессия молекулы клеточной адгезии, обусловленной онкоэмбриональным антигеном 1, – CEACAM1 (ключевой молекулы, обуславливающей повышенную инвазию и миграцию клеток меланомы) была связана с инвазивными тонкими меланомами. Авторы обнаружили, что в зонах регрессии опухолевые клетки имеют сниженную экспрессию CEACAM1, что коррелирует с присутствием NK-киллеров в опухоли [36].

К. Т. Morris и соавт. обнаружили повышенный общий риск рецидива у пациентов без регрессии, однако не выявлено корреляции между метастазами в СЛУ и регрессией в первичной опухоли [37]. Напротив, все метастатические меланомы с наличием опухолевых клеток в СЛУ не имели признаков регрессии в первичной опухоли. Предполагается, что наличие регрессии в первичной опухоли может затруднить обнаружение метастазов в лимфатических узлах (ЛУ). Вполне возможно, что те же иммунные механизмы, которые вызывают регрессию первичной опухоли, могут также вызывать регрессию метастазов в ЛУ. J. С. Rubinstein и соавт. отметили, что признаки регрессии первичной опухоли зарегистрированы в 60 % случаев у пациентов с отдаленными метастазами, а в 16 % – с наличием метастазов в СЛУ [38].

К. Aivazian и соавт. представили результаты исследования, в котором показали, что пациенты, у которых опухоль была с признаками регрессии и наличием TILs, имели самые высокие показатели ОБ и БРВ (5- и 10-летние). Исследователи измеряли глубину регрессии от верхней части зернистого слоя до самой глубокой точки фиброза, игнорируя любое окружающее воспаление. Диаметр регрессии определяли как горизонтальную протяженность фиброза (или сумму всех горизонтальных измерений, если присутствовало более 1 области фиброза). Обнаружено, что опухоли, демонстрирующие TILs, – более тонкие по Бреслоу, в то время как опухоли с установленной регрессией имели минимальную толщину независимо от того, присутствовали ли TILs или нет, также частота митозов в них была ниже. Наличие изъязвления опухоли обратно коррелировало с ее регрессией. В опухолях, не имеющих признаков установленной регрессии, наличие TILs независимо предсказывало улучшение ОБ и БРВ, что согласуется с гипотезой о том, что TILs, вероятно, отражает эффективное взаимодействие опухоли с иммунной системой [39, 40].

Роль спонтанной регрессии опухоли при проведении биопсии сторожевого лимфатического узла

Исследование С. Kaug и соавт., проведенное в Великобритании, которое включало 146 пациентов с ме-

ланомой, перенесших биопсию СЛУ, показало, что преобладало число больных с регрессией опухоли без метастазов в СЛУ по сравнению с группой пациентов без регрессии опухоли. В 62 случаях меланома имела толщину <1 мм и находилась в фазе радиального роста, однако пациентам было предложено удаление СЛУ из-за наличия регрессии. В 44 случаях у больных с признаками регрессии опухоли все СЛУ были без метастазов. Авторы сделали вывод о том, что регрессия является благоприятным фактором прогноза, особенно при тонких меланомах [41].

В исследовании F. Tas и соавт., включавшем 664 пациента, у большинства из которых поражения были без регрессии ($n = 495$; 74,5 %), а у других – с регрессией ($n = 169$; 25,5 %), не обнаружено прогностической роли регрессии ни при поражении ЛУ, ни в выживаемости пациентов с МК. Более того, наличие опухолевой регрессии не было значимо связано с возрастом, уровнем Кларка, частотой митозов, изъязвлением, фазой вертикального роста, нейротропизмом, лимфоваскулярной инвазией или ассоциацией с ранее существовавшим меланоцитарным невусом. Аналогично показано в другом исследовании, где не выявлено существенных корреляций между регрессией и поражением ЛУ, рецидивом или метастазированием опухоли [42].

В исследовании S. Morrison и соавт. при анализе данных 2450 пациентов пришли к заключению, что регрессия опухоли не связана с ОБ и БРВ, при этом она имеет высокий уровень корреляции с лимфоцитарной инфильтрацией, которая достоверно ассоциирована с возникновением метастазов в СЛУ [43].

Заключение

Наличие лимфоидной инфильтрации, а также количественное и качественное соотношение ее клеток имеют значение в развитии опухолевого процесса, влияют на эффективность иммунотерапевтических препаратов и являются в большей степени фактором благоприятного прогноза для пациента. Однако повышение количества FoxP3⁺-Т-лимфоцитов в инфильтрате опухоли способствует прогрессированию заболевания. Роль Т-reg-клеток у разных гистологических подтипов опухоли на данный момент недостаточно изучена в части разработки новых специфических путей противоопухолевой терапии.

Интересно то, что в ряде исследований продемонстрировано следующее: регрессия есть независимый предиктор прогрессирования МК. Фаза вертикального роста, лимфоцитарная инфильтрация, толщина опухоли по Бреслоу, гистологический подтип меланомы – наиболее значимые прогностические факторы опухолевого развития, которые воздействуют в совокупности с регрессией.

Таким образом, наличие регрессии опухоли не может окончательно исключить прогрессирования болезни. Данный механизм исчезновения части опухолевых клеток представляет обширный интерес для понимания взаимодействия иммунной системы

и опухолевых клеток меланомы и требует дальнейшего изучения. Возможно, для данной категории пациентов при наличии регрессии показано активное динамическое наблюдение с целью раннего выявления прогрессирования МК.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О., Лисичникова И.В. Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2023. 275 с.
Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O., Lisichnikova I.V. Malignant neoplasms in Russia in 2022 (morbidity and mortality). Moscow: MNI OI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMITs radiologii” Minzdrava Rossii, 2023. 275 p. (In Russ.).
- Потекаев Н.Н., Титов К.С., Маркин А.А., Кашурников А.Ю. Эпидемиология меланомы кожи в Российской Федерации и в городе Москве за 10 лет (2008–2018 гг.). Клиническая дерматология и венерология 2020;19(6):810–6. DOI: 10.17116/klinderma202019061810
Potekaev N.N., Titov K.S., Markin A.A., Kashurnikov A.Yu. Epidemiology of skin melanoma in the Russian Federation and in the city of Moscow for 10 years (2008–2018). Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya = Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology 2020;19(6):810–6. (In Russ.). DOI: 10.17116/klinderma202019061810
- Эркенова Ф.Д., Пузин С.Н. Статистика меланомы в России и странах Европы. Медико-социальная экспертиза и реабилитация 2020;23(1):44–52. DOI: 10.17816/MSER34259
Erkenova F.D., Puzin S.N. Statistics of melanoma in Russia and European countries. Mediko-sotsial'naya ekspertiza i reabilitatsiya = Medical and Social Expert Evaluation and Rehabilitation 2020;23(1):44–52. (In Russ.). DOI: 10.17816/MSER34259
- van den Berg J.H., Heemskerk B., van Rooij N. et al. Tumor infiltrating lymphocytes (TIL) therapy in metastatic melanoma: boosting of neoantigen-specific T cell reactivity and long-term follow-up. J Immunother Cancer 2020;8(2):e000848. DOI: 10.1136/jitc-2020-000848
- Mulder E.E.A.P., Dwarkasing J.T., Tempel D. et al. Validation of a clinicopathological and gene expression profile model for sentinel lymph node metastasis in primary cutaneous melanoma. Br J Dermatol 2021;184(5):944–51. DOI: 10.1111/bjd.19499
- Khosravi H., Akabane A.L., Alloo A. et al. Metastatic melanoma with spontaneous complete regression of a thick primary lesion. JAAD Case Rep 2016;2(6):439–41. DOI: 10.1016/j.jcdr.2016.09.011
- Shah S., Al-Omari A., Cook K.W. et al. What do cancer-specific T cells ‘see’? Discov Immunol 2022;2(1):kyac011. DOI: 10.1093/discim/kyac011
- Motofei I.G. Melanoma and autoimmunity: spontaneous regressions as a possible model for new therapeutic approaches. Melanoma Res 2019;29(3):231–6. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000573
- Larkin J., Chiarion-Sileni V., Gonzales R. et al. Five-year survival with combined nivolumab and ipilimumab in advance melanoma. N Engl J Med 2019;381(16):1535–46. DOI: 10.1056/NEJMoa1910836
- Pan C., Shang J., Jiang H. et al. Transcriptome analysis reveals the molecular immunological characteristics of lesions in patients with halo nevi when compared to stable vitiligo, normal nevocytic nevi and cutaneous melanoma. J Inflamm Res 2021;14:4111–24. DOI: 10.2147/JIR.S321672
- Aung P.P., Nagarajan P., Prieto V.G. Regression in primary cutaneous melanoma: etiopathogenesis and clinical significance. Lab Invest 2017;97(6):657–68. DOI: 10.1038/labinvest.2017.8
- Osella-Abate S., Conti L., Annaratone L. et al. Phenotypic characterisation of immune cells associated with histological regression in cutaneous melanoma. Pathology 2019;51(5):487–93. DOI: 10.1016/j.pathol.2019.04.001
- Blanc F., Bertho N., Piton G. et al. Deciphering the immune reaction leading to spontaneous melanoma regression: initial role of MHCII⁺ CD163⁻ macrophages. Cancer Immunol Immunother 2023;72(11):3507–21. DOI: 10.1007/s00262-023-03503-6
- Gauthier L., Morel A., Anceriz N. et al. Multifunctional natural killer cell engagers targeting Nkp46 trigger protective tumor immunity. Cell 2019;177(7):1701–13. DOI: 10.1016/j.cell.2019.04.041
- Rahimi A., Malakoutikhah Z., Rahimianesh I. et al. The nexus of natural killer cells and melanoma tumor microenvironment: crosstalk, chemotherapeutic potential, and innovative NK cell-based therapeutic strategies. Cancer Cell Int 2023;23(1):312. DOI: 10.1186/s12935-023-03134-y
- Nakai Y., Ueki A., Yamanaka K. Progressive vitiligo induced by recurrent melanoma. Clin Case Rep 2022;10(1):e05290. DOI: 10.1002/ccr3.5290
- Paolino G., Pampena R., Di Ciaccio S.M. et al. Thin amelanotic and hypomelanotic melanoma: clinicopathological and dermoscopic features. Medicina (Kaunas) 2024;60(8):1239. DOI: 10.3390/medicina60081239
- Ribero S., Moscarella E., Ferrara G. et al. Regression in cutaneous melanoma: a comprehensive review from diagnosis to prognosis. J Eur Acad Dermatol Venereol 2016;30(12):2030–7. DOI: 10.1111/jdv.13815
- Cartron A.M., Aldana P.C., Khachemoune A. Reporting regression in primary cutaneous melanoma. Part 1: history, histological criteria and pathogenesis. Clin Exp Dermatol 2021;46(1):28–33. DOI: 10.1111/ced.14328
- Conde E., Casares N., Mancheño U. et al. FOXP3 expression diversifies the metabolic capacity and enhances the efficacy of CD8 T cells in adoptive immunotherapy of melanoma. Mol Ther 2023;31(1):48–65. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.08.017
- Maibach F., Sadozai H., Seyed Jafari S.M. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and their prognostic value in cutaneous melanoma. Front Immunol 2020;11:2105. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02105

22. Camisaschi C., Vallacchi V., Castelli C. et al. Immune cells in the melanoma microenvironment hold information for prediction of the risk of recurrence and response to treatment. *Expert Rev Mol Diagn* 2014;14(6):643–6. DOI: 10.1586/14737159.2014.928206
23. Taylor R.C., Patel A., Panageas K.S. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes predict sentinel lymph node positivity in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2007;25(7):869–75. DOI: 10.1200/JCO.2006.08.9755
24. Жулай Г.А., Олейник Е.К. Регуляторные Т-лимфоциты CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺. Перспективы применения в иммунотерапии. Труды Карельского научного центра Российской академии наук 2012;2:3–17.
- Zhulai G.A., Oleinik E.K. Regulatory T-lymphocytes cd4⁺CD25⁺FoxP3⁺. Prospects of application in immunotherapy. *Trudy Kareli'skogo nauchnogo tsentra Rossiiskoi akademii nauk = Proceedings of the Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences* 2012;2:3–17. (In Russ.).
25. Zhou Z., Xu J., Liu S. et al. Infiltrating treg reprogramming in the tumor immune microenvironment and its optimization for immunotherapy. *Biomark Res* 2024;12(1):97. DOI: 10.1186/s40364-024-00630-9
26. Бережная Н.М. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли. Клетки и цитокины – участники воспаления. *Онкология* 2009;11(1):6–17.
- Berezhnaya N.M. The role of immune system cells in the tumor microenvironment. *Cells and cytokines – participants of inflammation. Onkologiya = Oncology* 2009;11(1):6–17. (In Russ.).
27. Gerber A.L., Müntz A., Schlapbach C. et al. High expression of FOXP3 in primary melanoma is associated with tumour progression. *Br J Dermatol* 2014;170(1):103–9. DOI: 10.1111/bjd.12641
28. Knol A.C., Nguyen J.M., Quéreux G. et al. Prognostic value of tumor-infiltrating Foxp3⁺ T-cell subpopulations in metastatic melanoma. *Exp Dermatol* 2011;20(5):430–4. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2011.01260
29. Fujii H., Arakawa A., Kitoh A. et al. Perturbations of both nonregulatory and regulatory FOXP3⁺ T cells in patients with malignant melanoma. *J Dermatol* 2011;164(5):1052–60. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2010.10199
30. Morrison S.L., Han G., Elenwa F. et al.; Sentinel Lymph Node Working Group. Is the presence of tumor-infiltrating lymphocytes predictive of outcomes in patients with melanoma? *Cancer* 2022;128(7):1418–28. DOI: 10.1002/cncr.34013
31. Grigore L.E., Ungureanu L., Bejinariu N. et al. Complete regression of primary melanoma associated with nevi involution under BRAF inhibitors: A case report and review of the literature. *Oncol Lett* 2019;17(5):4176–82. DOI: 10.3892/ol.2018.9738
32. Сергеев Ю.Ю., Мордовцева В.В. Меланома кожи с явлениями регресса: описание клинического случая и обзор литературы. *Клиническая дерматология и венерология* 2017;16(5):36–41.
- Sergeev Yu.Yu., Mordovtseva V.V. Skin melanoma with regression phenomena: case report and literature review. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya* 2017;16(5):36–41. (In Russ.). DOI: 10.17116/klinderma201716536-41
33. Kocsis A., Karsko L., Kurgyis Z. et al. Is it necessary to perform sentinel lymph node biopsy in thin melanoma? A retrospective single center analysis. *Pathol Oncol Res* 2020;26(3):1861–8. DOI: 10.1007/s12253-019-00769-z
34. Vargás G.M., Shafique N., Xu X., Karakousis G. Tumor-infiltrating lymphocytes as a prognostic and predictive factor for melanoma. *Expert Rev Mol Diagn* 2024;24(4):299–310. DOI: 10.1080/14737159.2024.2312102
35. Bastian B.C. Hypothesis: a role for telomere crisis in spontaneous regression of melanoma. *Arch Dermatol* 2003;139(5):667–8. DOI: 10.1001/archderm.139.5.667
36. Cartron A.M., Aldana P.C., Khachemoune A. Reporting regression in primary cutaneous melanoma. Part 2: prognosis, evaluation and management. *Clin Exp Dermatol* 2020;45(7):818–23. DOI: 10.1111/ced.14329
37. Morris K.T., Busam K.J., Bero S. et al. Primary cutaneous melanoma with regression does not require a lower threshold for sentinel lymph node biopsy. *Ann Surg Oncol* 2008;15(1):316–22. DOI: 10.1245/s10434-007-9675-2
38. Rubinstein J.C., Han G., Jackson L. et al. Regression in thin melanoma is associated with nodal recurrence after a negative sentinel node biopsy. *Cancer Med* 2016;5(10):2832–40. DOI: 10.1002/cam4.922
39. Aivazian K., Ahmed T., El Sharouni M.A. et al. Correction to: Histological regression in melanoma: impact on sentinel lymph node status and survival. *Mod Pathol* 2021;34(11):2091. DOI: 10.1038/s41379-021-00878-8
40. El Sharouni M., Aivazian K., Witkamp A.J. et al. Association of histologic regression with a favorable outcome in patients with stage 1 and stage 2 cutaneous melanoma. *JAMA Dermatol* 2021;157(2):166–73. DOI: 10.1001/jamadermatol.2020.5032
41. Kaur C., Thomas R.J., Desai N. et al. The correlation of regression in primary melanoma with sentinel lymph node status. *J Clin Pathol* 2008;61(3):297–300. DOI: 10.1136/jcp.2007.049411
42. Tas F., Erturk K. Presence of histological regression as a prognostic factor in cutaneous melanoma patients. *Melanoma Res* 2016;26(5):492–6. DOI: 10.1097/CMR.0000000000000277
43. Morrison S., Han G., Elenwa F. et al.; Sentinel Lymph Node Working Group. Is there a relationship between TILs and regression in melanoma? *Ann Surg Oncol* 2022;29(5):2854–66. DOI: 10.1245/s10434-021-11251-z

Вклад авторов

К.С. Титов, М.В. Сорокина: написание текста рукописи;
 О.В. Паклина, С.С. Лебедев: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных;
 М.В. Киселевский: разработка дизайна исследования;
 А.В. Лунина: получение данных для анализа, анализ полученных данных.

Author's contributions

K.S. Titov, M.V. Sorokina: writing the text of the manuscript;
 O.V. Paklina, S.S. Lebedev: review of publications on the topic of the article, analysis of the data obtained;
 M.V. Kiselevskiy: research design development;
 A.V. Lunina: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data.

ORCID авторов / ORCID of authors

К.С. Титов / K.S. Titov: <https://orcid.org/0000-0003-4460-9136>

М.В. Сорокина / M.V. Sorokina: <https://orcid.org/0000-0002-4436-8101>

О.В. Паклина / O.V. Paklina: <https://orcid.org/0000-0001-6373-1888>

М.В. Киселевский / M.V. Kiselevskiy: <https://orcid.org/0000-0002-0132-167X>

С.С. Лебедев / S.S. Lebedev: <https://orcid.org/0000-0001-5366-1281>

А.В. Лунина / A.V. Lunina: <https://orcid.org/0009-0007-3631-6778>

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Funding. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 11.11.2023. Принята в печать: 21.10.2024. Опубликована онлайн: 00.00.2024.
Article received: 11.11.2023. Accepted for publication: 21.10.2024. Published online: 00.00.2024.

Частота послеоперационных осложнений и уровень качества жизни у больных раком молочной железы при реконструктивно-пластических операциях в зависимости от вида имплантата

М.А. Моногарова¹, Б.Н. Исич^{1,2}, А.В. Броссе^{1,2}, А.Л. Истранов³, Д.О. Иванов², Р.А. Насыров², И.А. Горланов², Е.М. Бит-Сава^{1,2}

¹ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) им. Н.П. Напалкова»; Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68А;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; Россия, 194100 Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2;

³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119048 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Контакты: Бэчир Ниязович Исич becir@mail.ru

Введение. За последние годы доступность реконструктивно-пластических операций вышла на новый уровень. При выполнении онкологической операции встает вопрос о выборе дальнейшей тактики реконструкции: через одномоментную либо отсроченную реконструкцию. В подавляющем большинстве случаев при одномоментной реконструкции молочной железы (МЖ) используют тканевые экспандеры/имплантаты, однако до сих пор нет ясности, какой аллотрансплантат позволяет достичь наилучших эстетических результатов операции без увеличения частоты послеоперационных осложнений. В данном обзоре мы оценили влияние вида имплантата на эстетическую удовлетворенность результатом реконструкции и частоту послеоперационных осложнений у больных раком МЖ.

Цель исследования – оценить влияние вида имплантата при реконструкции на риск развития послеоперационных осложнений и качество жизни у больных раком МЖ.

Материалы и методы. Поиск соответствующих источников был осуществлен в системах PubMed, MedLine, Cochrane Library, EMBASE, Global Health, Cyber Leninka, SpringerLink, e-Library, изучены публикации с 2010 по 2022 г. с анализом доказательной экспериментальной и клинической базы по наиболее современным вопросам реконструкции МЖ.

Результаты. Проанализировав статьи, опубликованные за последние 15 лет, можно сделать однозначный вывод о том, что выполнение реконструктивно-пластических операций у больных раком МЖ с помощью различных видов имплантатов повышает качество жизни и улучшает эстетический результат реконструкции согласно опроснику BREAST-Q вне зависимости от типа и вида используемого имплантата.

Заключение. Использование анатомических имплантатов при реконструкции МЖ по сравнению с круглыми снижает риск возникновения разрыва, рипплинга, частоту симметризирующих операций, но увеличивает риск инфекционных осложнений и повторных операций по замене/удалению имплантата. Применение текстурированных имплантатов снижает частоту капсулярной контрактуры относительно гладких. Высокая удовлетворенность эстетическим результатом реконструкции, измеренная с помощью опросника BREAST-Q у пациентов с силиконовыми имплантатами, не эквивалентна улучшению общего состояния здоровья (опросник European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire 30).

Ключевые слова: рак молочной железы, реконструктивно-пластическая операция, качество жизни, послеоперационное осложнение, имплантат

Для цитирования: Моногарова М.А., Исич Б.Н., Броссе А.В. и др. Частота послеоперационных осложнений и уровень качества жизни у больных раком молочной железы при реконструктивно-пластических операциях в зависимости от вида имплантата. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):30–8.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-30-38>

Frequency of postoperative complications and level of quality of life in breast cancer patients during constructive plastic surgery depending on the type of implant

Maria A. Monogarova¹, Bechir N. Isich^{1,2}, Alexander V. Brosse^{1,2}, Andrey L. Istranov³, Dmitry O. Ivanov², Ruslan A. Nasyrov², Igor A. Gorlanov², Elena M. Bit-Sava^{1,2}

¹N.P. Napalkov St. Petersburg Clinical Scientific and Practical Center for Specialized types of Medical Care (oncological); 68A Leningradskaya St., Pesochny settlement, St. Petersburg 197758, Russia;

²St. Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health of Russia; 2 Litovskaya St., St. Petersburg 194100, Russia;

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia; Bld. 8, 2 Trubetskaya St., Moscow 119048, Russia

Contacts: Bechir Niyazovich Isich becir@mail.ru

Background. In recent years, the availability of reconstructive plastic surgery has reached a new level. When performing an oncological operation, the question arises about choosing further reconstruction tactics: through one-stage or through delayed reconstruction. In the vast majority of cases, tissue expanders/implants are used for simultaneous breast reconstruction, but it is still unclear which allograft allows achieving the best aesthetic results of the operation without increasing the incidence of postoperative complications. In this review, we assessed the impact of the type of implant on aesthetic satisfaction with the result of reconstruction and the incidence of postoperative complications in patients with breast cancer.

Aim. To evaluate the impact of the type of implant during reconstruction on the risk of postoperative complications and quality of life in patients with breast cancer.

Materials and methods. A search for relevant sources was carried out in PubMed, MedLine, Cochrane Library, EMBASE, Global Health, Cyber Leninka, SpringerLink, e-Library, publications from 2010 to 2022 were studied, with an analysis of the evidence-based experimental and clinical base on the most modern issues breast reconstruction.

Results. Having analyzed articles published over the past 15 years, we can clearly conclude that performing reconstructive plastic surgery in patients with breast cancer using various types of implants improves the quality of life and improves the aesthetic result of reconstruction according to the BREAST-Q questionnaire, regardless of the type and type of implant used.

Conclusion. The use of anatomical implants in breast reconstruction compared to round ones reduces the risk of rupture, rippling, and the frequency of symmetrizing operations, but increases the risk of infectious complications and repeated operations to replace/remove the implant. The use of textured implants reduces the incidence of capsular contracture relative to smooth ones. High satisfaction with the aesthetic outcome of reconstruction, as measured by the BREAST-Q questionnaire in patients with silicone implants, is not equivalent to an improvement in general health status (European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire 30).

Keywords: breast cancer, reconstructive plastic surgery, quality of life, postoperative complications, implants

For citation: Monogarova M.A., Isich B.N., Brosse A.V. et al. Frequency of postoperative complications and level of quality of life in breast cancer patients during constructive plastic surgery depending on the type of implant. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2024;23(4):30–8. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-30-38>

Введение

Реконструктивно-пластические операции (РПО) с использованием экспандеров/имплантатов — наиболее частая операция по восстановлению молочной железы (МЖ) после мастэктомии. Аллопластическая по сравнению с аутологичной РПО занимает меньше времени, позволяет избежать осложнений в донорской области и является наиболее простой в техническом исполнении [1].

За последнее десятилетие в 80,0 % случаев при РПО у больных раком МЖ (РМЖ) применяли тканевые экспандеры/имплантаты, что было обусловлено более коротким временем операции, достаточно коротким периодом реабилитации и отсутствием осложнений в донорской зоне по сравнению с аутологичной реконструкцией [2]. Однако частота после-

операционных осложнений при аллопластической реконструкции может достигать 50,0 %. Основными осложнениями при РПО с использованием имплантатов являются инфекционные осложнения, капсулярная контрактура (КК) по J.L. Baker, хроническая боль, ощущение инородного тела, увеличение частоты инфекционных осложнений и КК после дистанционной лучевой терапии (ДЛТ) [3].

Десятилетием ранее предпочтение отдавали двухэтапным РПО: после мастэктомии устанавливается тканевый расширитель, после дермотензии и ДЛТ его меняют на постоянный эндопротез, замена на имплантат может происходить и до облучения. В настоящее время одномоментная РПО продемонстрировала ряд преимуществ и заняла лидирующую позицию в выборе метода хирургического лечения

для больных РМЖ, которым сохранение МЖ не показано.

Возможен один из 3 методов расположения имплантата:

- 1) тотальное субмулярное – под большую грудную мышцу с использованием передней зубчатой мышцы и без такового;
- 2) частичное субмулярное – частично под большую грудную мышцу с поддержкой нижнего полюса реконструированной МЖ нижним деэпителизированным кожным лоскутом, сетчатым имплантатом (TiLOOP® Bra, Tiger и др.) или бесклеточным дермальным матриксом (acellular dermal matrix – ADM);
- 3) преекторальное.

Использование нижнего деэпителизированного кожного лоскута/сетчатого имплантата/ADM при частичной субмулярной или преекторальной аллопластической РПО позволяет снизить риск про-/экструзии имплантата и КК, но увеличивает частоту лимфорей и инфекционных осложнений, по данным ряда авторов [4].

Существует большое количество имплантатов, отличающихся по форме, типу поверхности и виду внутреннего наполнителя. По форме выделяют анатомические (максимально приближены к естественной МЖ) и круглые (полусферические, наивысшая точка размещена в центре) имплантаты [5]. По типу поверхности бывают текстурированные и гладкие [6]. В зависимости от вида внутреннего наполнителя имплантаты можно разделить на солевые, силиконовые и биоимпланты [3].

Цель исследования – оценить влияние вида имплантата при реконструкции на риск развития послеоперационных осложнений и качество жизни (КЖ) у больных РМЖ.

Материалы и методы

Поиск соответствующих источников осуществлен в системах PubMed, MedLine, Cochrane Library, EMBASE, Global Health, Cyber Leninka, SpringerLink, e-Library, изучены публикации с 2010 по 2022 г., с анализом доказательной экспериментальной и клинической базы по наиболее современным вопросам реконструкции МЖ. Всего найдено 9 исследований, отражающих анализ частоты послеоперационных осложнений и КЖ при использовании разных видов имплантатов для реконструкции МЖ, но наиболее интересными с точки зрения количества случаев и статистической значимости оказались 5 из них.

Результаты и обсуждение

Во многих исследованиях сравниваются виды имплантатов между собой по различным критериям: риск развития послеоперационных осложнений (КК,

некроз, инфекция, потеря имплантата, гематома) и степень эстетической удовлетворенности пациенток результатом РПО.

C. P. Bellaire и соавт. [6] в 2021 г. опубликовали одно из ключевых исследований, которое представляет собой ретроспективный анализ карт пациентов после реконструкции МЖ по частоте послеоперационных осложнений, а также их взаимосвязи с типом поверхности имплантата. В исследование включена большая когорта пациентов, которые оперированы одним хирургом в период с 2011 по 2018 г. Всего пролечены 402 больных РМЖ (751 МЖ), которым выполняли одномоментную реконструкцию, из них: 603 (80,3 %) – гладкими, а 148 (19,7 %) – текстурированными имплантатами. Среднее время наблюдения в группе с имплантатами с гладкой поверхностью составило $118,2 \pm 105,5$ и $95,5 \pm 85,6$ нед – в группе имплантатов с текстурированной поверхностью. Такая разница во времени наблюдения частично была обусловлена асимметрией в распределении времени наблюдения в группе с гладкой поверхностью; на самом деле, средние значения времени наблюдения были более сопоставимыми (среднее время наблюдения при реконструкции имплантатами с гладкой поверхностью 77,8 нед, среднее время наблюдения при использовании эндопротезов с текстурированной поверхностью 68,1 нед). Ни у одной из пациенток не развилась анапластическая крупноклеточная лимфома, связанная с имплантатами (BIA-ALCL). Во всех случаях использовали ADM толщиной 2,0–2,4 мм (перфорированный – 164, неперфорированный – 567). Чтобы исследовать взаимосвязь между типом текстуры имплантата и частотой послеоперационных осложнений, было использовано сопоставление оценок склонности для устранения нежелательной систематической ошибки, связанной с клиническими ковариантами: возраст, индекс массы тела (ИМТ), диабет, курение, артериальная гипертензия, применение нео- и адьювантной химиотерапии, лучевой терапии и расположение имплантата в плоскости (пре- или субпекторально). ИМТ был выше в группе с гладкими имплантатами, однако других статистически значимых отличий не выявлено. Для определения связи между типом текстуры и послеоперационными осложнениями использовали точные тесты Фишера.

Послеоперационные осложнения включали: КК – 1,1 % ($n = 8$), некроз – 1,9 % ($n = 14$), инфекционные осложнения – 1,3 % ($n = 10$), потерю имплантата – 1,2 % ($n = 9$), гематому – 0,7 % ($n = 5$), серому – 1,1 % ($n = 8$) и эпидермолиз – 3,2 % ($n = 24$) (табл. 1).

Среди общего количества осложнений между типом текстуры имплантата и частотой послеоперационных осложнений не обнаружено значимой связи (8,6 % гладких против 5,4 % текстурированных;

$p = 0,24$), так же как и для частоты следующих послеоперационных осложнений: КК (1,3 % гладких против 0 % текстурированных; $p = 0,37$), некроза (2,0 % гладких против 1,4 % текстурированных; $p > 0,99$), инфекционных осложнений (1,7 % гладких против 0 % текстурированных; $p = 0,22$), потери имплантата (1,3 % гладких против 0,7 % текстурированных; $p > 0,99$), гематомы (0,3 % гладких против 2,0 % текстурированных; $p = 0,06$), серомы (1,3 % гладких и 0 % текстурированных; $p = 0,37$) и эпидермолиза (3,3 % гладких против 2,7 % текстурированных; $p > 0,99$).

Статистически значимой разницы между текстурированными и гладкими имплантатами при ревизионных операциях, длительности и интенсивности лимфореи, частоты и степени некроза кожного чехла не выявлено. В данном исследовании текстурированные имплантаты продемонстрировали более высокую частоту формирования гематом, что требует оценки факторов риска данного осложнения ($p = 0,04$). Частота основных осложнений была сопоставима в обеих группах, без статистически значимых различий после сопоставления демографических характеристик, сопутствующих заболеваний, характеристик имплантатов и способа их установки [6].

Отделения пластической и реконструктивной хирургии нескольких основных университетов США под руководством N. Khavanin в 2017 г. [5] опублико-

вали проспективное многоцентровое исследование, основной целью которого является сравнение хирургических результатов реконструкции в зависимости от формы имплантата (анатомические или круглые). Всего включены 1119 человек, в том числе 822 (73,5 %) пациентки, перенесшие РПО с использованием круглых имплантатов, и 297 (26,5 %) – с помощью анатомических имплантатов. Различия между когортами исследования наблюдались по ряду переменных, при этом женщины с круглыми имплантатами имели более высокий ИМТ ($25,5 \pm 5,3$ против $24,5 \pm 4,2$; $p = 0,004$) и более низкий индекс коморбидности Чарльсона (11,1 %, $n = 33$) против 7,4 % ($n = 61$; $p = 0,032$), чем исследуемые с анатомическими имплантатами. Больные, которым устанавливали круглые имплантаты, значительно чаще подвергались профилактической мастэктомии – 12,9 % ($n = 106$) против 8,4 % ($n = 25$; $p = 0,040$) и у них чаще использовали ADM – 54,6 % ($n = 449$) против 40,7 % ($n = 121$; $p < 0,001$). Женщинам с анатомическими имплантатами чаще проводили лучевую терапию по сравнению с теми, которым были установлены круглые имплантаты: 84,8 % ($n = 697$) против 75,8 % ($n = 225$; $p = 0,002$). Средний объем имплантата в когорте пациенток с круглыми эндопротезами был выше, чем в когорте с анатомическими (520 ± 150 мл против 450 ± 140 мл; $p < 0,001$).

Таблица 1. Распределение послеоперационных осложнений в зависимости от типа поверхности имплантата [6]

Table 1. Distribution of postoperative complications depending on the type of implant surface [6]

Осложнение Complication	Тип поверхности имплантата, абс. (%) Implant surface type, abs. (%)		Отношение шансов (95 % доверительный интервал) Odds ratio (95 % confidence interval)	p^*
	текстурированный textured ($n = 148$)	гладкий smooth ($n = 608$)		
Капсулярная контрактура Capsular contracture	0 (0,0)	8 (1,33)	0,24 (0,01 против 4,11) 0,24 (0,01 against 4,11)	0,37
Некроз Necrosis	2 (1,35)	12 (1,99)	0,67 (0,15 против 3,05) 0,67 (0,15 against 3,05)	>0,99
Инфекционные осложнения Infectious complications	0 (0,0)	10 (1,66)	0,19 (0,01 против 3,27) 0,19 (0,01 against 3,27)	0,22
Потеря имплантата Implant loss	1 (0,68)	8 (1,33)	0,51 (0,06 против 4,08) 0,51 (0,06 against 4,08)	>0,99
Гематома Hematoma	3 (2,03)	2 (0,33)	6,22 (1,03 против 37,55) 6,22 (1,03 against 37,55)	0,06
Серома Seroma	0 (0,0)	8 (1,33)	0,24 (0,01 против 4,11) 0,24 (0,01 against 4,11)	0,37
Эпидермолиз Epidermolysis	4 (2,70)	20 (3,32)	0,81 (0,27 против 2,41) 0,81 (0,27 against 2,41)	>0,99

*Точный критерий Фишера, используемый для проверки статистической значимости.

*Fisher's exact test used to test statistical significance.

Частота послеоперационных осложнений в группе пациенток с анатомическими имплантатами составила 9,8 %, а в группе с круглыми – 5,5 %. Наиболее частым осложнением была инфекция области хирургического вмешательства: 6,1 и 2,3 % соответственно ($p = 0,002$).

Хотя частота инфекции в области хирургического вмешательства, требующей перорального введения антибиотиков или повторного хирургического вмешательства, не отличалась между когортами, анатомические имплантаты чаще вызывали инфекционные осложнения, требующие внутривенного введения антибиотиков, чем круглые (4,0 % против 0,1 %; $p = 0,001$), что было связано с более высокой частотой применения ДЛТ в 1-й когорте.

Многофакторный анализ с поправкой на ДЛТ и другие исходные коварианты не мог быть выполнен из-за небольшого числа инфекционных осложнений, требующих внутривенного введения антибиотиков, тогда как частота других осложнений, включая серому, гематому, некроз кожного лоскута, дислокацию имплантата, КК и разрыв имплантата, существенно не различалась между когортами. Тем не менее регрессионный анализ показал, что анатомические имплантаты являются независимым фактором риска любого осложнения (отношение шансов 1,83) и серьезных осложнений (отношение шансов 2,81) (табл. 2).

При многофакторном анализе форма имплантата не оказала существенного влияния ни на один из показателей КЖ по данным обоих опросников [4].

Группой авторов под руководством S. E. Han из Южной Кореи в 2020 г. [7] был выполнен мета-анализ частоты послеоперационных осложнений и эстетической удовлетворенности реконструкцией анатомическими и круглыми имплантатами, включающий 8 статей, оценивающих результаты лечения 2490 больных РМЖ. Авторами рассмотрены риски послеоперационных осложнений, таких как совокупный риск воспаления послеоперационной раны, серомы, КК, разрыва имплантата, реконструктивной недостаточности, которые после статистического анализа существенно не отличались в группах с анатомическими и круглыми имплантатами (табл. 3).

Из табл. 3 следует, что при использовании анатомических имплантатов по сравнению с круглыми риск возникновения разрыва (1,1 % против 1,9 %; $p = 0,03$) и появления «волнистости», или рипплинга, значительно ниже (0 % против 23,8 %; $p = 0,04$), а частота повторных операций по замене/удалению имплантата (18,7 % против 14,0 %; $p = 0,05$) – выше. Авторами не выявлено различий в частоте инфекционных осложнений, серомы, КК и реконструктивной неудачи между 2 группами. Для снижения потенциальных искажающих эффектов, которые могут быть вызваны неоднородностью типа текстуры имплантата, S. E. Han и соавт. провели сравнительный анализ между следующими подгруппами: анатомические/текстурированные и круглые/гладкие имплантаты (табл. 4).

Таблица 2. Резюме скорректированных соотношений риска послеоперационных осложнений и повторных оперативных вмешательств в зависимости от формы имплантата (группа с круглыми имплантатами является контрольной группой)*

Table 2. Summary of adjusted risk ratios for postoperative complications and reoperation by implant shape (round implant group is the reference group)*

Результат Result	Скорректированное отношение шансов Adjusted odds ratio	Отношение шансов (95 % доверительный интервал) Odds ratio (95 % confidence interval)	<i>p</i>
Любое осложнение Any complication	1,83	1,05–3,19	0,032
Серьезное осложнение Serious complication	2,81	1,46–5,39	0,002
Хирургическая инфекция Surgical infection	2,71	1,30–5,65	0,008
Ревизия Revision	0,89	0,62–1,26	0,494
Аутологичная трансплантация жира Autologous fat grafting	0,84	0,54–1,29	0,427

*Каждая модель включала в качестве коварианта возраст, индекс массы тела, продолжительность наблюдения, объем, форму, материал имплантата, латеральность, показания к мастэктомии, биопсию сигнальных лимфатических узлов, использование бесклеточного дермального матрикса, статус курения, сопутствующие заболевания, лучевую терапию и химиотерапию, также включены случайные переменные.

*Each model included as a covariate age, body mass index, follow-up duration, implant volume, implant shape, implant material, laterality, indication for mastectomy, sentinel lymph node biopsy, acellular dermal matrix use, smoking status, comorbidities, radiation therapy, and chemotherapy, random variables are also included.

Таблица 3. Объединенные относительные риски послеоперационных осложнений при использовании анатомических и круглых имплантатов
Table 3. Pooled relative risks of postoperative complications with anatomical and round implants

Критерии оценки Evaluation criteria	Количество исследований Number of studies	Число пациенток с имплантатами Number of implant patients		Частота осложнений, % Complication rate, %		Относительный риск Relative risk	Отношение шансов (95 % доверительный интервал) Odds ratio (95 % confidence interval)	p	Неоднородность, % Heterogeneity, %
		анатомические anatomic	круглые round	анатомические anatomic	круглые round				
Инфекции Infections	7	853	1509	4,1	3,4	1,16	0,56–2,39	0,69	50,0
Серома Seroma	6	689	1312	2,2	1,2	1,18	0,28–4,96	0,82	50,0
Капсульная контрактура Capsular contracture	8	916	1574	8,2	8,4	0,81	0,51–1,29	0,38	49,0
Разрыв Rupture	3	469	1033	1,1	1,9	0,37	0,15–0,90	0,03	0
Рябь/риплинг Rippling	2	145	164	0	23,8	0,05	0,00–0,83	0,04	45,0
Реконструктивная неудача Reconstructive failure	7	616	1202	4,1	2,8	1,44	0,68–3,03	0,34	34,0
Замена/удаление имплантата Implant removal	7	838	1546	18,7	14,0	1,20	1,00–1,44	0,05	0

Зарубежными авторами (S.F. Hien и соавт.) были исключены 3 исследования, в которых использовались как круглые/текстурированные имплантаты, так и круглые/гладкие. Риск инфекционных осложнений в группе пациентов с анатомическими/текстурированными имплантатами был намного выше, чем в группе с круглыми/гладкими (5,2 % против 2,7 %; $p = 0,002$). Существенных различий между группами в частоте не выявлено (6,4 % против 5,3 %; $p = 0,60$) [7].

Авторы из США и Канады провели ретроспективное исследование по оценке КЖ при помощи опросников BREAST-Q и EORTC QLQC-30 (European Organization for Research and Treatment of Cancer Quality of Life Questionnaire) у больных РМЖ после РПО с помощью солевых и силиконовых имплантатов. Общее число пациенток составило 143: 75 женщин, которым выполняли реконструкцию силиконовыми имплантатами, и 68 – солевыми. Все солевые имплантаты были гладкими и круглыми, силиконовые – гладкими и текстурированными. В группах авторы не сравнивали осложнения инфекционного характера, не собирали данные по удовлетворенности эстетическим результатом операции, оценивали только ощущения пациенток, удовлетворенность хирур-

гическим лечением (хирургом, медицинским персоналом, осведомленностью) и его результатами (психологически, сексуально, физически). Согласно опроснику BREAST-Q в популяции пациенток с силиконовыми имплантатами отмечалась статистически значимо более высокая общая удовлетворенность исходом РПО: более высокое психологическое и сексуальное благополучие, а также высокая удовлетворенность результатом операции хирургом. Результаты с использованием EORTC QLQC-30 не показали статистически значимой разницы ни по одной из субшкал, за исключением более высокой общей физической функции у пациентов с силиконовыми имплантатами и более частых побочных эффектов системной терапии в группе больных после РПО с помощью солевых имплантатов. Это специфический опросник для онкологических больных, который исследует функцию и тяжесть симптомов заболевания, однако вопросы, включенные в субшкалы, не фокусируются на КЖ после хирургического вмешательства и не выявляют различий между пациентами, перенесшими различные виды реконструкции. Результаты этого исследования предоставляют надежные данные, которые позволяют хирургам адекватно информировать пациенток перед операцией об ожидаемых

Таблица 4. Объединенные относительные риски послеоперационных осложнений, связанные с использованием анатомических/текстурированных и круглых/гладких имплантатов

Table 4. Pooled relative risks of postoperative complications associated with the use of anatomical/textured and round/smooth implants

Критерии оценки Evaluation criteria	Количество исследований Number of studies	Число пациенток с имплантатами Number of implant patients		Частота осложнений, % Complication rate, %		Относительный риск Relative risk	Отношение шансов (95 % доверительный интервал) Odds ratio (95 % confidence interval)	p	Неоднородность, % Heterogeneity, %
		анатомические anatomic	круглые round	анатомические anatomic	круглые round				
Инфекции Infections	4	480	1134	5,2	2,7	2,25	1,33–3,79	0,002	0
Серома Seroma	4	480	1134	0,6	1,3	0,62	0,21–1,85	0,40	0
Капсульная контрактура Capsular contracture	5	543	1199	6,4	5,3	0,83	0,40–1,70	0,60	58,0
Разрыв Rupture	2	601	1011	0,3	0,4	0,73	0,12–4,45	0,98	0
Неудачная реконструкция Failed reconstruction	4	502	1138	3,8	2,6	1,74	0,66–4,57	0,26	49,0
Замена/удаление имплантата Implant removal	5	543	1199	8,1	9,3	1,09	0,79–1,50	0,61	13,0

результатах реконструкции с использованием силиконовых и солевых имплантатов [3].

Идеальное расположение имплантата в плоскости (пре- или субпекторально) – предмет многочисленных дискуссий. По данным М.Ю. Власовой и соавт., субпекторальное расположение имплантата обеспечивает дополнительный слой тканей между эндопротезом/эспандером и кожей с подкожно-жировой клетчаткой, но часто приводит к выраженному болевому синдрому в послеоперационный период и анимационной деформации. Препекторальное расположение имплантата во время операции из-за отсутствия повреждения большой грудной и передней зубчатой мышц носит менее травматичный характер, сокращает болевой синдром и реабилитационный период, но до 35,0 % случаев повышает риск рипплинга [8, 9]. Использование при препекторальной реконструкции имплантатов с полиуретановым покрытием по сравнению с текстурированными снижает риск развития КК III–IV степени с 15,8 % (95 % доверительный интервал: 4,1–15,7) до 8,1 % (95 % доверительный интервал: 4,1–15,7; $p = 0,009$), обеспечивает надежную фиксацию эндопротеза к тканям за счет врастания плотной соединительной ткани в оболочку имплантата.

По данным О.С. Ходоровича и соавт., КК III–IV степени отмечалась у 13,1 % больных РМЖ после

РПО с одномоментной препекторальной установкой имплантата ($n = 17$, из них 7, или 7,8 %, с полиуретановым покрытием и 10, или 25,0 %, – с текстурированной поверхностью). В 16 из 17 случаев КК отмечалась после проведения лучевой терапии. Хирургическое лечение КК III–IV степени при применении эндопротезов с полиуретановым покрытием из-за особенностей этого покрытия всегда влечет за собой более травматичную для окружающих тканей последующую операцию, в то время как при использовании текстурированных достаточно только иссечь капсулу [10].

Заключение

Применение круглых имплантатов при РПО сопровождается более низкой частотой инфекционных осложнений по сравнению с использованием анатомических, но при этом чаще требуется симметризирующая операция [11]. Через 2 года после реконструкции оба вида имплантатов продемонстрировали сопоставимое удовлетворение пациенток эстетическим результатом операции [4]. Маммопластика анатомическими имплантатами по сравнению с круглыми снижает риск возникновения разрыва ($p = 0,03$) и рипплинга ($p = 0,04$), но увеличивает частоту повторных операций по замене/удалению эндопротеза ($p = 0,05$) [7].

Частота основных послеоперационных осложнений (КК, некроза, инфекции, потери имплантата, гематомы, серомы, эпидермолиза) после сопоставления оценок предрасположенности к демографическим характеристикам, сопутствующим заболеваниям, характеристикам имплантатов и способу их установки при реконструкции с использованием текстурированных и гладких имплантатов соизмерима [6]. Применение текстурированных эндопротезов на 1,33 % снижает частоту КК по сравнению с гладкими, но при этом не отмечено различий по риску КК между анатомическими/текстурированными и круглыми/гладкими имплантатами ($p = 0,60$) [7].

Префекторальное расположение имплантатов с полиуретановым покрытием при реконструкции по сравнению с текстурированными сокращает риск развития КК III–IV степени на 7,7 % ($p = 0,009$).

После поправки на возраст, время наблюдения, применение лучевой терапии и односторонней операции по сравнению с двусторонней пациентки с реконструкцией силиконовыми имплантатами показали

более высокую удовлетворенность эстетическим результатом по сравнению с солевыми (по BREAST-Q). Результаты с использованием EORTC QLQC-30 не выявили статистически значимой разницы в общем глобальном состоянии здоровья. Повышение удовлетворенности эстетическим результатом реконструкции согласно BREAST-Q у пациенток с силиконовыми эндопротезами не эквивалентно улучшению общего состояния здоровья, измеренному с помощью EORTC QLQC-30 [11]. Таким образом, существует необходимость проведения более обширных исследований для получения уточненных и подробных данных.

Субъективная оценка результатов РПО с помощью различных имплантатов определяется уровнем психологической, физической и сексуальной удовлетворенности пациентки после лечения. Основываясь на частоте послеоперационных осложнений РПО и оценке их эстетических результатов, необходимо персонализировать выбор метода реконструкции и вида эндопротеза РПО у больных РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Roostaean J., Yoon A.P., Ordon S. et al. Impact of prior tissue expander/implant on postmastectomy free flap breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2016;137(4):1083–91. DOI: 10.1097/01.prs.0000481044.61991.6b
- Зикиряходжаев А.Д., Ермошеникова М.В., Исмагилов А.Х., Портной С.М. Клинические рекомендации РООМ по реконструктивно-пластическим операциям у больных РМЖ. В кн.: Клинические рекомендации РООМ 2018 г. по диагностике и лечению рака молочной железы / Под ред. В.Ф. Семглазова, Р.М. Палтуева. М.: АБВ-пресс, 2018:221–6. Zikiryakhodjaev A.D., Ermoshenikova M.V., Ismagilov A.H., Portnoy S.M. Draft clinical recommendations of the Russian Society of Oncomammologists (ROOM) on reconstructive plastic surgery in patients with breast cancer. In: Clinical recommendations of the ROOM for diagnostic and treatment of breast cancer / Ed. V.F. Semiglazov, R.M. Paltuev. Moscow: ABV-press, 2018:221–6. (In Russ.).
- Macadam S.A., Ho A.L., Cook E.F. et al. Patient satisfaction and health-related quality of life following breast reconstruction: patient-reported outcomes among saline and silicone implant recipients. *Plast Reconstr Surg* 2010;125(3):761–71. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3181cb5cf8
- Albornoz C.R., Bach P.B., Mehrara B.J. et al. A paradigm shift in U.S. Breast reconstruction: increasing implant rates. *Plast Reconstr Surg* 2013;131(1):15–23. DOI: 10.1097/PRS.0b013e3182729cde
- Khavanin N., Clemens M.W., Pusic A.L. et al. Shaped versus round implants in breast reconstruction: a multi-institutional comparison of surgical and patient-reported outcomes. *Plast Reconstr Surg* 2017;139(5):1063–70. DOI: 10.1097/PRS.0000000000003238
- Bellaire C.P., Sayegh F., Janssen P. et al. Major complications after textured versus non-textured breast implants in direct-to-implant breast reconstruction: a propensity score analysis. *Aesthetic Plast Surg* 2021;45(5):2077–85. DOI: 10.1007/s00266-021-02377-2
- Han S.E., Lee K.T., Bang S. Comprehensive comparison between shaped versus round implants for breast reconstruction: a systematic review and meta-analysis. *Aesthet Surg J* 2021;41(1):34–44. DOI: 10.1093/asj/sjaa128
- Власова М.Ю., Зикиряходжаев А.Д., Решетов И.В. и др. Префекторальная установка полиуретанового имплантата после подкожной мастэктомии у больных раком молочной железы. Исследования и практика в медицине 2020;7(3):63–73. DOI: 10.17709/2409-2231-2020-7-3-6
- Vlasova M.Yu., Zikiryakhodjaev A.D., Reshetov I.V. et al. Prepectoral reconstruction with polyurethane-coated implant after skin-sparing mastectomy in patients with breast cancer. *Issledovaniya i praktika v meditsine = Research and Practical Medicine Journal* 2020;7(3):63–73. (In Russ.). DOI: 10.17709/2409-2231-2020-7-3-6
- Власова М.Ю., Зикиряходжаев А.Д., Решетов И.В. и др. Осложнения после одномоментной префекторальной реконструкции имплантатами с полиуретановым покрытием при раке молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы 2020;16(4):12–20. DOI: 10.17650/1994-4098-2020-16-4-12-20
- Vlasova M.Yu., Zikiryakhodjaev A.D., Reshetov I.V. et al. Complications after simultaneous prepectoral breast reconstruction using polyurethane-coated implants in patients with breast cancer. *Opuholi zhenskoi reproduktivnoi sistemy = Tumors of Female Reproductive System* 2020;16(4):12–20. (In Russ.). DOI: 10.17650/1994-4098-2020-16-4-12-20
- Ходорович О.С., Солодкий В.А., Саркисян К.Д. и др. Префекторальная установка имплантата при реконструктивных операциях у больных с диагнозом рак молочной железы. Пластическая хирургия и эстетическая медицина 2022;1:32–40. DOI: 10.17116/plast.hirurgia202201132

- Khodorovich O.S., Solodkiy V.A., Sarkisyan K.D. et al.
Prepectoral implant-based breast reconstruction in patients with breast cancer. *Plasticheskaya khirurgiya i esteticheskaya meditsina = Plastic Surgery and Aesthetic Medicine* 2022;(1): 32–40. (In Russ.). DOI: 10.17116/plast.hirurgia202201132
11. Бит-Сава Е.М., Егоренков В.В., Дамения А.О. и др. Новые подходы в хирургии рака молочной железы. *Практическая онкология* 2017;18(3):232–45.
DOI: <https://www.doi.org/10.31917/1803232>
- Bit-Sava E.M., Egorenkov V.V., Damenia A.O. et al.
New approaches in breast cancer surgery. *Prakticheskaya onkologiya = Practical oncology* 2017;18(3): 232–45. (In Russ.).
DOI: <https://www.doi.org/10.31917/1803232>

Вклад авторов

М.А. Моногарова: анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи;
Б.Н. Исич: анализ полученных данных, написание текста рукописи;
А.В. Броссе: написание текста рукописи;
А.Л. Истранов, Д.О. Иванов, Р.А. Насыров, И.А. Горланов: обзор публикаций по теме статьи;
Е.М. Бит-Сава: обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи.

Author's contributions

M.A. Monogarova: analysis of the obtained data, review of publications on the topic of the article;
B.N. Isich: analysis of the obtained data, writing the text of the manuscript;
A.V. Brosse: writing the text of the manuscript;
A.L. Istranov, D.O. Ivanov, R.A. Nasyrov, I.A. Gorlanov: review of publications on the topic of the article;
E.M. Bit-Sava: review of publications on the topic of the article, writing the text of the manuscript.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.А. Моногарова / M.A. Monogarova: <http://orcid.org/0000-0003-0324-6578>
Б.Н. Исич / B.N. Isich: <http://orcid.org/0000-0002-4436-9905>
А.В. Броссе / A.V. Brosse: <http://orcid.org/0000-0002-4295-8538>
А.Л. Истранов / A.L. Istranov: <http://orcid.org/0000-0003-0222-2910>
Д.О. Иванов / D.O. Ivanov: <http://orcid.org/0000-0002-0060-4168>
Р.А. Насыров / R.A. Nasyrov: <http://orcid.org/0000-0001-8120-2816>
И.А. Горланов / I.A. Gorlanov: <http://orcid.org/0000-0001-9985-6965>
Е.М. Бит-Сава / E.M. Bit-Sava: <http://orcid.org/0000-0001-7582-618X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 10.09.2024. Принята в печать: 31.10.2024. Опубликовано онлайн: 00.00.2024.

Article received: 10.09.2024. Accepted for publication: 31.10.2024. Published online: 00.00.2024.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-39-48>

Уровень мРНК *FCGR3A* (CD16A) и *FCGR3B* (CD16B) в крови больных раком предстательной железы

Д. В. Новиков^{1,2}, Х. М. Ариуа¹, О. А. Коровин³, А. В. Калугин¹, С. В. Шумилова¹, А. В. Алясова³, Л. Хамидани⁴, В. В. Новиков^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского»; Россия, 603022 Нижний Новгород, пр-кт Гагарина, 23;

²ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. акад. И. Н. Блохиной» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Россия, 603950 Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;

³ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России; Россия, 603950 Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

⁴Университет Баджи Мохтара—Аннаба; Алжир, 23000 Аннаба, Хассен Шауш, 17

Контакты: Халил Мухаммедович Ариуа khalil256@outlook.fr

Введение. Матричные РНК (мРНК) *FCGR3A* и *FCGR3B* транслируют синтез мембранных молекул CD16A и CD16B, являющихся низкоаффинными рецепторами иммуноглобулина (Ig) G на разных клетках иммунной системы и участвующих в иммунном ответе на опухоли.

Цель исследования – определение в периферической крови больных раком предстательной железы (РПЖ) уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B*.

Материалы и методы. Исследовали образцы крови 47 больных РПЖ и 31 здорового донора крови. Относительный уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в крови больных и здоровых доноров определяли с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени.

Результаты. Показано, что относительный уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в крови больных РПЖ превышает уровень, регистрируемый у волонтеров. Относительный уровень мРНК *FCGR3A* повышается с возрастом, при увеличении концентрации простатспецифического антигена (ПСА), объема и жесткости предстательной железы и при наличии метастазов. Различия в концентрации тестостерона, индексе Глисона, стадии заболевания и распространенности опухоли не сопровождалась изменениями в уровне мРНК *FCGR3A*. Для мРНК *FCGR3B* выявлен другой характер изменений. С увеличением концентрации ПСА и жесткости простаты повышенный уровень мРНК *FCGR3B* снижался, приближаясь к норме. В отсутствие метастазов он был выше, чем при их наличии. Регистрированы тенденции к повышению уровня мРНК *FCGR3B* при увеличении стадии заболевания, концентрации тестостерона до 7 ммоль/л и выше, а также градации индекса Глисона до 7 и более.

Заключение. Обнаружены разнонаправленные изменения уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* с повышением тяжести течения РПЖ. Вероятно, выявленный характер изменения уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* связан с дозозависимым действием ПСА на их уровень. Результаты указывают на возможное мониторинговое значение уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* в крови больных РПЖ.

Ключевые слова: матричные РНК *FCGR3A* (CD16A), мРНК *FCGR3B* (CD16B), рак предстательной железы, периферическая кровь

Для цитирования: Новиков Д. В., Ариуа Х. М., Коровин О. А. и др. Уровень мРНК *FCGR3A* (CD16A) и *FCGR3B* (CD16B) в крови больных раком предстательной железы. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):39–48. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-39-48>

FCGR3A (CD16A) and *FCGR3B* (CD16B) mRNA levels in the blood of prostate cancer patients

Dmitry V. Novikov^{1,2}, Khalil M. Arioua¹, Oleg A. Korovin³, Alexandr V. Kalugin¹, Svetlana V. Shumilova¹, Anna V. Alyasova³, Lydia Hamidani⁴, Viktor V. Novikov^{1,2}

¹National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod; 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod 603022, Russia;

²I. N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare; 71 Malaya Yamskaya St., Nizhny Novgorod 603950, Russia;

³Privolzhsky Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 10/1 Minina and Pozharskogo Square, Nizhny Novgorod 603950, Russia;

⁴Badji Mokhtar University—Annaba; 17 Hassen Chaouche, Annaba 23000, Algeria

Contacts: Khalil Muhammedovich Arioua khalil256@outlook.fr

Background. *FCGR3A* and *FCGR3B* messengers RNA (mRNA) translate the synthesis of membrane molecules of CD16A and CD16B, which are low-affinity immunoglobulin (Ig) G receptors bound to different cells of the immune system and involved in the immune response to tumors.

Aim. The aim of this study was to determine the level of *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA in the peripheral blood of patients with prostate cancer (PC).

Materials and methods. Blood samples from 47 prostate cancer patients and 31 healthy blood donors were examined. The relative level of *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA in the blood of patients and healthy donors was determined by reverse transcription polymerase chain reaction in real time (real-time RT-PCR).

Results. It has been shown that the relative level of *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA in the blood of PC patients exceeds the level evaluated in volunteers. The relative level of *FCGR3A* mRNA increases with age, with an increase in PSA concentration, prostate volume and stiffness, and in the presence of metastases. Differences in testosterone concentration, Gleason score, disease stage and tumor spread were not accompanied by changes in *FCGR3A* mRNA level. For *FCGR3B* mRNA, a different manner of its changes was revealed. As PSA concentration and prostate tissue stiffness increased, elevated *FCGR3B* mRNA level decreased, reaching normal levels. In the absence of metastases, it was higher than if they were present. In addition, trends towards an increase in the level of *FCGR3B* mRNA were revealed with an increase in the stage of the disease, the concentration of testosterone to 7 mmol/L and above, as well as the Gleason score to 7 and above.

Conclusion. Multidirectional changes in *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA levels were found with an increase in the severity of PC. Probably, the revealed nature of the change in the level of *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA associated with the dose-dependent effect of PSA on their level. The results indicate a possible monitoring value of *FCGR3A* mRNA and *FCGR3B* mRNA levels in the blood of PC patients.

Keywords: *FCGR3A* (CD16A) messenger RNA, *FCGR3B* (CD16B) messengers RNA, prostate cancer, peripheral blood

For citation: Novikov D.V., Arioua K.M., Korovin O.A. et al. *FCGR3A* (CD16A) and *FCGR3B* (CD16B) mRNA levels in the blood of prostate cancer patients. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2024;23(4):39–48. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-39-48>

Введение

Молекулы CD (cluster of differentiation) 16 являются низкоаффинными рецепторами иммуноглобулина (Ig) класса G, связывают IgG в виде иммунных комплексов со специфичностью к подклассам IgG1 и IgG3 и кодируются 2 генами — *FCGR3A* и *FCGR3B*. Продукты этих генов близки по строению и экспрессируются на разных типах клеток. Молекула CD16A (*FCGR3A*), кодируемая 1-м геном, является трансмембранным белком и экспрессируется на мембранах натуральных киллеров (NK). С разной плотностью она экспрессируется также на моноцитах, тканевых макрофагах, $\gamma\delta$ T-лимфоцитах, дендритных клетках. Для передачи сигнала в клетку после взаимодействия с молекулой IgG этот трансмембранный рецептор использует γ -цепь Fc ϵ R1 и/или ζ -цепь CD3-антигена. NK-клетки периферической крови, экспрессирующие молекулу CD16A, представляют собой зрелую субпопуляцию с невысоким уровнем мембранного CD56 (CD56^{dim}). В тканях большинство NK-клеток представляют собой менее зрелую популяцию с высокой экспрессией CD56 (CD56^{bright}), но низким уровнем CD16A. Через CD16A реализуется антителозависимая клеточная цитотоксичность, направленная на опухолевые и вирусинфицированные клетки, а также происходит активация клеток [1, 2].

Молекула CD16B (*FCGR3B*), кодируемая 2-м геном, «заякоревается» на поверхности клеток через гликозилфосфатидилинозитол. Она является молекулярным маркером нейтрофилов, экспрессируется на низком уровне на базофилах и выявляется на эозинофилах после индукции интерфероном γ [3]. Молекула CD16B способна передавать сигнал при взаимодействии Fc γ R2A с β^2 -интегрином Mac-1 (macrophage-1 antigen). Предполагается ее участие в индукции сигналов с участием Ca²⁺ с вовлечением киназ семейства Tec. Хорошо известно, что нейтрофилы играют важную роль в воспалительной реакции, но роль CD16B-молекул до сих пор остается малоизученной. Тем не менее показано, что нетоз нейтрофилов может быть индуцирован через CD16B и Mac-1 [4]. Продемонстрировано, что как нейтрофилы, циркулирующие в периферической крови, так и опухолеассоциированные нейтрофилы с высоким уровнем экспрессии CD16B способны оказывать проопухолевое действие путем супрессии T-клеточной пролиферации через механизм, связанный с остановкой клеточного цикла, но не индукцией апоптоза. Обнаружено, что при некоторых опухолях высокий уровень CD66b⁺ CD11b^{bright} CD16^{bright} зрелых нейтрофилов малой плотности коррелирует с неблагоприятным исходом [5].

Оценка экспрессии мембранных молекул CD16 с помощью моноклональных антител используется для определения популяционного состава клеток периферической крови при различных, в том числе онкологических, заболеваниях [6]. В дополнение к этому анализ экспрессии генов, кодирующих молекулы CD16A и CD16B, может дать новую мониторинговую информацию на транскрипционном уровне. Так, показано, что уровень матричной РНК (мРНК) CD16A и CD16B может рассматриваться как потенциальный иммунологический маркер при колоректальном раке [7, 8].

Целью настоящего исследования явилось определение в периферической крови больных раком предстательной железы (РПЖ) уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B*.

Материалы и методы

В работе использовали образцы крови 47 больных РПЖ с гистологически подтвержденным диагнозом в возрасте 56–82 лет (медиана $66,0 \pm 2,0$ года), впервые поступивших в стационар и ранее не получавших противоопухолевого лечения. Исследование проводили согласно биоэтическим и этическим принципам, установленным Хельсинкской декларацией. Пациенты дали информированное согласие на использование их биологического материала в научном исследовании. В сопоставимую по возрасту контрольную группу вошел 31 практически здоровый волонтер. Больные РПЖ в предоперационный период обследованы в соответствии с общепринятыми стандартами.

Всем больным назначали трансректальное ультразвуковое исследование простаты, магнитно-резонансную томографию органов малого таза, определение уровня простатспецифического антигена (ПСА) и тестостерона. Плотность ткани простаты оценивали с помощью соноэластографии и выражали с использованием коэффициента жесткости [9]. Уровень ПСА и тестостерона определяли с использованием наборов реагентов «Онко ИФА-общий ПСА» и «Стероид ИФА-тестостерон» («АлкорБио», Россия) с помощью анализатора Alisei Q.S. (Radim Diagnostic, Италия). Уровень мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* определяли в соответствии с разработанным ранее методом [7].

Все исследуемые образцы смешивали с равным объемом консервирующего раствора (4М гуанидин-тиоцианат, 100 мМ цитрат натрия и 0,1 % TritonX-100) и хранили при -20°C до использования. Выделение нуклеиновых кислот проводили фенол-хлороформным методом. Комплементарную ДНК синтезировали с использованием обратной транскриптазы M-MLV («Силекс», Россия) согласно рекомендациям производителя. Определение относительных уровней мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* проводили с помощью полимераз-

ной цепной реакции в реальном времени на амплификаторах DTlite 4 («ДНК-Технология», Россия) и CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (BioRad, США) при следующих температурных условиях: $94^\circ\text{C} - 10$ мин, 50 циклов полимеразной цепной реакции $94^\circ\text{C} - 20$ с, $60^\circ\text{C} - 20$ с, $72^\circ\text{C} - 20$ с. Реакционная смесь содержала 70 мМ Трис-НСl, рН 8,3, 16 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2 мМ MgCl_2 , 2,5 единицы активности HotTaq-полимеразы («Силекс», Россия), 0,8 мМ дезоксирибонуклеозидтрифосфатов и по 0,4 пМ каждого из олигонуклеотидов («Синтол», Россия), последовательности которых представлены в табл. 1.

Уровни мРНК рассчитывали по формуле $\Delta\Delta\text{Ct}$ с учетом эффективности реакции [10]. Нормировку уровней мРНК в тестируемых образцах проводили относительно уровня мРНК убиквитина С (UBC) и тирозин 3-монооксигеназы/триптофан 5-монооксигеназы активационного протеина зета (YWHAZ). Каждый образец анализировали в 3 повторностях и высчитывали среднее значение.

Статистическую обработку данных выполняли методами статистики с помощью пакета компьютерных программ GraphPad Prism 8.4.3 (GraphPad Software, США). Исследованные количественные показатели представлены в виде $Me (Q_1-Q_3)$, где Me – медиана, Q_1 – нижний квартиль (25 %), Q_3 – верхний квартиль (75 %). Для сравнения 2 независимых групп по количественным признакам применяли двусторонний U -тест критерия Манна–Уитни. Различия между группами полагали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для установления связей между уровнями мРНК и показателями опухолевого роста рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

При определении уровней мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в периферической крови здоровых лиц и больных РПЖ показано, что мРНК детектировались во всех исследуемых образцах. Содержание мРНК *FCGR3A* у больных РПЖ статистически значительно превышало норму в 2,8 раза: 2,778 (1,662–4,257) против 0,989 (0,4184–2,325); $p = 0,001$. В свою очередь, относительный уровень мРНК *FCGR3B* также был статистически значимо выше контроля: 3,186 (1,700–6,085) против 1,629 (0,4161–5,434); $p = 0,01$ (рис. 1).

Обнаружены статистически значимые различия в уровне мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* у больных разного возраста. В сравнении с пациентами до 70 лет больные старше 70 лет имели в 1,5 раза более высокий уровень мРНК *FCGR3A* и в 3,4 раза больший уровень мРНК *FCGR3B*.

Как известно, НК-клетки в настоящее время рассматривают как маркер старения иммунной системы. Сообщается об увеличении количества НК-клеток с возрастом. Показано, что старение вызывает

Таблица 1. Последовательности олигонуклеотидов, использованных в исследовании

Table 1. The sequences of the primers and probes used in this study

Ген Gene	Олигонуклеотид Oligonucleotide	Последовательность олигонуклеотида (5'→3') Oligonucleotide sequence (5'→3')
<i>FcγRIIA</i>	Uni-F	CAGCTGGCATGCGGACTGA
	RA-R	CACTGTCCTTCTCGAGCACC
	FAB-Z	ROX-CTGTGGTGTTCCTGGAGCCTCAATGGTA-BHQ-2
<i>FcγRIIB</i>	Uni-F	CAGCTGGCATGCGGACTGA
	RB-R	CACTGTCCTTCTCAAGCAGC
	FAB-Z	ROX-CTGTGGTGTTCCTGGAGCCTCAATGGTA-BHQ-2
<i>YWHAZ</i>	YW-F	TGCAATGATGTACTGTCTCT
	YW-R	ACTGATCGACAATCCCTTTC
	YW-Z	Cy5-ATTACTACCGTTACTTGGCTGAGGTTGCC-BHQ-2
<i>UBC</i>	UBC-F	GCACAGCTAGTTCGTCGCA
	UBC-R	TGCATTGTCAAGTGACGAT
	UBC-Z	Cy5-ATTTGGGTCGCAGTTCTTGTTTGTGGAT-BHQ-2

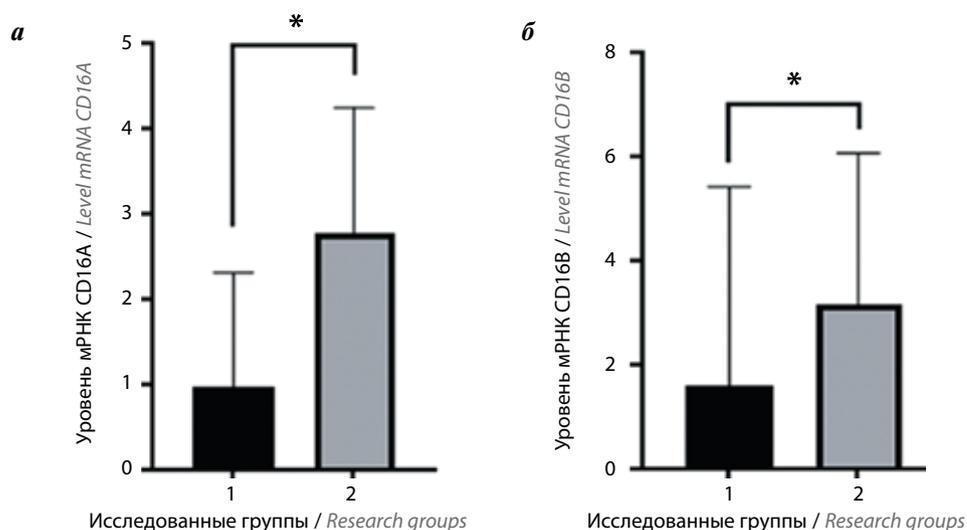


Рис. 1. Уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в периферической крови больных раком предстательной железы (РПЖ): а – мРНК *FCGR3A*; б – мРНК *FCGR3B*; 1 – здоровые волонтеры, n = 31; 2 – больные РПЖ, n = 47; *различия статистически значимы в сравнении со здоровыми волонтерами (p < 0,05).

Fig. 1. Levels of *FCGR3A* mRNA and *FCGR3B* mRNA in peripheral blood of prostate cancer (PC) patients: а – *FCGR3A* mRNA level; б – *FCGR3B* mRNA level; 1 – healthy volunteers, n = 31; 2 – PC patients, n = 47; *differences are statistically significant compared to healthy volunteers (p < 0.05).

перераспределение субпопуляций НК-клеток, о чем свидетельствует уменьшение CD56^{bright}-клеток и увеличение CD56⁻CD16⁺ НК-клеток [11]. С возрастом зарегистрировано повышение количества циркулирующих в крови CD16⁺ моноцитов [12]. Можно предположить, что обнаруженное нами повышение уровня мРНК CD16A является следствием увеличения содержания CD16⁺ НК-клеток и CD16⁺ моноцитов в крови. Для лиц разного возраста показаны возраст-

ные изменения в количестве нейтрофилов периферической крови. Хорошо известно, что количество нейтрофилов самое низкое в раннем детстве и увеличивается с возрастом. Продемонстрированы также возрастные изменения в экспрессии Fcγ-рецепторов, в том числе *FCGR3B* [13, 14]. Обнаруженное нами более высокое содержание мРНК *FCGR3B* у больных возрастом старше 70 лет, видимо, является отражением таких изменений.

Таблица 2. Содержание мРНК FCGR3A и FCGR3B в периферической крови больных раком предстательной железы в сравнении с клиническими и патологическими показателями, Me (Q_1 – Q_3)Table 2. Content of FCGR3A and FCGR3B mRNA in peripheral blood of prostate cancer patients depending on clinical and pathological parameters, Me (Q_1 – Q_3)

Показатель Parameter	Величина Category	Численность выборки Sample size	мРНК FCGR3A FCGR3A mRNA	мРНК FCGR3B FCGR3B mRNA
Возраст пациентов Age of patients	До 70 лет Under 70 years old	25	2,136 (0,8923–3,339)	1,618 (0,5897–3,453)**
	70 лет и старше 70 years old and over	21	3,165 (1,762–4,999)*	5,449 (3,128–7,467)*
Уровень тестостерона Testosterone level	<7 ммоль/л <7 mmol/L	20	2,615 (1,699–3,907)*	2,238 (1,336–4,902)
	≥7 ммоль/л ≥7 mmol/L	25	2,707 (1,275–5,162)*	4,468 (2,255–7,128)*
Объем простаты Prostate gland volume	≤25 см ³ ≤25 cm ³	8	1,344 (0,3656–4,998)	2,163 (1,336–4,703)
	25–50 см ³ 25–50 cm ³	31	2,504 (1,463–4,257)*	3,728 (2,228–6,085)*
	≥51 см ³ ≥51 cm ³	6	2,785 (2,351–3,354)*	2,006 (1,212–3,548)
Индекс Глисона Gleason Score	<7	17	2,5588 (1,890–5,264)*	2,614 (1,537–5,236)
	≥7	30	2,671 (1,380–4,257)*	4,349 (2,228–6,648)*
Размер опухоли (стадия T) Tumor size (T stage)	T2	28	2,778 (1,812–5,413)*	3,186 (2,228–6,085)*
	T3	18	2,531 (1,156–3,691)*	3,728 (1,996–8,024)*
Распространенность опухолевого процесса Tumor spread	Одна доля Either left or right lobe	24	2,497 (0,9113–3,671)*	3,186 (1,403–6,085)*
	Обе доли Both left and right lobes	20	2,856 (2,048–5,722)*	3,457 (2,233–6,352)*
Отдаленные метастазы Distant metastases	M0	19	2,504 (1,812–3,788)*	6,648 (2,952–8,761)*
	M1	20	4,551 (2,847–9,040)*, ***	4,349 (2,522–5,406)*, ***
Здоровые волонтеры Healthy volunteers		31	0,9894 (0,4184–2,325)	1,629 (0,4161–5,434)

Для оценки наличия статистически значимых различий между двумя независимыми группами по количественному признаку применяли двусторонний U-тест критерия Манна–Уитни, $p < 0,05$: *в сравнении с нормой; ** в сравнении с больными старше 70 лет; *** в сравнении с больными без метастазов.

The two-tailed Mann–Whitney U-test was used to evaluate the presence of statistically significant differences between two independent groups, with $p < 0.05$: *in comparison with healthy volunteers; **in comparison with over 70 years old patients; ***in comparison with metastasis-free patients.

Выявленное при лабораторном обследовании повышение содержания ПСА в крови пациентов сопровождалось прогрессирующим статистически значимым ростом уровня мРНК FCGR3A. Максимальное содержание мРНК FCGR3A было зарегистрировано у больных с уровнем ПСА более 30 нг/мл. Оно статистически значимо превосходило уровень у здоровых волонтеров в 4,6 раза и было выше в 2,3 раза содержания мРНК FCGR3A у больных с уровнем ПСА менее 10 нг/мл. Соответственно, при уровне ПСА

в пределах от 11 до 20 и от 21 до 30 нг/мл содержание мРНК FCGR3A было в 3,5 и 4,3 раза выше нормы ($p < 0,05$) (рис. 2). Уровень мРНК FCGR3B был наиболее высок у больных РПЖ с содержанием ПСА до 10 нг/мл и превышал норму в 3,4 раза, а затем при повышении содержания ПСА более 20 нг/мл он дозозависимо понижался, приближаясь к норме.

Корреляционный анализ выявил наличие слабой, но статистически значимой связи между уровнем ПСА и мРНК FCGR3A в крови больных РПЖ (рис. 3).

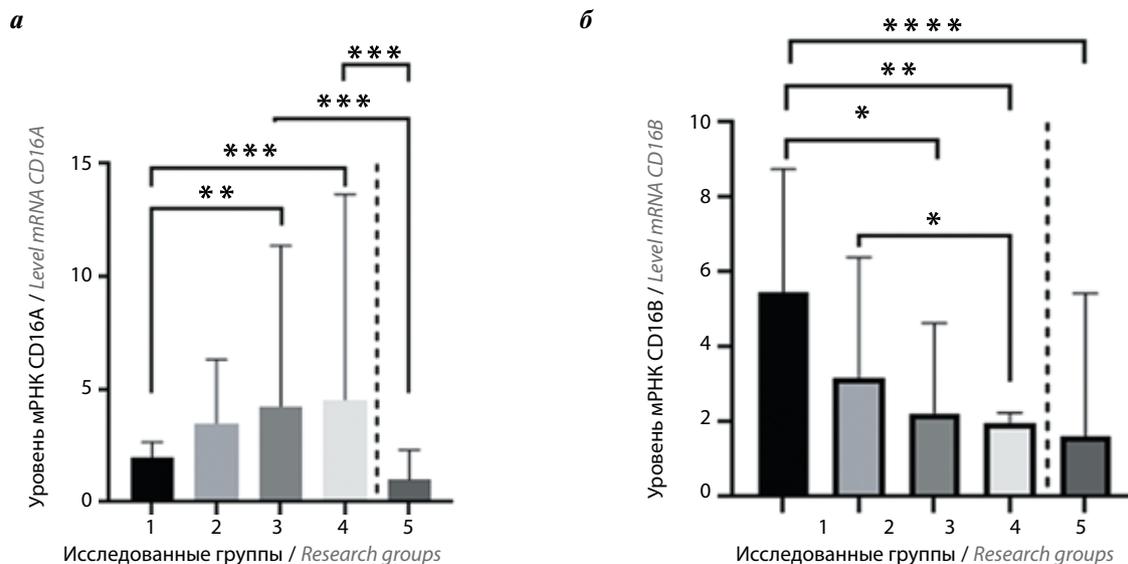


Рис. 2. Содержание мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в периферической крови больных раком предстательной железы при различном содержании простатспецифического антигена (ПСА): а – мРНК *FCGR3A*; б – мРНК *FCGR3B*; 1 – ПСА до 10 нг/мл, n = 21; 2 – ПСА от 11 до 20 нг/мл, n = 9; 3 – ПСА от 21 до 30 нг/мл, n = 7; 4 – ПСА от 31 нг/мл, n = 6; 5 – здоровые волонтеры, n = 30; *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ****p < 0,0001.

Fig. 2. The content of *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA in the peripheral blood of prostate cancer patients with different prostate-specific antigen (PSA) values in the blood: A – *FCGR3A* mRNA level; B – *FCGR3B* mRNA level; 1 – PSA value is up to 10 ng/mL, n = 21; 2 – PSA value ranges from 11 to 20 ng/mL, n = 9; 3 – PSA value ranges from 21 to 30 ng/mL, n = 7; 4 – PSA value is either 31 ng/mL or more, n = 6; 5 – healthy volunteers, n = 30; *p < 0.05; **p < 0.01; ***p < 0.001; ****p < 0.0001.

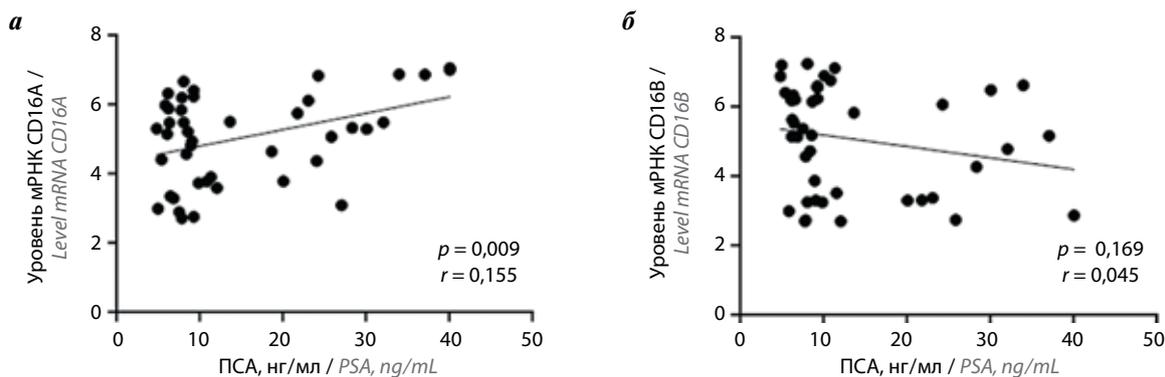


Рис. 3. Результаты анализа корреляционных связей между уровнем простатспецифического антигена (ПСА) и мРНК *FCGR3* в крови больных РПЖ: а – ПСА и мРНК *FCGR3A*; б – ПСА и мРНК *FCGR3B*

Fig. 3. Results of correlation analysis between prostate-specific antigen (PSA) concentration and *FCGR3* mRNA level in the blood of PC patients: а – PSA value and *FCGR3A* mRNA level; б – PSA value and *FCGR3B* mRNA level

Для мРНК *FCGR3B* такой взаимосвязи не выявлено, несмотря на статистически значимые различия в уровне мРНК между группами больных с разной концентрацией ПСА.

Полученные результаты свидетельствуют о повышении уровня мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в периферической крови больных РПЖ. При этом были выявлены и различия в характере изменения уровня мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B*. Так, увеличение уровня ПСА сопровождалось повышением уровня мРНК *FCGR3A*, но уровень мРНК *FCGR3B* при этом понижался до нормы у больных с концентрацией ПСА более

20 нг/мл. Хорошо известно, что уровень ПСА является одним из прогностических показателей РПЖ. При этом предполагается защитная роль ПСА в развитии опухоли [15]. ПСА представляет собой сериновую протеазу, обладающую многонаправленным действием. Благодаря протеолитической активности ПСА может высвобождать свободный биоактивный инсулиноподобный фактор роста 1 [16]. Показано, что в опухолевых клетках при РПЖ он модулирует экспрессию более 700 генов, участвующих в ангиогенезе, росте опухоли и метастазировании, стимулирует выработку активных форм кислорода, на мышинных

моделях снижает скорость роста опухоли [17]. ПСА действует как на транскрипционном, так и трансляционном уровне, оказывая дозозависимое внутри- и межклеточное влияние на биологические механизмы и играя важную роль в патогенезе рака простаты [18]. Вероятно, гены, кодирующие CD16A и CD16B, также подвержены дозозависимому модулирующему действию ПСА, что по-разному сказывается на уровне мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в крови.

Уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* в периферической крови больных РПЖ был повышен в сравнении с нормой как при содержании тестостерона ниже 7 ммоль/л, так и при его содержании выше 7 ммоль/л (см. табл. 2). При этом регистрировалась тенденция к увеличению уровня мРНК *FCGR3B* при повышении уровня тестостерона, которая подтверждалась при корреляционном анализе ($p = 0,046$, $r = 0,093$).

Полученные нами результаты об отсутствии дозозависимого действия тестостерона на уровень мРНК *FCGR3A* в крови находятся в соответствии с данными литературы. Показано, что НК-клетки, являющиеся основными носителями CD16A, не имеют рецептора тестостерона на мембране, вследствие чего тестостерон не способен оказывать прямое действие на количество и функциональную активность НК-клетки [19]. В то же время моноциты и нейтрофилы несут на своей мембране рецептор тестостерона, их созревание зависит от уровня данного гормона, и повышение концентрации тестостерона приводит к увеличению в крови их уровня [20]. Выявленное нами более высокое содержание мРНК *FCGR3B* при уровне тестостерона ≥ 7 ммоль/л, видимо, является результатом действия тестостерона на нейтрофилы периферической крови.

Увеличение объема простаты сопровождалось повышением в крови уровня как мРНК *FCGR3A*, так и мРНК *FCGR3B*. Максимальный уровень мРНК *FCGR3A* регистрировался при объеме простаты более 51 см³. Максимальный уровень мРНК *FCGR3B* обнаруживался при объеме простаты 25–50 см³, а у пациентов с большим объемом простаты он возвращался к уровню больных с объемом простаты до 25 см³.

Ранее было показано, что существует связь между объемом опухоли и уровнем ПСА, что объем опухоли имеет прогностическую ценность, однако он не дает дополнительной информации в сравнении с другими показателями [21], т. е. за счет повышения объема опухоли может увеличиваться продукция ПСА, способного дозозависимо воздействовать на экспрессию генов [22]. Следствием такого действия может быть повышенный уровень мРНК *FCGR3B* при средних объемах опухоли (25–50 см³) и средних концентрациях ПСА (10–30 нг/мл) в крови больных.

Определение уровня мРНК *FCGR3A* у больных с разным индексом Глисона не обнаружило статисти-

чески значимых различий при индексе < 7 и ≥ 7 . В обоих случаях уровень мРНК *FCGR3A* находился на среднем для общей группы больных уровне. Однако при увеличении индекса Глисона до 7 и более была выявлена выраженная тенденция к повышению уровня мРНК *FCGR3B*.

Поскольку для прогнозирования течения РПЖ используют клиническую стадию заболевания, мы оценили уровень мРНК *FCGR3A* и *FCGR3B* у больных с T2- и T3- стадиями по классификации TNM (tumor, nodus, metastasis). Как следует из табл. 2, уровень мРНК *FCGR3A* не различался у больных с T2- и T3- стадиями опухолевого процесса. Тем не менее уровень мРНК *FCGR3B* имел тенденцию к повышению у больных с T3- стадией.

Известно, что плотность, или жесткость, новообразования рассматривается как показатель злокачественности [23]. С помощью соноэластографии мы оценили уровень мРНК тестируемых генов у больных РПЖ с разными коэффициентами жесткости ткани предстательной железы (КЖ_{тпж}). Уровень мРНК *FCGR3A* в крови больных РПЖ прогрессивно повышался с повышением КЖ_{тпж}. У больных с КЖ_{тпж} до 10 Н/м он был в 1,8 раза выше нормы, а у больных с КЖ_{тпж} более 30 Н/м – уже в 6,0 раза (рис. 4, а). Была выявлена слабая, но статистически значимая положительная корреляция между уровнем мРНК *FCGR3A* и КЖ_{тпж} (рис. 5, а).

В свою очередь, для мРНК *FCGR3B* выявлена обратная картина. При КЖ_{тпж} менее 10 Н/м уровень мРНК *FCGR3B* был в 6,4 раза выше нормы ($p < 0,05$), а с повышением КЖ_{тпж} он постепенно снижался, и при КЖ_{тпж} более 30 Н/м он понижался до уровня нормы (см. рис. 4, б). Корреляционный анализ показал наличие статистически значимой слабой отрицательной корреляционной связи между КЖ_{тпж} и уровнем мРНК *FCGR3B* (см. рис. 5, б).

Был оценен уровень мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* при разной распространенности опухолевого процесса. У больных с локализацией опухоли в одной из долей простаты уровень мРНК тестируемых генов статистически значимо не отличался от уровня у больных с двусторонней локализацией опухолевого процесса (см. табл. 2). В обоих случаях медиана в 2 раза и более превышала норму.

Наличие метастазов в лимфатических узлах больных сопровождалось более высоким уровнем мРНК *FCGR3A*. Он в 4,5 раза превышал норму и был в 2,5 раза выше, чем в крови больных без метастазов ($p < 0,05$). Нормализованный уровень мРНК *FCGR3B* менялся противоположным образом. У больных с метастазами он был в 1,5 раза ниже, чем у больных без метастазов. При этом в обоих случаях уровень мРНК *FCGR3B* был статистически значимо выше нормы.

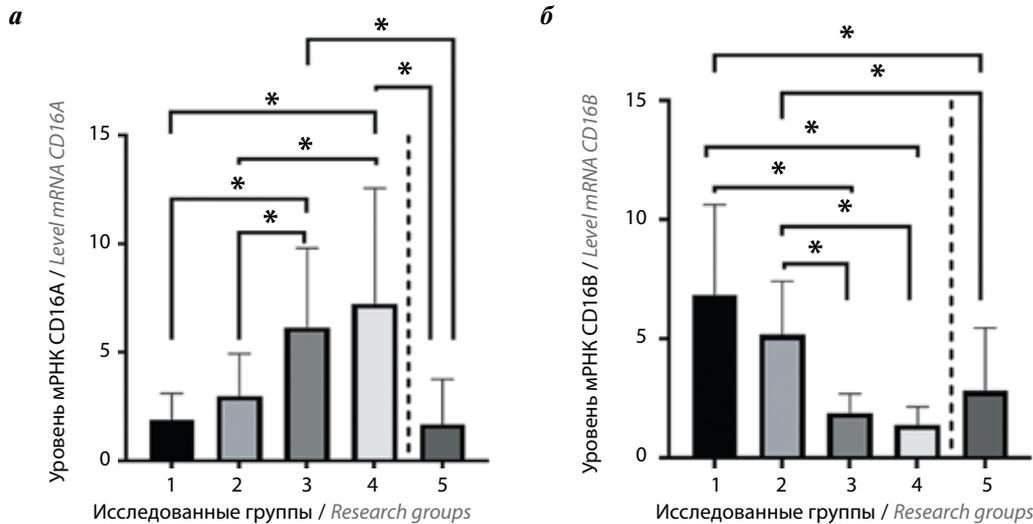


Рис. 4. Уровень мРНК FCGR3A и FCGR3B в периферической крови больных раком предстательной железы при различных значениях коэффициента жесткости ткани предстательной железы ($KJ_{ТПЖ}$): а – уровень мРНК FCGR3A; б – уровень мРНК FCGR3B; 1 – значение $KJ_{ТПЖ}$ составляет до 10 Н/м, n = 17; 2 – значение $KJ_{ТПЖ}$ находится в пределах от 11 до 20 Н/м, n = 14; 3 – значение $KJ_{ТПЖ}$ колеблется в пределах от 21 по 30 Н/м, n = 7; 4 – значение $KJ_{ТПЖ}$ превышает 30 Н/м, n = 6; 5 – значение $KJ_{ТПЖ}$ здоровых волонтеров, n = 30; *статистически значимые различия между тестируемыми группами и в сравнении со здоровыми волонтерами ($p < 0,05$)

Fig. 4. The level of FCGR3A and FCGR3B mRNA in the peripheral blood of prostate cancer patients with different values of prostate stiffness coefficient prostate tissue (SC_{PT}): A – FCGR3A mRNA; B – FCGR3B mRNA. 1 – SC_{PT} is up to 10 N/m, n = 17; 2 – SC_{PT} ranges from 11 to 20 N/m, n = 14; 3 – SC_{PT} ranges from 21 to 30 N/m, n = 7; 4 – SC_{PT} is more than 30 N/m, n = 6; 5 – SC_{PT} of healthy volunteers, n = 30; *statistically significant differences between the tested groups and healthy volunteers also ($p < 0.05$)

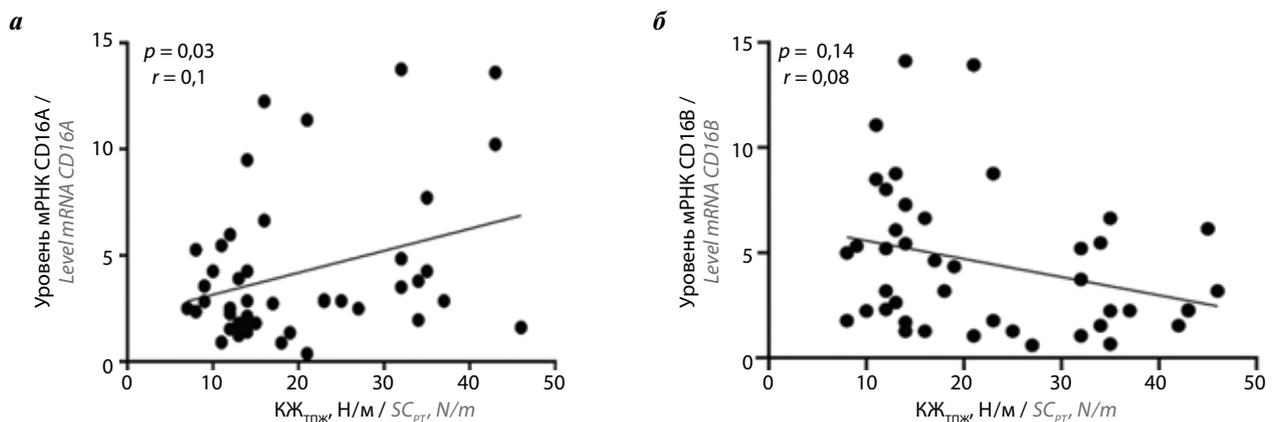


Рис. 5. Результаты анализа корреляционных связей между коэффициентом жесткости ткани предстательной железы ($KJ_{ТПЖ}$) и мРНК FCGR3 в крови больных раком предстательной железы: а – $KJ_{ТПЖ}$ и мРНК FCGR3A; б – $KJ_{ТПЖ}$ и мРНК FCGR3B

Fig. 5. Results of correlation analysis between stiffness coefficient prostate tissue (SC_{PT}) value and FCGR3 mRNA level in the blood of prostate cancer patients: а – SC_{PT} value and FCGR3A mRNA level; б – SC_{PT} value and FCGR3B mRNA level

Таким образом, уровень мРНК FCGR3A повышается с возрастом, при увеличении концентрации ПСА, объема и жесткости простаты и при наличии метастазов. Различия в концентрации тестостерона, индексе Глисона, стадии заболевания и распространенности опухоли не сопровождалась изменениями в уровне мРНК FCGR3A. Для мРНК FCGR3B выявлен другой характер изменений. С увеличением концентрации ПСА и жесткости простаты повышенный уровень мРНК FCGR3B снижлся, приближаясь

к норме. В отсутствие метастазов он был выше, чем при их наличии. Кроме того, зарегистрированы тенденции к повышению уровня мРНК FCGR3B при увеличении стадии заболевания, концентрации тестостерона до 7 ммоль/л и выше, а также градации индекса Глисона до 7 и более.

Заключение

В настоящее время прогнозирование течения РПЖ основано на уровне ПСА, клинической стадии,

соотношении нейтрофилов и лимфоцитов и на использовании шкалы Глисона [24]. Нами изучена возможность использования в данных целях показателей, отражающих экспрессию генов *FCGR3A* и *FCGR3B* в клетках крови больных РПЖ. Оценка усредненных уровней мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* в крови пациентов с РПЖ обнаружила, что в среднем у больных имеется повышенный уровень мРНК данных генов. Повышение зависит от возраста и более выражено у пациентов старше 70 лет. Уровень мРНК *FCGR3A* прямо коррелировал с такими показателями, как содержание ПСА, объем простаты и КЖ_{ТПЖ}, и увеличивался с повышением тяжести заболевания.

В свою очередь, для уровня мРНК *FCGR3B* была выявлена противоположная зависимость, проявляющаяся в более высоком его уровне при невысоких концентрациях ПСА и низком КЖ_{ТПЖ} и в последующем снижении до нормы с повышением тяжести РПЖ. Иначе говоря, обнаружены разнонаправленные изменения уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* при разном течении заболевания. Вероятно, выявленный характер изменения уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* связан с дозозависимым действием ПСА на их уровень. Полученные результаты указывают на возможное мониторинговое значение уровня мРНК *FCGR3A* и мРНК *FCGR3B* в крови больных РПЖ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wu J., Mishra H.K., Walcheck B. Role of ADAM17 as a regulatory checkpoint of CD16A in NK cells and as a potential target for cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol* 2019;105(6):1297–303. DOI: 10.1002/JLB.2MR1218-501R
2. Golay J., Valgardsdottir R., Musaraj G. et al. Human neutrophils express low levels of FcγRIIA, which plays a role in PMN activation. *Blood* 2019;133(13):1395–405. DOI: 10.1182/blood-2018-07-864538
3. Gillis C., Gouel-Chéron A., Jönsson F., Bruhns P. Contribution of human FcγRs to disease with evidence from human polymorphisms and transgenic animal studies. *Front Immunol* 2014;5:254. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00254
4. Millrud C.R., Kagedal A., Kumlien Georen S. et al. NET-producing CD16^{high} CD62L^{dim} neutrophils migrate to tumor sites and predict improved survival in patients with HNSCC. *Int J Cancer* 2017;140(11):2557–67. DOI: 10.1002/ijc.30671
5. Lecot P., Sarabi M., Abrantes M.P. et al. Neutrophil heterogeneity in cancer: from biology to therapies. *Front Immunol* 2019;10:2155. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02155
6. Барышников А.Ю., Тоневитский А.Г. Моноклональные антитела в лаборатории и клинике. М.: Медицина, 1997. 212 с. Baryshnikov A.Yu., Tonevitsky A.G. Monoclonal antibodies in the laboratory and clinic. Moscow: Meditsina, 1997. 212 p. (In Russ.).
7. Красногорова Н.В., Новиков Д.В., Фомина С.Г. и др. Уровень мРНК CD16A и CD16B как потенциальный иммунологический маркер при колоректальном раке. *Бюллетень сибирской медицины* 2019;18(1):220–27. DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-220-227
Krasnogorova N.V., Novikov D.V., Fomina S.G. et al. The CD16A and CD16B mRNA level as potential immunological marker in colorectal cancer. *Bulleten sibirskoy meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine* 2019;18(1):220–7 (In Russ.). DOI: 10.20538/1682-0363-2019-1-220-227
8. Alyasova A.V., Amoev Z.V., Shkola O.O. et al. Messenger RNA of *FCGR3A* and *FCGR3B* genes as monitoring markers of clear cell renal adenocarcinoma (a pilot study). *Sovrem Tekhnologii Med = Modern Technologies in Medicine* 2022;14(3):22–7. DOI: 10.17691/stm2022.14.3.03
9. Зубеев П.С., Коровин О.А., Севрюков Ф.А., Святозарский Н.Л. Наш опыт применения соноэластографии простаты при заболеваниях предстательной железы. *Андрология и генитальная хирургия* 2013;14(2):60–4. DOI: 10.17650/2070-9781-2013-2-60-64
10. Zubeev P.S., Korovin O.A., Sevryukov F.A., Svyatozarskiy N.L. The experience of using sonoelastography of prostate in prostatic diseases. *Andrologiya y genitalnaya khirurgiya = Andrology and Genital Surgery* 2013;14(2):60–4 (In Russ.). DOI: 10.17650/2070-9781-2013-2-60-64
10. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} method. *Methods* 2001;25(4):402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
11. Solana R., Campos C., Pera A., Tarazona R. Shaping of NK cell subsets by aging. *Curr Opin Immunol* 2014;29:56–61. DOI: 10.1016/j.coi.2014.04.002
12. De Maeyer R.P.H., Chambers E.S. The impact of ageing on monocytes and macrophages. *Immunol Lett* 2021;230:1–10. DOI: 10.1016/j.imlet.2020.12.003
13. Gasparoto T.H., Dalboni T.M., Amôr N.G. et al. Fcγ receptors on aging neutrophils. *J Appl Oral Sci* 2021;29:e20200770. DOI: 10.1590/1678-7757-2020-0770
14. Nah E.H., Kim S., Cho S., Cho H.I. Complete blood count reference intervals and patterns of changes across pediatric, adult, and geriatric ages in Korea. *Ann Lab Med* 2018;38(6):503–11. DOI: 10.3343/alm.2018.38.6.503
15. Bonk S., Kluth M., Hube-Magg C. et al. Prognostic and diagnostic role of PSA immunohistochemistry: a tissue microarray study on 21,000 normal and cancerous tissues. *Oncotarget* 2019;10(52):5439–53. DOI: 10.18632/oncotarget.27145
16. Cohen P., Peehl D.M., Lamson G., Rosenfeld R.G. Insulin-like growth factors (IGFs), IGF receptors, and IGF-binding proteins in primary cultures of prostate epithelial cells. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73(2):401–7. DOI: 10.1210/jcem-73-2-401
17. Bindukumar B., Schwartz S.A., Nair M.P. et al. Prostate-specific antigen modulates the expression of genes involved in prostate tumor growth. *Neoplasia* 2005;7(3):241–52. DOI: 10.1593/neo.04529
18. Al-Nasralla A.S.H., Hussian S.S., Tektook N.K. Immunological analysis of interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor-α (TNF-α), and prostate-specific antigen (PSA) in benign and malignant prostate cancer. *Hum Antibodies* 2023;Prepress:1–9. DOI: 10.3233/HAB-220018
19. Sciarra F., Campolo F., Franceschini E. et al. Gender-specific impact of sex hormones on the immune system. *Int J Mol Sci* 2023;24(7):6302. DOI: 10.3390/ijms24076302

20. Gagliano-Jucá T., Pencina K.M., Guo W. et al. Differential effects of testosterone on peripheral neutrophils, monocytes and platelets in men: findings from two trials. *Andrology* 2020;8(5):1324–31. DOI: 10.1111/andr.12834
21. Raison N., Servain P., Patel A. et al. Is tumour volume an independent predictor of outcome after radical prostatectomy for high-risk prostate cancer? *Prostate Cancer Prostatic Dis* 2023;26(2):282–6. DOI: 10.1038/s41391-021-00468-4
22. Ариуа Х., Новиков Д.В., Коровин О.А. и др. Изменения в экспрессии генов, кодирующих молекулы CD16A и CD16B, при доброкачественной гиперплазии предстательной железы. *Имунопатология, аллергология, инфектология* 2023;4:79–84. DOI: 10.14427/jipai.2023.4.79
- Arioua K., Novikov D.V., Korovin O.A. et al. *FCGR3A* and *FCGR3B* mRNA level in peripheral blood of patients with benign prostate hyperplasia. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology* 2023;4:79–84. (In Russ.). DOI: 10.14427/jipai.2023.4.79
23. Thörmer G., Reiss-Zimmermann M., Otto J. et al. Novel technique for MR elastography of the prostate using a modified standard endorectal coil as actuator. *J Magn Reson Imaging* 2013;37(6):1480–5. DOI: 10.1002/jmri.23850
24. Wang Y., Dong X., Qu Z. et al. Correlation between peripheral blood neutrophil-lymphocyte ratio and CD34 expression in prostate cancer. *BMC Cancer* 2020;20(1):900. DOI: 10.1186/s12885-020-07382-3

Вклад авторов

Д.В. Новиков, А.В. Калугин: получение и анализ результатов;

Х.М. Ариуа, О.А. Коровин: получение данных для анализа;

С.В. Шумилова, А.В. Алясова, Л. Хамидани: анализ данных литературы, написание текста рукописи;

В.В. Новиков: разработка дизайна исследования, написание текста рукописи.

Author's contributions

D.V. Novikov, A.V. Kalugin: obtaining and analysis of results;

Kh.M. Arioua, O.A. Korovin: obtaining data for analysis;

S.V. Shumilova, A.V. Alyasova, L. Hamidani: review of publications on the topic of the article, manuscript writing;

V.V. Novikov: research design development, manuscript writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Д.В. Новиков / D.V. Novikov: <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>

Х.М. Ариуа / K.M. Arioua: <https://orcid.org/0000-0003-1179-2552>

О.А. Коровин / O.A. Korovin: <https://orcid.org/0009-0002-2326-1265>

А.В. Калугин / A.V. Kalugin: <https://orcid.org/0000-0002-5484-5645>

С.В. Шумилова / S.V. Shumilova: <https://orcid.org/0000-0002-2727-2888>

А.В. Алясова / A.V. Alyasova: <https://orcid.org/0000-0003-2621-0359>

Л. Хамидани / L. Hamidani: <https://orcid.org/0009-0005-3459-8770>

В.В. Новиков / V.V. Novikov: <https://orcid.org/0000-0002-2449-7213>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was conducted without sponsorship.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Настоящее исследование проводилось в соответствии с этическими нормами, с письменного информированного согласия пациентов, здоровых добровольцев и выполнялось строго в рамках Хельсинкской декларации по соблюдению прав человека. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ННГУ им. Н.И. Лобачевского.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. This study was conducted in accordance with ethical standards, with the written informed consent of patients, healthy volunteers and was carried out strictly within the framework of the Helsinki Declaration on Human Rights. The study was approved by the local Ethics Committee of the National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod.

Статья поступила: 08.04.2024. Принята в печать: 21.10.2024. Опубликовано онлайн: ** ** .2024.

Article received: 08.04.2024. Accepted for publication: 21.10.2024. Published online: ** ** .2024.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-49-60>

Сравнительное изучение фармакокинетики препаратов пембролизумаба при однократном внутривенном введении яванским макакам

В.М. Косман¹, М.В. Карлина¹, Т.Н. Барыбина¹, Н.М. Фаустова¹, А.А. Матичин¹, В.Г. Макаров¹, М.Н. Макарова¹, А.А. Дмитриева², Е.В. Шипаева², А.И. Подолякина², О.В. Филон², М.Ю. Самсонов², В.Г. Игнатьев²

¹АО «Научно-производственное объединение «ДОМ ФАРМАЦИИ»; Россия, 188663 Ленинградская обл., Всеволожский р-н, г. п. Кузьмолковский, Заводская ул., 3, корп. 245;

²АО «Р-Фарм»; Россия, 123154 Москва, ул. Берзарина, 19, корп. 1

Контакты: Вера Михайловна Косман kosman.vm@doclinika.ru

Введение. Пембролизумаб является противоопухолевым средством биологического происхождения класса моноклональных антител. При создании воспроизведенных биологических лекарственных средств необходима оценка сопоставимости фармакокинетики разрабатываемого препарата и оригинального (референтного) лекарственного препарата на релевантных видах животных.

Цель исследования – сравнительная оценка фармакокинетики двух препаратов с международным непатентованным названием (МНН) «пембролизумаб», концентратов для приготовления раствора для инфузий при однократном внутривенном введении обезьянам *Macaca fascicularis*.

Материалы и методы. Объекты исследования – биоаналогичный препарат RPH-075 (МНН пембролизумаб, АО «Р-Фарм», Россия) и препарат сравнения Китруда® (МНН пембролизумаб, МСД Интернэшнл ГмбХ, Ирландия) вводили однократно внутривенно самцам яванских макак (2 группы по 4 самца в каждой) в дозе 30 мг/кг. Отбор образцов крови макак для анализа проводили до введения и через 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 144, 312, 480, 648, 984, 1320 ч после введения. Концентрацию действующего вещества в плазме крови определяли методом молекулярного иммуноферментного анализа с использованием коммерчески доступных антител с последующим расчетом основных параметров фармакокинетики (C_{max} , AUC, MRT, V_{ss} , $T_{1/2\alpha}$, Cl).

Результаты. С использованием антител более доступных, чем коммерческие наборы реагентов, воспроизведена методика анализа пембролизумаба в биоматериале, рекомендованная производителем антител. Методика валидирована и применена к анализу биопроб, полученных при проведении сравнительного доклинического исследования. Показано отсутствие влияния тестируемого препарата и препарата сравнения при однократном внутривенном введении яванским макакам на общее состояние и массу тела животных; установлено, что препараты обладали сопоставимыми фармакокинетическими профилями.

Заключение. Создание биоаналогичного препарата в Российской Федерации позволит совершенствовать лечение пациентов с онкологическими заболеваниями, снизить стоимость лечения и увеличить число получающих качественную медицинскую помощь.

Ключевые слова: пембролизумаб, биоаналог, фармакокинетический профиль, сыворотка крови, иммуноферментный анализ

Для цитирования: Косман В.М., Карлина М.В., Барыбина Т.Н. и др. Сравнительное изучение фармакокинетики препаратов пембролизумаба при однократном внутривенном введении яванским макакам. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):49–60.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-49-60>

Comparative pharmacokinetics of pembrolizumab after single intravenous administration to *Macaca fascicularis*

Vera M. Kosman¹, Marina V. Karlina¹, Tatyana N. Barybina¹, Natalia M. Faustova¹, Aleksandr A. Matichin¹, Valery G. Makarov¹, Marina N. Makarova¹, Anastasia A. Dmitrieva², Elena V. Shipaeva², Anna I. Podolyakina², Olga V. Filon², Mikhail Yu. Samsonov², Vasily G. Ignatiev²

¹Research-and-manufacturing company “HOME OF PHARMACY”; 3/245 Zavodskaya St., Kuzmolovsky urban-type settlement, Vsevolozhsky district, Leningrad region 188663, Russia;

²Joint-Stock Company “R-Pharm”, Bld 1, 19 Berzarin St., Moscow 123154, Russia

Contacts: Vera Mikhailovna Kosman kosman.vm@doclinika.ru

Background. Pembrolizumab belongs to a fundamentally new class of antitumor agents with biological source – monoclonal antibodies. When creating generic biological medicinal products, it is necessary to assess the comparability of the pharmacokinetics of the developed drug and the original (reference) drug product in relevant animal species.

Aim. To compare the pharmacokinetics of two drugs with INN pembrolizumab, concentrate for solution for infusion, administered once intravenously to *Macaca fascicularis*.

Materials and methods. Biosimilar RPH-075 (INN pembrolizumab, JSC R-Pharm, Russia) and reference drug Keytruda® (INN pembrolizumab, MSD International GmbH) were administered once intravenously to male monkeys (2 groups of 4 males each) at a dose of 30 mg/kg. Macaque blood samples were collected for analysis before administration and at 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 144, 312, 480, 648, 984, 1320 h after administration. Plasma concentrations of the active ingredient were determined by bridging ELISA using commercially available antibodies, followed by calculation of the main pharmacokinetic parameters (C_{max} , AUC, MRT, V_{ss} , $T_{1/2}$, Cl).

Results. Using antibodies more available than commercial reagent kits, the pembrolizumab assay method recommended by the antibody manufacturer has been replicated. The method has been validated and applied to the analysis of biosamples obtained in the preclinical study. There was no effect of the test drug and the reference drug upon single intravenous administration to monkeys condition and animals body weigh; drugs were found to have comparable pharmacokinetic profiles.

Conclusion. The creation of a biosimilar drug in the Russian Federation will improve the treatment of patients with cancer, reduce the cost of treatment and increase the number of patients receiving high-quality medical care.

Keywords: pembrolizumab, biosimilar, pharmacokinetic profile, blood serum, enzyme immunoassay

For citation: Kosman V.M., Karlina M.V., Barybina T.N. et al. Comparative pharmacokinetics of pembrolizumab after single intravenous administration to *Macaca fascicularis*. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2024;23(4):49–60. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-49-60>

Введение

Одним из активно производимых в настоящее время классов биологических лекарственных препаратов являются моноклональные антитела (monoclonal antibodies, mAbs), в частности ингибиторы иммунной контрольной точки, используемые против отрицательных иммунологических регуляторов для восстановления иммунного ответа против рака [1, 2]. К этому принципиально новому классу противоопухолевых средств относят пембролизумаб, лечебный эффект которого основан на реактивации противоопухолевого иммунного механизма.

Препарат Китруда® (международное непатентованное название – МНН: пембролизумаб) представляет собой высокоселективное гуманизованное mAb изотипа иммуноглобулина (Ig) подкласса G4-каппа, которое блокирует взаимодействие между рецептором programmed cell death 1 (PD-1) на поверхности Т-клеток и PD-L1- и PD-L2-лигандами, находящимися на клетках опухоли и ее микроокружения [3–5]. Пембролизумаб успешно применяют в 1-й и последующих линиях терапии метастатической меланомы кожи вне зависимости от наличия активиру-

ющих мутаций в гене *BRAF* и других молекулярных маркеров [5–8]. В исследованиях также подтверждена эффективность пембролизумаба в лечении немелкоклеточного рака легких, рака эндометрия, рака молочной железы [7–12]. Показаниями к применению этого препарата являются также рак головы и шеи [13], классическая лимфома Ходжкина [14], уротелиальный рак [15], злокачественные новообразования с высоким уровнем микросателлитной нестабильности [16], рак шейки матки [11], почечно-клеточный рак [17]. Разработкой биоаналогов препарата Китруда® занимаются во многих странах мира [3, 18, 19]¹. Воспроизведенные (подобные) биологические лекарственные средства (биоаналоги, биосимиляры, biosimilars, similar biological medicinal products) являются аналогами биофармацевтических лекарственных средств с близкой, но не идентичной исходной молекулой [20, 21]. Действующие вещества таких препаратов представляют собой белки, полученные путем биологического синтеза в клетках дрожжей и бактерий. Различные организмы, используемые в синтезе целевого протеина, дальнейшие методы получения, очистки и гликозилирования обуславливают

¹Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза: Решение Совета ЕЭК № 89 от 03.11.2016. URL: <https://www.alt.ru/tamdoc/16sr0089/?ysclid=m3phv2ntxz415188816>

неполную идентичность действующих веществ оригинальных биопрепаратов и биоаналогов, что может оказать влияние на фармакологическую активность, безопасность, фармакокинетику и иммуногенность биоаналогов [20, 21]. Оценку сопоставимости фармакокинетики разрабатываемого препарата и оригинального (референтного) лекарственного препарата на релевантных видах животных проводят в связи с тем, что биотехнологические препараты ввиду своей специфики могут опосредовать эффекты *in vivo*, которые нельзя полностью охарактеризовать в исследованиях *in vitro*².

Цель исследования – сравнительная оценка фармакокинетики двух препаратов с МНН «пембролизумаб», концентратов для приготовления раствора для инфузий при однократном внутривенном введении обезьянам *Macaca fascicularis*.

Материалы и методы

Объектами исследования служили тестируемый препарат RPH-075 (МНН пембролизумаб), концентрат для приготовления растворов для инфузий, 25 мг/мл (производитель АО «Р-Фарм», Россия), и препарат сравнения Китруда® (МНН пембролизумаб), концентрат для приготовления растворов для инфузий, 25 мг/мл (производитель MSD Интернэшнл ГмБХ, торгующий как MSD Ирландия (Карлоу), Ирландия, держатель регистрационного удостоверения (РУ) ООО «МСД Фармасьютикалс», Россия). Тестируемый препарат является биоаналогом препарата сравнения.

Животные. В экспериментах использованы половозрелые самцы яванских макаков (*Macaca fascicularis*), полученные из 3 источников: ИП Хачатурян Э.С. (Россия); ИП Фисенко А.И. (Россия); хозяйствующий субъект (владелец продукции) Батчаева А.Ю. (Россия). Планируемая работа рассмотрена и одобрена для проведения на заседании биоэтической комиссии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»» (протокол № 1.34/22 от 29.07.2022). Исследование спланировано и выполнено с соблюдением принципов «Трёх R» (Replacement, Reduction, Refinement: замещение, сокращение, совершенствование), после окончания эксперимента животные были возвращены в ветеринарную службу.

Приматы поступили в исследовательское учреждение в транспортировочных клетках. При поступлении животным присваивали новые клички и осуществляли проверку на наличие или отсутствие чипа заводчика и его работоспособность (происходит ли

считывание номера) при наличии. В случае отсутствия или несчитывания чипа заводчика производили чипирование животного. Для каждого поступившего животного оформляли карточку *Curriculum Vitae*, куда вносили информацию о поступлении (номер ветеринарного сопроводительного документа), массе тела животного и всех манипуляциях, происходивших на протяжении всей жизни объекта. После поступления в исследовательское учреждение животных до начала эксперимента содержали 45 дней для карантина и адаптации к условиям содержания и персоналу, допущенному к работе с приматами. На протяжении карантина у животных каждый день контролировали клиническое состояние путем визуального осмотра. Животных во время периода адаптации приучали садиться на весы путем тренинга с положительным подкреплением.

В эксперименте задействовано 8 животных (самцов), еще 1 самец яванской макаки был доступен в течение периода адаптации на случай необходимой замены. После окончания периода адаптации незадействованное животное выполняло роль сентинельного, т.е. его содержали в одинаковых условиях с экспериментальными животными до окончания экспериментальной части исследования, после чего возвратили в ветеринарную службу.

В исследовании использованы клинически здоровые яванские макаки, свободные от туберкулеза и прочих заболеваний (*Rabies lyssavirus*, гепатита A, B, C, Retrovirus SIV, SRV, STLV, *Mycoplasma* spp., *Yersinia* spp., *Salmonella* spp., *Endoparasites*, *Ectoparasites*).

Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. Макаков содержали в металлических клетках группового содержания, минимальная площадь пола клетки содержания на 1 животное соответствовала регламентирующим стандартам³. В условиях исследования были удовлетворены минимальные физические и интеллектуальные потребности приматов. Для обеспечения физической активности животных в клетках содержания были натянута веревочные качели и кольца, для поддержания познавательной и тактильной потребностей животных проводили тренинги.

Животные ежедневно получали 100 г запаренного гранулированного корма ЛБК-120 (производитель ЗАО «Тосненский комбикормовый завод», Россия), кроме случаев лишения корма, указанных далее.

²Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза: Решение Совета ЕЭК № 89 от 03.11.2016. URL: <https://www.alt.ru/tamdoc/16sr0089/?ysclid=m3phv2ntxz415188816>.

³Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях / пер. с англ. Под ред. М.С. Красильщиковой, И.В. Белозерцевой. СПб., 2012. 48 с.

В качестве дополнения к рациону ежедневно давали 100 г бананов, 50 г отварной моркови, 10 г салата. Два раза в неделю животные получали 3 вареных яйца, 50 г вареного куриного филе, 1 яблоко, 5 фиников, и один раз в неделю — 35 г изюма. Кормление животных осуществляли 5 раз в день. Воду животные получали *ad libitum*.

Оценка фармакокинетики. Для выполнения эксперимента сформировано 2 группы животных по 4 самца в каждой, возраст животных составил 3–7 лет, масса 4,85–7,25 кг. В исследовании использованы животные одного пола (самцы), поскольку для оригинального препарата Китруда® известно, что пол животных не влияет на параметры фармакокинетики пембролизумаба⁴. Формирование экспериментальных групп животных осуществляли при помощи стратификации по массе тела таким образом, чтобы на начало эксперимента масса тела статистически значимо не отличалась между группами. По данным литературы, рандомизация для приматов не является обязательной процедурой [22].

Объекты исследования вводили однократно внутривенно (болюсно, согласно регуляторным документам⁵ должен быть выбран способ введения, соответствующий клиническому применению исследуемых препаратов). В данном случае для введения животным использовано не инфузионное, а болюсное внутривенное введение (поскольку такой способ предпочтительнее для дальнейшего отбора биоматериала при исследовании фармакокинетики, и он указан в разделе по доклиническим исследованиям регистрационного досье оригинального препарата) в дозе 30 мг/кг с помощью трехкомпонентного шприца с иглой диаметром 25G. Объем для внутривенного введения макакам массой тела 4 кг составил 4,8 мл, что не превышало максимально допустимый объем для данного вида животных — 3 мл/кг [23]. Выбранная доза препаратов, равная 30 терапевтическим дозам⁶, позволила достоверно определить в сыворотке крови приматов концентрацию пембролизумаба для

дальнейшей оценки его фармакокинетических параметров. Кроме того, выбранная доза (30 мг/кг) не вызвала токсических эффектов при оценке токсичности оригинального препарата в доклинических исследованиях на приматах.

В 1-й день эксперимента перед отбором крови для временной точки «до введения» и введением объектов исследования животные были лишены утренней раздачи корма. После введения исследуемых препаратов животных лишали корма и воды на 6 ч. Доступ животных к корму и воде в остальные дни эксперимента не был ограничен. Манипуляции по забору крови начиная со 2-го дня эксперимента производили до утренней раздачи корма и воды.

Для оценки фармакокинетических параметров образцы крови отбирали из вены в следующие временные точки — до введения, непосредственно после введения, через 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 144, 312, 480, 648, 984, 1320 ч после введения.

Отбор образцов крови выполняли в пробирки с активатором свертывания и гелем IMPROVACUTER® (Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Ltd, Китай, кат. № 623060112). Для получения сыворотки кровь предварительно инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин, затем образцы центрифугировали при скорости 2000 об/мин в течение 10 мин на центрифуге СМ-6МТ (ELMI Ltd., Латвия). Полученную сыворотку хранили при температуре -70 ± 10 °С в 2 аликвотах (основной и запасной, или арбитражной) объемом не менее 1,0 мл каждая.

Анализ проб. Для количественного определения пембролизумаба применяли метод мостикового иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерчески доступных антител согласно протоколу⁷.

В качестве стандартного образца пембролизумаба для получения калибровочных растворов использовали препарат RPH-075, концентрат для приготовления раствора для инфузий 25 мг/мл (серия 0010922, производитель АО «Р-Фарм», Россия).

⁴Инструкция по медицинскому применению препарата Китруда®. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=e56efc21-d2f6-4a9f-9b39-8aeb435de914; EMA assessment report for Keytruda. International Nonproprietary Name pembrolizumab. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/keytruda-epar-public-assessment-report_en.pdf; CDER-FDA. Application number: 125514Orig1s000. Pharmacology Review(s). URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/125514Orig1s000PharmR.pdf.

⁵Лекарственные средства для медицинского применения. Доклинические, токсикологические и фармакокинетические исследования безопасности: ГОСТ Р 56702-2015 от 01.07.2016. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200126924>; Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть вторая. Под ред. А.Н. Миронова и др. М.: Гриф и К. 2012. 536 с.

⁶Инструкция по медицинскому применению препарата Китруда®. URL: https://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=e56efc21-d2f6-4a9f-9b39-8aeb435de914; EMA assessment report for Keytruda. International Nonproprietary Name pembrolizumab. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/keytruda-epar-public-assessment-report_en.pdf; CDER-FDA. Application number: 125514Orig1s000. Pharmacology Review(s). URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/125514Orig1s000PharmR.pdf.

⁷Protocol: PK Bridging ELISA for Use with Anti-Pembrolizumab Antibodies. URL: <https://www.bio-rad-antibodies.com/protocol-pk-bridging-elisa-pembrolizumab-antibodies.html>.

Обработка результатов. Параметры фармакокинетики (максимальная концентрация — C_{\max} , площадь под кривой «концентрация — время» — AUC , среднее время удерживания — MRT , стационарный объем распределения — V_{ss} , период полувыведения — $T_{1/2}$, клиренс — Cl) рассчитаны внемоделным методом статистических моментов [24] с использованием валидированного приложения PKSolver для Microsoft Office Excel. Для всех данных применена описательная статистика, рассчитаны средние арифметические значения (M), соответствующие им стандартные отклонения (SD) и стандартные ошибки среднего значения (SEM). Для статистической оценки различий между фармакокинетическими параметрами, полученными для тестируемого препарата и препарата сравнения, применены параметрические (двухвыборочный t -тест для средних) и непараметрические (тест Манна–Уитни) методы в зависимости от типа распределения данных (критерий Шапиро–Уилка). Различия определены при уровне значимости $p \leq 0,05$. Статистический анализ выполнен с помощью лицензированного программного обеспечения (GraphPad Prism 9, GraphPad Software, США).

Результаты и обсуждение

Разработка и валидация биоаналитической методики. Пембролизумаб является IgG4 каппа с молекулярной массой примерно 149 кДа. Для его количественного определения в биологическом материале можно использовать метод мостикового ИФА с помощью коммерчески доступных наборов реагентов (например, представленных ниже⁸) или отдельных антител⁹. В данной работе вместо дорогостоящих наборов реагентов использованы более доступные антитела и воспроизведена методика анализа пембролизумаба в биоматериале, рекомендованная их производителем.

Методика определения пембролизумаба в сыворотке крови обезьян валидирована надлежащим образом в соответствии с рекомендациями¹⁰ по следующим

параметрам: минимально необходимое разведение, селективность, нижний предел количественного определения (НПКО), калибровочный диапазон, правильность (точность) и прецизионность, стабильность аналита. В табл. 1 представлены итоговые результаты валидации методики количественного определения пембролизумаба в сыворотке крови обезьян, на рис. 1 — пример калибровочной зависимости оптической плотности растворов от концентрации пембролизумаба (при дальнейшей обработке использовали 4-параметрическую модель обработки данных ИФА).

Получены удовлетворительные результаты по всем необходимым валидационным параметрам, что свидетельствовало о пригодности методики количественного определения пембролизумаба в сыворотке крови обезьян методом мостикового ИФА для дальнейшего изучения фармакокинетики исследуемых препаратов пембролизумаба.

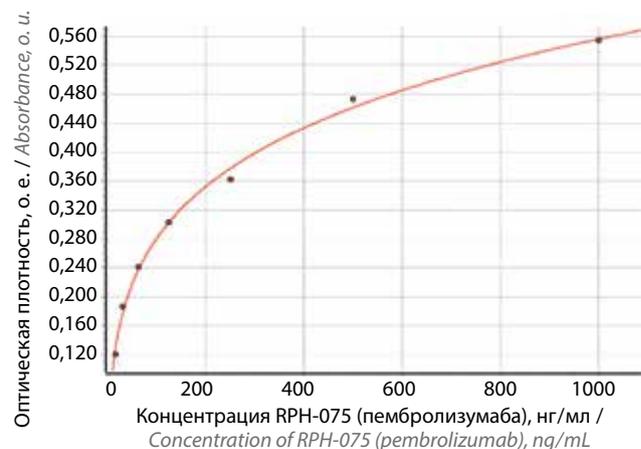


Рис. 1. Пример типичной калибровочной зависимости оптической плотности от концентрации RPH-075 (пембролизумаба) в сыворотке крови, полученной в ходе валидации методики

Fig. 1. Example of typical calibration dependence of absorbance on RPH-075 concentration (pembrolizumab) in serum obtained during method validation

⁸Pembrolizumab (Keytruda) Pharmacokinetic ELISA Kit. URL: <https://www.mybiosource.com/elisa-kits/pembrolizumab-keytruda-pharmacokinetic/378270>; KRIBIOLISA™ Pembrolizumab ELISA (KEYTRUDA). <https://www.krishgen.com/product/details/Pembrolizumab-ELISA-KEYTRUDA>; Pembrolizumab ELISA Kit (ab237652). URL: <https://www.abcam.com/products/elisa/pembrolizumab-elisa-kit-ab237652.html>; Pembrolizumab ELISA Kit (Keytruda®) Free drug. <https://www.assaygenie.com/pembrolizumab-keytruda-elisa-kit/>.

⁹Pembrolizumab antibody (AbD30689). URL: <https://www.bio-rad-antibodies.com/monoclonal/pembrolizumab-antibody-abd30689-hca296.html?f=purified>; Pembrolizumab antibody (AbD30685_hlgG1). URL: <https://www.bio-rad-antibodies.com/monoclonal/pembrolizumab-antibody-abd30685-higg1-hca297.html?f=hrp>; Protocol: PK Bridging ELISA for Use with Anti-Pembrolizumab Antibodies. URL: <https://www.bio-rad-antibodies.com/protocol-pk-bridging-elisa-pembrolizumab-antibodies.html>.

¹⁰Guidance for Industry: Bioanalytical method for validation. Rockville, MD, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research, Center for veterinary medicine, 2018. 41 p.; Guideline on bioanalytical method validation. EMEA/CHMP/EWP192217/2009. London: Committee for medicinal products for human use (CHMP), 2011. 22 p.; Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза: Решение Совета ЕЭК № 85 от 03.11.2016. Приложение № 6 «Требования к валидации биоаналитических методик испытаний и анализу исследуемых биологических образцов». URL: <https://www.alta.ru/tamdoc/16sr0085/?ysclid=m3psu1gzgk113838509>.

Таблица 1. Результаты валидации методики определения пембролизумаба в сыворотке крови обезьян

Table 1. Result of assay validation for pembrolizumab determination in monkey blood serum

Валидационный параметр Validation parameter	Уровень концентрации Concentration level	Критерий приемлемости Acceptance criteria	Результат Result	Вывод Conclusion
Селективность Selectivity	Бланк-сыворотка (n = 10), НПКО* Blank-plasma (n = 10), LQL*	Правильность для образцов уровня НПКО должна находиться в пределах $\pm 25\%$ от номинальной концентрации по меньшей мере для 80 % изученных биологических образцов Accuracy for LQL level samples should be within $\pm 25\%$ of the nominal concentration for at least 80 % of the biological samples studied	79,5–122,0 % для 85 % биологических образцов For 85 % of biological samples	Соответствует Corresponds
НПКО LQL	НПКО LQL	Точность – отклонения менее 25 % (75–125 %) Accuracy – deviations less than 25 % (75–125 %) Прецизионность – менее 25 % Precision – less than 25 %	15,6 нг/мл 15,6 ng/mL 78 нг/мл с учетом минимального разведения 78 ng/mL taking into account the minimum dilution 94,9 13,9	Установлен Estimated Соответствует Corresponds
Калибровочный диапазон Calibration range	Калибровочные стандарты не менее чем 6 концентраций, не менее 3 серий Calibration standards of at least 6 concentrations, at least 3 batches	Коэффициент корреляции (r), отклонения экспериментально рассчитанных значений концентраций от номинальных не более 20 % (25 % для НПКО) для не менее чем 75 % стандартов Correlation coefficient (r), deviations of experimentally calculated concentration values from nominal values not more than 20 % (25 % for LQL) for not less than 75 % of standards	15,6–1000 нг/мл 15,6–1000 ng/mL $r = 0,9978–0,9988$ отклонения менее 20 % (25 % для НПКО) для 79–100 % стандартов deviations less than 20 % (25 % for LQL) for 79–100 % of standards	Установлен Estimated Соответствует Corresponds
Правильность в одном цикле, % Accuracy intra-run, %	ВПКО UQL	80–120	85,7–114,6	Соответствует Corresponds
	Верхний КК High QC	80–120	83,7–118,5	
	Средний КК Average QC	80–120	82,4–115,1	
	Низкий КК Low QC	80–120	83,8–114,1	
	НПКО LQL	75–125	75,9–120,2	
Правильность между циклами, % Accuracy inter-run, %	ВПКО UQL	80–120	95,0	Соответствует Corresponds
	Верхний КК High QC	80–120	93,3	
	Средний КК Average QC	80–120	101,4	
	Низкий КК Low QC	80–120	100,4	
	НПКО LQL	75–125	94,9	
Прецизионность в одном цикле, % Precision intra-run, %	ВПКО UQL	<20	7,6–10,4	Соответствует Corresponds
	Верхний КК High QC	<20	10,0–11,5	
	Средний КК Average QC	<20	5,4–11,3	
	Низкий КК Low QC	<20	6,4–9,2	
	НПКО LQL	<25	9,2–14,6	

Окончание табл. 1
End of table 1

Валидационный параметр Validation parameter	Уровень концентрации Concentration level	Критерий приемлемости Acceptance criteria	Результат Result	Вывод Conclusion
Прецизионность между циклами, % Precision inter-run, %	ВПКО UQL	<20	9,1	Соответствует Corresponds
	Верхний КК High QC	<20	11,1	
	Средний КК Average QC	<20	9,7	
	Низкий КК Low QC	<20	8,2	
	НПКО LQL	<25	13,9	
Минимально необходимое разведение Minimum necessary dilution	—	Наименьшее разведение, до которого следует развести образец для оптимизации правильности и прецизионности Least dilution to which to dilute the sample to optimize accuracy and precision	5	Установлено Estimated
Краткосрочная стабильность анализа в сыворотке крови при 2–8 °С, % (24 ч) Short-term stability in serum at 2–8 °С, % (24 h)	ВПКО UQL	<20	104,8	Соответствует Corresponds
	Верхний КК High QC	<20	90,0	
	Средний КК Average QC	<20	91,8	
	Низкий КК Low QC	<20	90,6	
	НПКО LQL	<25	86,0	
Стабильность анализа в матрице, хранящейся в условиях заморозки при температуре не выше –78 °С Analyte stability in frozen matrix keeping at temperature not higher than –78 °С	ВПКО UQL	<20	105,1	Соответствует Corresponds
	Средний КК Average QC	<20	84,8	
	Низкий КК Low QC	<20	104,7	
	НПКО LQL	<25	98,3	

*Для оценки валидационных параметров использовали образцы контроля качества (КК) (модельные смеси, полученные на основе сыворотки крови интактных животных) со следующими концентрациями пембролизумаба: 1000 нг/мл (5000 нг/мл с учетом разбавления) – верхний предел количественного определения (ВПКО); 750 нг/мл (3750 нг/мл с учетом разбавления) – высокий КК (75 % от ВПКО); 500 нг/мл (с учетом разбавления 2500 нг/мл) – средний КК; 30 нг/мл (с учетом разбавления 150 нг/мл) – низкий КК; 15,6 нг/мл (с учетом разбавления 78 нг/мл) – нижний предел количественного определения (НПКО). Образцы КК готовили независимо от калибровочных образцов, используя предварительно приготовленные сток-растворы пембролизумаба.

*Quality control (QC) samples (model mixtures derived from intact animal serum) with the following concentrations of pembrolizumab were used to evaluate the validation parameters: 1000 ng/mL (5000 ng/mL including dilution) – upper quantification limit (UQL); 750 ng/mL (3750 ng/mL including dilution) – high QC (75 % of UQL); 500 ng/mL (2500 ng/mL including dilution) – average QC; 30 ng/mL (150 ng/mL including dilution) – low QC; 15.6 ng/mL (78 ng/mL including dilution) – lower quantification limit (LQL). QC samples were prepared independently of calibration samples using pre-prepared pembrolizumab stock solutions.

Оценка фармакокинетики. Широко известно, что филогенетическое родство представителей отряда приматов делает обезьян релевантной моделью для воспроизведения на них различных патологических состояний человека [25–29], а также оценки

фармакокинетики и иммуногенности биологических препаратов [30, 31]. Данные, полученные в экспериментах с участием обезьян, наиболее адекватно отражают аналогичные процессы у человека, а *Macaca fascicularis* является релевантным видом животных

для изучения фармакокинетических параметров препаратов на основе mAbs¹¹.

На протяжении всего эксперимента после однократного внутривенного введения тестируемого препарата и препарата сравнения в дозе 30 мг/кг у животных не наблюдали клинических признаков интоксикации, а также видимых изменений в месте введения исследуемых объектов. Общее состояние и поведение животных соответствовало норме. На основании данных, полученных при еженедельной регистрации массы тела животных, не выявлено влияния однократного внутривенного введения сравниваемых препаратов на этот показатель (табл. 2).

Разработанная и валидированная методика определения концентрации пембролизумаба применена для анализа биопроб, полученных при проведении фармакокинетического эксперимента. Концентрации ниже НПКО принимали равными нулю. На рис. 2 приведены кривые «концентрация – время» пембролизумаба в сыворотке крови яванских макаков после однократного внутривенного введения тестируемого препарата и препарата сравнения.

В табл. 3 представлены основные фармакокинетические параметры исследуемых препаратов. При сопоставлении данных, полученных для тестируемого препарата и препарата сравнения, не выявлено статистически значимых различий ни для одного из сравниваемых фармакокинетических параметров – C_{max} (рассчитанные как среднее значение наибольших измеренных значений), AUC_{0-1320} , $AUC_{0-\infty}$, Cl (критерий Стьюдента, $p > 0,05$), V_{ss} , MRT и $T_{1/2}$ (критерий Манна–Уитни, $p > 0,05$).

Полученные значения основных фармакокинетических параметров для сравниваемых препаратов сопоставимы с данными литературы [32]¹² (см. табл. 3).

На основании полученных результатов показана сопоставимость фармакокинетических профилей тестируемого препарата RPH-075 (пембролизумаб) и препарата сравнения Китруда®.

Заключение

На основании результатов сравнительного доклинического исследования фармакокинетики показано отсутствие влияния тестируемого препарата RPH-075 (Пембролизумаб), концентрат для приготовления раствора для инфузий (АО «Р-Фарм», Россия), в дозе 30 мг/кг и препарата сравнения Китруда®, концент-

Таблица 2. Масса тела животных ($n = 4$, $M \pm SEM^*$)

Table 2. Animals body weight ($n = 4$, $M \pm SEM^*$)

День эксперимента Day of experiment	Масса тела, кг Body weight, kg	
	объект исследования study object	
	тестируемый препарат RPH-075 test drug RPH-075	препарат сравнения Китруда® reference drug Keytruda®
1	6,0 ± 0,44	5,9 ± 0,54
7	5,9 ± 0,39	5,5 ± 0,57
14	5,9 ± 0,40	5,6 ± 0,59
21	5,9 ± 0,40	5,9 ± 0,77
28	6,1 ± 0,56	5,6 ± 0,60
38	6,0 ± 0,52	5,4 ± 0,57
42	6,1 ± 0,54	5,5 ± 0,58
49	6,2 ± 0,54	5,5 ± 0,58
56	6,1 ± 0,54	5,4 ± 0,59

*Данные соответствовали закону нормального распределения. Дисперсионный анализ с повторными измерениями (ANOVA) не выявил влияния факторов «группа» и «повторность измерений» ($p > 0,05$).

*The data complied with the law of normal distribution. Analysis of variance with repeated measurements (ANOVA) did not reveal the influence of the “group” and “repetition of measurements” ($p > 0.05$) factors.

рат для приготовления раствора для инфузий (ПУ: ООО «МСД Фармасьютикалс», Россия), в такой же дозе при однократном внутривенном введении яванским макакам (*Macaca fascicularis*) на общее состояние и массу тела животных. Установлено, что тестируемый препарат RPH-075 (Пембролизумаб, АО «Р-Фарм», Россия) и препарат сравнения Китруда® (ПУ: ООО «МСД Фармасьютикалс», Россия) обладали сопоставимыми фармакокинетическими профилями.

Создание биоаналогичного препарата в Российской Федерации позволит совершенствовать лечение пациентов с онкологическими заболеваниями, снизить стоимость лечения и увеличить число пациентов, получающих качественную медицинскую помощь.

¹¹Australian Public Assessment Report for Denosumab Proprietary Product Name: Prolia. URL: <https://www.tga.gov.au/sites/default/files/auspar-prolia.pdf>; CHMP assessment report for Prolia. International Nonproprietary Name denosumab. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/prolia-epar-public-assessment-report_en.pdf.

¹²EMA assessment report for Keytruda. International Nonproprietary Name pembrolizumab. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/keytruda-epar-public-assessment-report_en.pdf.

Таблица 3. Средние значения основных фармакокинетических параметров пембролизумаба при однократном внутривенном введении обезьянам исследуемых объектов в дозе 30 мг/кг ($n = 4$, $M \pm SD$)

Table 3. Mean values of the main pharmacokinetic parameters of pembrolizumab after single intravenous administration in dose of 30 mg/kg to monkeys ($n = 4$, $M \pm SD$)

Фармакокинетический параметр Pharmacokinetic parameter	Тестируемый препарат RPH-075 (пембролизумаб) Test drug RPH-075 (pembrolizumab)	Препарат сравнения Китруда® Reference drug Keytruda®	
		собственные экспериментальные данные own experimental data	данные литературы [32] ¹³ literature data [32] ¹³
C_{max} , МКГ/МЛ C_{max} , µg/mL	1567 ± 405	1541 ± 415	1265 ± 73
AUC_{0-1320} , ч × МКГ/МЛ AUC_{0-1320} , h × µg/mL	156903 ± 47703	156879 ± 36461	152976 ± 18408
$AUC_{0-\infty}$, ч × МКГ/МЛ $AUC_{0-\infty}$, h × µg/mL	158127 ± 48439	158294 ± 36930	194976 ± 9984
V_{ss} , мл/кг V_{ss} , mL/kg	36,4 ± 8,8	42,7 ± 8,4	54,8 ± 5,7
MRT, ч MRT, h	191 ± 62	218 ± 18	Нет данных No data
$T_{1/2}$, ч $T_{1/2}$, h	324 ± 169	350 ± 133	254,4 ± 9,6
Cl, мл/кг × ч Cl, mL/kg × h	0,20 ± 0,07	0,20 ± 0,05	0,15 ± 0,00

Примечание. C_{max} – максимальная концентрация; AUC – площадь под кривой «концентрация – время»; V_{ss} – стационарный объем распределения; MRT – среднее время удерживания; $T_{1/2}$ – период полувыведения; Cl – клиренс.

Note. C_{max} – maximum concentration; AUC – area under the curve «concentration – time»; V_{ss} – steady-state volume of distribution; MRT – mean residence time; $T_{1/2}$ – elimination half-life; Cl – clearance.

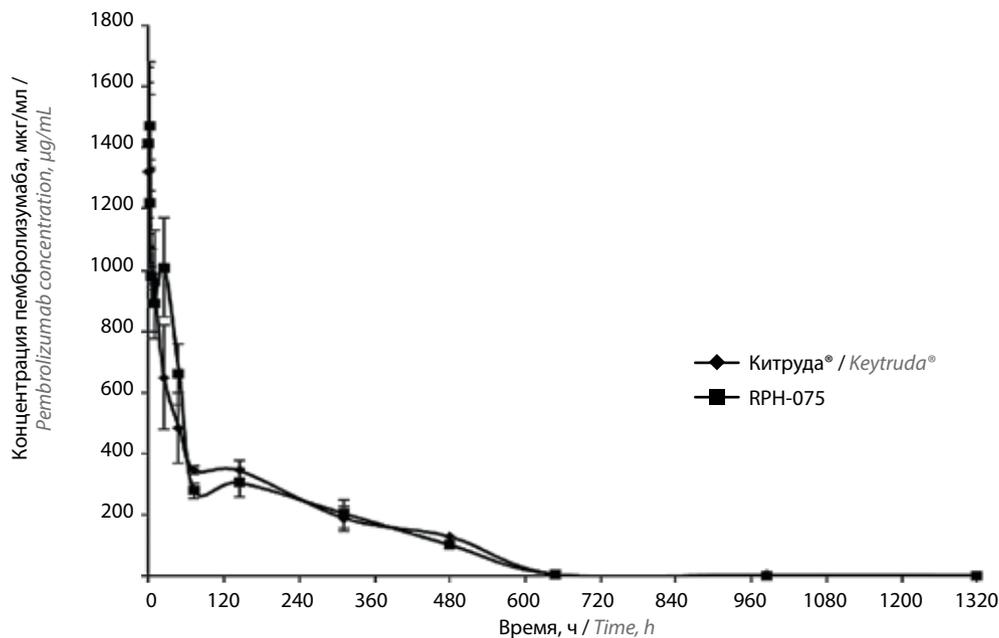


Рис. 2. Кривые «концентрация – время» пембролизумаба в сыворотке крови яванских макак после однократного внутривенного введения тестируемого препарата RPH-075 (пембролизумаб) и препарата сравнения Китруда® в дозе 30 мг/кг в линейных координатах ($n = 4$, $M \pm SEM$)

Fig. 2. Concentration – time curves of pembrolizumab in *Macaca fascicularis* serum after single intravenous administration of test drug RPH-075 (pembrolizumab) and reference drug Keytruda® 30 mg/kg at linear coordinates ($n = 4$, $M \pm SEM$)

¹³EMA assessment report for Keytruda.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Centanni M., Moes D.J.A.R., Trocóniz I.F. et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of immune checkpoint inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 2019;58(7):835–57. DOI: 10.1007/s40262-019-00748-2
- Desnoyer A., Broutin S., Delahousse J. et al. Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship of therapeutic monoclonal antibodies used in oncology: Part 2, immune checkpoint inhibitor antibodies. *Eur J Cancer* 2020;128:119–28. DOI: 10.1016/j.ejca.2020.01.003
- Jaffar-Aghaei M., Khanipour F., Maghsoudi A. et al. QbD-guided pharmaceutical development of Pembrolizumab biosimilar candidate PSG-024 propelled to industry meeting primary requirements of comparability to Keytruda®. *Eur J Pharm Sci* 2022;173:106171. DOI: 10.1016/j.ejps.2022.106171
- Ahamadi M., Freshwater T., Prohn M. et al. Model-based characterization of the pharmacokinetics of pembrolizumab: a humanized anti-PD-1 monoclonal antibody in advanced solid tumors. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2017;6(1):49–57. DOI: 10.1002/psp4.12139
- Raedler L.A. Keytruda (pembrolizumab): first PD-1 inhibitor approved for previously treated unresectable or metastatic melanoma. *Am Health Drug Benefits*. 2015;8(Spec Feature):96–100.
- Longoria T.C., Tewari K.S. Evaluation of the pharmacokinetics and metabolism of pembrolizumab in the treatment of melanoma. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2016;12(10):1247–53. DOI: 10.1080/17425255.2016.1216976
- Гуторов С.Л., Борисова Е.И., Абрамов М.Е. и др. Не мелко-клеточный рак легкого. Расширяя терапевтические возможности: пембролизумаб при ряде злокачественных опухолей. *Фарматека* 2017;8(341):71–5. Gutorov S.L., Borisova E.I., Abramov M.E. et al. Non-small cell lung cancer. Expanding therapeutic possibilities: pembrolizumab in a number of malignant tumors. *Farmateka = Pharmateka* 2017;8(341):71–5. (In Russ.).
- Самойленко И.В., Демидов Л.В. Пембролизумаб в лечении метастатической меланомы. *Медицинский совет* 2017;(6):8–23. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-6-8-23 Samoilenko I.V., Demidov L.V. Pembrolizumab in the treatment of metastatic melanoma. *Meditsinskiy sovet = Medical Council* 2017;(6):8–23. (In Russ.). DOI: 10.21518/2079-701X-2017-6-8-23
- Румянцев А.А. Ленватиниб и пембролизумаб в лечении метастатического рака эндометрия: обзор литературы и клинический случай. *Медицинский совет* 2021;(20):124–28. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-20-124-128 Rumyantsev A.A. Lenvatinib and pembrolizumab in the treatment of metastatic endometrial cancer: literature review and case report. *Meditsinskiy sovet = Medical Council* 2021;(20):124–28. (In Russ.). DOI: 10.21518/2079-701X-2021-20-124-128
- Кедрова А.Г., Беришвили А.И., Грея Т.А. Ленватиниб и пембролизумаб у больных распространенным раком тела матки. Опухоли женской репродуктивной системы 2020;16(3):72–80. DOI: 10.17650/1994-4098-2020-16-3-72-80 Kedrova A.G., Berishvili A.I., Greyan T.A. Lenvatinib and pembrolizumab in patients with advanced uterine cancer. *Oukholi zhenskoy reproductivnoy sistemy = Tumors of female reproductive system* 2020;16(3):72–80. (In Russ.). DOI: 10.17650/1994-4098-2020-16-3-72-80
- Гафанов Р.А., Дзидзария А.Г., Кравцов И.Б., Фастовец С.В. Комбинация пембролизумаб + акситиниб: новый «золотой стандарт» в 1-й линии при метастатическом светлоклеточном почечно-клеточном раке? *Онкоурология* 2020;16(3):29–37. DOI: 10.17650/1726-9776-2020-16-3-29-37
- Gafanov R.A., Dzidzaria A.G., Kravtsov I.B., Fastovets S.V. Combination of pembrolizumab and axitinib: a new gold standard in the first-line therapy for metastatic clear-cell renal-cell carcinoma? *Onkourologiya = Cancer Urology* 2020;16(3):29–37. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2020-16-3-29-37
- Ferlay J., Steliarova-Foucher E., Lortet-Tieulent J. et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer*. 2013;49(6):1374–403. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.12.027
- Seiwert T.Y., Burtneß B., Mehra R. et al. Safety and clinical activity of pembrolizumab for treatment of recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-012): an open-label, multicentre, phase 1b trial. *Lancet Oncol* 2016;17(7):956–65. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)30066-3
- Kuruville J., Armand P., Hamadan M. et al. Pembrolizumab for patients with non-Hodgkin lymphoma: phase 1b KEYNOTE-013 study. *Leuk Lymphoma* 2023;64(1):130–9. DOI: 10.1080/10428194.2022.2136956
- Suzman D.L., Agrawal S., Ning Y-M et al. FDA approval summary: atezolizumab or pembrolizumab for the treatment of patients with advanced urothelial carcinoma ineligible for cisplatin containing chemotherapy. *Oncologist* 2019;24(4):563–9. DOI: 10.1634/theoncologist.2018-0084
- Diaz L.A. Jr, Shiu K.K., Kim T.W. et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for microsatellite instability-high or mismatch repair-deficient metastatic colorectal cancer (KEYNOTE-177): final analysis of a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2022;23(5):659–70. DOI: 10.1016/S1470-2045(22)00197-8
- Протасова А.Э., Страх Л.В., Ландо Е.И., Сидоркина Е.В. Метастатический рак шейки матки: клинический опыт применения пембролизумаба. *Современная онкология* 2021;23(2):340–4. DOI: 10.26442/18151434.2021.2.201009 Protasova A.E., Strakh L.V., Lando E.I., Sidorkina E.V. Metastatic cervical cancer: clinical experience with pembrolizumab application. Case report. *Sovremennaya onkologiya = Journal of Modern Oncology* 2021;23(2):340–4. (In Russ.). DOI: 10.26442/18151434.2021.2.201009
- Bachu R.D., Abou-Dahech M., Balaji S. et al. Oncology biosimilars: New developments and future directions. *Cancer Rep (Hoboken)* 2022;5(11):e1720. DOI: 10.1002/cnr2.1720
- Федянин М.Ю., Снеговой А.В., Бредер В.В. и др. Токсичность, ассоциированная с ингибиторами иммунных контрольных точек: анализ иммуноопосредованных нежелательных явлений при применении биоаналога пембролизумаба (Пемброриа). *Безопасность и риск фармакотерапии* 2023;11(2):215–30. DOI: 10.30895/2312-7821-2023-11-2-360 Fedyanin M.Yu., Snegovoy A.V., Breder V.V. et al. Toxicity associated with immune checkpoint inhibitors: analysis of immune-related adverse events with a pembrolizumab biosimilar (Pembroria). *Bezopasnost y risk farmakoterapii = Safety and Risk of Pharmacotherapy* 2023;11(2):215–30. DOI: 10.30895/2312-7821-2023-11-2-360
- Шестакова М.В., Викулова О.К. Биосимиляры: презумпция виновности? *Сахарный диабет* 2011;14(4):91–9. DOI: 10.14341/2072-0351-5825 Shestakova M.V., Vikulova O.K. Biosimilars: presumption of guilt. *Sakharniy diabet = Diabetes mellitus* 2011;14(4):91–9. (In Russ.). DOI: 10.14341/2072-0351-5825
- Ельцова Е.А., Раменская Г.В., Смолярчук Е.А., Бушманова А.В. Биосимиляры – препараты будущего. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2015;(1):12–5.

- Eltsova E.A., Ramenskaya G.V., Smolyarchuk E.A., Bushmanova A.V. Biosimilars – drugs of the future. *Farmakokinetika i Farmakodinamika = Pharmacokinetics and Pharmacodynamics* 2015;(1):12–5. (In Russ.).
22. Watanabe T., Kiso M., Fukuyama S. et al. Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans. *Nature* 2013;501(7468):551–5. DOI: 10.1038/nature12392
 23. Hobson W. Safety assessment studies in nonhuman primates. *Int J Toxicol* 2000;19(2):141–7. DOI:10.1080/109158100224962
 24. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comput Methods Programs Biomed* 2010;99(3):306–14. DOI: 10.1016/j.cmpb.2010.01.007
 25. Долгов В.В., Морозова В.Т., Марцишевская Р.Л. Клинико-диагностическое значение лабораторных показателей. М.: Центр, 1995. 214 с.
Dolgov V.V., Morozova V.T., Marcishevskaya R.L. Clinical and diagnostic value of laboratory parameters. Moscow: Centr, 1995. 214 p. (In Russ.).
 26. Куксова М.И. Кроветворная система обезьян в норме и патологии. М.: Медицина, 1972. 128 с.
Kuksova M.I. The hematopoietic system of monkeys is normal and pathological. Moscow: Medicina, 1972. 128 p. (In Russ.).
 27. Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Крылова Р.И. и др. Проблемы инфекционной патологии обезьян. М.: Изд-во РАМН, 2004. 140 с.
Lapin B.A., Dzhikidze E.K., Krylova R.I. et al. Problems of infectious pathology of monkeys. Moscow: Izd-vo RAMN, 2004. 140 p. (In Russ.).
 28. Лапин Б.А., Джикидзе Э.К., Фридман Э.П. Руководство по медицинской приматологии. М.: Медицина, 1987. 192 с.
Lapin B.A., Dzhikidze E.K., Fridman E.P. A guide to medical primatology. Moscow: Medicina, 1987. 192 p. (In Russ.).
 29. Wang H.W., Ying N., Wei S. et al. Reference data of clinical chemistry, haematology and blood coagulation parameters in juvenile cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *Vet Med* 2018;57(5):233–8. DOI: 10.17221/5953-VETMED
 30. Fu J., Wang F., Dong L.H. et al. Preclinical evaluation of the efficacy, pharmacokinetics and immunogenicity of JS-001, a programmed cell death protein-1 (PD-1) monoclonal antibody. *Acta Pharmacol Sin* 2017;38(5):710–8. DOI: 10.1038/aps.2016.161
 31. Lopes J.E., Sun L., Flick H.L. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamic effects of nemvaleukin alfa, a selective agonist of the intermediate-affinity IL-2 receptor, in cynomolgus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 2021;379(2):203–10. DOI: 10.1124/jpet.121.000612
 32. Hutchins B., Starling G.C., McCoy M.A. et al. Biophysical and immunological characterization and *in vivo* pharmacokinetics and toxicology in nonhuman primates of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab. *Mol Cancer Ther* 2020;19(6):1298–307. DOI: 10.1158/1535-7163

Вклад авторов

В.М. Косман: обсуждение результатов, подготовка текста публикации и иллюстраций;
 М.В. Карлина: расчет фармакокинетических параметров, обсуждение результатов;
 Т.Н. Барыбина: экспериментальная работа по валидации методики и анализу биопроб;
 Н.М. Фаустова: курирование валидации методики и анализа биопроб;
 А.А. Матичин: планирование и координация экспериментальной работы с животными;
 В.Г. Макаров: утверждение финального текста статьи;
 М.Н. Макарова: критический пересмотр публикации и иллюстраций;
 А.А. Дмитриева: анализ данных литературы и планирование исследований; организация и координация исследования, обсуждение результатов исследования, редактирование текста рукописи;
 Е.В. Шипаева: координация исследования, редактирование текста рукописи;
 А.И. Подолькина: редактирование текста рукописи;
 О.В. Филон: анализ данных литературы, планирование исследований, редактирование текста рукописи;
 М.Ю. Самсонов: организация исследования, редактирование текста рукописи;
 В.Г. Игнатьев: утверждение финального текста статьи.

Author's contributions

V.M. Kosman: results discussion, illustrations preparing;
 M.V. Karlina: pharmacokinetic parameters calculation, results discussion;
 T.N. Barybina: experimental work on assay validation and biosamples analysis;
 N.M. Faustova: validation and analysis supervision;
 A.A. Matichin: planning and coordination of experimental work with animals;
 V.G. Makarov: approval of the final text of the article;
 M.N. Makarova: critical revision of the publication and illustrations;
 A.A. Dmitrieva: analysis of literature data and study planning, organization and coordination of the study, discussion of study results, editing of the manuscript text;
 E.V. Shipaeva: study coordination, manuscript text editing;
 A.I. Podolyakina: editing of the manuscript text;
 O.V. Filon: analyzing literature data, planning studies, manuscript text editing;
 M.Yu. Samsonov: study organization, manuscript text editing;
 V.G. Ignatiev: approval of the final article text.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.М. Косман / V.M. Kosman: <https://orcid.org/0000-0001-9690-1935>
 М.В. Карлина / M.V. Karlina: <https://orcid.org/0000-0002-6292-8934>
 Т.Н. Барыбина / T.N. Barybina: <https://orcid.org/0000-0002-7428-9092>
 Н.М. Фаустова / N.M. Faustova: <https://orcid.org/0000-0002-6866-5741>
 А.А. Матичин / A.A. Matichin: <https://orcid.org/0000-0001-7478-4942>

В.Г. Макаров / V.G. Makarov: <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>
М.Н. Макарова / M.N. Makarova: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>
А.А. Дмитриева / A.A. Dmitrieva: <https://orcid.org/0000-0003-4743-6189>
Е.В. Шипаева / E.V. Shipaeva: <https://orcid.org/0000-0002-5953-984X>
А.И. Подолькина / A.I. Podolyakina: <https://orcid.org/0009-0002-5602-7926>
О.В. Филон / O.V. Filon: <https://orcid.org/0000-0002-8735-7429>
М.Ю. Самсонов / M.Yu. Samsonov: <https://orcid.org/0000-0003-2685-1623>
В.Г. Игнатьев / V.G. Ignatiev: <https://orcid.org/0000-0003-2818-6583>

Соответствие принципам этики. Все исследования были выполнены в соответствии с рекомендациями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Проведение исследований было одобрено на заседании биоэтической комиссии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ», протокол заседания от 29.07.2022 № 1.34/22.
Conformity of the principles of ethics. All the experiments were performed according to the recommendations of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes. The study was approved by the Bioethics Committee of the research-and-manufacturing company “HOME OF PHARMACY” (Approval No. 1.34/22 of 29.07.2022).

Конфликт интересов. Существует потенциальный конфликт интересов в силу финансирования данной научной работы компанией АО «Р-Фарм». Однако при написании статьи авторы руководствовались соображениями научной ценности полученного материала и заявляют о беспристрастности оценки полученных данных.
Conflict of interest. There is a potential conflict of interest due to the financial support of this study by JSC “R-Pharm”, Russia. However, when writing the article, the authors were guided by considerations of the scientific value of the material obtained; the authors declare their impartiality in its assessment.

Финансирование. Работа выполнена без государственного бюджетного финансирования при финансовой поддержке АО «Р-Фарм», Россия.
Funding. The study received no government budget funding; the work was supported by JSC “R-Pharm”, Russia.

Статья поступила: 16.01.2024. Принята в печать: 21.10.2024. Опубликовано онлайн: **.*.2024.
Article received: 16.01.2024. Accepted for publication: 21.10.2024. Published online: **.*.2024.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-61-67>

Изменение STR-профиля клеток в процессе получения стабильной клеточной линии

А.А. Мальченкова, Е.Н. Кособокова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Екатерина Николаевна Кособокова ekkos@mail.ru

Введение. Потеря гетерозиготности, утрата Y-хромосомы и другие типы генетических изменений характерны для опухолевых линий. Стандартные методы для выявления таких изменений трудоемки, времязатратны и дороги. Рутинный лабораторный анализ подлинности и отсутствия внутривидовой контаминации клеточных линий методом профилирования коротких tandemных повторов (short tandem repeats – STR) позволяет контролировать некоторые генетические изменения, которые клетки претерпевают в процессе жизненного цикла.

Цель исследования – контроль подлинности и генетической изменчивости клеток в ходе получения стабильной клеточной линии.

Материалы и методы. Профилирование проводили для первичных клеточных культур, для образцов ксенографтов mel Lap nude, mel Kas nude и mel Pet nude, а также в ходе культивирования клеток на 8, 10, 20-м пассажах культуры mel Lap, на 10-м, 20-м пассажах культуры mel Kas и на 5, 10, 20, 49-м пассажах культуры mel Pet, а также после выведения из заморозки архивированных образцов.

Результаты. Для культуры mel Lap к 8-му пассажу наблюдали потерю гетерозиготности в локусе SE33, а далее генетический профиль сохранялся стабильным. Клетки mel Kas к 10-му пассажу потеряли гетерозиготность по 2 локусам SE33 и D6S1043, а также в локусе CSF1PO на 0-м пассаже наблюдали амплификацию аллелей 11, 12, 13. Впоследствии культура сохраняла устойчивый STR-профиль. Клеточная культура mel Pet к 5-му пассажу потеряла гетерозиготность практически по всем исследуемым локусам, но далее ее STR-профиль сохранялся неизменным на протяжении 49 пассажей и в материале ксенографта.

Заключение. Метод STR-профилирования позволяет не только контролировать генетическую стабильность в клеточной линии и отсутствие внутривидовой контаминации при культивировании, но и, будучи быстрым и дешевым, может использоваться в качестве дополнительного первичного теста на наличие значительных генетических изменений в клетках.

Ключевые слова: клеточные линии, подлинность, внутривидовая контаминация, короткие tandemные повторы, STR-профилирование

Для цитирования: Мальченкова А.А., Кособокова Е.Н. Изменение STR-профиля клеток в процессе получения стабильной клеточной линии. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):61–7.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-61-67>

Changes in the STR profile of cells in the process of obtaining a stable cell line

Anastasiia A. Malchenkova, Ekaterina N. Kosobokova

N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

Contacts: Ekaterina Nikolaevna Kosobokova ekkos@mail.ru

Background. Loss of heterozygosity, loss of the Y chromosome, and other types of genetic alterations are characteristic of tumor cell lines. Standard methods for detecting such changes are effort- and time-consuming, and costly. Routine laboratory analysis of the authenticity and absence of intraspecific cell lines contamination using short tandem repeats (STR) profiling also allows for monitoring some genetic changes that cells undergo during the life cycle. The location of some potential STR loci is close to regulatory oncogenic loci, so many researchers note the prognostic and diagnostic utility of using STR profiling at the primary stage of genetic characterization of cell lines.

Aim. Control of cell identity and genetic variability during the establishment of a stable cell line.

Materials and methods. Profiling was carried out for primary cell cultures, for xenografts samples mel Lap nude, mel Kas nude and mel Pet nude, as well as during cell culture at 8th, 10th, 20th passages of the mel Lap, at 10th, 20th passages of the mel Kas and at 5th, 10th, 20th, 49th passages of the mel Pet, as well as after defrosting archived samples.

Results. For the mel Lap culture, by passage 8, a loss of heterozygosity was observed at the SE33 locus, and then the genetic profile remained stable. By passage 10, mel Kas cells lost heterozygosity for two loci SE33 and D6S1043, and in the CSF1PO locus at passage 0, amplification of three alleles was observed – 11, 12, 13. Subsequently, the culture maintained a stable STR profile. By the 5th passage, the mel Pet cell culture lost heterozygosity for almost all the studied loci, but then its STR profile remained unchanged throughout 49 passages and in the xenograft material.

Conclusion. The STR profiling method allows not only to monitor genetic stability in a cell line and the absence of intraspecific contamination during cultivation, but also, being fast and cheap, can be used as an additional primary test for significant genetic changes in cells.

Keywords: cell lines, authenticity, intraspecific contamination, short tandem repeats, STR profiling

For citation: Malchenkova A.A., Kosobokova E.N. Changes in the STR profile of cells in the process of obtaining a stable cell line. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2024;23(4):61–7. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-61-67>

Введение

Корреляция степени генетической изменчивости опухолевых клеток с прогнозом заболевания, ответом на терапию, агрессивностью новообразования и другими важными показателями в последнее время активно исследуется и рассматривается в качестве прогностического фактора. Было замечено, что высокая степень генетической изменчивости является отличительной чертой клеточных культур некоторых нозологий (например, лейкозов [1]). Нередко генетическая нестабильность опухолевых клеток коррелирует с агрессивностью опухоли. Потеря гетерозиготности также чаще детектируется у злокачественных опухолей, нежели у доброкачественных, и является важным молекулярным событием в канцерогенезе некоторых опухолей [2–4].

Описанные генетические изменения часто можно обнаружить даже при изучении коротких tandemных повторов (short tandem repeats – STR), или STR-профиля [5]. Хотя изначально STR-маркеры разрабатывались не под клинические нужды, обнаружено, что расположение некоторых потенциальных STR-локусов близко к регуляторным онкогенным локусам, поэтому многие исследователи отмечают прогностическую и диагностическую пользу применения данного метода в качестве дополняющего цитогенетические исследования, а также основного – при исследовании архивного материала (FFPE-блоков) [6, 7].

Недостатком является то, что с помощью STR-профилирования можно засвидетельствовать изменения, но метод не позволяет установить причину и часто – точную локализацию генетического изменения. Однако такая точность не требуется на I этапе диагностики, а простота и дешевизна метода – преимущества, позволяющие повсеместно внедрить его в рутинную практику в качестве дополнительно-

го первичного теста на наличие значительных генетических изменений в клетках.

В рамках данной работы STR-профилирование осуществляли для контроля подлинности и отсутствия внутривидовой контаминации на всех ключевых этапах при получении стабильной клеточной линии. В ходе работы с клеточными культурами нами замечены случаи генетической изменчивости клеток в ходе пассирования, которые и будут описаны ниже.

Наблюдение вели за 3 клеточными культурами меланом человека: mel Pet, mel Kas и mel Lap [8]. Стабильность клеточной линии подтверждали, если на протяжении 10 пассажей ее STR-профиль не претерпевал критических изменений. Под критическими изменениями подразумевают отличие профиля клеток от полученного профиля первичной культуры более чем на 80 % [9]. Если совпадение профилей на протяжении пассирования, после заморозки и нового цикла пассирования, а также при изучении ксенографтного образца опухоли составляло $\geq 80\%$, то клеточную культуру считали стабильной [9].

Цель исследования – контроль подлинности и генетической изменчивости клеток в ходе получения стабильной клеточной линии.

Материалы и методы

Экстракция ДНК. Выделение ДНК из клеток и образцов ксенографтов проводили с помощью набора реактивов DNeasy® Blood & Tissue Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с протоколом производителя. Количество ДНК оценивали флуориметрически с помощью набора Qubit™ dsDNA BR Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США).

STR-профилирование образцов. Профилирование на основе коротких tandemных повторов осуществляли на приборе 3500xL Genetic Analyzer (Thermo

Fisher Scientific, США) с помощью набора реактивов COGrDIS «ЭКСПЕРТ 26» («Гордиз», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Подробно методика осуществления полимеразной цепной реакции и анализа продуктов амплификации описана в ранее опубликованной работе [10].

Профилирование проводили для первичных клеточных культур для образцов ксенографтов mel Lap nude, mel Kas nude и mel Pet nude, а также в ходе культивирования клеток на 8, 10, 20, 20/4/0-м пассажах культуры mel Lap; 10, 20, 23/0-м пассажах культуры mel Kas; 5, 10, 20, 49-м пассажах – культуры mel Pet.

Анализ STR-профилей осуществляли в программе GeneMapper Software v. 6.0 в соответствии с принятыми в международном стандарте алгоритмами [9].

Результаты и обсуждение

Метод STR-профилирования выбран для контроля качества при выведении стабильной клеточной линии из первичной культуры на основании международных рекомендаций. Исследованы STR-профили первичных опухолевых клеток, ранних и поздних пассажей, а также пассажи клеток, выведенных из хранения, и биоматериал ксенографтов данных клеточных линий, выращенных на мышах BALB/c nude.

В табл. 1–3 представлены STR-профили клеточных культур mel Lap, mel Kas и mel Pet, полученные на разных пассажах и из биоматериала ксенографтов (nude).

Для культуры mel Lap к 8-му пассажиру наблюдали потерю гетерозиготности в локусе SE33, а далее генетический профиль сохранялся стабильным.

Таблица 1. Изменение профилей коротких tandemных повторов клеток mel Lap в процессе первичного культивирования

Table 1. Alteration of short tandem repeats profiles in mel Lap during primary culture

Маркер Marker	mel Lap					
	пассаж pass				после криоконсервации after cryopreservation	nude
	0	8	10	20		
CSF1PO	9, 11	9, 11	9, 11	9, 11	9, 11	9, 11
D10S1248	13, 15	13, 15	13, 15	13, 15	13, 15	13, 15
D12S391	17, 19	17, 19	17, 19	17, 19	17, 19	17, 19
D13S317	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11
D16S539	12	12	12	12	12	12
D18S51	14	14	14	14	14	14
D19S433	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14
D1S1656	12, 15	12, 15	12, 15	12, 15	12, 15	12, 15
D21S11	30.2, 31	30.2, 31	30.2, 31	30.2, 31	30.2, 31	30.2, 31
D22S1045	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14
D2S1338	23, 25	23, 25	23, 25	23, 25	23, 25	23, 25
D2S441	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14	11, 14
D3S1358	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17
D5S818	11	11	11	11	11	11
D6S1043	19	19	19	19	19	19
D7S820	10, 14	10, 14	10, 14	10, 14	10, 14	10, 14
D8S1179	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13
DYS391	10	10	10	10	10	10
FGA	19, 25	19, 25	19, 25	19, 25	19, 25	19, 25
GENDER	XY	XY	XY	XY	XY	XY
SE33	20, 30.2	30.2	30.2	30.2	30.2	30.2
TH01	6, 9.3	6, 9.3	6, 9.3	6, 9.3	6, 9.3	6, 9.3

Окончание табл. 1
End of table 1

Маркер Marker	mel Lap					
	пассаж pass				после криоконсервации after cryopreservation	nude
	0	8	10	20		
TPOX	11	11	11	11	11	11
vWA	15, 19	15, 19	15, 19	15, 19	15, 19	15, 19
Yindel	2	2	2	2	2	2

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: красным полужирным шрифтом выделены аллели, отличающиеся от наблюдаемых для первичной культуры клеток, nude – образец ксенографта данной клеточной линии, выращенный на мышах BALB/c nude.

Note. Here and in Tables 2, 3: alleles that differ from those observed in the primary cell culture are highlighted in bold red, nude – a xenograft sample of this cell line grown on BALB/c nude mice.

Таблица 2. Изменение профилей коротких tandemных повторов клеток mel Kas в процессе первичного культивирования
Table 2. Alteration of short tandem repeats profiles in mel Kas during primary culture

Маркер Marker	mel Kas				
	пассаж pass				nude
	0	10	20	23	
CSF1PO	11, 12, 13	11, 13	11, 13	11, 13	11, 13
D10S1248	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14
D12S391	17, 18	17, 18	17, 18	17, 18	17, 18
D13S317	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12	8, 12
D16S539	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13	12, 13
D18S51	11	11	11	11	11
D19S433	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14	13, 14
D1S1656	12, 18.3	12, 18.3	12, 18.3	12, 18.3	12, 18.3
D21S11	28, 29	28, 29	28, 29	28, 29	28, 29
D22S1045	16	16	16	16	16
D2S1338	16, 17	16, 17	16, 17	16, 17	16, 17
D2S441	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14
D3S1358	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16	15, 16
D5S818	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12
D6S1043	11, 14	14	14	14	14
D7S820	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11	8, 11
D8S1179	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14
FGA	19, 22	19, 22	19, 22	19, 22	19, 22
GENDER	X	X	X	X	X
SE33	15, 19	15	15	15	15

Окончание табл. 2
End of table 2

Маркер Marker	mel Kas				
	пассаж pass				nude
	0	10	20	23	
TH01	7	7	7	7	7
TPOX	8, 9	8, 9	8, 9	8, 9	8, 9
vWA	16, 18	16, 18	16, 18	16, 18	16, 18

Примечание. Здесь и в табл. 3: локусы *DYS391* и *Yindel* для данной клеточной культуры не представлены, поскольку в них не наблюдалась амплификация. Это справедливо, так как данные локусы расположены на Y-хромосоме, а данная клеточная культура имеет XX-хромосомы по кариотипу.

Note. Here and in Table 3: the *DYS391* and *Yindel* loci are not represented for this cell culture because no amplification was observed in them. This is true because these loci are located on the Y chromosome, and this cell culture has XX chromosomes by karyotype.

Таблица 3. Изменение профилей коротких tandemных повторов клеток *mel Pet* в процессе первичного культивирования
Table 3. Alteration of short tandem repeats profiles in *mel Pet* during primary culture

Маркер Marker	mel Pet					
	пассаж pass				nude	
	0	5	10	20		49
CSF1PO	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12	10, 12
D10S1248	13, 14	14	14	14	14	14
D12S391	21, 23	21	21	21	21	21
D13S317	11, 13	11	11	11	11	11
D16S539	11, 13	13	13	13	13	13
D18S51	15, 17	17	17	17	17	17
D19S433	15	15	15	15	15	15
D1S1656	11, 18.3	11	11	11	11	11
D21S11	30, 32.2	32.2	32.2	32.2	32.2	32.2
D22S1045	11, 15	15	15	15	15	15
D2S1338	16, 17	16	16	16	16	16
D2S441	11, 14	11	11	11	11	11
D3S1358	15, 17	15	15	15	15	15
D5S818	11	11	11	11	11	11
D6S1043	11, 12	11	11	11	11	11
D7S820	8, 10	8, 10	8, 10	8, 10	8, 10	8, 10
D8S1179	13, 14	14	14	14	14	14
FGA	20, 21	20	20	20	20	20
GENDER	X	X	X	X	X	X
SE33	15, 21	15	15	15	15	15
TH01	9	9	9	9	9	9
TPOX	8, 9	8	8	8	8	8
vWA	14, 19	14	14	14	14	14

Клетки mel Kas к 10-му пассажу потеряли гетерозиготность по 2 локусам SE33 и D6S1043, а также в локусе CSF1PO на 0-м пассаже наблюдали амплификация 3 аллелей – 11, 12, 13. Впоследствии культура сохраняла устойчивый STR-профиль, а в локусе CSF1PO детектировалось 2 аллеля 11 и 13. При STR-профилировании в нескольких повторах наблюдали появление 3 аллелей в 1 локусе на 0-м пассаже, что может объясняться гетерозиготностью опухоли или частичными поломками хромосомы в клетке, однако ограничения метода не позволяют точно установить причину данного явления.

Клеточная культура mel Pet к 5-му пассажу потеряла гетерозиготность практически по всем исследуемым локусам, но далее ее STR-профиль сохранялся неизменным на протяжении 49 пассажей и в материале ксенографта.

При расчете числа (%) совпадения STR-профилей первичных опухолевых клеток с клеточными культурами на 10-м пассаже по формуле Tanabe [11] для культуры mel Kas получили 96,3 %, а для mel Lap – 99,4 %. Применение данного алгоритма подсчета не корректно, поскольку при изучении профиля становится очевидно, что клетки mel Pet потеряли гетерозиготность уже на 5-м пассаже во всех локусах, кроме CSF1PO, D19S433, D5S818, D7S820 и TH01. Однако при сравнении оставшихся аллелей с аллелями первичных клеток видно, что соблюдается строгое совпадение.

Вышеописанные расчеты позволяют сделать вывод о том, что после 10-го пассажа нам удалось получить 3 стабильные клеточные линии, 1 из которых,

потеряв гетерозиготность, сохранила в дальнейшем свой генетический профиль.

В процессе получения из 3 первичных культур клеток стабильных клеточных линий мы осуществляли контроль их подлинности и отсутствия внутривидовой контаминации посредством STR-профилирования. В ходе работы наблюдали разную степень генетической изменчивости культур клеток на протяжении пассирования: от выпадения 1 аллеля в локусе до практически полной потери гетерозиготности в исследованных локусах. В итоге удалось получить 3 стабильные клеточные линии из первичных клеточных культур, которые сохраняли свой генетический профиль при дальнейших манипуляциях.

Наблюдаемые мутации в локусах могут быть обусловлены рядом причин, как то: хромосомные aberrации (в том числе наблюдаемая однородительская дисомия [6]), точечные мутации и др.

Заключение

В процессе получения стабильных клеточных линий мы наблюдали генетические изменения, которые в зависимости от линии затрагивали либо отдельные локусы, либо большую часть генома. Мы используем метод STR-профилирования в новом качестве, и полученные результаты подтверждают, что он позволяет не только контролировать генетическую стабильность в клеточной линии и отсутствие внутривидовой контаминации при культивировании, но и, будучи быстрым и дешевым, может использоваться в качестве дополнительного первичного теста на наличие значительных генетических изменений в клетках.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Parson W., Kirchebner R., Mühlmann V. et al. Cancer cell line identification by short tandem repeat profiling: power and limitations. *FASEB J* 2005;19(3):434–6. DOI: 10.1096/fj.04-3062fje
2. Alves L.N., Wolfgramm E.V., de Castro Neto A.K., Louro I.D. Analysis of microsatellite instability and loss of heterozygosity in ovarian cancer: a study in the population of Espírito Santo, Brazil. *Genet Mol Res* 2013;12(2):1996–2001. DOI:10.4238/2013.June.14.2
3. Byrom J., Mudaliar V., Redman C.W. et al. Loss of heterozygosity at chromosome 9q22–31 is a frequent and early event in ovarian tumors. *Int J Oncol* 2004;24(5):1271–7. PMID: 15067351
4. Garcia A., Bussaglia E., Machin P. et al. Loss of heterozygosity on chromosome 17q in epithelial ovarian tumors: association with carcinomas with serous differentiation. *Int J Gynecol Pathol* 2000;19(2):152–7. DOI: 10.1097/00004347-200004000-00009
5. Huang X., Weimer J., von Wurmb-Schwark N. et al. Alteration of STR profiles in ovarian carcinoma cells during primary culture. *Arch Gynecol Obstet* 2016;294(2):369–76. DOI: 10.1007/s00404-016-4018-9
- Рисинская Н.В., Кожевникова Я.А., Ковалева В.А. и др. Потеря гетерозиготности в профиле коротких tandemных повторов (STR) опухолевой ДНК у пациентов с *de novo* диагностированным острым лимфобластным лейкозом как паттерн аномального кариотипа опухоли. *Клеточная терапия и трансплантология* 2020;9(3):22–3. Risinskaya N.V., Kozhevnikova Y.A., Kovaleva V.A. et al. Loss of heterozygosity in the short tandem repeat (STR) profile of tumor DNA of *de novo* diagnosed ALL patients as a pattern of abnormal karyotype. *Kletochnaya terapiya i transplantologiya = СТТ Journal* 2020;9(3):22–3. (In Russ.).
6. Никулина Е.Е., Фирсова М.В., Рисинская Н.В. и др. Оценка потери гетерозиготности в STR-локусах опухолевой ДНК у пациентов с плазмочитомами при множественной миеломе на основе молекулярного анализа сложных архивных образцов опухоли. *Клиническая онкогематология* 2022;15(2):156–66. DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-2-156-166
- Nikulina E.E., Firsova M.V., Risinskaya N.V. et al. Evaluation of heterozygosity loss in STR-loci of tumor DNA in multiple

- myeloma patients with plasmacytoma based on the molecular analysis of complex archival tumor samples. *Klinicheskaya onkologematologiya = Clinical Oncohematology* 2022;15(2):156–66. (In Russ.).
DOI: 10.21320/2500-2139-2022-15-2-156-166
7. Kosobokova E.N., Kalinina N.A., Konoplina K.M. et al. Human metastatic melanoma cell lines panel for *in vitro* and *in vivo* investigations. *Mol Pathol* 2024;5(1):11–27.
DOI:10.3390/jmp5010002
 8. ANSI/ATCC ASN-0002-2022: Authentication of Human Cell Lines: Standardization of Short Tandem Repeat (STR) Profiling. URL: <https://webstore.ansi.org/standards/atcc/ansiatccasn00022022>.
 9. Кособокова Е.Н., Мальченкова А.А., Калинина Н.А., Косоруков В.С. Использование метода профилирования на основе коротких tandemных повторов для подтверждения подлинности клеточных линий в биобанках. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика* 2022;21(11):3386.
DOI: 10.15829/1728-8800-2022-3386
Kosobokova E.N., Malchenkova A.A., Kalinina N.A., Kosorukov V.S. Using short tandem repeat profiling to validate cell lines in biobanks. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3386. (In Russ.).
DOI: 10.15829/1728-8800-2022-3386
 10. Tanabe H., Takada Y., Minegishi D. et al. Cell line individualization by STR multiplex system in the cell bank found cross-contamination between ECV304 and EJ-1/T24. *Tissue Cult Res Commun* 1999;18:329–38.
DOI: 10.11418/jtca1981.18.4_329

Вклад авторов

А.А. Мальченкова: написание текста рукописи;

Е.Н. Кособокова: редактирование рукописи.

Author's contributions

A.A. Malchenkova: writing the text of the manuscript;

E.N. Kosobokova: editing the text of the manuscript.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Мальченкова / A.A. Malchenkova: <https://orcid.org/0000-0003-2201-0472>

Е.Н. Кособокова / E.N. Kosobokova: <https://orcid.org/0000-0002-4660-8519>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа была выполнена при финансовой поддержке Минздрава России в рамках исследования № 1022040600453-9-3.2.21;3.4.2.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Ministry of Health of Russia in the framework of the research No. 1022040600453-9-3.2.21;3.4.2.

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей. Протоколы опытов были утверждены на заседании локального этического комитета НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Statement of the welfare of animals. The study was carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Research and Other Scientific Purposes. The protocols of the experiments were approved at a meeting of the local ethical committee of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology.

Статья поступила: 21.05.2024. Принята в печать: 21.10.2024. Опубликовано онлайн: 00.00.2024.

Article received: 21.05.2024. Accepted for publication: 21.10.2024. Published online: 00.00.2024.

Особенности беспородных крыс и крыс линии Wistar как биомоделей для доклинических исследований

М.И. Трещалин, В.А. Полозкова, С.Г. Язерян, Э.Р. Переверзева

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе»; Россия, 119021 Москва, ул. Большая Пироговская, 11

Контакты: Михаил Иванович Трещалин funky@beatween.ru

Введение. При экспериментальном изучении потенциальных лекарственных средств наибольшую прогностическую значимость имеют исследования на животных. Большинство экспериментальных токсикологических работ отечественных авторов выполнено на крысах аутбредных колоний (беспородных – БП и линии Wistar). Вариабельность многочисленных данных литературы, полученных в течение большого временного диапазона, о физиологических показателях крыс БП и Wistar свидетельствует о необходимости их сравнительной характеристики в одном исследовании.

Цель исследования – оценка у крыс БП и линии Wistar основных показателей, используемых при изучении острой и хронической токсичности лекарственных соединений, определение физиологических особенностей животных этих колоний.

Материалы и методы. В эксперименте использованы самки крыс БП и линии Wistar одного возраста. Животных содержали в одинаковых условиях согласно международным этическим нормам. Оценивали состояние, поведение, массу тела, показатели периферической крови, потребление корма, суточный диурез, неврологические реакции, массовые коэффициенты внутренних органов.

Результаты. Установлено, что у крыс Wistar масса тела увеличивается значительно медленнее, ее еженедельный прирост составляет $\approx 4-5\%$, у БП $\approx 10\%$. У БП крыс достоверно ниже количество эритроцитов и уровень гемоглобина, объем эритроцита больше, а содержание гемоглобина в нем выше. Для крыс линии Wistar продемонстрирован повышенный уровень тревожности в тесте открытого поля и более низкая вариабельность ошибки средней арифметической (m) для показателей количественных лабораторных исследований.

Заключение. Особенности физиологических показателей изученных колоний аутбредных крыс находятся в рамках референсных интервалов. Выбор в пользу крыс БП или Wistar при моделировании доклинических экспериментов зависит от вида и задач исследования. При изучении нейротоксичности лекарственных веществ следует учитывать повышенный уровень тревожности крыс линии Wistar.

Ключевые слова: доклинические исследования, животные модели, аутбредные крысы, крысы линии Wistar, поведенческие реакции

Для цитирования: Трещалин М.И., Полозкова В.А., Язерян С.Г., Переверзева Э.Р. Особенности беспородных крыс и крыс линии Wistar как биомоделей для доклинических исследований. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):68–76.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-68-76>

Features of albino rats and Wistar rats as biomodels for preclinical research

Michael I. Treshchalin, Vasilisa A. Polozkova, Sofiya G. Yazeryan, Eleonora R. Pereverzeva

Gause Institute of New Antibiotics; 11 B. Pirogovskaya St., 119021 Moscow, Russia

Contacts: Michael Ivanovich Treshchalin funky@beatween.ru

Background. In the experimental study of potential medicines, animal studies are of the greatest prognostic importance. Domestic authors performed most of the experimental toxicological work on rats of outbred colonies (mongrel (albino) and Wistar). The variability of numerous literature data obtained over a long time range on the physiological parameters of mongrel rats and Wistar rats indicates the need for their comparative characteristics in one study.

Aim. To evaluate the main indicators for Wistar and albino rats used in assessing the acute and chronic toxicity of pharmaceutical compounds and to determine the physiological characteristics of the animals in these colonies.

Materials and methods. Female albino and Wistar rats of the same age were used in the experiment. The animals were kept in the same conditions according to international ethical standards. The condition, behavior, body weight, peripheral blood parameters, feed intake, daily diuresis, neurological reactions, mass coefficients of internal organs were evaluated.

Results. It was found that in Wistar rats, body weight increases significantly more slowly, its weekly increase is $\approx 4\text{--}5\%$, in Albino $\approx 10\%$. The number of red blood cells and hemoglobin levels are significantly lower, the volume of red blood cells is larger, and the hemoglobin content is higher for Albino rats. For Wistar, an increased level of anxiety in the open field test and a lower variability of the arithmetic mean error were demonstrated.

Conclusion. The features of the physiological parameters of the studied colonies of mongrel rats are within the reference intervals. The choice in favor of Albino rats or Wistar rats in modeling preclinical experiments depends on the type and objectives of the study. When studying the neurotoxicity of drugs, the increased anxiety level of Wistar rats should be taken into account.

Keywords: preclinical studies, animal models, albino rats, outbred rats, Wistar rats, behavioral reactions

For citation: Treshchalin M.I., Polozkova V.A., Yazeryan S.G., Pereverzeva E.R. Features of albino rats and Wistar rats as biomodels for preclinical research. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2024; 23(4):68–76. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-68-76>

Введение

Несмотря на активную разработку технологий, направленных на сведение к минимуму исследований на животных, в настоящее время лучшего способа оценки новых фармакологических веществ не существует [1]. Именно исследования на животных имеют наибольшую прогностическую значимость и дают наименьшее количество ошибок при экспериментальном изучении потенциальных лекарственных средств (ЛС).

Одним из самых распространенных видов лабораторных животных, используемых в доклинических исследованиях, являются крысы [2]. Это классическая биологическая модель, реакция которой на действие веществ или факторов во многом подобна эффектам у человека. В немалой мере это связано с тем, что геном крысы имеет до 90 % сходства с геномом человека [3]. К тому же сходство биологических параметров систем, реагирующих на вещество, общность характеристик метаболических процессов, близость чувствительности позволяют экстраполировать на человека данные, полученные в экспериментальных исследованиях на крысах [4]. При этом необходимо учитывать, что у крыс гораздо сильнее, чем у человека, развита система защиты организма от ядов и утилизации токсинов, поэтому лекарства, признанные безопасными в опытах на крысах, нуждаются в дальнейшем тестировании на других видах лабораторных животных.

Экстраполяционные возможности того или иного вида лабораторных животных (биомодели) до сих пор четко не определены, поскольку межвидовые вариации

в физиологии, фармакологии, токсикологии, и в частности в фармако- и токсикокинетике, до последнего времени являются описательными. Наиболее полно принципы экстраполяции разработаны в области оценки острой и хронической токсичности.

Основные руководящие документы, которым следуют фармакологи и токсикологи при оценке потенциальных ЛС, указывают на то, что такого рода исследования должны проводиться на здоровых половозрелых животных. Они могут быть как нелинейными, так и линейными. В исследованиях по определению острой и хронической токсичности предпочтительнее использование аутбредных животных, поскольку у линейных животных чувствительность к токсическому действию может быть генотипически зависима. Кроме того, линейные животные очень чувствительны к неблагоприятным факторам окружающей среды, поэтому условия их содержания в период эксперимента несколько сложнее, чем нелинейных животных. Средняя продолжительность жизни линейных животных в большинстве случаев меньше, чем нелинейных, что необходимо учитывать при организации экспериментов с длительным сроком наблюдения [5, 6] (ГОСТ Р 56701–2015 «Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств»¹).

В ряде случаев при исследовании хронической токсичности используют тот вид животных, на котором

¹Лекарственные средства для медицинского применения. Руководство по планированию доклинических исследований безопасности с целью последующего проведения клинических исследований и регистрации лекарственных средств: ГОСТ Р 56701–2015. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200126923?ysclid=m3mzmk0iqv820439800>.

была показана специфическая фармакологическая активность вещества. Это, в частности, относится к биотехнологическим препаратам. Принципы их изучения изложены в стандарте (ГОСТ Р 56699–2015 «Лекарственные средства для медицинского применения. Доклинические исследования безопасности биотехнологических лекарственных препаратов [ЛП]. Общие рекомендации»²) и применимы к белковым вакцинам, полученным по технологии рекомбинантной ДНК; пептидам, полученным путем химического синтеза; ЛП, полученным из плазмы; эндогенным белкам, выделенным из тканей человека, олигонуклеотидным ЛП. Примеры таких ЛП – цитокины, активаторы плазминогена, рекомбинантные факторы свертывания крови, факторы роста, гибридные белки (химерные белки), ферменты, рецепторы, гормоны и моноклональные антитела. Подходящими видами животных считаются виды, у которых исследуемый препарат (материал) проявляет фармакологическую активность вследствие экспрессии рецептора или эпитопа (для моноклональных антител). Линейные животные используются при исследовании специфической токсичности (иммунотоксичности, алергизирующего действия, репродуктивной токсичности, канцерогенности). При определении токсикологических характеристик фармакологических веществ один из важнейших аспектов – оценка потенциальных нейротоксических эффектов. Для изучения нейротоксичности обычно используют крыс [7].

Наиболее часто доклинические исследования новых лекарств проводят на нелинейных животных закрытых колоний, специально адаптированных под условия хронических и острых экспериментов в сфере токсико-, онко-, гемато- и тератологии, инфекционных заболеваний и др. [5]. Это беспородные крысы (БП) – генетически гетерогенная колония, сохраняющая стабильность генетической структуры, и крысы Wistar – генетически контролируемая закрытая колония аутбредных крыс.

Большинство экспериментальных токсикологических работ отечественных авторов выполнено на крысах БП и линии Wistar. Животные этих колоний отличаются хорошим здоровьем. Они умны, неприхотливы, выносливы, отлично обучаются [8]. Есть исследования, указывающие на различия ряда показателей у крыс БП и Wistar. По сравнению с крысами БП животные колонии Wistar имеют меньшую массу тела, соответственно, меньше масса их внутренних органов. Животные этих колоний различаются по скорости прироста массы тела. Существуют некоторые различия по морфологическому составу периферической крови и количеству гемоглобина [8–10].

Доклиническое исследование нейротоксичности ЛС, которое является обязательным этапом на пути продвижения новых препаратов в клинику, по мнению одних авторов, следует проводить на беспородных животных [7], по мнению других – предпочтительнее использование крыс генетически контролируемой колонии Wistar [11], так как эксперименты на этих животных дают более однородные результаты.

Вариабельность многочисленных данных литературы, полученных в течение большого временного диапазона, о физиологических показателях крыс аутбредных колоний, используемых в токсикологических экспериментах, свидетельствует о необходимости их сравнительной характеристики в одном исследовании.

Целью данного исследования стала оценка у крыс БП и линии Wistar основных показателей, используемых при изучении острой и хронической токсичности лекарственных соединений, определение физиологических особенностей животных этих колоний.

Материалы и методы

Лабораторные животные. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными:

- международных рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных, изложенных в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», ЕЭС, Страсбург, 1986 г. [12];
- требований Хельсинкской декларации и Всемирной медицинской ассоциации [13];
- правил Надлежащей лабораторной практики [Национальная программа реализации принципов GLP Организации экономического сотрудничества и развития в деятельности российских испытательных центров (лабораторий) в области неклинических лабораторных исследований].

В эксперименте использованы половозрелые самки крыс БП массой тела 140–160 г и самки крыс линии Wistar массой тела 120–140 г одного возраста. Каждая группа насчитывала по 20 особей. Все животные были получены в один день из питомника филиала «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий» ФМБА России и имели ветеринарный сертификат.

Животных содержали в условиях вивария ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе» при температуре воздуха 18–22°C и относительной влажности 50–65 % в стандартных клетках по 5 крыс в каждой. Мониторинг температуры и влажности осуществлялся с помощью

²Лекарственные средства для медицинского применения. Доклинические исследования безопасности биотехнологических лекарственных препаратов. Общие рекомендации: ГОСТ Р 56699–2015. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200126921>.

климатической установки. В комнатах содержания животных поддерживался 12-часовой цикл освещения и 8–10-кратная смена объема воздуха в час.

Для кормления крыс использовали стандартный промышленный сертифицированный экструдированный корм для грызунов с установленным сроком годности. Рацион питания был рассчитан в соответствии с ветеринарно-санитарными требованиями (ГОСТ 34566–2019 «Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия»³) по 15 г на одно животное в сутки. Животные получали водопроводную воду (ГОСТ Р 51232–98 «Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля»⁴) *ad libitum* в стандартных автоклавированных питьевых бутылочках со стальными крышками-носиками. До начала исследования в течение 14 дней была проведена оценка состояния здоровья животных при строгом контроле количества съеденного корма и выпитой воды, оценены поведенческие реакции в домашних клетках и масса тела животных.

Исследуемые параметры. В течение эксперимента были оценены следующие показатели: состояние и поведение животных, потребление корма и воды, масса тела, массовые коэффициенты внутренних органов, морфологический состав периферической крови и ряд других гематологических показателей, суточный диурез, неврологические реакции в тесте открытого поля.

Массу тела определяли 1 раз в неделю в течение 6 нед. Для расчета прироста массы тела массу животных, установленную при введении в эксперимент (0-е сутки), принимали за 100 %.

Один раз в неделю в течение 4 нед брали кровь из хвостовой вены и с помощью автоматического гематологического анализатора Abacus Junior Vet (DIATRON, Австрия) определяли количество лейкоцитов (гранулоцитов, лимфоцитов, моноцитов, эозинофилов, базофилов), эритроцитов, гемоглобина, тромбоцитов, средний объем эритроцита, среднее содержание гемоглобина и величину гематокрита.

Однократно на 32-е сутки эксперимента с помощью метаболических клеток устанавливали объем выпитой воды и выделенной мочи и массу съеденного за сутки корма. При анализе мочи на приборе LAURA® Smart Analyser (PLIVA-Lachema Diagnostika s. r. o., Чехия) определяли pH, удельный вес, наличие лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина, билирубина, уробилиногена, кетонов, белка, нитритов, глюкозы.

Поведенческие реакции оценивали в тесте открытого поля двукратно с промежутком в 30 сут. Крыс

тестировали в установке «Открытое поле» (ООО «НПК Открытая Наука», Россия) при помощи программы EthoVision 8.5 (Noldus Information Technology, Нидерланды). Поле имело круглую форму, диаметр составлял 96 см, с 15 отверстиями-«норками» диаметром 2 см. Длительность тестирования составляла 5 мин. За 1 ч до начала опыта крыс приносили в экспериментальную комнату для привыкания к обстановке. В автоматическом режиме регистрировали двигательную активность по следующим параметрам: пройденное расстояние (см), средняя скорость (см/с) и время нахождения в центральной и периферической зонах. В полуавтоматическом режиме фиксировали показатели исследовательской активности: количество эпизодов груминга, вертикальных стоек, контактов с отверстиями-«норками».

Для всех изученных показателей была подсчитана средняя арифметическая и стандартная ошибка средней арифметической. Отличия считали достоверными при $p \leq 0,05$ по *t*-критерию Стьюдента. Вариабельность стандартной ошибки средней арифметической рассчитывали путем получения средней арифметической из стандартных ошибок, указывая диапазон между минимальным и максимальным значениями.

Результаты и обсуждение

Масса тела. В течение эксперимента животные подопытных групп прибавляли в массу тела соответственно возрасту (табл. 1, 2). При этом масса тела крыс БП увеличивалась значительно быстрее по сравнению с Wistar. Достоверные различия по массе тела сравниваемых групп сохранялись в течение всего срока наблюдения.

Суточное потребление воды и корма. Анализ мочи: крысы БП потребляли достоверно больше воды за сутки и выделяли больше мочи по сравнению с Wistar (табл. 3). У беспородных животных масса потребленного корма также была выше.

По показателям клинического анализа мочи различий между животными этих 2 колоний не обнаружено. Выявленные особенности потребления воды и корма могут быть связаны с более высокой массой тела крыс БП.

Гематологические показатели. При сравнении показателей общего анализа крови крыс БП и Wistar были выявлены следующие различия (табл. 4).

На всем протяжении наблюдений среднее количество эритроцитов (RBC) и средний уровень гемоглобина (HGB) был достоверно выше у Wistar.

³Комбикорма полнорационные для лабораторных животных. Технические условия: ГОСТ 34566–2019. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/71578/?ysclid=m3mzriwbhn940694353>.

⁴Вода питьевая. Общие требования к организации и методам контроля: ГОСТ Р 51232–98. URL: <https://internet-law.ru/gosts/gost/8951?ysclid=m3mzrtwf96d889161455>.

Таблица 1. Масса тела крыс (g) с 1-х по 33-и сутки эксперимента

Table 1. Body weight of rats (g) from days 1 to 33 of the experiment

Группа Group	Сутки опыта Day of experiment						Вариабельность ошибки средней арифметической The variability of the arithmetic mean error)
	1	5	11	18	27	33	
Wistar	126,6 ± 1,2	127,4 ± 1,2	132 ± 1,1	134,8 ± 1,2	138,9 ± 1,3	142 ± 1,5	1,25 (1,1–1,5)
Беспородные крысы Albino rats	158 ± 2,1*	170,5 ± 2,7*	194,6 ± 3,8*	208,7 ± 4,3*	224,3 ± 4,6*	237,2 ± 4,6*	3,68 (2,1–4,6)

Здесь и далее в табл. 3, 4: * $p \leq 0,05$ по сравнению с Wistar.

Hereinafter in Tables 3, 4: * $p \leq 0.05$ compared to Wistar.

Таблица 2. Прирост массы тела крыс (%) с 5-х по 33-и сутки эксперимента

Table 2. Body weight gain of rats (%) from days 5 to 33 of the experiment

Группа Group	Сутки опыта Day of experiment				
	5	11	18	27	33
Wistar	0,6	4,3	6,4	9,7	12,1
Беспородные крысы Albino rats	7,9	23,2	32,1	42,0	50,2

Таблица 3. Суточный диурез (выпито воды/выделено мочи) и потребление корма в течение 1 сут беспородными крысами и крысами Wistar

Table 3. Daily diuresis (water intake/urine excretion) and feed intake for day 1 by Albino rats and Wistar rats

Группа Group	Объем выпитой воды, мл Volume of water consumed, mL	Объем выделенной мочи, мл Volume of excreted urine, mL	Масса потребленного корма, г The weight of the consumed feed, g
Wistar	18,7 ± 1,7	4,8 ± 0,7	15,3 ± 1,2
Беспородные крысы Albino rats	31,8 ± 2,3*	9,55 ± 0,6*	17,9 ± 0,7*

В то же время средний объем эритроцита (MCV) и среднее содержание гемоглобина (MCH) в эритроците были достоверно выше у крыс БП. При оценке среднего количества лейкоцитов (WBC) и клеточных форм лейкоцитарной формулы (LYM, GRA, MID), среднего количества тромбоцитов (PLT) и их объема (MPV), а также гематокрита (HCT) достоверных различий не выявлено.

Стоит отметить, что вариабельность стандартной ошибки средней арифметической у крыс Wistar была значительно меньше для таких показателей, как масса тела и среднее количество лейкоцитов в периферической крови (табл. 5), что увеличивает удельный вес статистической значимости получаемых данных при использовании аутбредных крыс генетически контролируемой закрытой колонии Wistar.

Поведенческие реакции. При анализе двигательной активности крыс в «открытом поле» выявлено, что при 1-м тестировании пройденное расстояние и средняя скорость достоверно ниже у крыс БП по сравнению с Wistar. Однако при повторном тестировании эти параметры оказались достоверно выше у беспородных животных (табл. 6).

При повторном тестировании в обеих группах показатели пройденного расстояния и средней скорости у крыс достоверно ниже по сравнению с 1-м тестированием, что указывает на запоминание животными обстановки «открытого поля».

Показатели числа и длительности контактов с «норками» при 1-м тестировании были достоверно выше у крыс Wistar (табл. 7). По числу стоек, числу и длительности эпизодов груминга исследовательская

Таблица 4. Некоторые гематологические показатели беспородных крыс и крыс Wistar

Table 4. Some hematological parameters of albino rats and Wistar rats

Показатель Parameter	Группа Group	Сутки опыта Day of experiment			
		11	18	26	32
RBC, тыс/мм ³ / thousand/mm ³	Беспородные крысы Albino rats	7,53 ± 0,38	7,91 ± 0,38	8,06 ± 0,08	8,29 ± 0,13
	Wistar	8,89 ± 0,11*	9,56 ± 0,2*	9,42 ± 0,16*	9,58 ± 0,09*
HGB, г/л/g/L	Беспородные крысы Albino rats	148,6 ± 3,08	153,4 ± 5,22	159,2 ± 1,36	158,75 ± 2,64
	Wistar	159,8 ± 1,83*	168,8 ± 2,52*	167,75 ± 0,76*	170,2 ± 1,85*
MCV, фл/fL	Беспородные крысы Albino rats	55,4 ± 1,21*	54,4 ± 0,51*	56,2 ± 0,58*	54 ± 0,82*
	Wistar	49,2 ± 0,2	49,2 ± 0,37	49,5 ± 0,45	49,6 ± 0,24
MCH, пг/pg	Беспородные крысы Albino rats	19,84 ± 0,58*	19,64 ± 0,05*	19,76 ± 0,16*	19,13 ± 0,19*
	Wistar	17,98 ± 0,12	17,66 ± 0,22	17,83 ± 0,22	17,78 ± 0,34

Примечание. RBC – эритроциты, HGB – гемоглобин, MCV – средний объем эритроцита, MCH – среднее содержание гемоглобина.

Note. RBC – erythrocytes, HGB – hemoglobin, MCV – average erythrocyte volume, MCH – average hemoglobin content.

Таблица 5. Вариабельность стандартной ошибки средней арифметической для некоторых гематологических показателей беспородных крыс и крыс Wistar

Table 5. Variability of the standard error of the arithmetic mean for some hematological parameters of Albino rats and Wistar rats

Группа Group	WBC	LYM	HGB	HCT	MCV
Беспородные крысы Albino rats	1,25 (1,11–1,37)	1,08 (0,90–1,15)	3,08 (1,36–5,22)	1,01 (0,25–1,97)	0,78 (0,51–1,21)
Wistar	0,60 (0,27–1,01)	0,56 (0,20–0,98)	2,07 (0,76–3,39)	0,80 (0,53–1,12)	0,33 (0,2–0,45)

Примечание. WBC – лейкоциты, LYM – лимфоциты, HGB – гемоглобин, HCT – гематокрит, MCV – средний объем эритроцита.

Note. WBC – leukocytes, LYM – lymphocytes, HGB – hemoglobin, HCT – hematocrit, MCV – average erythrocyte volume.

активность была достоверно выше у крыс БП. При повторном тестировании по контакту с «норками» различий между группами не наблюдалось. Однако показатели исследовательской активности животных в обеих группах через 30 сут существенно снизились по сравнению с 1-м тестированием.

Таким образом, активность крыс БП и Wistar на установке «Открытое поле» проявилась по-разному. При 1-м тестировании у Wistar больше пройденное расстояние, средняя скорость и более выражен контакт с «норками», тогда как у крыс БП преобладает исследовательская активность (вертикальные стойки и эпизоды груминга). Эти различия, а также снижение активности Wistar на установке «Открытое поле» при повторном тестировании могут указывать на

большой уровень тревожности крыс этой колонии по сравнению с БП крысами. При комплексном анализе двигательной и исследовательской активности крыс при тесте открытого поля увеличенное по сравнению с беспородными животными пройденное расстояние крыс Wistar можно связать, скорее, с повышенным уровнем беспокойства этих животных в новой обстановке.

Проведенное исследование выявило некоторые особенности физиологических показателей между 2 колониями аутбредных крыс: меньшее количество эритроцитов в периферической крови беспородных животных и их больший объем, сниженный уровень гемоглобина, более высокое содержание гемоглобина в эритроците. Тем не менее в целом все полученные

Таблица 6. Двигательная активность беспородных крыс и крыс Wistar в тесте открытого поля

Table 6. Motor activity of Albino rats and Wistar rats in the open field test

Группа Group	Пройденное расстояние, см Distance traveled, cm	Средняя скорость, см/с Average speed, cm/s	Нахождение на периферии Periphery		Нахождение в центре Centre	
			время, с time, s	частота frequency	время, с time, s	частота frequency
Первое тестирование The first test						
Беспородные крысы Albino rats	2333,8 ± 72,7*	7,8 ± 0,2*	292,5 ± 1,5*	3,6 ± 0,5	8,8 ± 1,5	2,4 ± 0,5
Wistar	2562 ± 81,6	8,6 ± 0,3	285,3 ± 3,1	3,8 ± 0,5	15,2 ± 3	3 ± 0,5
30-е сутки после 1-го тестирования 30 days after the 1 st test						
Беспородные крысы Albino rats	1911,9 ± 148,7*,**	6,4 ± 0,5*,**	290 ± 2,1	4,9 ± 0,9*	11,7 ± 1,9*	3,7 ± 0,9*
Wistar	1407,1 ± 147,1**	4,9 ± 0,5**	292,2 ± 2,4**	2,5 ± 0,4**	9,6 ± 2,2	1,6 ± 0,4**

Здесь и далее в табл. 7: * $p \leq 0,05$ по сравнению с Wistar; ** $p \leq 0,05$ по сравнению с 1-м тестированием той же группы.
Hereinafter in Table 7: * $p \leq 0.05$ compared to Wistar; ** $p \leq 0.05$ compared to the 1st test of the same group.

Таблица 7. Исследовательская активность крыс в тесте открытого поля: длительность, число эпизодов груминга, стойек, контактов с «норками»

Table 7. Research activity of rats in the open field test: duration, number of episodes of grooming, hind legs, contacts with "minks"

Группа Group	«Норки» "Minks"		Груминг Grooming		Стойки Hind legs stands	
	длительность, с duration, s	число number	длительность, с duration, s	число number	длительность, с duration, s	число number
Первое тестирование The 1 st test						
Беспородные крысы Albino rats	7,7 ± 1*	11 ± 1*	12,2 ± 2,6*	5,4 ± 0,8*	11,8 ± 0,8	18,7 ± 1,4*
Wistar	24,7 ± 2,3	16,5 ± 1,4	6,3 ± 1,5	2,1 ± 0,3	12 ± 1,2	13,5 ± 1,2
30-е сутки после 1-го тестирования Days 30 after the 1 st test						
Беспородные крысы Albino rats	3,9 ± 0,8**	6 ± 0,7**	11 ± 2,7*	4,1 ± 0,5*	9,2 ± 1,8*	11,4 ± 1,8**
Wistar	3,2 ± 1,1**	5,1 ± 1,3**	4,8 ± 1,4	1,7 ± 0,2	0,9 ± 0,3**	2,4 ± 0,3**

значения для животных обеих колоний не выходят за рамки референсных интервалов, указанных для здоровых животных в справочной литературе [10, 14].

Результаты эксперимента на установке «Открытое поле» подтвердили, что обе биомодели приемлемы для изучения неврологических реакций. Крысы Wistar проявили более высокий уровень тревожности, что согласуется с данными литературы [15]. По-видимому, это следует учитывать при исследовании ЛП, влияющих на ЦНС.

При проведении доклинических токсикологических экспериментов выбор в пользу одной или другой из рассмотренных моделей будет зависеть от поставленных задач. Например, при необходимости быстрого получения большого количества биологического материала, в частности крови при фармакокинетических исследованиях, а также там, где необходимы манипуляции с животными большой массы, такие как получение спинномозговой жидкости, рационально было бы использовать крыс БП. С одной стороны,

использование животных этой колонии более выгодно, поскольку они гораздо дешевле крыс линии Wistar. С другой стороны, в исследованиях на животных колонии Wistar меньшая вариабельность ошибки средней арифметической позволяет уменьшить количество особей в группах в разумных пределах, и при этом не пострадает степень достоверности полученных результатов.

Заключение

Выявленные особенности физиологических показателей между 2 колониями аутбредных крыс (меньшее количество эритроцитов в периферической

крови беспородных животных и их большой объем, сниженный уровень гемоглобина, более высокое содержание гемоглобина в эритроците) находятся в рамках референсных интервалов, установленных в различных исследованиях.

Выбор в пользу одной или другой колонии аутбредных крыс (БП или Wistar) при моделировании доклинических экспериментов зависит от вида исследований и поставленных задач.

Выбор модели для изучения нейротоксичности лекарственных веществ следует производить с учетом повышенной тревожности крыс линии Wistar.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Асташкин Е.И., Ачкасов Е.Е., Афонин К.В. и др. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. М.: Профиль-2С, 2010. 358 с. Astashkin E.I., Achkasov E.E., Afonin K.V. et al. The guide to laboratory animals and alternative models in biomedical researches. Moscow: Profile-2C, 2010. P. 358. (In Russ.).
2. Kuramoto T., Nakanishi S., Ochiai M. et al. Origins of albino and hooded rats: implications from molecular genetic analysis across modern laboratory rat strains. PLoS ONE 2012;7(8):e43059. DOI: 10.1371/journal.pone.0043059
3. Коробейникова Е.П., Комарова Е.Ф. Лабораторные животные – биомодели и тест-системы в фундаментальных и доклинических экспериментах в соответствии со стандартами надлежащей лабораторной практики (НЛП/GLP). Журнал фундаментальной медицины и биологии 2016;1:30–6. Korobeynikova E.P., Komarova E.F. Laboratory animals – biomodels and test systems in fundamental and preclinical experiments according to the Good Laboratory Practice (GLP) standards. Zhurnal fundamentalnoy meditsiny i biologii = The Journal of Fundamental Medicine and Biology 2016;1:30–6. (In Russ.).
4. Sasseville V.G., Lane J.H., Kadambi V.J. et al. Testing paradigm for prediction of development-limiting barriers and human drug toxicity. Chem Biol Interact 2004;150(1):9–25. DOI: 10.1016/j.cbi.2004.06.009
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под редакцией А.Н. Миронова. Ч. I. М.: Гриф и К, 2012. 944 с. Guidelines for conducting preclinical studies of medicines. Edited by A.N. Mironov. Part one. M.: Grif and K, 2012. 944 p. (In Russ.).
6. Руководство по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов (в ред. Решения Коллегии Евразийской экономической комиссии от 11.10.2022 № 143). URL: <https://www.alta.ru/tamdoc/19kr0202/?ysclid=m3mt2wmcgk882835551> Guidelines for preclinical safety studies for the purpose of conducting clinical trials and registration of medicines (ed. Decisions of the Board of the Eurasian Economic Commission dated 11.10.2022 No. 143. (In Russ.). URL: <https://www.alta.ru/tamdoc/19kr0202/?ysclid=m3mt2wmcgk882835551>
7. Макарова М.Н., Макаров В.Г., Шекунова Е.В. Методические подходы к оценке нейротоксичности фармакологиче- ских веществ. Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2017;7(2):111–6. Makarova M.N., Makarov V.G., Shekunova E.V. Methodological approaches to the assessment of pharmaceutical substances neurotoxicity. Vestnik Nauchnogo centra ekspertizy sredstv medicinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products 2017;7(2):111–6. (In Russ.).
8. Котеров А.Н., Ушенкова Л.Н., Зубенкова Э.С. и др. Зависимость массы тела от возраста для беспородных белых и восьми линий лабораторных крыс: синтетические исследования данных из экспериментальных работ и питомников в аспекте связи с радиочувствительностью. Некоторые характеристики вида «крыса». Медицинская радиология и радиационная безопасность 2018;63(2):15–7. DOI: 10.12737/article_5ac6190e95da25.42157674 Koterov A.N., Ushenkova L.N., Zubenkova E.S. et al. Dependence of body weight on age for random-bred albino rat and for eight lines of laboratory rat: synthetic studies of data from experimental works and nurseries in aspect of the relationship with radiosensitivity. Some characteristics of rat species. Meditsinskaya radiologiya y radiatsionnaya bezopasnost = Medical Radiology and Radiation Safety 2018;63(2):15–7. (In Russ.). DOI: 10.12737/article_5ac6190e95da25.4215767
9. Войтенко Н.Г., Макарова М.Н., Зуева А.А. Вариабельность биохимических показателей крови и установление референсных интервалов в доклинических исследованиях. Сообщение 1: крысы. Лабораторные животные для научных исследований 2020;1. DOI: 10.29296/2618723X-2020-01-06 Voitenko N.G., Makarova M.N., Zueva A.A. Variability of blood biochemical parameters and establishing of reference ranges in nonclinical studies. Part 1: rats. Laboratornie zhivotnie dlya nauchnykh issledovaniy = Laboratory Animals for Science. 2020;1. (In Russ.). DOI: 10.29296/2618723X-2020-01-06
10. Абрашова Т.В., Гушин Я.А., Ковалева М.А. и др. Справочник. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. Под редакцией В.Г. Макарова, М.Н. Макаровой. СПб.: ЛЕМА, 2013. 116 с. Abrashova T.V., Gushchin Ya.A., Kovaleva M.A. i dr. Spravochnik. Fiziologicheskie, biokhimicheskie i biometricheskie pokazateli normy eksperimental'nykh zhivotnykh. Pod redaktsiei V.G. Makarova, M.N. Makarovoi. Sankt-Peterburg: LEMA, 2013. 116 p. (In Russ.).

11. Moser V.C. Functional assays for neurotoxicity testing. *Toxicol Pathol* 2011;39(1):36–45. DOI: 10.1177/0192623310385255
12. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей, ЕЭС, Страсбург 1986 г. *Ланималогия* 1993;1:29. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes, EEC, Strasbourg 1986. *Lanimalogy* 1993;1:29. (In Russ.).
13. World Medical Association. Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA* 2013;310(20):2191–4. DOI:10.1001/jama.2013.281053
14. Волоشان О.А., Горшков Д.А., Петрова О.В. и др. Определение показателей крови лабораторных крыс с формированием регионального протокола для экспериментальных исследований. *Астраханский медицинский журнал* 2023;18(2):47–54. DOI: 10.29039/1992-6499-2023-2-47-54
15. Волоشان О.А., Горшков Д.А., Петрова О.В. et al. Determination of blood parameters of laboratory rats with the formation of a regional protocol for experimental studies. *Astrkhanskiy meditsinskiy zhurnal = Astrakhan Medical Journal* 2023;18(2):47–54. (In Russ.). DOI: 10.29039/1992-6499-2023-2-47-54
15. Абдурасулова И.Н., Екимова И.В., Чернышев М.В. и др. Нарушение когнитивных функций у крыс вистар в модели доклинической стадии болезни Паркинсона. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова* 2019;69(3):364–81. DOI: 10.1134/S0044467719030031
- Abdurasulova I.N., Ekimova I.V., Chernyshev M.V. et al. Impairments of cognitive functions in the model of the preclinical stage of Parkinson's disease in Wistar rats. *Zhurnal vysshei nervnoi deyatel'nosti I.P. Pavlova = Pavlov Journal of the Higher Nervous System* 2019;69(3):364–81. (In Russ.). DOI: 10.1134/S0044467719030031

Вклад авторов

М.И. Трещалин: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

В.А. Полозкова: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, анализ полученных данных, обзор публикаций по теме статьи;

С.Г. Язерян: получение данных для анализа, анализ полученных данных;

Э.Р. Переверзева: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста рукописи.

Author's contributions

M.I. Treshchalin: research design development, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, review of publications on the topic of the article, writing the text of the manuscript;

V.A. Polozkova: research design development, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, review of publications on the topic of the article;

S.G. Yazeryan: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;

E.R. Pereverzeva: research design development, review of publications on the topic of the article, analysis of the data obtained, writing the text of the manuscript.

ORCID авторов / ORCID of author

М.И. Трещалин / M.I. Treshchalin: <https://orcid.org/0000-0002-5652-8686>

В.А. Полозкова / V.A. Polozkova: <https://orcid.org/0000-0001-8643-6427>

С.Г. Язерян / S.G. Yazeryan: <https://orcid.org/0000-0001-8781-6376>

Э.Р. Переверзева / E.R. Pereverzeva: <https://orcid.org/0000-0001-7368-9695>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Данное исследование было проведено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Funding. This study was conducted with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation.

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей. Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИНА им. Г.Ф. Гаузе».

Conformity of the principles of bioethics. The study was carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Research and Other Scientific Purposes. The Committee on Biomedical Ethics of the Gause Institute of New Antibiotics approved the protocol of the study.

Статья поступила: 30.05.2024. Принята в печать: 31.10.2024. Опубликовано онлайн: **.**.2024.

Article received: 30.05.2024. Accepted for publication: 31.10.2024. Published online: **.**.2024.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-77-82>

Экспериментальное исследование липофильности аналога соматостатина цифетрилина

З.С. Шпрах, Е.В. Игнатъева, М.Н. Краева, И.В. Ярцева, Д.В. Гусев, М.В. Дмитриева

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Зоя Сергеевна Шпрах z.shprakh@ronc.ru

Введение. Липофильность – фундаментальное физико-химическое свойство, определяющее растворимость и транспорт лекарственного средства (ЛС) через биологические мембраны, а также его поведение в организме. Липофильность влияет на способность ЛС связываться с белками плазмы крови и достигать соответствующих рецепторов. Стандартом экспериментального определения липофильности ЛС является измерение распределения между двумя несмешивающимися фазами – водной (водой и буферными растворами) и гидрофобной (чаще всего октанолом).

Цель исследования – экспериментальное изучение липофильности аналога соматостатина цифетрилина в тесте распределения в системе октанол/вода.

Материалы и методы. Липофильность цифетрилина, синтезированного в лаборатории химического синтеза НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, изучали в системе октанол/вода; для изучения спектральных характеристик цифетрилина и его количественного определения использовали этанол; методы – встряхивание колбы, спектрометрия в ультрафиолетовой (УФ) области спектра.

Результаты. Экспериментальную оценку липофильности цифетрилина проводили методом встряхивания колбы в системе взаимонасыщенных воды и октанола 1:1. Поскольку цифетрилин практически нерастворим в воде, определяли концентрацию ЛС в октанольной фазе методом УФ-спектрометрии и рассчитывали концентрацию в воде по балансу масс. Липофильность выражали как десятичный логарифм отношения концентрации цифетрилина в октанольной фазе к его концентрации в водной фазе ($\log P_{o/w}$). Определенное экспериментально значение $\log P_{o/w}$ составило 1,14.

Заключение. Липофильность цифетрилина определена экспериментально методом встряхивания колбы как параметр, определяющий вероятность достижения молекулой биологической мишени. Значение $\log P_{o/w}$ составило 1,14 в десятичной логарифмической форме, что указывает на умеренную липофильность цифетрилина, проявляющего противоопухолевую активность при взаимодействии с рецепторами к соматостатину.

Ключевые слова: липофильность, цифетрилин, коэффициент распределения, система 1-октанол/вода

Для цитирования: Шпрах З.С., Игнатъева Е.В., Краева М.Н. и др. Экспериментальное исследование липофильности аналога соматостатина цифетрилина. Российский биотерапевтический журнал 2024;23(4):77–82.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-77-82>

Experimental study of somatostatin analogue cyphetrylin lipophilicity

Zoya S. Shprakh, Elena V. Ignateva, Marina N. Kraeva, Irina V. Yartseva, Dmitriy V. Gusev, Maria V. Dmitrieva

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

Contacts: Zoya Sergeevna Shprakh z.shprakh@ronc.ru

Background. Lipophilicity is a fundamental physicochemical property that determines the solubility and transport of a drug through biological membranes, as well as its behavior in the body. Lipophilicity also affects the ability of a drug to bind to plasma proteins and reach the corresponding receptors. The standard for drug lipophilicity experimental study is measuring the distribution between two immiscible phases – aqueous (water and buffer solutions) and hydrophobic (most often octanol).

Aim. The experimental study of somatostatin analogue cyphetrylin lipophilicity in octanol/water system distribution test.

Materials and methods. The lipophilicity of cyphetrylin, synthesized in the Laboratory of Chemical Synthesis of the N.N. Blokhin National Medical Research Center for Oncology of the Russian Ministry of Health, was studied in the octanol/water system; ethanol was used to study cyphetrylin spectral characteristics and its quantitative determination; shake flask method, UV-spectrometry.

Results. The experimental assessment of cyphetrylin lipophilicity was carried out by shake flask method in a system of mutually saturated water and octanol 1:1. Since cyphetrylin is practically insoluble in water, the concentration of the drug in the octanol phase was determined by UV-spectrometry and the concentration in water was calculated by mass balance. Lipophilicity was expressed as the decimal logarithm of the concentration of cyphetrylin in the octanol phase to its concentration in the aqueous phase ($\log P_{o/w}$) ratio. The experimentally determined value of $\log P_{o/w}$ was 1.14.

Conclusion. The lipophilicity of cyphetrylin was studied experimentally by shake flask method as a parameter that determines the molecule probability to reach the biological target. The $\log P_{o/w}$ value 1.14 in decimal logarithmic form indicates moderate lipophilicity of cyphetrylin, which exhibits antitumor activity when interacting with somatostatin receptors.

Keywords: lipophilicity, cyphetrylin, partition coefficient, 1-octanol/water system

For citation: Shprakh Z.S., Ignateva E.V., Kraeva M.N. et al. Experimental study of somatostatin analogue cyphetrylin lipophilicity. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2024;23(4):77–82. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2024-23-4-77-82>

Введение

Липофильность – фундаментальное физическое свойство, которое существенно влияет на растворимость и транспорт лекарственного средства (ЛС) через биологические мембраны, а также на его поведение в организме человека и животных, включая абсорбцию, распределение, метаболизм, выведение и токсичность (absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity – ADMET) [1]. Липофильность также влияет на способность ЛС связываться с белками плазмы крови и рецепторами [2]. Высокая липофильность связана с повышенным риском токсических явлений, в то время как низкая – может ограничивать абсорбцию и метаболизм лекарственного препарата [3, 4].

Самым распространенным способом определения липофильности ЛС является измерение распределения между 2 несмешивающимися фазами – водной и гидрофобной [5]. В качестве водной фазы используют воду и буферные растворы с pH 2,0 и 7,4, моделирующие среду голодного желудка и плазмы крови соответственно [6]. Гидрофобной фазой чаще всего служит 1-октанол (октанол), который благодаря своей амфифильной природе (наличие полярных «голова» и гибких неполярных «хвостов») и способности образовывать водородные связи достаточно хорошо имитирует свойства фосфолипидов биологических мембран [7, 8].

«Золотой стандарт» экспериментального определения коэффициента распределения – метод встряхивания колбы, который представляет собой прямое измерение концентраций вещества в октанольной и водных фазах, обеспечивая корректное определение значений липофильности до 4,5 [9, 10]. Метод харак-

теризуется простотой исполнения и четкой связью коэффициента с распределением между фазами; основным недостатком метода является невозможность его использования для соединений с чрезвычайно низкими или высокими значениями ($-3 < \log P_{o/w} < 4$) [11]. Кроме того, метод достаточно трудоемкий, требует использования большого количества растворителя, а образование эмульсии во время встряхивания и микрокапель после центрифугирования может повлиять на результаты измерения [9].

Количественно липофильность обычно выражают как коэффициент распределения, который рассчитывают как десятичный логарифм ($\log P_{o/w}$) отношения концентрации растворенного вещества в конкретной форме в насыщенной водой октанольной фазе (C_o) к его концентрации в той же форме в насыщенной октанолом водной фазе (C_w) в состоянии равновесия (1):

$$\log P_{o/w} = \log \frac{[C_o]}{[C_w]} \quad (1)$$

Очевидно, что более *липофильные* и менее полярные в воде соединения имеют положительные значения $\log P_{o/w}$, а более *гидрофильные*, менее полярные, обладающие меньшей проницаемостью через липидный бислой, – отрицательные значения $\log P_{o/w}$. Когда вещество равномерно распределяется между органической и водной фазами, $\log P_{o/w}$ близок к нулю [8].

Цифетрилин – аналог соматостатина – метиловый эфир N^α-трет-бутилоксикарбонил-S-тетрагидропиранил-L-цистеинил-L-фенилаланил-D-триптофил-N^ε-карбобензоксид-L-лизил-L-треонина, синтезирован в лаборатории химического синтеза НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина [12]. Несмотря

на проведенные исследования физико-химических [13] и биофармацевтических свойств цифетрилина [14–16], механизм реализации его противоопухолевой активности и биодоступности нуждается в дополнительном изучении. Одним из подходов, который позволяет определить «судьбу» ЛС в организме, является определение значения $\log P_{o/w}$, поскольку оно описывает способность соединения достигать намеченной цели.

Цель настоящего исследования – экспериментальное изучение липофильности аналога соматостатина цифетрилина в тесте распределения в системе октанол/вода.

Материалы и методы

Исследование липофильности цифетрилина, синтезированного в лаборатории химического синтеза НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина, проводили в системе октанол (>99 % для синтеза (CHEMSOLUTE®, Th. Geyer, Германия))/вода очищенная. Для изучения спектральных характеристик цифетрилина и его количественного определения использовали 95 % этиловый спирт (АО «РФК», Россия).

В работе применяли аналитические весы Sartorius 2405 (Sartorius AG, Германия), шейкер OS-20 BioSan Ltd. (Латвия), спектрофотометр Agilent Cary-100 (Agilent Technologies, США).

Исследование проводили методом встряхивания колбы, для количественного определения цифетрилина в октанольной фазе применяли метод УФ-спектрометрии.

Результаты и обсуждение

Экспериментальная оценка липофильности ЛС методом встряхивания колбы включала несколько этапов: приготовление исходных фаз, введение тестируемого ЛС, разделение фаз, определение концентрации ЛС в октанольной и водной фазах, расчеты и анализ результатов [17].

Для подготовки исходных фаз водную и октанольную фазы взаимно насыщали, смешивая достаточно большие равные объемы октанола и воды. Смесь растворителей встряхивали в течение нескольких минут, оставляли для разделения и осторожно собирали фазы – октанол, насыщенный водой (верхний слой), и воду, насыщенную октанолом (нижний слой).

Количество цифетрилина, необходимое для достижения концентрации 1 мг/мл в октанольной фазе, помещали в смесь взаимонасыщенных воды и октанола 1:1, интенсивно встряхивали для достижения равновесия системы, переносили в делительную воронку и оставляли для разделения фаз. Затем водную и октанольную фазы аккуратно собирали в отдельные конические колбы и проводили количественное определение цифетрилина.

В соответствии с требованиями руководства [17] концентрацию исследуемого вещества необходимо определять как в водной, так и в октанольной фазе. Однако в литературе описан целый ряд исследований, основанных на количественном определении в одной фазе (либо в октанол, либо в воде) с последующим расчетом концентрации тестируемого соединения в другой фазе по балансу масс [9, 15, 16]. Для измерения концентрации тестируемых соединений используют различные аналитические методы – кислотно-основное титрование, УФ-/видимую спектрометрию, высокоэффективную жидкостную хроматографию и ядерно-магнитную резонансную спектроскопию [8, 17–20].

Ранее нами показано, что электронные спектры поглощения (ЭСП) растворов цифетрилина в этаноле пригодны для его количественного определения методом УФ-спектрофотометрии [21]. Для оценки возможности использования спектрометрии для определения липофильности мы проанализировали ЭСП растворов цифетрилина в этаноле, октанол, раствора октанольной фазы, содержащей цифетрилин, в этиловом спирте (рис. 1, а–в) и смеси октанола – этанола 1:4 (рис. 1, г) в области длин волн от 250 до 300 нм.

На рис. 1 (а–в) видно, что положение максимумов полос ЭСП 282 ± 2 и 290 ± 4 нм для исследованных растворов цифетрилина совпадает. Как и в работе [21], длина волны 282 ± 2 нм выбрана в качестве аналитической. Отсутствие в данной области ЭСП максимумов для смеси растворителей октанола – этанола 1:4 (рис. 1, г) свидетельствует о том, что октанол не будет мешать определению цифетрилина в органической фазе, и при анализе октанольной фазы можно использовать доступный и недорогой этиловый спирт.

Поскольку цифетрилин практически нерастворим в воде [13], его количественное определение проводили только в октанольной фазе, используя в качестве раствора сравнения этанол, параллельно измеряя оптическую плотность раствора стандартного образца (раствора цифетрилина в этаноле).

Количество цифетрилина, перешедшего в октанольную фазу, выражали в процентах от навески цифетрилина, а концентрацию цифетрилина в водной фазе рассчитывали по балансу масс.

Липофильность цифетрилина в виде десятичного логарифма рассчитывали по формуле (1).

Определенное экспериментально значение $\log P_{o/w}$ для цифетрилина составило 1,14 (табл. 1).

Мы также рассчитали параметры липофильности с использованием одного из популярных компьютерных модулей, доступных на сервере VCCLAB (ALOGPS2.1) [22], и по упрощенному алгоритму, который опирается на вклад элемента и получен просто

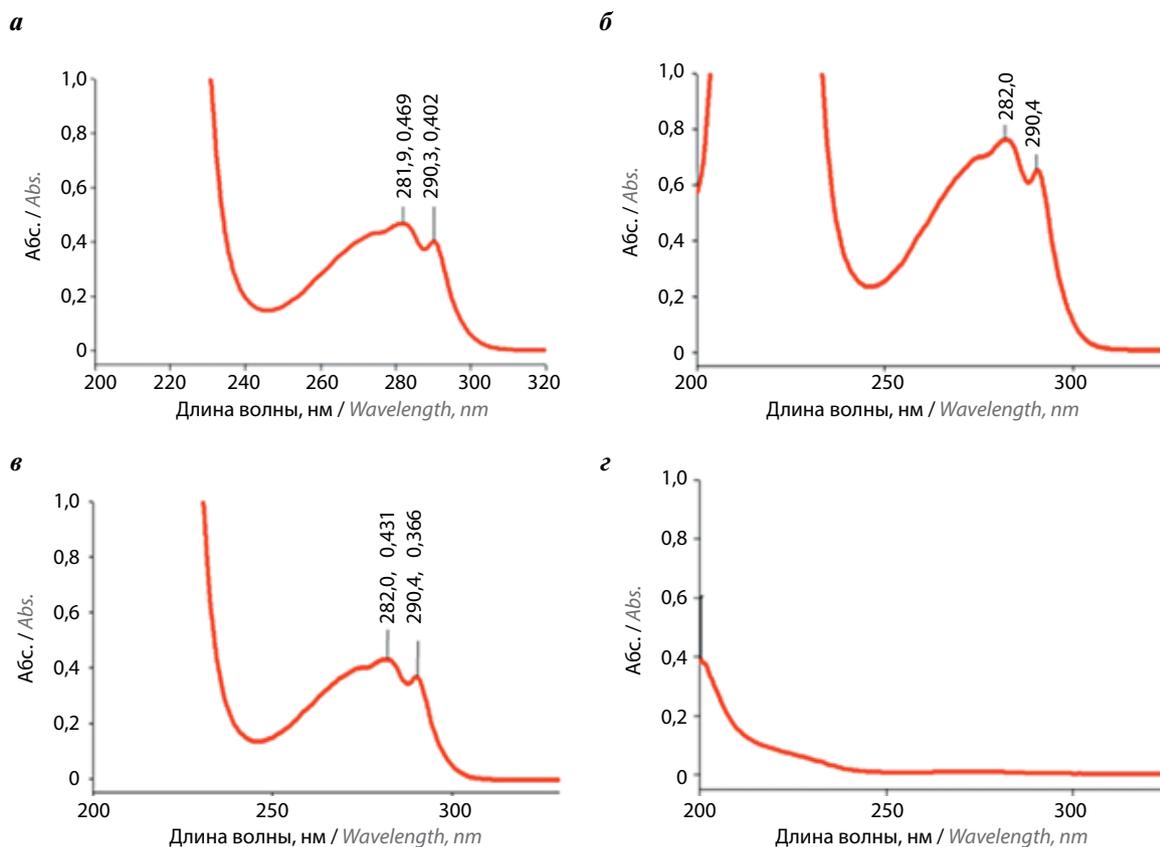


Рис. 1. Электронные спектры поглощения: а – цифетрилина в этаноле; б – цифетрилина в октаноле; в – раствора октанольной фазы, содержащей цифетрилин, в этаноле; г – смеси октанол – спирт этиловый 1:4

Fig. 1. Electronic absorption spectra: a – cyfetrylin in ethanol; б – cyfetrylin in octanol; в – solution of octanol phase containing cyfetryline in ethanol; г – octanol – ethyl alcohol mixture 1:4

Таблица 1. Результаты определения коэффициента распределения цифетрилина в системе октанол/вода ($\log P_{o/w}$)

Table 1. Results of determination of cyfetrylin n-octanol/water partition coefficient ($\log P_{o/w}$)

Опыт Experiment	Найдено цифетрилина, % Found cyfetrylin, %		C_o/C_w	$\log P$
	в фазе in phase			
	октанольной octanol	водной aqueous		
1	90,3	9,7	9,3	0,97
2	94,5	5,5	17,2	1,24
3	92,3	7,7	12,0	1,08
4	96,8	3,2	30,3	1,48
5	91,5	8,5	10,8	1,03
6	91,7	8,3	11,1	1,04
$\log P = 1,14$				

из молекулярной формулы препарата без учета его химической структуры [23]. Полученные расчетные значения составили 0,77 и 0,65 соответственно и не коррелируют с измеренными данными, что характерно для веществ с низкой растворимостью и большим количеством ароматических колец [23].

Тем не менее анализ данных литературы, основанных на оценке сведений о липофильности и механизмах действия большого числа фармацевтических субстанций, свидетельствует о том, что соединения с $\log P_{o/w}$ в диапазоне между 1 и 3 (по мнению других авторов, примерно 2) демонстрируют оптимальные физико-химические свойства для достижения молекулярных мишеней [24, 25]. Иными словами, определенная экспериментально умеренная липофильность цифетрилина подтверждает возможность его взаимодействия с рецепторами к соматостатину для проявления противоопухолевой активности.

Заключение

Липофильность цифетрилина определена экспериментально методом встряхивания колбы как параметр, определяющий вероятность достижения

молекулой биологической мишени. Значение $\log P_{o/w}$ составило 1,14 в десятичной логарифмической форме, что указывает на умеренную липофильность ци-

фетрилина, проявляющего противоопухолевую активность при взаимодействии с рецепторами к соматостатину.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wardecki D., Dołowy M., Bober-Majnsz K. Evaluation of the usefulness of topological indices for predicting selected physicochemical properties of bioactive substances with anti-androgenic and hypouricemic activity. *Molecules* 2023;28(15):5822. DOI: 10.3390/molecules28155822
2. Kempńska D., Chmiel T., Kot-Wasik A. et al. State of the art and prospects of methods for determination of lipophilicity of chemical compounds. *Trends Anal Chem* 2019;113:54–73. DOI: 10.1016/j.trac.2019.01.011
3. Arnott J.A., Planey S.L. The influence of lipophilicity in drug discovery and design. *Expert Opin Drug Discov* 2012;7(10): 863–75. DOI: 10.1517/17460441.2012.714363
4. Broccatelli F., Aliagas I., Zheng H. Why decreasing lipophilicity alone is often not a reliable strategy for extending IV half-life. *ACS Med Chem Lett* 2018;9(6):522–7. DOI: 10.1021/acsmchemlett.8b00047
5. Amezqueta S., Subirats X., Fuguet E. et al. Chapter 6 – Octanol–Water Partition Constant. Editor C.F. Poole. In: *Handbooks in Separation Science Liquid-Phase Extraction*. Elsevier, 2020. P. 183–208. DOI: 10.1016/B978-0-12-816911-7.00006-2
6. Sharapova A., Ol'khovich M., Blokhina S., Perlovich G.L. Experimental Examination of Solubility and Lipophilicity as Pharmaceutically Relevant Points of Novel Bioactive Hybrid Compounds. *Molecules* 2022;27(19):6504. DOI: 10.3390/molecules27196504
7. Bahmani A., Saaidpour S., Rostami A. A simple, robust and efficient computational method for n-octanol/water partition coefficients of substituted aromatic drugs. *Sci Rep* 2017;7:5760. DOI:10.1038/s41598-017-05964-z
8. Roy D., Patel C. Revisiting the use of quantum chemical calculations in LogPoctanol-water prediction. *Molecules* 2023;28(2):801. DOI: 10.3390/molecules28020801
9. Ramli N.A.S., Rania H., Roslan N.A. et al. Evaluation of distribution and partition coefficients of levulinic acid in octanol–water system at 298.15 K. *J Solution Chem* 2024;53: 471–85. DOI: 10.1007/s10953-023-01345-5
10. Santos A., Soares J.X., Cravo S. et al. Lipophilicity assesment in drug discovery: experimental and theoretical methods applied to xanthone derivatives. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* 2018;1072:182–92. DOI: 10.1016/j.jchromb.2017.10.018
11. Katz D., Fike K., Longenberger J. et al. AlphaLogD determination: an optimized reversed-phase liquid chromatography method to measure lipophilicity on neutral and basic small and beyond-rule-of-five compounds. *J Chromatogr A* 2022;1674:463146. DOI: 10.1016/j.chroma.2022.463146
12. Смирнова Л.И., Устинкина С.В., Орлова О.Л. и др. Средство, обладающее противоопухолевым действием. Патент РФ № 2254139С1. 20.06.2005. Smirnova L.I., Ustinkina S.V., Orlova O.L. et al. Drug with antitumor effect. RU2254139C1. (In Russ.).
13. Шпрах З.С., Ярцева И.В., Смирнова Л.И. и др. Синтез и химико-фармацевтические характеристики аналога соматостатина, обладающего противоопухолевой активностью. *Химико-фармацевтический журнал* 2012;48(3):19–22. DOI:10.30906/0023-1134-2014-48-3-19-22
14. Shprakh Z.S., Yartseva I.V., Smirnova L.I. et al. Synthesis and chemico-pharmaceutical characteristics of a somatostatin analog with antitumor activity. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal = Chemical and Pharmaceutical Journal* 2012;48(3):19–22. (In Russ.) DOI: 10.30906/0023-1134-2014-48-3-19-22
15. Шпрах З.С., Борисова Л.М., Киселева М.П., Смирнова З.С. Доклиническое изучение противоопухолевой активности цифетрилина на экспериментальных опухолях животных. Экспериментальная и клиническая фармакология 2019;82(8):27–31. DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-8-27-31 Shprakh Z.S., Borisova L.M., Kiseleva M.P., Smirnova Z.S. Preclinical study of cyphetrylin antitumor efficiency on experimental animal tumors. *Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and clinical pharmacology* 2019;48(3):19–22. (In Russ.). DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-8-27-31
16. Шпрах З.С. Аналог гипоталамического гормона цифетрилин: доклиническое изучение и первый опыт клинического применения. Материалы IV Петербургского международного онкологического форума «Белые ночи»: тез. докл. СПб., 2018. С. 169. Shprakh Z.S. Analogue of the hypothalamic hormone cyphetrylin: preclinical study and the first experience of clinical use. Materials of the IVth St. Petersburg International Oncological Forum “White Nights”: report abstract. Saint Petersburg, 2018. P. 169. (In Russ.).
17. Борисова Л.М., Киселева М.П., Осипов В.Н. и др. Цитотоксические аналоги цифетрилина (сообщение II). *Российский биотерапевтический журнал* 2017;16(2):23–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-2-23-29 Borisova L.M., Kiseleva M.P., Osipov V.N. Cyphetrylin cytotoxic analogues (report II). *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy*. 2017;16(2):23–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-2-23-29
18. OECD, Test No. 107: Partition coefficient (n-octanol/water): Shake flask method. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Sect. 1. URL: <https://www.oecd-ilibrary.org>. DOI: 10.1787/9789264069626-en
19. Teerasong S., Wattanasin P., Wilairat P., Nacapricha D. A simple method based on one phase measurement for determination of the octanol-water partition coefficient of drugs. *Chiang Mai J Sci* 2015;42(3):691–8.
20. Mohsen-Nia M., Ebrahimabadi A.H., Niknahad B. Partition coefficient n-octanol/water of propranolol and atenolol at different temperatures: Experimental and theoretical studies. *J Chem Thermodyn* 2012;54:393–7. DOI: 10.1016/j.jct.2012.05.021
21. Port A., Bordas M., Enrech R. et al. Critical comparison of shake-flask, potentiometric and chromatographic methods for lipophilicity evaluation ($\log P_{o/w}$) of neutral, acidic, basic, amphoteric, and zwitterionic drugs. *Eur J Pharm Sci* 2018;122:331–40. DOI:10.1016/j.ejps.2018.07.010
22. Shprakh Z. Formulation of somatostatin analog tablets using quality by design approach. *J Appl Pharm Sci* 2021;11(4):96–105. DOI: 10.7324/JAPS.2021.110412
23. Virtual Computational Chemistry Laboratory. URL: <https://vclab.org>

23. Wolk O., Agbaria R., Dahan A. Provisional in-silico biopharmaceutics classification (BCS) to guide oral drug product development. *Drug Des Devel Ther* 2014;24(8):1563–75. DOI: 10.2147/DDDT.S68909
24. Morak-Młodawska B., Jeleń M., Martula E., Korlacki R. Study of lipophilicity and adme properties of 1,9-diazaphenothiazines with anticancer action. *Int J Mol Sci* 2023;24(8):6970. DOI: 10.3390/ijms24086970
25. Alqahtani M.S., Kazi M., Alsenaidy M.A., Ahmad M.Z. Advances in oral drug delivery. *Front Pharm* 2021;12:618411. DOI: 10.3389/fphar.2021.618411

Вклад авторов

З.С. Шпрах: идея исследования, разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание и редактирование текста статьи;
Е.В. Игнатьева, М.Н. Краева: получение и анализ экспериментальных данных;
И.В. Ярцева: написание текста рукописи;
Д.В. Гусев: синтез цифетрилина;
М.В. Дмитриева: обзор публикаций по теме статьи, разработка дизайна исследования.

Author's contributions

Z.S. Shprakh: research concept, research design development, review of publications on the topic of the article, analysis of the data obtained, writing and editing of the manuscript text;
E.V. Ignateva, M.N. Kraeva: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;
I.V. Yartseva: writing the text of the manuscript;
D.V. Gusev: cyphetruilin synthesis;
M.V. Dmitrieva: review of publications on the topic of the article, research design development.

ORCID авторов/ ORCID of authors

З.С. Шпрах / Z.S. Shprakh: <https://orcid.org/0000-0003-3034-750X>
Е.В. Игнатьева / E.V. Ignateva: <https://orcid.org/0000-0002-9200-4492>
М.Н. Краева / M.N. Kraeva: <https://orcid.org/0000-0001-7845-1651>
И.В. Ярцева / I.V. Yartseva: <https://orcid.org/0000-0002-8818-7812>
Д.В. Гусев / D.V. Gusev: <https://orcid.org/0000-0003-0218-8265>
М.В. Дмитриева / M.V. Dmitrieva: <https://orcid.org/0000-0001-6740-5692>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Funding. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 21.08.2024. Принята в печать: 21.10.2024. Опубликована онлайн: **.**.2024.
Article received: 21.08.2024. Accepted for publication: 21.10.2024. Published online: **.**.2024.



К юбилею Ольги Алексеевны БОЧАРОВОЙ

To the anniversary of Olga Alekseevna BOCHAROVA

15 октября 2024 г. – круглая дата со дня рождения доктора биологических наук, профессора, академика Российской академии медико-технических наук, руководителя лаборатории иммунофармакологии НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России Бочаровой Ольги Алексеевны.

Лауреат премии ГК СССР по делам изобретений и открытий, лауреат премии Фонда содействия отечественной медицине, награждена почетными грамотами РАМН, РАН, Министерства науки РФ, Министерства здравоохранения РФ. Обладатель почетного звания РАЕ «Основатель научной школы. Теория адгезии в онкологии и геронтологии».

О.А. Бочарова в 1978 г. с отличием окончила отделение биофизики ветеринарно-биологического факультета МВА им. К.И. Скрябина. В 1981 г. успешно защитила кандидатскую диссертацию «Поведение межклеточных контактов гепатоцитов в нормальном онтогенезе, при спонтанном и индуцированном канцерогенезе» по специальности «биофизика». Работая на биологическом факультете МГУ им. М.В. Ломоносова на кафедре клеточной физиологии и иммунологии, вела практикумы и читала лекции по онкоиммунологии. Вместе с тем, привлекая студентов и аспирантов-иммунологов, она продолжала научные исследования особенностей адгезионных взаимодействий и возможности их коррекции при неоплазиях. В 1995 г. успешно защитила докторскую диссертацию «Коррекция адаптогенами адгезионных взаимодействий между клетками при опухолевом процессе» по специальности «онкология». В 1998 г. в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН (ныне НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина) была организована лаборатория иммунофармакологии, которой О.А. Бочарова руководит с момента ее основания и по настоящее время.

Ольга Алексеевна Бочарова – один из ведущих специалистов в области адгезионной дисрегуляции злокачественного роста, разработки иммунобиологических подходов профилактики и нетоксичной терапии злокачественных новообразований, а также возрастных патологий.

Профессор О.А. Бочарова – автор приблизительно 350 научных работ, опубликованных в отечественных и международных изданиях, в том числе 1 открытия, 10 патентов на изобретения, 7 монографий и 7 методических руководств. Под ее руководством

защищены 7 кандидатских и 2 докторские диссертации. Индекс Хирша исследователя равен 25.

Профессор О.А. Бочарова – член диссертационного совета на базе ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России по защите докторских и кандидатских диссертаций с 1998 г., член ученого совета НИИ экспериментальной диагностики и терапии опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, член редакционного совета научно-практического издания «Российский биотерапевтический журнал».

О.А. Бочарова многократно участвовала в работе научных конференций, конгрессов и симпозиумов как в нашей стране, так и за рубежом. Входила в состав организационных комитетов, являлась председателем секций, выступала с пленарными и секционными докладами, в том числе на английском языке.

Профессор О.А. Бочарова создала научную школу, главное направление работы которой – проблемы адгезионных взаимодействий и их коррекции при неоплазиях. В данное сообщество входят специалисты различного профиля: онкологи, патофизиологи, иммунологи, биохимики, биотехнологи и другие, ее ученики успешно работают в разных областях медико-биологической науки и практики.

Научные труды профессора О.А. Бочаровой оригинальны и приоритетны. Они вошли в медицинские руководства и монографии, послужили воспитанию медико-биологического мышления многих ученых и врачей.

Неутомимая плодотворная деятельность Ольги Алексеевны, смелость и решительность в исследовательской работе, а также на общественном поприще – образец служения онкологической науке. Примером такой самоотдачи являются и слова самого юбиляра: «Наука – самая творческая профессия. Познание истины в красоте и совершенстве ее формы может отражать божественность мироздания. Воистину, не знаешь, где взойдет. Важно сеять!»

Редакционная коллегия «Российского биотерапевтического журнала» поздравляет Ольгу Алексеевну с юбилеем и желает ей здоровья и дальнейших творческих успехов!

