

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



Российский Биотерапевтический Журнал

Rossijskij bioterapevticeskij zurnal

**Russian Journal
of Biotherapy**

3

**TOM/VOL. 25
2026**

2026 • ТОМ 25 • № 3

Российский Биотерапевтический Журнал

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

Rossiiskij 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

3 ^{ТОМ 25}
'26

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: bioterapy_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 И.В. Пучкова
Корректоры Н.А. Виленкина,
Т.Н. Помилуйко

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.
2026. Том 25. № 3. 1–116.

© Оформление, верстка.

ООО «ИД «АБВ-пресс», 2026

Подписной индекс в каталоге агентства
«Роспечать» — 81679.

Отпечатано в типографии «Фотобук Маркетинг».
107023, Москва, ул. Электrozаводская, 14, стр. 1.
Тираж 1000 экз. Бесплатно.

<https://bioterapevt.abvpress.ru>

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Киселевский Михаил Валентинович, д.м.н., профессор, заведующий отделом онкоиммунологии 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)

Покровский Вадим Сергеевич, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией биохимических основ фармакологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, заведующий кафедрой биохимии им. Т.Т. Берёзова ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (Москва, Россия)

Шпрах Зоя Сергеевна, д. фарм.н., заведующая отделом разработки лекарственных препаратов ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Соколова Зинаида Александровна, к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии 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 научного отдела клинической фармакологии ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (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, член-корреспондент РАН, 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., директор ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН (Москва, Россия)

Набиев Игорь Руфаилович, д.х.н., профессор, профессор лаборатории по исследованиям в области нанонаук Реймского университета (Реймс, Франция), ведущий ученый лаборатории нанобиоинженерии ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «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)

Панкратов Андрей Александрович, к.б.н., заведующий отделением экспериментальной фармакологии и токсикологии 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)

Рапопорт 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., профессор базовой кафедры Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова 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 рентгенорадиологии 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 отдела современных биоматериалов, профессор 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 университета им. Монаша (Клэйтон, Австралия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Барышникова Мария Анатольевна, к.фарм.н., заведующая лабораторией экспериментальной иммунотерапии 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, главный научный консультант отделения опухолей кожи ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Иванов Павел Константинович, д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биокolleкции и препаратов на основе антител ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

Кадагидзе Заира Григорьевна, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии и инновационных технологий 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 и биотехнологий 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

3^{VOL. 25}
'26

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
rbjournal@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 I.V. Puchkova

Proofreaders N.A. Vilenkina,
T.N. Pomilukho

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 № ФС 77-53039
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)

Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal. 2026.
Volume 25. No 3. 1–116.

© Design, layout PH "ABV-Press", 2026

Rospechat' catalogue index: 81679.
Printed in the printing house "Photobook
Marketing" 107023, Russia, Moscow,
Elektrozavodskaya str., 14, building 1.

1,000 copies. Free distribution

<https://bioterapevt.abvpress.ru>

EDITOR-IN-CHIEF

Kiselevskiy, Mikhail V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Oncoimmunology, 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 (Sechenovskiy University) (Moscow, Russia)

Pokrovsky, Vadim S., PhD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Biochemical Foundations of Pharmacology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Head of Chair of the T. T. Berezov Department of Biochemistry, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (Moscow, Russia)

Shprakh, Zoya S., PhD, DSc, Head of the Department of Drug Development, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

EXECUTIVE EDITOR

Sokolova, Zinaida A., PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Experimental Immunotherapy, 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 Scientific Department of Clinical Pharmacology, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health of Russia (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 (Sechenovskiy University) (Moscow, Russia)

Krasnov, Viktor P., PhD, DSc, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, 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, Director of the N.I. Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences (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 Nizhgorodsky State University, Head of Laboratory of Immunochemistry, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology (Nizhniy Novgorod, Russia)

Pankratov, Andrey A., PhD, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Toxicology, 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, Professor of the Basic Department of the Institute of Bioorganic Chemistry, Academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov 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 RUDN University, President of the National Alliance of Specialists in Tumors of External Localization (Moscow, Russia)

Ulasov, Ilya V., PhD, DSc, Leading Researcher at the Department of Modern Biomaterials, Professor at the Institute of Regenerative Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenovskiy 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 Immunotherapy, 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, Chief Scientific Consultant of the Department of Skin Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

Ivanov, Pavel K., PhD, DSc, Leading Researcher at the Laboratory of Biocollection and Antibody-based drugs, 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 at the Laboratory of Clinical Immunology and Innovative Technologies, 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 and biotechnology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

HER2/неу при солидных опухолях: от бинарного биомаркера к многоуровневой терапевтической мишени

А.В. Шульга¹, В.И. Толочко¹, С.А. Маскевич², З.А. Соколова^{3,4}, А.А. Кныш⁴, И.Р. Набиев^{4,5}

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет»; Республика Беларусь, Гродно 230009, ул. Горького, 80;

²УО «Гродненский государственный университет им. Янки Купалы»; Республика Беларусь, Гродно 230023, ул. Ожешко, 22;

³ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

⁴Научный центр нанотехнологий фотонных материалов для биомедицины и оптоэлектроники ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»; Россия, Москва 115409, Каширское шоссе, 31;

⁵Университет Реймса Шампань—Арденн; Франция, 51100 Реймс, ул. Когнак Жэ, 51

Контакты: Игорь Руфаилович Набиев igor.nabiev@gmail.com

Рецептор эпидермального фактора роста человека 2-го типа (HER2, HER2/неу) является одной из наиболее изученных и одновременно наиболее динамично развивающихся молекулярных мишеней современной онкологии. Если первоначально клиническое значение HER2 было практически полностью связано с гиперэкспрессией рецептора и амплификацией его гена при раке молочной железы, то сегодня спектр HER2-ассоциированных новообразований существенно расширился, а концепция HER2-позитивности претерпевает фундаментальную трансформацию.

В настоящем обзоре систематизированы современные данные о биологической роли HER2, особенностях его гиперэкспрессии, амплификации и активирующих мутаций при различных солидных опухолях, а также диагностических подходах и возможностях HER2-таргетной терапии. Особое внимание уделено раку молочной железы, желудка и желудочно-пищеводного перехода, колоректальному и немелкоклеточному раку легкого, опухолям мочевого пузыря, желчных протоков, слюнных желез и яичников. Показано, что гиперэкспрессия белка HER2, амплификация *ERBB2* и активирующие мутации представляют собой биологически и клинически различные типы нарушений, которые не должны механически объединяться понятием «HER2-положительная опухоль». Рассмотрена эволюция анти-HER2-терапии – от моноклональных антител и ингибиторов тирозинкиназы до конъюгатов «антитело–лекарственное средство» и биспецифических антител. Появление высокоэффективных конъюгатов, прежде всего трастузумаба дерукстекана (T-DXd), расширило терапевтический диапазон HER2 и вывело его за пределы классической гиперэкспрессии, что обусловило формирование концепций HER2-low и HER2-ultralow, а также развитие опухоль-агностических подходов к терапии. В статье также проанализированы ограничения существующих методов определения HER2-статуса и показано, что прямой перенос диагностических критериев, разработанных для рака молочной железы, на другие опухоли методологически не всегда обоснован. Рассмотрены перспективы повышения чувствительности и объективности определения низких уровней HER2, включая разработку флуоресцентных биосенсоров на основе квантовых точек. Совокупность накопленных данных свидетельствует о переходе от бинарной оценки HER2 к многоуровневой модели, интегрирующей уровень экспрессии этого рецептора, амплификацию и мутационный статус *ERBB2*, тип опухоли и используемую терапевтическую платформу. Такая концепция может стать основой для более точной стратификации пациентов и дальнейшего расширения возможностей персонализированной противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: рецептор эпидермального фактора роста человека 2-го типа, HER2/неу, рак молочной железы, рак желудка, колоректальный рак, немелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря, рак желчных протоков, опухоль слюнной железы, рак яичников

Для цитирования: Шульга А.В., Толочко В.И., Маскевич С.А. и др. HER2/неу при солидных опухолях: от бинарного биомаркера к многоуровневой терапевтической мишени. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(3): 32–43.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-32-43>

21. Zolot R.S., Basu S., Million R.P. Antibody-drug conjugates. *Nat Rev Drug Discov* 2013;12(4):259–60. DOI: 10.1038/nrd3980
22. Wolff A.C., Somerfield M.R., Dowsett M. et al. Human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: ASCO-College of American Pathologists Guideline Update. *J Clin Oncol* 2023;41(22):3867–72. DOI: 10.1200/jco.22.02864
23. CAP. HER2 testing in breast cancer – 2023 guideline update. Version June 7, 2023. URL: <https://www.cap.org/protocols-and-guidelines/cap-guidelines/current-cap-guidelines/recommendations-for-human-epidermal-growth-factor-2-testing-in-breast-cancer>
24. Rhyner M.N., Smith A.M., Gao X. et al. Quantum dots and multifunctional nanoparticles: new contrast agents for tumor imaging. *Nanomedicine (Lond)* 2006;1(2):209–17. DOI: 10.2217/17435889.1.2.209
25. Smith A.M., Duan H., Mohs A.M., Nie S. Bioconjugated quantum dots for *in vivo* molecular and cellular imaging. *Adv Drug Deliv Rev* 2008;60(11):1226–40. DOI: 10.1016/j.addr.2008.03.015
26. Tarantino P., Hamilton E., Tolaney S.M. et al. HER2-low breast cancer: pathological and clinical landscape. *J Clin Oncol* 2020;38(17):1951–62. DOI: 10.1200/JCO.19.02488
27. Sajjadi E., Venetis K., Ivanova M., Fusco N. Improving HER2 testing reproducibility in HER2-low breast cancer. *Cancer Drug Resist* 2022;5(4):882–8. DOI: 10.20517/cdr.2022.29
28. Zhang H., Peng Y. Current biological, pathological and clinical landscape of HER2-low breast cancer. *Cancers* 2022;15(1):126. DOI: 10.3390/cancers15010126
29. De Moura Leite L., Cesca M., Tavares M. et al. HER2-low status and response to neoadjuvant chemotherapy in HER2 negative early breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2021;190(1):155–63. DOI: 10.1007/s10549-021-06365-7
30. Shimozaaki K., Fukuoka S., Ooki A., Yamaguchi K. HER2-low gastric cancer: is the subgroup targetable? *ESMO Open* 2024;9(9):103679. DOI: 10.1016/j.esmoop.2024.103679
31. Valtorta E., Martino C., Sartore-Bianchi A. et al. Assessment of a HER2 scoring system for colorectal cancer: results from a validation study. *Mod Pathol* 2015;28(11):1481–91. DOI: 10.1038/modpathol.2015.98
32. Liu F., Ren C., Jin Y. et al. Assessment of two different HER2 scoring systems and clinical relevance for colorectal cancer. *Virchows Arch* 2020;476(3):391–8. DOI: 10.1007/s00428-019-02668-9
33. Abu-Rustum Nadeem R. Updates to the management of endometrial cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2024;22(Issue Supplement). DOI: 10.6004/jnccn.2024.5014
34. Baselga J., Albanell J. Mechanism of action of anti-HER2 monoclonal antibodies. *Ann Oncol* 2001;12(1):S35–41. DOI: 10.1093/annonc/12.suppl_1.s35
35. Swain S.M., Kim S.B., Cortés J. et al. Pertuzumab, trastuzumab, and docetaxel for HER2-positive metastatic breast cancer (CLEOPATRA study): overall survival results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 study. *Lancet Oncol* 2013;14(6):461–71. DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70130-X
36. Johnston S.R.D., Hegg R., Im S. et al. Phase III, randomized study of dual human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) blockade with lapatinib plus trastuzumab in combination with an aromatase inhibitor in postmenopausal women with HER2-positive, hormone receptor-positive metastatic breast cancer: updated results of ALTERNATIVE. *J Clin Oncol* 2021;39(1):79–89. DOI: 10.1200/JCO.20.01894
37. Cortés J., Kim S.B., Chung W.P. et al. Trastuzumab deruxtecan versus trastuzumab emtansine for breast cancer. *N Engl J Med* 2022;386(12):1143–54. DOI: 10.1056/NEJMoa2115022
38. Bardia A., Hu X., Dent R. et al. DESTINY-Breast06 trial investigators. Trastuzumab deruxtecan after endocrine therapy in metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2024;391(22):2110–22. DOI: 10.1056/NEJMoa2407086
39. Modi S., Jacot W., Yamashita T. et al. Trastuzumab deruxtecan in previously treated HER2-low advanced breast cancer. *N Engl J Med* 2022;387(1):9–20. DOI: 10.1056/NEJMoa2203690
40. Van Cutsem E., Feyereislova A., Chung H.C. et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010;376(9742):687–97. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X
41. Taberner J., Hoff P.M., Shen L. et al. Pertuzumab plus trastuzumab and chemotherapy for HER2-positive metastatic gastric or gastro-oesophageal junction cancer (JACOB): final analysis of a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol* 2018;19(10):1372–84. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30481-9
42. Hecht J.R., Bang Y.J., Qin S.K. et al. Lapatinib in combination with capecitabine plus oxaliplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive advanced or metastatic gastric, esophageal, or gastroesophageal adenocarcinoma: TRIO-013/LOGIC—A randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2016;34(5):443–51. DOI: 10.1200/JCO.2015.62.6598
43. Van Cutsem E., di Bartolomeo M., Smyth E. et al. Trastuzumab deruxtecan in patients in the USA and Europe with HER2-positive advanced gastric or gastroesophageal junction cancer with disease progression on or after a trastuzumab-containing regimen (DESTINY-Gastric02): primary and updated analyses from a single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2023;24(7):744–56. DOI: 10.1016/S1470-2045(23)00215-2
44. Benson A.B., Venook A.P., Al-Hawary M.M. et al. Colon cancer, version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Cancer Netw* 2021;19(3):329–59. DOI: 10.6004/jnccn.2021.0012
45. Strickler J.H., Cercek A., Siena S. et al. Tucatinib plus trastuzumab for chemotherapy-refractory, HER2-positive, RAS wild-type unresectable or metastatic colorectal cancer (MOUNTAINEER): a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2023;24(5):496–508. DOI: 10.1016/S1470-2045(23)00150-X
46. Sartore-Bianchi A., Lonardi S., Martino C. et al. Pertuzumab and trastuzumab emtansine in patients with HER2-amplified metastatic colorectal cancer: the phase II HERACLES-B trial. *ESMO Open* 2020;5(5):e000911. DOI: 10.1136/esmoopen-2020-000911
47. Yoshino T., Di Bartolomeo M., Raghav K. et al. DESTINY-CRC01 investigators. Final results of DESTINY-CRC01 investigating trastuzumab deruxtecan in patients with HER2-expressing metastatic colorectal cancer. *Nat Commun* 2023;14(1):3332. DOI: 10.1038/s41467-023-38032-4
48. Li B.T., Shen R., Buonocore D. et al. Ado-trastuzumab emtansine for patients with HER2-mutant lung cancers: results from a phase II basket trial. *J. Clin. Oncol* 2018;36:2532–7. DOI: 10.1200/JCO.2018.77.9777
49. Cornelissen R., Prelaj A., Sun S. et al. ZENITH20-4 investigators. Pozotinib in treatment-naïve NSCLC harboring HER2 exon 20 mutations: ZENITH20-4, a multicenter, multicohort, open-label, phase 2 trial (cohort 4). *J Thorac Oncol* 2023;18(8):1031–41. DOI: 10.1016/j.jtho.2023.03.016
50. Goto K., Goto Y., Kubo T. et al. Trastuzumab deruxtecan in patients with HER2-mutant metastatic non-small-cell lung cancer: primary results from the randomized, phase II DESTINY-lung02 trial. *J Clin Oncol* 2023;41(31):4852–63. DOI: 10.1200/JCO.23.01361
51. Kiss B., Wyatt A.W., Douglas J. et al. Her2 alterations in muscle-invasive bladder cancer: patient selection beyond protein expression for targeted therapy. *Sci Rep* 2017;7:42713. DOI: 10.1038/srep42713
52. Choudhury N.J., Campanile A., Antic T. et al. Afatinib activity in platinum-refractory metastatic urothelial carcinoma in patients

- with ERBB alterations. *J Clin Oncol* 2016;34(18):2165–71. DOI: 10.1200/JCO.2016.72.0888
53. Sheng X., Yan X., Wang L. et al. Open-label, multicenter, phase II study of RC48-ADC, a HER2-targeting antibody-drug conjugate, in patients with locally advanced or metastatic urothelial carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2021;27(1):43–51. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-2488
54. Galdy S., Lamarca A., McNamara M.G. et al. HER2/HER3 pathway in biliary tract malignancies; systematic review and meta-analysis: a potential therapeutic target? *Cancer Metastasis Rev* 2017;36(1):141–57. DOI: 10.1007/s10555-016-9645-x
55. Javle M., Borad M.J., Azad N.S. et al. Pertuzumab and trastuzumab for HER2-positive, metastatic biliary tract cancer (MyPathway): a multicentre, open-label, phase 2a, multiple basket study. *Lancet Oncol.* 2021;22(9):1290–300. DOI: 10.1016/S1470-2045(21)00336-3
56. Harding J.J., Fan J., Oh D.Y. et al. HERIZON-BTC-01 study group. zanidatamab for HER2-amplified, unresectable, locally advanced or metastatic biliary tract cancer (HERIZON-BTC-01): a multicentre, single-arm, phase 2b study. *Lancet Oncol* 2023;24(7):772–82. DOI: 10.1016/S1470-2045(23)00242-5
57. Ohba A., Morizane C., Kawamoto Y. et al. Trastuzumab deruxtecan in human epidermal growth factor receptor 2 – expressing biliary tract cancer (HERB; NCCH1805): a multicenter, single-arm, phase II trial. *J Clin Oncol* 2024;42(27):3207–17. DOI: 10.1200/JCO.23.02010
58. Colevas A.D., Cmelak A.J., Pfister D.G. NCCN Guidelines® insights: head and neck cancers, version 2.2025. *J Natl Compr Canc Netw* 2025;23(2):2–11. DOI: 10.6004/jnccn.2025.0007
59. Lee J.Y., Oaknin A., Manso L. et al. Trastuzumab deruxtecan in HER2-expressing gynecologic cancers from DESTINY-PanTumor02: antitumor activity, safety, and exploratory biomarker analyses. *J Gynecol Oncol* 2026;37(3):e65. DOI: 10.3802/jgo.2026.37.e65

Вклад авторов

А.В. Шульга: анализ данных литературы, написание текста статьи;
В.И. Толочко, З.А. Соколова, А.А. Кныш: анализ данных литературы;
С.А. Маскевич: разработка дизайна, валидация данных;
И.Р. Набиев: экспертный анализ данных, редактирование.

Authors' contributions

A.V. Shulga: analysis of literature data, text writing;
V.I. Talochka, Z.A. Sokolova, A.A. Knysh: analysis of literature data;
S.A. Maskevich: design development, data validation;
I.R. Nabiev: expert data analysis, editing.

ORCID авторов /ORCID of authors

А.В. Шульга / A.V. Shulga: <https://orcid.org/0000-0003-1917-1101>
В.И. Толочко / V.I. Talochka: <https://orcid.org/0009-0003-9601-705X>
С.А. Маскевич / S.A. Maskevich: <https://orcid.org/0000-0001-7644-4968>
З.А. Соколова / Z.A. Sokolova: <https://orcid.org/0000-0003-4755-5313>
А.А. Кныш / A.A. Knysh: <https://orcid.org/0009-0006-6219-7568>
И.Р. Набиев / I.R. Nabiev: <https://orcid.org/0000-0002-8391-040X>

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (грант № 25-42-10019; проект ОнкоСенс) в рамках программы международного сотрудничества Российской Федерации и Республики Беларусь и гранта Белорусского государственного фонда фундаментальных исследований (грант № Ф26РНФ-173) в рамках программы международного сотрудничества между Республикой Беларусь и Российской Федерацией.

Funding. The work was supported by a grant from the Russian Science Foundation (grant No. 25-42-10019; OncoSENS project) under the program of international cooperation between the Russian Federation and the Republic of Belarus and a grant from the Belarusian State Foundation for Basic Research (grant No. № Ф26РНФ-173) under the program of international cooperation between the Republic of Belarus and the Russian Federation.

Статья поступила: 20.05.2026. Принята в печать: 28.08.2026. Опубликовано онлайн: 05.10.2026.

Article submitted: 20.05.2026. Accepted for publication: 28.08.2026. Published online: 05.10.2026.

Анализ взаимосвязи уровней аллергенных компонентов специфических иммуноглобулинов Е и G у жителей юга России на основе тест-системы «АллергочипРФ»

А.Д. Душкин¹, А.А. Дубовец², Д.Р. Бохинова (Трифенова)², Е.М. Козлов², А.М. Винцевская²,
А.Д. Лукашевичус², А.А. Баскаков², Г.С. Чернышова³, И.Ф. Шлык⁴, Н.Л. Бондаренко², А.Ю. Нуртазина²,
А.В. Карсонова², И.В. Евсегнеева², А.В. Караулов²

¹ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-исследовательский центр Больница 52 Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 123182 Москва, ул. Пехотная, 3;

²ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119048 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

³ООО «Клиника Екатерининская Сочи»; Россия, 354057 Сочи, ул. Дагомысская, 42А;

⁴ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 344022 Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29

Контакты: Александр Дмитриевич Душкин DushkinAD@zdrav.mos.ru

Введение. Молекулярная аллергодиагностика с определением специфических иммуноглобулинов (sIg) Е и G к отдельным аллергенным компонентам обеспечивает детальную характеристику профиля сенсибилизации с учетом региональной экспозиции, что особенно актуально для юга России из-за климатических различий между приморскими и степными территориями.

Цель исследования – охарактеризовать молекулярные профили IgE- и IgG-реактивности у жителей г. Сочи и г. Ростов-на-Дону и сравнить частоту выявления ведущих компонентов при симптомной и бессимптомной сенсибилизации.

Материалы и методы. Ретроспективно проанализированы данные 378 пациентов г. Сочи ($n = 186$) и г. Ростов-на-Дону ($n = 192$) по уровням sIgE и sIgG к 162 аллергенным компонентам панели «АллергочипРФ». Статус считали положительным при sIgE $\geq 0,3$ ISU и sIgG $\geq 4,6$ ISU. Различия между группами оценивали с помощью точного критерия Фишера и χ^2 -критерия Пирсона. Связь уровней sIgE и sIgG оценивали с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты. При симптомной сенсибилизации основными компонентами sIgE пациентов из г. Сочи были Amb a 1, Der p 2, Cry j 1, Fel d 1 и Bet v 1, пациентов из г. Ростов-на-Дону – Amb a 1, Art v 1, Phl p 1, Amb a 4 и Amb a 6. При бессимптомной сенсибилизации в г. Сочи преобладали Der p 2, Mala s 13, Der p 23, Der p 1 и Amb a 1, в г. Ростов-на-Дону – Art v 1, Amb a 1, Amb a 4, Sal k 4 и Phl p 1. У пациентов с симптомной сенсибилизацией из г. Сочи среди sIgG-компонентов чаще всего встречались Ara h 8, Jug r 1, Tri a 17, Hev b 1 и Pen m 4, у пациентов из г. Ростов-на-Дону – Ani s 2, Bos d 4, Pru p 3, Tri a 17 и Gal d 2. При бессимптомной сенсибилизации в г. Сочи преобладали Ani s 2, Pru p 3, Art an 7, Alt a 6 и Fel d 4, в г. Ростов-на-Дону – Pru p 3, Tri a 17, Ani s 2, Mal d 1 и Art an 7.

Заключение. Профили sIgE демонстрируют выраженную региональную гетерогенность: для г. Сочи характерна сенсибилизация с вовлечением пыльцевых, клещевых и эпидермальных компонентов, тогда как в г. Ростов-на-Дону преобладает сенсибилизация к компонентам сорных трав и злаков. Профиль sIgG не воспроизводит структуру sIgE-реактивности и отражает самостоятельный аспект антигенной экспозиции.

Ключевые слова: аллерген, иммуноглобулин Е, иммуноглобулин G, молекулярная аллергодиагностика, тест-система «АллергочипРФ»

Для цитирования: Душкин А.Д., Дубовец А.А., Бохинова (Трифенова) Д.Р. и др. Анализ взаимосвязи уровней аллергенных компонентов специфических иммуноглобулинов Е и G у жителей юга России на основе тест-системы «АллергочипРФ». Российский биотерапевтический журнал 2026;25(3):44–58.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-44-58>

Association between allergen component-specific immunoglobulins E and G levels in a population from southern Russia based on test system “AllergoChipRUS”

Alexander D. Dushkin¹, Alexandra A. Dubovets², Daria R. Bokhirova (Trifonova)², Evgenii M. Kozlov², Anastasia M. Vintsevskaia², Anastasia D. Lukashevichus², Alexey A. Baskakov², Galina S. Chernyshova³, Irina F. Shlyk⁴, Natalia L. Bondarenko², Asel Yu. Nurtazina², Antonina V. Karsonova², Irina V. Evsegneeva², Alexander V. Karaulov²

¹Moscow Clinical Science and Research Center 52, Moscow Healthcare Department; 3 Pekhotnaya St., 123182 Moscow, Russia;

²Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Bld. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119048, Russia;

³Clinic Ekaterininskaya; 42A Dagomysskaya St., Sochi 354057, Russia;

⁴Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia; 29 Nakhichevansky Lane, Rostov-on-Don 344022, Russia

Contacts: Alexander Dmitrievich Dushkin DushkinAD@zdrav.mos.ru

Background. Component-resolved diagnostics combining simultaneous measurement of allergen-specific immunoglobulins (sIg) E and G to individual allergen molecules enables detailed characterisation of sensitisation profiles in relation to regional allergen exposure an approach of particular relevance in southern Russia, where coastal and steppe territories differ substantially in climate, pollen load, and the prevalence of indoor allergens.

Aim. To characterize the molecular IgE- and IgG-reactivity profiles in residents of Sochi and Rostov-on-Don, and to compare the frequency of leading allergen components between symptom-positive and asymptomatic sensitisation groups.

Material and methods. A retrospective analysis was performed on anonymized laboratory data from 378 Sochi ($n = 186$) and Rostov-on-Don ($n = 192$) patients, comprising sIgE and sIgG levels to 162 allergen components of the AllergoChip RF panel. Positivity thresholds were defined as sIgE ≥ 0.3 ISU and sIgG ≥ 4.6 ISU, with subsequent data binarization. Between-group differences were assessed using Fisher's exact test and Pearson's χ^2 -test; the association between sIgE and sIgG levels was evaluated by Spearman's rank correlation.

Results. Among patients with allergy symptoms, the five most prevalent sIgE components in Sochi were Amb a 1, Der p 2, Cry j 1, Fel d 1, and Bet v 1, in Rostov-on-Don – Amb a 1, Art v 1, Phl p 1, Amb a 4, and Amb a 6. In asymptomatic sensitization, the leading sIgE components in Sochi were Der p 2, Mala s 13, Der p 23, Der p 1, and Amb a 1, in Rostov-on-Don – Art v 1, Amb a 1, Amb a 4, Sal k 4, and Phl p 1. For sIgG, the predominant components in patients with allergy symptoms in Sochi were Ara h 8, Jug r 1, Tri a 17, Hev b 1, and Pen m 4, in Rostov-on-Don – Ani s 2, Bos d 4, Pru p 3, Tri a 17, and Gal d 2. In asymptomatic sensitization, the leading sIgG components in Sochi were Ani s 2, Pru p 3, Art an 7, Alt a 6, and Fel d 4, in Rostov-on-Don – Pru p 3, Tri a 17, Ani s 2, Mal d 1, and Art an 7.

Conclusion. The sIgE sensitization profiles exhibited marked regional heterogeneity: residents of Sochi demonstrated sensitization involving pollen, house dust mite, and epithelial allergen components, whereas in Rostov-on-Don sensitization was dominated by weed and grass pollen components, with Amb a 1, Art v 1, Phl p 1, Amb a 4, and Amb a 6 being most prevalent. The sIgG profile did not mirror the sIgE reactivity pattern and reflects a distinct dimension of antigenic exposure.

Keywords: allergen, immunoglobulin E, immunoglobulin G, molecular allerodiagnostic, test system “AllergochipRUS”

For citation: Dushkin A.D., Dubovets A.A., Bokhirova (Trifonova) D.R. et al. Association between allergen component-specific immunoglobulins E and G levels in a population from southern Russia based on test system “AllergoChipRUS”. *Rossiiskij bioterapevticheskij zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2026;25(3):44–58. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-44-58>

Введение

Молекулярная диагностика аллергии дополняет обследование с использованием аллергенных экстрактов: она позволяет оценить реактивность к отдельным молекулам, точнее описать полисенсibilизацию, отличить первичную сенсibilизацию от перекрестной реактивности и уточнить клиническую значимость выявленных аллергенных компонентов [1, 2].

В популяционных и региональных исследованиях мультиплексные панели продемонстрировали, что молекулярный профиль sIgE-реактивности (sIgE — специфический иммуноглобулин E) определяется

климатическими условиями, региональным экспозомом и составом аллергенных источников [1, 2]. Для юга России это приобретает особое значение в связи с сочетанием степных, субтропических, городских и прибрежных факторов аллергенной экспозиции, обуславливающих существенные межрегиональные различия в спектре сенсibilизации.

Особого внимания требует sIgG-реактивность (sIgG — специфический иммуноглобулин G) к аллергенным компонентам. По данным литературы, соотношение sIgE- и sIgG-ответов зависит от источника аллергена и пути контакта с ним [3], тогда как бессимптомная сенсibilизация определяется совокупностью

иммунологических и средовых факторов, не сводимых к уровню специфических антител.

Проект «АллергочипРФ» (проект Российского научного фонда № 23-75-30016, 2023–2026 гг.) инициирован для оценки профилей аллергической сенсibilизации на территории Российской Федерации с использованием технологии аллергенных микрочипов как основы персонализированного лечения и профилактики аллергии. В проектной документации определены две прикладные задачи: разработка отечественной технологии твердофазных аллергенных микрочипов и формирование карты молекулярной IgE-сенсibilизации в различных регионах России. Настоящий анализ данных г. Сочи и г. Ростов-на-Дону представляет региональный фрагмент прикладных задач проектной документации.

Цель исследования — охарактеризовать молекулярные профили IgE- и IgG-реактивности у жителей г. Сочи и г. Ростов-на-Дону и сравнить частоту выявления ведущих аллергенных компонентов при симптомной и бессимптомной сенсibilизации.

Материалы и методы

Дизайн исследования. Проведено одномоментное многоцентровое обсервационное сравнительное нерандомизированное исследование обезличенных лабораторных данных, которое имело двухцентровую региональную структуру и включало анализ сведений по г. Сочи и г. Ростов-на-Дону. Рандомизация, ослепление и медицинское вмешательство не выполнялись.

Условия проведения исследования. Проводили молекулярное профилирование г. Сочи и г. Ростов-на-Дону Южного федерального округа на основе созданного биобанка сывороток сенсibilизированных пациентов. Сбор сывороток крови у пациентов проводили в «Клинике Екатерининская Сочи» (г. Сочи) и на базе кафедры клинической иммунологии и аллергологии Ростовского государственного медицинского университета в условиях амбулаторно-поликлинических отделений. Биоматериал транспортировали и хранили в биобанке Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовского Университета).

Продолжительность исследования. Исследование выполнено в рамках проекта Российского научного фонда № 23-75-30016, реализуемого в 2023–2026 гг. Сбор сывороток в г. Сочи проводили с мая по декабрь 2023 г., а в г. Ростов-на-Дону — с апреля по декабрь 2023 г.

Критерии соответствия. В исследование включали пациентов в возрасте 18 лет и старше с доступными результатами определения sIgE и sIgG к общему набору из 162 аллергенных компонентов. Группы больных с аллергическими симптомами в г. Сочи и г. Ростов-на-Дону сформированы на основе проявлений одного или нескольких аллергических заболеваний:

аллергический ринит/конъюнктивит, атопический дерматит, бронхиальная астма, пищевая аллергия. В группы бессимптомной сенсibilизации вошли условно здоровые доноры. Включение пациентов предусматривало разъяснение информации об исследовании, подписание информированного согласия на участие в нем и заполнение стандартизованного опросника.

Критериями исключения из аналитической выборки были наличие инфекции, вызванной вирусами иммунодефицита человека, гепатита В или С или бледной трепонемой, отсутствие идентификатора пациента, данных о наличии или отсутствии симптомов, а также результатов исследования общей панели аллергенных компонентов.

Описание медицинского вмешательства. Медицинское вмешательство в рамках настоящего анализа не проводилось. Исследователи выполняли вторичный анализ обезличенных результатов лабораторного тестирования. В исходных данных представлены результаты определения sIgE и sIgG к аллергенным компонентам панели «АллергочипРФ» [4–6].

Основной исход исследования. Основным исходом была частота определения ведущих аллергенных компонентов sIgE в группах с симптомной и бессимптомной сенсibilизацией отдельно для г. Сочи и г. Ростов-на-Дону (рис. 1).

Дополнительные исходы исследования. Дополнительными исходами были частота определения ведущих sIgG-компонентов, различия по этому показателю между группами с симптомной и бессимптомной сенсibilизацией, а также взаимосвязь количественных уровней sIgE и sIgG к одинаковым аллергокомпонентам (рис. 1).

Методы регистрации исходов. Положительный результат теста на компонент регистрировали по бинаризованным значениям: 1 — наличие сенсibilизации; 0 — отсутствие сенсibilизации (для компонентов sIgE $\geq 0,3$ ISU, для компонентов sIgG — $\geq 4,6$ ISU). В рамках настоящего сравнительного анализа порог для sIgG использовали как аналитический порог бинаризации. Порог не рассматривался как самостоятельный клинический диагностический критерий аллергического заболевания.

Анализ в подгруппах. Подгруппы сформированы согласно матрице (город $\times$ симптомность сенсibilизации): город (Сочи, Ростов-на-Дону), симптомность сенсibilизации (симптомная или бессимптомная сенсibilизация).

Статистический анализ. Статистическую обработку данных выполняли в интерактивной среде разработки Visual Studio Code v.101.2 (Microsoft, США) на языке программирования Python v.3.13 (Python Software Foundation, США) с пакетами pandas, numpy, matplotlib, seaborn и scipy.

Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика пациентов г. Сочи и г. Ростов-на-Дону

Table 1. Clinical and demographic characteristics of indicators of the study cohort and patients from Sochi and Rostov-on-Don

Показатель Parameter	Сочи Sochi (n = 186)	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don (n = 192)
Сенсибилизация, n (%): Sensitization, n (%):		
симптомная symptomatic	91 (48,9)	92 (47,9)
бессимптомная asymptomatic	95 (51,1)	100 (52,1)
Возраст пациентов, лет, Me [IQR]: Age of patients, years:		
с симптомной сенсибилизацией with symptomatic sensitization	41 [32–52]	36 [26–46]
с бессимптомной сенсибилизацией without asymptomatic sensitization	39 [35–47]	40 [28–52]
Пол, n (%): Gender, n (%):		
женский female		
симптомная сенсибилизация symptomatic sensitization	66 (72,5)	52 (56,5)
бессимптомная сенсибилизация asymptomatic sensitization	60 (63,2)	70 (70)
мужской male		
симптомная сенсибилизация symptomatic sensitization	25 (27,5)	40 (43,5)
бессимптомная сенсибилизация asymptomatic sensitization	35 (36,8)	30 (30)
Аллергические заболевания, n (%): Patient with allergic diseases, n (%):		
аллергический ринит/конъюнктивит allergic rhinoconjunctivitis	68 (74,7)	89 (96,7)
атопический дерматит atopic dermatitis	12 (13,2)	19 (20,7)
бронхиальная астма bronchial asthma	12 (13,2)	19 (20,7)
пищевая аллергия food allergy	42 (46,2)	24 (26,1)

Примечание. Me – медиана; IQR – межквартильный размах.

Note. Me – median; IQR – interquartile range.

Проверку соответствия нормальности распределения количественных переменных проводили с использованием теста Шапиро–Уилка. Количественные переменные описывали медианой (Me) и межквартильным размахом (IQR). Сравнение двух независимых групп выделяли с помощью U-критерия Манна–Уитни, 3 и более независимых групп – критерия Краскела–Уоллиса. Для множественных сравнений применяли метод Бенджамини–Хохберга. Категориальные переменные описывали абсолютными (n) и относительными (%) значениями. Сравнение частот выполняли с помощью точного критерия Фишера или χ^2 -критерия Пирсона. Корреляционный анализ количественного уровня одинаковых компонентов sIgE и sIgG проводили с использованием ко-

эффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Размер выборки предварительно не рассчитывали. Условия досрочной остановки исследования не планировались.

Результаты

Объекты (участники) исследования. Ретроспективно проанализированы данные 378 пациентов г. Сочи ($n = 186$) и г. Ростов-на-Дону ($n = 192$). Медиана возраста больных составила 39 (30–49) лет, при этом группы были сопоставимы по данному показателю (г. Сочи – 40 (34–49) лет, г. Ростов-на-Дону – 38 (27–50) лет; $p = 0,06$). В общей когорте преобладали лица женского пола (65,6 %). Среди нозологических форм

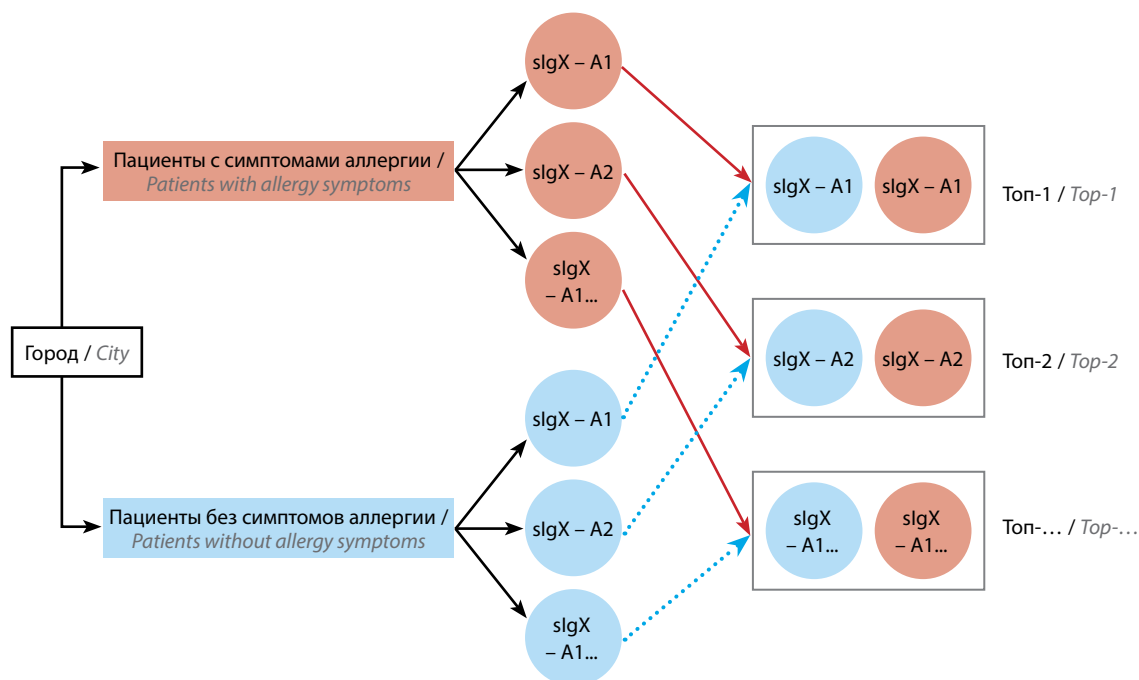


Рис. 1. Схема проведения исследования и характеристика молекулярного профиля реактивности иммуноглобулинов E и G у жителей г. Сочи и г. Ростов-на-Дону и определения частоты основных аллергенных компонентов при симптомной и бессимптомной сенсибилизации. slg – специфический иммуноглобулин

Fig. 1. Overall study design for characterizing the molecular immunoglobulins E and G reactivity profiles in residents of Sochi and Rostov-on-Don and determining the frequency of leading allergen components in symptomatic and asymptomatic sensitization. slg – specific immunoglobulin

аллергических заболеваний наиболее распространенным был аллергический ринит/конъюнктивит (41,5 % случаев). Пищевая аллергия зафиксирована у 66 (17,5 %) участников, атопический дерматит – у 31 (8,2 %), бронхиальная астма – у 31 (8,2 %).

Клинико-демографическая характеристика пациентов г. Сочи и г. Ростов-на-Дону представлена в табл. 1 и на рис. 2.

Основные результаты исследования. При сравнении sIgE-профилей пациентов с симптомной и бессимптомной сенсибилизацией получены следующие данные. У больных г. Сочи доминировали пылевые и эпидермальные аллергены Amb a 1 ($p < 0,001$), Cry j 1 и Fel d 1 ($p < 0,001$), а также Bet v 1 ($p < 0,001$) и Pru p 1 ($p < 0,001$). Клещевые компоненты Der p 2 ($p = 0,035$) и Der p 5 ($p = 0,021$) чаще выявлялись при симптомной сенсибилизации, а Der p 1, Der p 23 и Mala s 13 демонстрировали менее выраженные и статистически незначимые различия между пациентами с симптомной и бессимптомной сенсибилизацией (табл. 2).

При сравнении профилей ведущих компонентов sIgE у пациентов с симптомной сенсибилизацией г. Ростов-на-Дону обнаружено статистически значимое доминирование аллергенов сорных трав и злаков Amb a 1 ($p < 0,001$), Art v 1 ($p = 0,001$), Phl p 1 ($p < 0,001$), Amb a 4 ($p < 0,001$) и Amb a 6 ($p < 0,001$) по сравнению с пациентами с бессимптомной сенсибилизацией

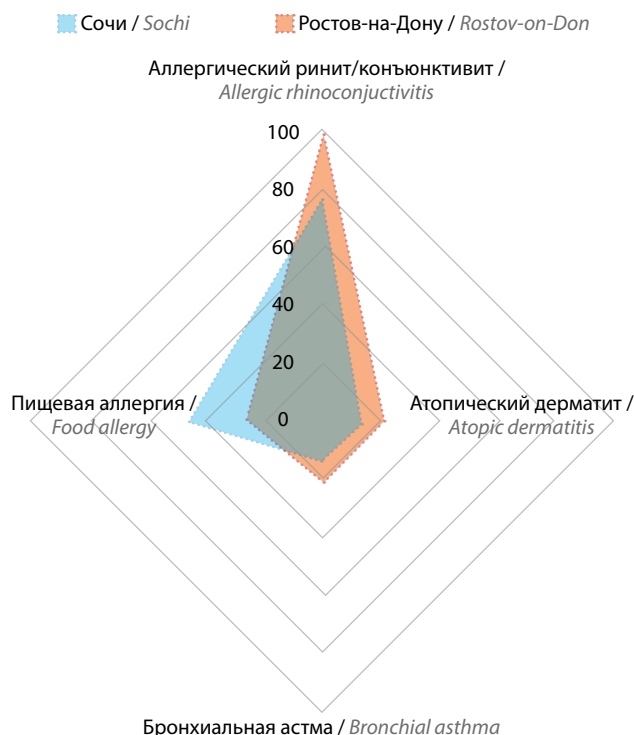


Рис. 2. Частота встречаемости симптомов аллергии у пациентов из г. Сочи и г. Ростов-на-Дону

Fig. 2. The frequency of allergy symptoms in patients of Sochi and Rostov-on-Don

Таблица 2. Топ-10 аллергенных компонентов специфического иммуноглобулина E по частоте выявляемости у жителей г. Сочи и г. Ростов-на-Дону с симптомной и бессимптомной сенсibilизацией

Table 2. Top 10 specific immunoglobulin E allergen components frequencies in the symptomatic and asymptomatic sensitizations in Sochi and Rostov-on-Don

Компонент Component	Сенсибилизация, n (%) Sensitization, n (%)		Δ %	p
	симптомная symptomatic	бессимптомная asymptomatic		
Сочи Sochi				
Amb a 1	28/91 (30,8)	7/95 (7,4)	+23,4	<0,001
Der p 2	27/91 (29,7)	15/95 (15,8)	+13,9	0,035
Cry j 1	24/91 (26,4)	6/95 (6,3)	+20,1	<0,001
Fel d 1	24/91 (26,4)	6/95 (6,3)	+20,1	<0,001
Bet v 1	22/91 (24,2)	2/95 (2,1)	+22,1	<0,001
Pru p 1	20/91 (22,0)	2/95 (2,1)	+19,9	<0,001
Der p 1	17/91 (18,7)	9/95 (9,5)	+9,2	0,091
Cor a 1.04	15/91 (16,5)	1/95 (1,1)	+15,4	<0,001
Der p 23	13/91 (14,3)	10/95 (10,5)	+3,8	0,507
Der p 5	13/91 (14,3)	4/95 (4,2)	+10,1	0,021
Mala s 13	13/91 (14,3)	11/95 (11,6)	+2,7	0,664
Phl p 1	13/91 (14,3)	4/95 (4,2)	+10,1	0,021
Ростов-на-Дону Rostov-on-Don				
Amb a 1	50/92 (54,3)	13/100 (13,0)	+41,3	<0,001
Art v 1	33/92 (35,9)	15/100 (15,0)	+20,9	0,001
Phl p 1	28/92 (30,4)	6/100 (6,0)	+24,4	<0,001
Amb a 4	27/92 (29,3)	10/100 (10,0)	+19,3	<0,001
Amb a 6	23/92 (25,0)	3/100 (3,0)	+22,0	<0,001
Fel d 1	22/92 (23,9)	4/100 (4,0)	+19,9	<0,001
Hev b 8	21/92 (22,8)	4/100 (4,0)	+18,8	<0,001
Sal k 4	21/92 (22,8)	8/100 (8,0)	+14,8	0,005
Amb a 8	20/92 (21,7)	4/100 (4,0)	+17,7	<0,001
Art v 4	20/92 (21,7)	4/100 (4,0)	+17,7	<0,001
Cry j 1	20/92 (21,7)	4/100 (4,0)	+17,7	<0,001

(см. табл. 2). Дополнительно у больных с симптомной сенсibilизацией выявлены менее значимые различия в частоте выявляемости сенсibilизации для Fel d 1, Hev b 8, Sal k 4, Amb a 8, Art v 4 и Cry j 1 по сравнению с больными без симптомов аллергии ($p \leq 0,005$).

В профилях sIgE пациентов г. Сочи и г. Ростов-на-Дону с симптомами аллергических заболеваний выявлены выраженные региональные различия, от-

ражающие преобладание клещевых и древесно-плодовых аллергенов у больных г. Сочи и сорно-злаковых аллергенов у больных г. Ростов-на-Дону (табл. 3). У пациентов с симптомной сенсibilизацией г. Сочи Der p 2 ($p < 0,001$), Der p 1 ($p < 0,001$), Der p 23 и Der p 5 ($p = 0,009$) определялись статистически значимо чаще по сравнению с пациентами г. Ростов-на-Дону, что отражает более выраженную роль клещевых

Таблица 3. Профили специфического иммуноглобулина к доминирующим аллергенным компонентам у пациентов с симптомной сенсibilизацией из г. Сочи и г. Ростов-на-Дону

Table 3. Specific immunoglobulin profiles of dominant allergen components in patients with symptomatic sensitization from Sochi and Rostov-on-Don

Компонент Component	Сочи, n (%) Sochi, n (%) (n = 91)	Ростов-на-Дону, n (%) Rostov-on-Don, n (%) (n = 92)	Δ %	p
Amb a 1	28 (30,8)	50 (54,3)	23,6	0,002
Art v 1	11 (12,1)	33 (35,9)	23,8	<0,001
Phl p 1	13 (14,3)	28 (30,4)	16,1	0,013
Der p 2	27 (29,7)	3 (3,3)	−26,4	<0,001
Amb a 4	5 (5,5)	27 (29,3)	23,9	<0,001
Cry j 1	24 (26,4)	20 (21,7)	−4,6	0,493
Fel d 1	24 (26,4)	22 (23,9)	−2,5	0,736
Amb a 6	1 (1,1)	23 (25,0)	23,9	<0,001
Bet v 1	22 (24,2)	7 (7,6)	−16,6	0,002
Hev b 8	2 (2,2)	21 (22,8)	20,6	<0,001
Sal k 4	4 (4,4)	21 (22,8)	18,4	<0,001
Pru p 1	20 (22,0)	6 (6,5)	−15,5	0,003
Amb a 8	4 (4,4)	20 (21,7)	17,3	<0,001
Art v 4	5 (5,5)	20 (21,7)	16,2	0,002
Der p 1	17 (18,7)	3 (3,3)	−15,4	<0,001
Cor a 1.04	15 (16,5)	6 (6,5)	−10,0	0,039
Der p 23	13 (14,3)	2 (2,2)	−12,1	0,003
Der p 5	13 (14,3)	3 (3,3)	−11,0	0,009
Mala s 13	13 (14,3)	6 (6,5)	−7,8	0,095

аллергенов домашней пыли в структуре такой сенсibilизации. Кроме того, в когорте г. Сочи чаще встречались аллергены Bet v 1, Pru p 1 и Cor a 1.04 ($p = 0,039$).

У пациентов г. Ростов-на-Дону с симптомной сенсibilизацией значительно чаще выявлялись компоненты амброзии и полыни Amb a 1 ($p = 0,002$), Art v 1 ($p < 0,001$), а также злаковый аллерген Phl p 1 ($p = 0,013$). Также отмечена более высокая частота встречаемости Amb a 4, Amb a 6, Amb a 8, Art v 4, Hev b 8 и Sal k 4 ($p \leq 0,002$).

Дополнительные результаты исследования

При сравнении sIgG-профилей пациентов с симптомной и бессимптомной сенсibilизацией г. Сочи и г. Ростов-на-Дону получены следующие данные (табл. 4).

У пациентов с симптомами аллергических заболеваний г. Сочи выявляли sIgG к ореховым, фруктовым, клещевым и латексным компонентам (Jug r 1, Ara h 8, Gal d 4, Cor a 14, Der p 10, Hev b 7 и др.), причем для большинства из них прирост частоты встречаемости этих аллергенов по сравнению с бессимптомной сенсibilизацией превышает 20–50 % ($p < 0,001$), тогда как для Tri a 17, Hev b 1 и Pen m 4 статистически значимых различий не выявлено ($p \geq 0,05$).

В sIgG-профиле пациентов г. Ростов-на-Дону с симптомами аллергических заболеваний доминируют компоненты молока, мяса, паразитов и рыбных аллергенов (Bos d 4, Pru p 3, Ani s 2, Ani s 3, a-Gal, Gal d 2, Par j 1). Отмечены значимые различия в частоте встречаемости этих аллергенов при симптомной

Таблица 4. Частота встречаемости топ-10 аллергенных компонентов специфического иммуноглобулина G при симптомной и бессимптомной сенсibilизации

Table 4. The frequency of the top 10 allergenic specific immunoglobulin G components in symptomatic sensitization with their frequencies in asymptomatic sensitization

Компонент Component	Сенсибилизация, n (%) Sensitization, n (%)		Δ %	p
	симптомная symptomatic	бессимптомная asymptomatic		
Сочи Sochi				
Ara h 8	90/91 (98,9)	75/92 (81,5)	+17,4	<0,001
Jug r 1	90/91 (98,9)	10/92 (10,9)	+88,0	<0,001
Tri a 17	90/91 (98,9)	92/92 (100,0)	1,1	0,497
Hev b 1	89/91 (97,8)	86/92 (93,5)	+4,3	0,278
Pen m 4	89/91 (97,8)	89/92 (96,7)	+1,1	1,000
Gal d 4	86/91 (94,5)	69/92 (75,0)	+19,5	<0,001
Ana o 3	84/91 (92,3)	65/92 (70,7)	+21,7	<0,001
Der p 10	84/91 (92,3)	38/92 (41,3)	+51,0	<0,001
Hev b 7	84/91 (92,3)	63/92 (68,5)	+23,8	<0,001
Cor a 14	82/91 (90,1)	39/92 (42,4)	+47,7	<0,001
Ростов-на-Дону Rostov-on-Don				
Ani s 2	92/92 (100,0)	68/91 (74,7)	+25,3	<0,001
Bos d 4	92/92 (100,0)	2/91 (2,2)	+97,8	<0,001
Pru p 3	92/92 (100,0)	40/91 (44,0)	+56,0	<0,001
Tri a 17	92/92 (100,0)	90/91 (98,9)	+1,1	0,497
Gal d 2	90/92 (97,8)	74/91 (81,3)	+16,5	<0,001
Pen m 4	89/92 (96,7)	89/91 (97,8)	1,1	1,000
Ani s 3	88/92 (95,7)	39/91 (42,9)	+52,8	<0,001
a-Gal	87/92 (94,6)	0/91 (0,0)	+94,6	<0,001
Hev b 1	86/92 (93,5)	89/91 (97,8)	4,3	0,278
Par j 1	86/92 (93,5)	38/91 (41,8)	+51,7	<0,001

сенсibilизации по сравнению с бессимптомной сенсibilизацией (>50 %, $p < 0,001$), тогда как в отношении Tri a 17, Hev b 1 и Pen m 4 статистически значимых различий не выявлено ($p \geq 0,05$).

При сравнении sIgG-профилей пациентов с симптомной сенсibilизацией из г. Сочи и г. Ростов-на-Дону отмечены наиболее выраженные различия в частоте встречаемости Bos d 4 ($p < 0,001$), a-Gal ($p < 0,001$), Ani s 3 ($p < 0,001$) и Par j 1 ($p < 0,001$). У больных из г. Ростов-на-Дону sIgG к Pru p 3 и Ani

s 2 выявлялись в 100 % случаев, тогда как у больных г. Сочи — в 44,0 и 74,7 % соответственно ($p < 0,001$) (табл. 5).

Доминирующими аллергическими компонентами у пациентов г. Сочи были Jug r 1 ($p < 0,001$), Der p 10 ($p < 0,001$), Cor a 14 ($p < 0,001$), Ana o 3 ($p < 0,001$), Hev b 7 ($p < 0,001$) и Ara h 8 ($p < 0,001$).

Компоненты sIgG Tri a 17, Hev b 1 и Pen m 4 продемонстрировали сопоставимо высокую частоту встречаемости у пациентов как г. Сочи (97,8–98,9 %),

Таблица 5. Профиль специфического иммуноглобулина G к доминирующим аллергенным компонентам у пациентов с симптомной сенсibilизацией из г. Сочи и г. Ростов-на-Дону

Table 5. Specific immunoglobulin G profile of dominant allergen components in patients with symptomatic sensitization from Sochi and Rostov-on-Don

Компонент Component	Сочи, n (%) Sochi, n (%) (n = 91)	Ростов-на-Дону, n (%) Rostov-on-Don, n (%) (n = 92)	Δ %	p
Ani s 2	68/91 (74,7)	92/92 (100,0)	25,3	<0,001
Bos d 4	2/91 (2,2)	92/92 (100,0)	97,8	<0,001
Pru p 3	40/91 (44,0)	92/92 (100,0)	56,0	<0,001
Tri a 17	90/91 (98,9)	92/92 (100,0)	1,1	0,497
Ara h 8	90/91 (98,9)	75/92 (81,5)	17,4	<0,001
Jug r 1	90/91 (98,9)	10/92 (10,9)	88,0	<0,001
Gal d 2	74/91 (81,3)	90/92 (97,8)	16,5	<0,001
Hev b 1	89/91 (97,8)	86/92 (93,5)	4,3	0,278
Pen m 4	89/91 (97,8)	89/92 (96,7)	1,1	1,000
Ani s 3	39/91 (42,9)	88/92 (95,7)	52,8	<0,001
a-Gal	0/91 (0,0)	87/92 (94,6)	94,6	<0,001
Gal d 4	86/91 (94,5)	69/92 (75,0)	19,5	<0,001
Par j 1	38/91 (41,8)	86/92 (93,5)	51,7	<0,001
Ana o 3	84/91 (92,3)	65/92 (70,7)	21,7	<0,001
Der p 10	84/91 (92,3)	38/92 (41,3)	51,0	<0,001
Hev b 7	84/91 (92,3)	63/92 (68,5)	23,8	<0,001
Cor a 14	82/91 (90,1)	39/92 (42,4)	47,7	<0,001

так и г. Ростов-на-Дону (93,5–100,0 %); статистически значимых межгрупповых различий не выявлено ($p = 0,278–1,000$).

Также проведен корреляционный анализ встречаемости компонентов sIgE и sIgG у пациентов г. Сочи и г. Ростов-на-Дону. У больных с бессимптомной сенсibilизацией г. Сочи преобладала умеренная положительная корреляция sIgE с sIgG для пищевых и молочных компонентов (Gal d 1, Gal d 2, Bos d 4, Bos d 8), а также для ряда ингаляционных аллергенов (Mala s 13, Der p 2, a-Gal и др.) ($r = 0,31–0,49$; $p < 0,001$) (рис. 3). На этом фоне выделяются несколько умеренных отрицательных связей, в частности для Tri a 17, Art v 4, Fel d 4, Asp f 1 и Bla g 2 ($r = -0,31 \dots -0,46$; $p < 0,002$).

В когорте пациентов с симптомами аллергических заболеваний из г. Сочи спектр значимых корреляций уже и представлен умеренными по величине коэффициентами ($r = \pm 0,31–0,39$; $p < 0,01$). Для Tri a 37 и Tri a 19 отмечены положительные связи между sIgE и sIgG, для Ole e 1 и Par j 2 – отрицательные (рис. 4).

У пациентов с бессимптомной сенсibilизацией из г. Ростов-на-Дону доминировали умеренные

положительные корреляции sIgE с sIgG для сорно-пыльцевых (Amb a 10, Amb a 8, Art v 1, Art v 4), злаковых (Phl p 6, Phl p 12), молочных и яичных (Bos d 4, Gal d 1, Gal d 2) ($r = \pm 0,32–0,52$; $p < 0,001$; (рис. 5), а также плесневых и клещевых (Alt a 6, Blo t 5, Cav p 4, Equ c 3) аллергических компонентов ($r = 0,32–0,52$; $p < 0,001$; рис. 5). Отрицательные корреляции в этой группе единичны и умеренной силы (например, Mus m 4, Fel d 8) ($r = -0,32 \dots -0,41$; $p < 0,002$).

В когорте пациентов с симптомами аллергических заболеваний из г. Ростов-на-Дону также преобладали умеренные положительные связи между sIgE и sIgG для Alt a 1, Hev b 8, Phl p 1, Amb a 4, Art v 1/4, Fel d 1, Sal k 4, Ves v 5 и KLH ($r = 0,31–0,47$; $p < 0,001$; рис. 6). При этом статистически значимых отрицательных корреляций в этой группе практически не отмечено.

Обсуждение

Основные результаты исследования. Молекулярный профиль sIgE и sIgG жителей г. Сочи и г. Ростов-на-Дону формируют 2 различных региональных профиля. В обеих городских выборках Amb a 1 был значимым компонентом sIgE-сенсibilизации при

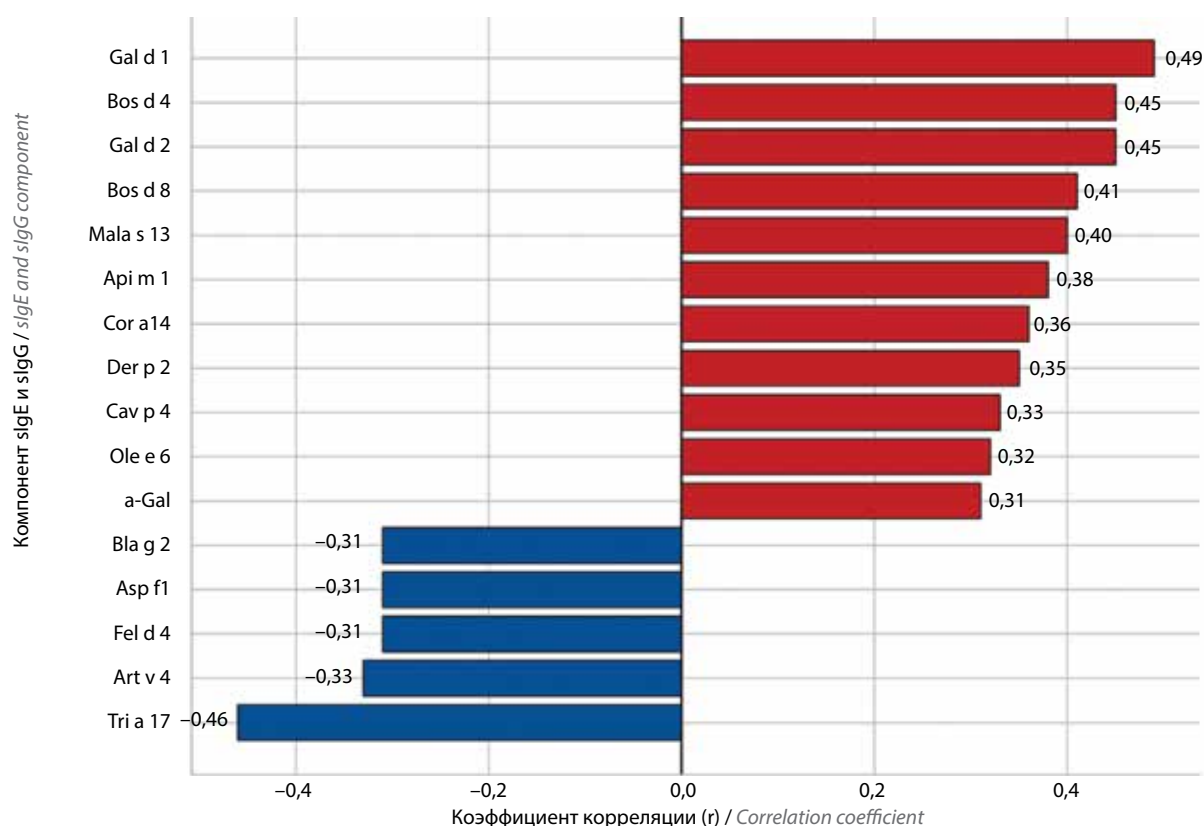


Рис. 3. Результаты корреляционного анализа связи компонентов специфических иммуноглобулинов E (sIgE) и G (sIgG) у пациентов с бессимптомной сенсibilизацией из г. Сочи

Fig. 3. Correlation analysis results of the relationship between allergen components specific immunoglobulin E (sIgE) and G (sIgG) in patients with asymptomatic sensitization from Sochi

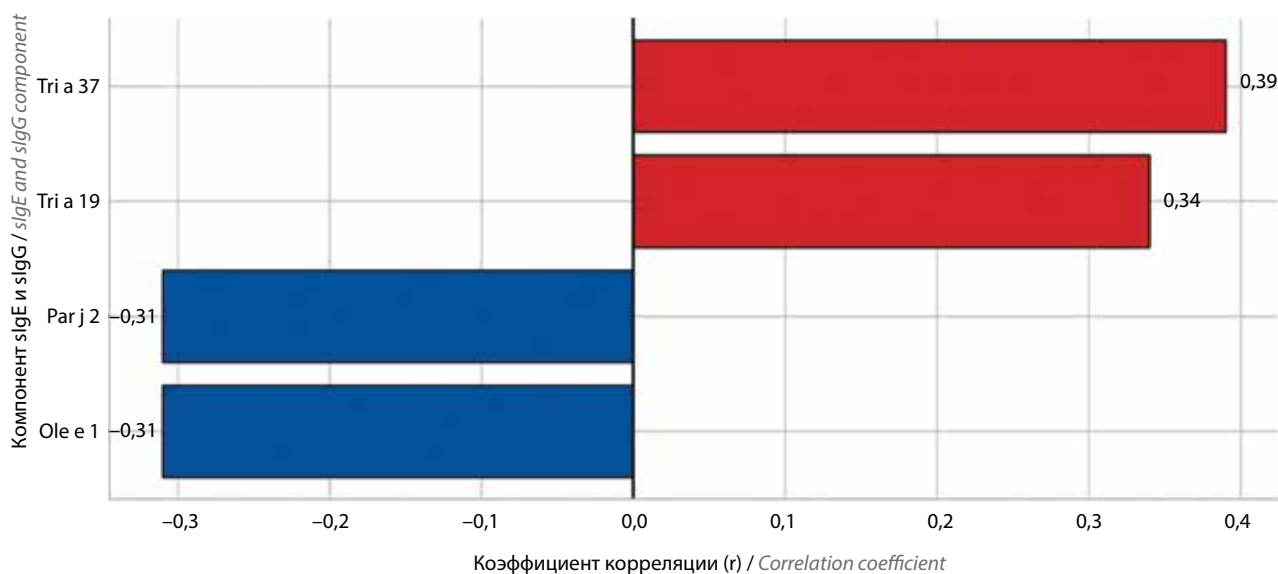


Рис. 4. Результаты корреляционного анализа связи компонентов специфических иммуноглобулинов E (sIgE) и G (sIgG) у пациентов с симптомной сенсibilизацией из г. Сочи

Fig. 4. Correlation analysis results of the relationship between allergen components specific immunoglobulin E (sIgE) and G (sIgG) in patients with symptomatic sensitization from Sochi

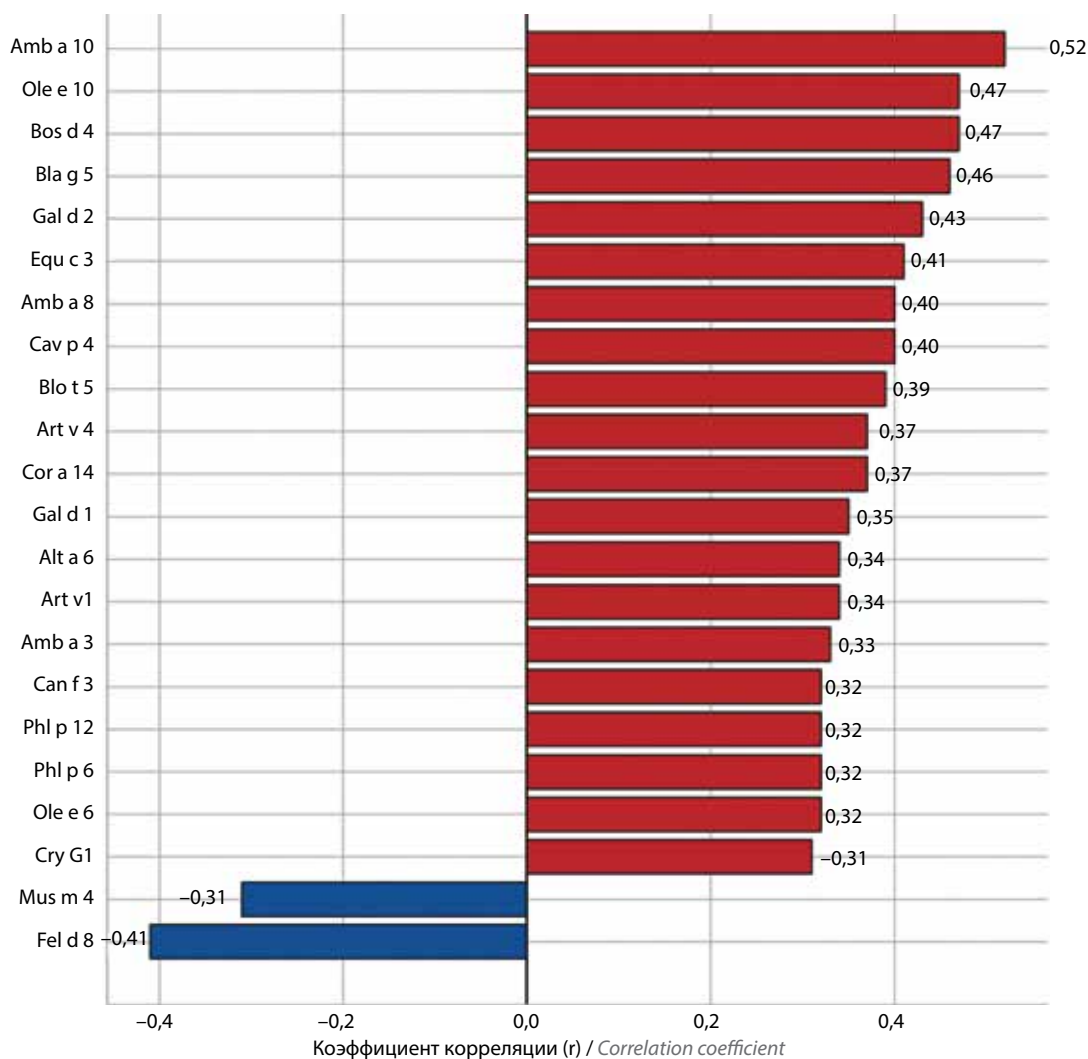


Рис. 5. Результаты корреляционного анализа связи компонентов специфических иммуноглобулинов E (sIgE) и G (sIgG) у пациентов с бессимптомной сенсibilизацией из г. Ростов-на-Дону

Fig. 5. Correlation analysis results of the relationship between allergen components specific immunoglobulin E (sIgE) and G (sIgG) in patients with asymptomatic sensitization from Rostov-on-Don

симптомах аллергических заболеваний, однако в г. Ростов-на-Дону его частота была существенно выше, чем в г. Сочи. Для г. Сочи характерно сочетание клещевых, древесно-пыльцевых, эпидермальных и PR-10-компонентов, тогда как в г. Ростов-на-Дону более выражен профиль сенсibilизации к сорным травам и злакам с участием Amb a 1, Art v 1, Phl p 1, Amb a 4/Amb a 6, Sal k 4 и Nev b 8.

Региональный профиль сенсibilизации: г. Ростов-на-Дону. Доминирование Amb a 1 в выборке г. Ростов-на-Дону (54,3 % случаев при симптомной сенсibilизации против 13,0 % случаев при бессимптомной сенсibilизации) подтверждает ведущую роль амброзии как регионально значимого источника сенсibilизации для степной зоны Нижнего Дона. Эти данные согласуются с известной клинической значимостью

пыльцы амброзии как позднелетнего аэроаллергена, ассоциированного с сезонным риноконъюнктивитом и бронхиальной астмой [7, 8]. Наличие в доминирующих позициях Amb a 4, Amb a 6, Art v 1 и Phl p 1 указывает не на один изолированный источник, а на широкий пылевой спектр, вероятно, связанный с высокой экспозицией к сорным травам и злакам.

Сочи – регион субтропической сенсibilизации.

В г. Сочи чаще всего встречались такие компоненты sIgE, как Amb a 1, Der p 2, Cry j 1, Fel d 1, Bet v 1 и Pru p 1. Наличие Der p 2, Der p 1, Der p 23 и Der p 5 согласуется с ролью клещевой экспозиции в регионе с высокой влажностью и мягким климатом. Отмечены статистически значимые различия в частоте встречаемости Der p 2 между пациентами с симптомной и бессимптомной сенсibilизацией, тогда как для

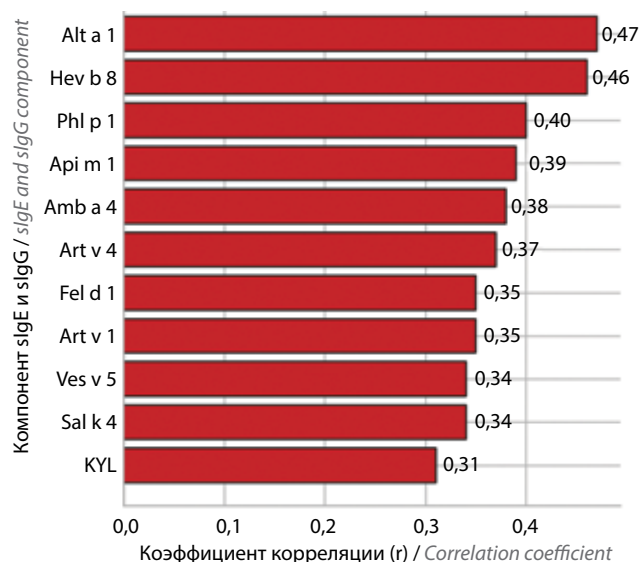


Рис. 6. Результаты корреляционного анализа связи компонентов специфических иммуноглобулинов E (sIgE) и G (sIgG) у пациентов с симптомной сенсibilизацией из г. Ростов-на-Дону

Fig. 6. Correlation analysis results of the relationship between allergen components specific immunoglobulin E (sIgE) and G (sIgG) in patients with symptomatic sensitization from Rostov-on-Don

некоторых дополнительных клещевых компонентов различия были менее выраженными, что может отражать длительный фоновый контакт с клещевыми аллергенами у некоторых лиц без текущих клинических проявлений [9].

Одновременное выявление Cry j 1, Bet v 1, Pru p 1 и Cor a 1.04 указывает на важность древесно-пыльцевых и PR-10/пищевых компонентов. Для Черноморского побережья такая структура может отражать как локальную растительную экспозицию, так и перекрестную реактивность между пыльцевыми и пищевыми молекулами. Поэтому компонентный профиль пациентов г. Сочи особенно важен для разграничения первичной сенсibilизации, перекрестной реактивности и клинически значимых пищевых симптомов [10].

Паналлергены и перекрестная реактивность. Nev b 8, выявленный у 22,8 % пациентов с симптомной сенсibilизацией из г. Ростов-на-Дону и у 4 % пациентов с бессимптомной сенсibilизацией, требует осторожной клинической трактовки. Профилины относятся к паналлергенам, а положительный тест на них может сопровождать широкую пыльцевую сенсibilизацию и не обязательно указывает на самостоятельную аллергию к латексу. Напротив, Sal k 4, также встречавшийся у 22,8 % больных с симптомами аллергии из г. Ростов-на-Дону, скорее, поддерживает значимость маревых/амарантовых растений как регионального источника позднелетней пыльцевой экспозиции. Разделение первичных маркеров и паналлергенов является ключевым условием корректной интерпретации мультиплексной диагностики [11, 12].

α -Gal и границы интерпретации sIgG. Положительные результаты определения sIgG к α -Gal у symptomatic участников из г. Ростов-на-Дону и высокая частота sIgG к α -Gal у бессимптомных участников из г. Сочи представляют интерес как характеристика серологического профиля. Синдром α -Gal является IgE-опосредованным состоянием, обычно связанным с укусами клещей и отсроченными реакциями на продукты млекопитающих, поэтому изолированный sIgG-сигнал не должен использоваться для установления диагноза [13]. В рамках настоящего исследования α -Gal следует рассматривать как маркер возможной антигенной экспозиции и основание для последующего клинического анкетирования, включающего укусы клещей, употребление мясных и молочных продуктов и отсроченные реакции.

Корреляция sIgE с sIgG. Профиль sIgG в обеих городских выборках не повторял профиль sIgE. Доминирующие позиции sIgG заняли пищевые, перекрестно-реактивные и экспозиционные компоненты, некоторые из них часто встречались и у лиц с бессимптомной сенсibilизацией. Корреляционный анализ выявил 2 типа отношений между sIgE и sIgG: положительные связи, вероятно, отражающие параллельный иммунный ответ на один источник аллергена, и отрицательные связи, при которых высокий уровень одного компонента сочетается с более низким уровнем другого. Такую биологическую картину нельзя однозначно интерпретировать как наличие IgG4-блокирующих антител, поскольку в наборе данных определялся суммарный sIgG без разделения на субклассы [3].

Практическое значение полученных данных для клинической интерпретации результатов лабораторной диагностики и аллерген-специфической иммунотерапии. Полученные данные имеют прикладное значение для отбора причинно-значимых аллергенов и планирования аллерген-специфической иммунотерапии. Для г. Ростов-на-Дону приоритетным направлением клинической проверки являются Amb a 1/Amb a 4/Amb a 6, Art v 1, Phl p 1, Sal k 4 и Hev b 8, а для г. Сочи — Der p 1/Der p 2/Der p 23/Der p 5, Amb a 1, Cry j 1, Bet v 1/Pru p 1 и Fel d 1. При этом решение об аллерген-специфической иммунотерапии должно основываться не на положительном результате лабораторной диагностики, а на согласованности компонента с анамнезом, сезонностью симптомов, данными экспозиции и клинической значимостью источника аллергена [14, 15].

В совокупности результаты исследования поддерживают концепцию регионально адаптированной молекулярной алергодиагностики: один и тот же набор компонентов позволяет выявлять разные клинически значимые паттерны в двух географически близких, но экологически контрастных городах.

Такой подход соответствует целям проекта «АллергочипРФ» и может быть масштабирован на другие территории Российской Федерации для построения карты молекулярной сенсibilизации.

Ограничения исследования. Исследование имеет несколько ограничений. Во-первых, одномоментный ретроспективный дизайн исключает установление причинно-следственных связей между профилем сенсibilизации и тяжестью клинических проявлений. Во-вторых, включение в исследование пациентов, получавших лечение в специализированных медицинских центрах, может смещать выборку в сторону лиц с более выраженными аллергологическими жалобами и не позволяет напрямую оценить популяционную распространенность сенсibilизации. В-третьих, в обезличенных исходных данных отсутствовали подробные сведения о сезонности симптомов, терапии, контакте с животными, диетических привычках, укусах клещей, миграции и длительности проживания в регионе. В-четвертых, sIgG определяли суммарно, без разделения на субклассы (IgG1/IgG4), что ограничивает функциональную интерпретацию возможных блокирующих антител и иммунологической толерантности. Наконец, в-пятых, бинаризация результатов облегчает сравнение частот, но не заменяет клиническую оцен-

ку количественных уровней антител и диагностической значимости порогов.

Заключение

Молекулярные профили sIgE-реактивности пациентов г. Сочи и г. Ростов-на-Дону различаются. В г. Сочи у участников исследования с симптомами аллергии чаще всего выявляли Amb a 1, Der p 2, Cry j 1, Fel d 1, Bet v 1 и Pru p 1, что отражает смешанный профиль пылевой, клещевой, эпидермальной и PR-10-реактивности. У пациентов г. Ростов-на-Дону преобладал профиль sIgE-сенсibilизации к аллергенам сорных трав и злаковых растений с доминированием Amb a 1, Art v 1, Phl p 1, Amb a 4 и Amb a 6. Компоненты Sal k 4 и Hev b 8 представляли дополнительный интерес как потенциально клинически значимые маркеры, требующие сопоставления с клинико-анамнестическими данными. Профиль sIgG не воспроизводил структуру sIgE-сенсibilизации; его следует рассматривать как дополнительную характеристику антигенной экспозиции и иммунного ответа, но не как самостоятельное подтверждение клинической аллергии. Полученные данные подтверждают необходимость регионально адаптированной молекулярной аллергодиагностики и дальнейшей клинической валидации выявленных паттернов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Kazancioglu A., Huang H., Aksakal S. et al. Molecular IgE reactivity profiling with micro-arrayed allergens reveals distinct interregional patterns of sensitization and a hypoallergenic region in Türkiye. *Allergy* 2026;81(4):1247–64. DOI: 10.1111/all.70145
- Kiewiet M.B.G., Lupinek C., Vrtala S. et al. A molecular sensitization map of European children reveals exposome- and climate-dependent sensitization profiles. *Allergy* 2023;78(7):2007–18. DOI: 10.1111/all.15689
- Shi L., Xiong P., Yang M. et al. Role of IgG4 antibodies in human health and disease. *Cells* 2025;14(9):639. DOI: 10.3390/cells14090639
- Козлов Е.М., Трифонова Д.Р., Рябова К.А. и др. Молекулярный профиль сенсibilизации к аллергенам собаки: диагностика с использованием «АллергочипРФ». *Имунопатология, аллергология и инфектология* 2025;1:59–67. DOI: 10.14427/jipai.2025.1.59
- Kozlov E.M., Trifonova D.R., Ryabova K.A. et al. Molecular profile of sensitization to dog allergens: diagnostics using the “AllergochipRF” platform. *Immunopatologiya, allergologiya i infekctologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology* 2025;1:59–67. (In Russ.). DOI: 10.14427/jipai.2025.1.59
- Huang H., Breyer-Kohansal R., Niespodziana K. et al. Molecular IgE sensitization profiling with micro-arrayed allergen molecules in adult patients with asthma from the <sc>LEAD</sc> cohort: a precision medicine approach. *Allergy* 2026;81(1):130–44. DOI: 10.1111/all.70017
- Kozlov E.M., Trifonova D.R., Riabova K.A. et al. Assessment of specific IgE levels to major allergens fel d 1 and can f 1 using the AllergochipRF and ImmunoCAP diagnostic platforms. *Bull Exp Biol Med* 2025;180(1):63–6. DOI: 10.1007/s10517-026-06581-5
- Chen K.-W., Marusciac L., Tamas P.T. et al. Ragweed pollen allergy: burden, characteristics, and management of an imported allergen Source in Europe. *Int Arch Allergy Immunol* 2018;176(3–4):163–80. DOI: 10.1159/000487997
- Bonini M., Monti G.S., Pelagatti M.M. et al. Ragweed pollen concentration predicts seasonal rhino-conjunctivitis and asthma severity in patients allergic to ragweed. *Sci Rep* 2022;12(1):15921. DOI: 10.1038/s41598-022-20069-y
- Choina M., Kowal K., Markut-Miotła E., Majsiak E. Dermatophagoides pteronyssinus proteins and their role in the diagnostics and management of house dust mite allergy: exploring allergenic components. *Postepy Dermatol Allergol* 2024;41(4):339–49. DOI: 10.5114/ada.2024.142390
- Popescu F.-D. Cross-reactivity between aeroallergens and food allergens. *World J Methodol* 2015;5(2):31. DOI: 10.5662/wjm.v5.i2.31

11. Scala E., Alessandri C., Palazzo P. et al. IgE recognition patterns of profilin, PR-10, and tropomyosin panallergens tested in 3,113 allergic patients by allergen microarray-based technology. *PLoS One* 2011;6(9):e24912. DOI: 10.1371/journal.pone.0024912
12. Izmailovich M., Semenova Y., Abdushukurova G. et al. Molecular aspects of allergen-specific immunotherapy in patients with seasonal allergic rhinitis. *Cells* 2023;12(3):383. DOI: 10.3390/cells12030383
13. Wilson J.M., Erickson L., Levin M. et al. Tick bites, IgE to galactose- α -1,3-galactose and urticarial or anaphylactic reactions to mammalian meat: the alpha-gal syndrome. *Allergy* 2024;79(6):1440–54. DOI: 10.1111/all.16003
14. Dramburg S., Hilger C., Santos A.F. et al. EAACI molecular allergology user's guide 2.0. *Pediatr Allergy Immunol* 2023;34(28):e13854. DOI: 10.1111/pai.13854.
15. Filep S.C., Tilles S., Chapman M.D. Allergen deficiencies in a commonly used protocol for peanut oral immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol* 2025;156(5):1424–6. DOI: 10.1016/j.jaci.2025.06.013

Вклад авторов

А.Д. Душкин: написание текста статьи, редактирование;

А.А. Дубовец, Д.Р. Бохинова (Трифопова): экспрессия рекомбинантных аллергенов, их очистка и характеристика, анализ сывороток с использованием аллергочипов, обработка исходных данных микрочипа, структурирование сводных данных;

Е.М. Козлов, А.А. Баскаков: экспрессия рекомбинантных аллергенов, их очистка и характеристика, анализ сывороток с использованием аллергочипов;

А.М. Винцевская, А.Д. Лукашевичус: экспрессия рекомбинантных аллергенов, их очистка и характеристика, анализ сывороток пациентов с использованием аллергочипов, обработка исходных данных микрочипа;

Г.С. Чернышова, И.Ф. Шлык: отбор и анкетирование пациентов, предоставление биологического материала для исследования;

Н.Л. Бондаренко, А.Ю. Нуртазина, И.В. Евсегнеева, А.В. Карсонова: анализ данных, редактирование;

А.В. Караулов: разработка концепции исследования, верификация данных, формальный анализ, написание текста статьи, редактирование, руководство проектом.

Author's contributions

A.D. Dushkin: article writing, editing;

A.A. Dubovets, D.R. Bohirova (Trifonova): expression of recombinant allergens, their purification and characterization, analysis of sera using allergochips, processing of initial microchip data, structuring of summary data;

E.M. Kozlov, A.A. Baskakov: expression of recombinant allergens, their purification and characterization, analysis of sera using allergy chips;

A.M. Vintsevskaia, A.D. Lukashevichus: expression of recombinant allergens, their purification and characterization, analysis of patient sera using allergy chips, processing of initial microchip data;

G.S. Chernyshova, I.F. Shlyk: selection and questioning of patients, provision of biological material for research;

N.L. Bondarenko, A.Yu. Nurtazina, I.V. Evsegneeva, A.V. Karsonova: data analysis, editing;

A.V. Karaulov: development of the research concept, data verification, formal analysis, article writing, editing, project management.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.Д. Душкин / A.D. Dushkin: <https://orcid.org/0000-0002-8013-5276>

А.А. Дубовец / A.A. Dubovets: <https://orcid.org/0000-0002-9804-4364>

Д.Р. Бохинова (Трифопова) / D.R. Bokhirova (Trifonova): <https://orcid.org/0009-0002-4305-0529>

Е.М. Козлов / E.M. Kozlov: <https://orcid.org/0000-0001-6244-1088>

А.М. Винцевская / A.M. Vintsevskaia: <https://orcid.org/0009-0001-6924-5597>

А.Д. Лукашевичус / A.D. Lukashevichus: <https://orcid.org/0009-0009-2254-3608>

А.А. Баскаков / A.A. Baskakov: <https://orcid.org/0009-0000-8996-505X>

Г.С. Чернышова / G.S. Chernyshova: <https://orcid.org/0009-0009-0134-073X>

И.Ф. Шлык / I.F. Shlyk: <https://orcid.org/0000-0003-2193-7372>

Н.Л. Бондаренко / N.L. Bondarenko: <https://orcid.org/0000-0002-4111-1175>

А.Ю. Нуртазина / A.Yu. Nurtazina: <https://orcid.org/0000-0002-2337-3307>

А.В. Карсонова / A.V. Karsonova: <https://orcid.org/0000-0002-8697-9816>

И.В. Евсегнеева / I.V. Evsegneeva: <https://orcid.org/0000-0002-6624-1363>

А.В. Караулов / A.V. Karaulov: <https://orcid.org/0000-0002-1930-5424>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено при поддержке Российского научного фонда (грант № 23–75–30016 «Оценка профилей аллергической сенсибилизации в Российской Федерации на основе микрочипов аллергенов как основа для персонализированного лечения и профилактики аллергии (АллергочипРФ)», 2023–2026 гг.).

Funding. The investigation was supported by the Russian Science Foundation through (grant No. 23-75-30016 “Allergen micro-array-based assessment of allergic sensitization profiles in the Russian Federation as basis for personalized treatment and prevention of allergy (AllergochipRUS)”, 2023–2026).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по этике ООО «Клиника Екатерининская Сочи» (протокол № 5 от 26.05.2023) и локальным независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 9/23 от 27.04.2023).

Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the ethics committee of Klinika Ekaterinskaya Sochi LLC (Protocol No. 5, May 26, 2023) and by the local independent ethics committee of Rostov State Medical University, Ministry of Health of the Russia (protocol No. 9/23, April 27, 2023).

All participants provided written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 26.06.2026. Принята в печать: 28.08.2026. Опубликовано онлайн: 05.10.2026.

Article submitted: 26.06.2026. Accepted for publication: 28.08.2026. Published online: 05.10.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-59-69>

Молекулярная IgE-сенсibilизация к аллергенам кошки и собаки с учетом кросс-реактивных молекул: многоцентровое исследование в Российской Федерации

Е.М. Козлов^{1,2}, А.А. Дубовец^{1,2}, Д.Р. Бохинова^{1,2}, А.М. Винцевская^{1,2}, А.Д. Лукашевичус^{1,2},
А.А. Баскаков^{1,2}, И.В. Евсегнеева¹, А.Ю. Нуртазина¹, Н.Л. Бондаренко¹, А.В. Караулов^{1,2}

¹ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119048 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

²Лаборатория иммунологии и инфектологии, Научный центр LIFT (Life Improvement by Future Technologies); Россия, 121205 Москва, Большой бульвар, 30, стр. 1

Контакты: Евгений Максимович Козлов kozlov_e_m@staff.sechenov.ru

Введение. Сенсibilизация к аллергенам кошки и собаки широко распространена среди пациентов с аллергическими заболеваниями. Молекулярная алергодиагностика позволяет оценить реактивность к отдельным аллергенным компонентам и детализировать ее структуру, однако данные о таких молекулярных профилях у пациентов из разных регионов Российской Федерации остаются ограниченными.

Цель исследования – охарактеризовать молекулярные профили IgE-реактивности к аллергенам кошки и собаки с учетом потенциально кросс-реактивных молекулярных аллергенов лошади, крысы и мыши в многоцентровой российской когорте и выделить основные варианты сочетанной IgE-реактивности.

Материалы и методы. В многоцентровое поперечное исследование вошли 741 пациент из городов Москва, Сочи, Владивосток, Екатеринбург, Санкт-Петербург, Ростов-на-Дону, Саратов и Уфа. У всех участников регистрировали клинично-демографические данные и основные проявления аллергических заболеваний. Концентрации аллерген-специфических IgE определяли с помощью микрочипа, включающего аллергены Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 4, Can f 5, Can f 6, Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4, Fel d 7, Equ c 1, Equ c 3, Mus m 1 и Rat n 1.

Результаты. IgE-реактивность к Fel d 1 выявлена у 344 (46,4 %) из 741 пациента, что подтверждает ведущую роль этого компонента в структуре сенсibilизации к аллергенам кошки. Среди аллергенов собаки чаще всего распознавались Can f 5 (26,9 % случаев), Can f 1 (23,6 % случаев), Can f 6 (18,6 % случаев) и Can f 4 (15,0 % случаев), что указывает на выраженную молекулярную неоднородность сенсibilизации к аллергенам этого животного. Межрегиональный анализ выявил различия в профилях сенсibilизации; наиболее широкий спектр IgE-реактивности отмечен у пациентов из г. Москва. На основании сочетаний Fel d 1, Can f 5, Can f 4 и липокалинов выделены 5 вариантов молекулярной IgE-реактивности к аллергенам кошки и собаки.

Заключение. Сенсibilизация к аллергенам пушных животных в российской многоцентровой когорте характеризуется выраженной молекулярной и региональной неоднородностью. Выделенные профили IgE-реактивности могут использоваться для более точной интерпретации компонентной алергодиагностики и предварительной оценки пациентов перед выбором аллерген-специфической иммунотерапии.

Ключевые слова: молекулярная диагностика, иммуноглобулин E, IgE-сенсibilизация, сенсibilизация к аллергенам кошки, сенсibilизация к аллергенам собаки, кросс-реактивность

Для цитирования: Козлов Е.М., Дубовец А.А., Бохинова Д.Р. и др. Молекулярная IgE-сенсibilизация к аллергенам кошки и собаки с учетом кросс-реактивных молекул: многоцентровое исследование в Российской Федерации. 2026;25(3):59–69.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-59-69>

Molecular IgE sensitization to cat and dog allergens with accounting for cross-reactive molecules: a multicenter study in the Russian Federation

Evgeniy M. Kozlov^{1,2}, Alexandra A. Dubovets^{1,2}, Daria R. Bokhirova^{1,2}, Anastasia M. Vintsevskaya^{1,2}, Anastasia D. Lukashevichus^{1,2}, Alexey A. Baskakov^{1,2}, Irina V. Evsegneeveva¹, Asel Yu. Nurtazina¹, Natalia L. Bondarenko¹, Alexander V. Karaulov^{1,2}

¹I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Bld. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119048, Russia;

²Laboratory of Immunology and Infectology, LIFT (Life Improvement by Future Technologies) Research Center; Bld. 1, 30 Bolshoy Bulvar, Moscow 121205, Russia

Contacts: Evgeniy Maksimovich Kozlov kozlov_e_m@staff.sechenov.ru

Background. Sensitization to cat and dog allergens is common among patients with allergic diseases. Molecular allergy diagnostics allows assessment of reactivity to individual allergenic components and more detailed characterization of its molecular pattern. However, data on such profiles in patients from different regions of the Russian Federation remain limited.

Aim. To characterize molecular patterns of IgE reactivity to cat and dog allergens, with consideration of potentially cross-reactive molecular allergens from horse, rat, and mouse, in a multicenter Russian cohort, and to define the major patterns of combined IgE reactivity.

Materials and methods. This multicenter cross-sectional study included 741 patients from Moscow, Sochi, Vladivostok, Ekaterinburg, St. Petersburg, Rostov-on-Don, Saratov and Ufa. Clinical and demographic data and the main manifestations of allergic diseases were recorded for all participants. Concentrations of allergen-specific IgE were determined using a microarray panel including Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 4, Can f 5, Can f 6, Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4, Fel d 7, Equ c 1, Equ c 3, Mus m 1 and Rat n 1.

Results. IgE reactivity to Fel d 1 was detected in 344 of 741 (46.4 %) patients, confirming the leading role of this component in the sensitization profile to cat allergens. Among dog allergens, Can f 5 (26.9 % of cases), Can f 1 (23.6 % of cases), Can f 6 (18.6 % of cases), and Can f 4 (15.0 % of cases) were the most frequently recognized, indicating pronounced molecular heterogeneity of sensitization to dog allergens. Interregional analysis revealed differences in sensitization profiles, with the broadest spectrum of IgE reactivity observed in patients from Moscow. Based on combinations of Fel d 1, Can f 5, Can f 4, and lipocalins, five patterns of molecular IgE reactivity to cat and dog allergens were identified.

Conclusion. Sensitization to mammalian allergens in the Russian multicenter cohort is characterized by pronounced molecular and regional heterogeneity. The identified IgE reactivity profiles may be used for more accurate interpretation of component-resolved diagnostics and preliminary assessment of patients before considering allergen-specific immunotherapy.

Keywords: molecular diagnostics, immunoglobulin E, IgE sensitization, sensitization to cat allergens, sensitization to dog allergens, cross-reactivity

For citation: Kozlov E.M., Dubovets A.A., Bokhirova D.R. et al. Molecular IgE sensitization to cat and dog allergens with accounting for cross-reactive molecules: a multicenter study in the Russian Federation. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(3):59–69. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-59-69>

Введение

Аллергия на кошку и собаку относится к наиболее распространенным формам опосредованной иммуноглобулином E (IgE) сенсibilизации к аллергенам млекопитающих и ассоциирована с аллергическим риноконъюнктивитом, бронхиальной астмой и атопическим дерматитом [1, 2]. Внедрение молекулярной алергодиагностики, включающей использование мультиплексных платформ на основе микрочипов, позволило перейти к более детальной характеристике профилей сенсibilизации и определить вклад отдельных молекулярных аллергенов [3].

Накопленные данные показывают, что молекулярная структура сенсibilизации к аллергенам кошки и собаки различна. Мажорным компонентом при аллергии на кошку является Fel d 1, который определяется у большинства пациентов с сенсibilизацией и рассматривается как основной маркер IgE-реактивности [4]. В свою очередь, сенсibilизация к аллергенам собаки характеризуется молекулярной неоднородностью, поскольку специфические IgE

распознают комбинации молекулярных аллергенов Can f 1, Can f 2, Can f 4, Can f 5 и Can f 6, и вклад отдельных компонентов различается у разных пациентов [5]. Среди аллергенов собаки выделяют Can f 5 — простатический калликреин, который у некоторых больных формирует преобладающую или изолированную IgE-реактивность [6, 7].

Результаты исследований на основе микрочипов, содержащих аллергены кошки, собаки и лошади, показали, что IgE-сенсibilизация к пушным животным может иметь как видоспецифический, так и перекрестный характер. Это связано прежде всего с наличием у разных видов млекопитающих гомологичных аллергенов, таких как липокалина и сывороточные альбумины, которые могут распознаваться IgE-антителами одного и того же пациента [8–10]. Для более полной оценки возможной перекрестной IgE-реактивности молекулярные панели могут включать аллергены других млекопитающих, принадлежащие к тем же белковым семействам. В настоящем исследовании дополнительно проанализированы аллергены

лошади Equ с 1 и Equ с 3, мыши Mus m 1 и крысы Rat n 1. Equ с 1, Mus m 1 и Rat n 1 относятся к семейству липокалинов, тогда как Equ с 3 является сывороточным альбумином. Включение этих молекул в состав панели микрочипа позволяет оценить более широкий спектр IgE-реактивности к гомологичным аллергенам млекопитающих и учесть возможный вклад перекрестного распознавания при интерпретации профилей сенсibilизации.

В крупных когортных и популяционных исследованиях с использованием микрочипов Fel d 1 относится к числу наиболее значимых ингаляционных аллергенов, тогда как частота и структура IgE-реактивности к аллергенам собаки варьируют в зависимости от когорт и регионов [11–13]. Для Российской Федерации такие данные остаются ограниченными в связи с тем, что географическая и климатическая неоднородность может существенно влиять на характер аллергенной экспозиции и структуру сенсibilизации.

Цель исследования — охарактеризовать молекулярные профили IgE-реактивности к аллергенам кошки и собаки с учетом потенциально кросс-реактивных молекулярных аллергенов лошади, крысы и мыши в многоцентровой российской когорте и выделить основные варианты сочетанной IgE-реактивности.

Материалы и методы

Проведено многоцентровое поперечное наблюдательное исследование пациентов с симптомами аллергических заболеваний. Оно было направлено на изучение IgE-реактивности к молекулярным аллергенам кошки и собаки, а также кросс-реактивным аллергенам других пушных животных. Набор пациентов выполняли в 2023 г. в 8 городах Российской Федерации: Москве, Сочи, Владивостоке, Екатеринбурге, Санкт-Петербурге, Ростове-на-Дону, Саратове и Уфе. В исследование включены пациенты, обратившиеся за медицинской помощью по поводу симптомов аллергических заболеваний и подписавшие информированное добровольное согласие на участие в нем. Протокол исследования и формы информированного согласия были одобрены локальными этическими комитетами учреждений каждого исследованного региона.

Забор крови, аликвотирование, транспортировку и хранение сывороток выполняли в соответствии с принципами надлежащей клинической практики. Анализ сывороток проводили в обезличенном формате. Клинико-демографические данные пациентов, включавшие возраст, пол, а также симптомы аллергического риноконъюнктивита, бронхиальной астмы и кожных проявлений, регистрировали с использованием адаптированного опросника на основе международного исследования астмы и аллергии у детей

(International Study of Asthma and Allergies in Childhood), дополненного клиническими блоками для уточнения анамнеза и характера симптомов. Для бронхиальной астмы дополнительно регистрировали сведения о базисной ингаляционной терапии и частоте приступов. Диагностику астмы в клинических центрах проводили в соответствии с рекомендациями Глобальной инициативы по борьбе с астмой (Global Initiative for Asthma).

Концентрацию аллерген-специфических IgE определяли с помощью микрочипа, включавшего панель рекомбинантных молекулярных аллергенов собаки (Can f 1, Can f 2, Can f 3, Can f 4, Can f 5, Can f 6), кошки (Fel d 1, Fel d 2, Fel d 4, Fel d 7), лошади (Equ с 1, Equ с 3), мыши (Mus m 1) и крысы (Rat n 1). Аллергенные молекулы и контрольные точки наносили на предметные стекла с 6 аналитическими зонами в эпоксидной рамке (Paul Marienfeld GmbH and Co. KG, Lauda Königshofen, Германия). Поверхность стекол предварительно модифицировали аминореактивным полимером MCP 2 (Lucidant Polymers, Sunnyvale, США), обеспечивающим ковалентную иммобилизацию белков.

Печать выполняли на автоматическом принтере микрочипов SciFlex Arrayer (Scienion AG, Германия). Аллергены и контрольные точки готовили в фосфатном буфере ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, pH 8,4) и наносили в 3 повторах в каждую аналитическую зону. После печати стекла инкубировали во влажной камере для стабилизации иммобилизованных белков. Затем проводили блокирование неспецифических центров связывания фосфатным буфером с добавлением Tween 20. После блокирования микрочипы герметизировали жидким запечатывающим реагентом (CANDOR Bioscience GmbH, Германия), высушивали центрифугированием и хранили при 4 °C до использования. Перед проведением анализа микрочипы промывали фосфатным буфером с Tween 20 и высушивали центрифугированием.

В каждую аналитическую зону вносили 30 мкл неразбавленной сыворотки и инкубировали в течение 2 ч при комнатной температуре. В каждую серию включали отрицательный контроль на основе разбавителя образцов (Thermo Fisher Scientific, Waltham, США) и калибровочную сыворотку для контроля над межсерийной сопоставимостью результатов. После инкубации с сывороткой микрочипы отмывали и инкубировали 30 мин в темноте с мышинными моноклональными антителами к IgE человека (Roche, Швейцария), меченными флуорофором DyLight 550 2xPEG NHS Ester (Thermo Fisher Scientific, США), в конечной концентрации 1 мкг/мл. После заключительной отмывки микрочипы высушивали центрифугированием и сканировали на флуоресцентном сканере CapitalBio LuxScan 10K A (CapitalBio, Китай).

Изображения микрочипов анализировали с использованием программного обеспечения МАРИХ v. 5.0 (Innporsys, Франция). Для каждого аллергена рассчитывали интенсивность флуоресцентного сигнала, соответствующую связыванию специфических иммуноглобулинов Е (IgE). Полученные значения нормировали относительно сигнала разбавителя образцов. Калибровочную IgE-сыворотку использовали для построения линейной зависимости и перевода флуоресцентных сигналов в стандартизованные единицы ISU-E. Положительным считали результат $\geq 0,1$ ISU-E. Для описания выраженности IgE-реактивности положительные значения распределяли по 3 диапазонам: низкий уровень — от 0,1 до 1,0 ISU-E, умеренный — от 1,0 до 15 ISU-E, высокий — >15 ISU-E.

Результаты

Клинико-демографическая характеристика исследуемой когорты. В исследование включена многоцентровая когорта пациентов с симптомами аллергических заболеваний из 8 городов Российской Федерации. Демографические и клинические характеристики когорты представлены в табл. 1. Проанализированы сыворотки 741 пациента, из них 422 женщины и 319 мужчин. Средний возраст пациентов составил 39,1 года: мужчин — 38,5 года, женщин — 39,6 года. Симптомы аллергического риноконъюнктивита выявлены у 564 (76,1 %) из 741 больных,

симптомы бронхиальной астмы — у 236 (31,8 %), кожные проявления — у 154 (20,8 %).

С учетом возможности одновременного наличия нескольких клинических проявлений у 1 пациента данные признаки анализировали как неавтоисключающие. Сочетание 2 и более проявлений аллергического заболевания наблюдалось у 255 (34,4 %) пациентов. Наиболее часто встречалась комбинация риноконъюнктивита и бронхиальной астмы, выявленная у 194 (26,2 %) больных. Одновременное наличие риноконъюнктивита, бронхиальной астмы и кожных проявлений зарегистрировано у 36 (4,9 %) пациентов. Наиболее высокая частота риноконъюнктивита и бронхиальной астмы зарегистрирована в г. Москве (100 и 67,3 % соответственно). Кожные проявления чаще всего отмечались у пациентов из г. Санкт-Петербург (35,4 % случаев).

IgE-реактивность к молекулярным аллергенам кошки, собаки и других пушных животных. С помощью анализа на основе микрочипа оценена концентрация аллерген-специфических антител к молекулярным аллергенам пушных животных. Пороговым значением положительного сигнала считали $\geq 0,1$ ISU-E. Наиболее часто встречающимся аллергеном в исследуемой когорте был Fel d 1. IgE к Fel d 1 выявлены у 344 (46,4 %) из 741 пациента. Среди аллергенов собаки чаще всего распознавались Can f 5 (199/741; 26,9 % случаев), Can f 1 (175/741; 23,6 % случаев),

Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика пациентов

Table 1. Clinical and demographic characteristics of patients

Показатель Parameter	Москва Moscow	Сочи Sochi	Владивосток Vladivostok	Екатеринбург Ekaterinburg	Санкт-Петербург Saint Petersburg	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	Саратов Saratov	Уфа Ufa
Число пациентов, <i>n</i> Number of patients, <i>n</i>	101	91	76	96	99	92	86	100
Средний возраст, лет Average age, years	40,2	43,0	35,3	39,1	40,2	37,5	36,6	40,6
Пол, <i>n</i> (%): Gender, <i>n</i> (%)								
мужской male	51 (50,5)	25 (27,5)	38 (50,0)	37 (38,5)	40 (40,4)	40 (43,5)	38 (44,2)	50 (50,0)
женский female	50 (49,5)	66 (72,5)	38 (50,0)	59 (61,5)	59 (59,6)	52 (56,5)	48 (55,8)	50 (50,0)
Ринит/конъюнктивит, <i>n</i> (%) Rhinitis/conjunctivitis, <i>n</i> (%)	101 (100)	68 (74,7)	50 (65,8)	54 (56,2)	57 (57,6)	89 (96,7)	66 (76,7)	79 (79,0)
Дерматит, <i>n</i> (%) Dermatitis, <i>n</i> (%)	16 (15,8)	12 (13,2)	21 (27,6)	13 (13,5)	35 (35,4)	19 (20,7)	21 (24,4)	17 (17,0)
Астма, <i>n</i> (%) Asthma, <i>n</i> (%)	68 (67,3)	12 (13,2)	14 (18,4)	27 (28,1)	37 (37,4)	19 (20,7)	23 (26,7)	36 (36,0)

Can f 6 (138/741; 18,6 % случаев) и Can f 4 (111/741; 15,0 % случаев). Среди других аллергенов кошки чаще всего выявлялась реактивность к Fel d 7 (178/741; 24,0 % случаев) и Fel d 4 (154/741; 20,8 % случаев). IgE-реактивность к сывороточным альбуминам Can f 3, Fel d 2 и Equ c 3 встречалась реже и составляла 13,5; 11,6 и 11,1 % соответственно. Реактивность к аллергенам других пушных животных также была выявлена у некоторых пациентов: Equ c 1 — у 14,2 %, Mus m 1 — у 9,6 % и Rat n 1 — у 8,2 %.

При стратификации пациентов по клиническим проявлениям основные распознаваемые компоненты оставались сходными во всех группах. У пациентов с аллергическим риноконъюнктивитом чаще всего обнаруживали IgE к Fel d 1 (48,9 % случаев), Can f 5 (28,9 % случаев), Can f 1 (25,2 % случаев) и Fel d 7 (24,5 % случаев). У больных с кожными проявлениями в основном выявляли Fel d 1 (45,5 % случаев), Fel d 7 (27,9 % случаев), Can f 1 (26,6 % случаев) и Can f 5 (24,7 % случаев). В группе бронхиальной астмы частота IgE-реактивности к большинству ведущих компонентов, включая Fel d 1 (58,9 %), Can f 5 (39,8 %), Can f 1 (36,4 %), Fel d 4 (30,9 %) и Fel d 7 (29,2 %), была выше.

Таким образом, клинические группы не различались по спектру ведущих распознаваемых молекулярных компонентов, однако у пациентов с бронхиальной астмой IgE-реактивность к аллергенам кошки и собаки регистрировали чаще.

Межрегиональная вариабельность IgE-реактивности к молекулярным аллергенам пушных животных. При сравнении региональных групп выявлены выраженные различия IgE-реактивности к молекулярным аллергенам пушных животных. Данные различия определялись не только частотой положительных результатов, но и уровнем IgE-реактивности к отдельным аллергенам. На рис. 1 представлена частота распознавания отдельных молекулярных аллергенов в каждом городе по диапазонам значений ISU-E. Индивидуальные уровни IgE к каждому аллергену в региональных группах представлены на рис. 2.

Наиболее высокая частота IgE-реактивности к большинству аллергенов панели выявлена у пациентов из г. Москвы. В этой группе Fel d 1 был выявлен у 78,2 % больных, Can f 1 — у 53,5 %, Can f 5 — у 50,5 %, Can f 6 — у 45,5 %, Fel d 4 — у 44,6 %, Fel d 7 — у 52,5 %. Кроме того, у пациентов г. Москвы чаще, чем у пациентов из других городов, определялись IgE к аллергенам лошади, мыши и крысы. У больных из г. Санкт-Петербурга также отмечалась высокая частота распознавания ряда компонентов кошки и собаки: Fel d 1 — у 53,5 %, Can f 1 — у 35,4 %, Can f 5 — у 35,4 %, Fel d 4 — у 27,3 %, Fel d 7 — у 31,3 %. Наиболее низкая IgE-реактивность к большинству аллергенов панели наблюдалась у пациентов из

г. Ростова-на-Дону и г. Владивостока. В этих городах IgE к аллергенам кошки и собаки выявлялись реже, а реактивность к молекулярным аллергенам лошади, мыши и крысы была минимальной. Когорты пациентов из городов Екатеринбург, Саратов и Уфа занимали промежуточное положение. У них наблюдалась IgE-реактивность к Fel d 1 и отдельным аллергенам собак, но спектр наиболее часто выявляемых молекулярных аллергенов был уже, чем в московской группе. Для больных г. Сочи характерна относительно высокая частота встречаемости sIgE к Fel d 1 и Fel d 7 при редкой встречаемости аллергии на собак.

Распределение значений ISU-E показало, что наиболее выраженная IgE-реактивность к аллергенам кошки и собаки также характерна для московской группы. В г. Москве чаще всего выявлялись sIgE не только к мажорному аллергену кошки Fel d 1 (78,2 % случаев), но и к нескольким аллергенам собаки (Can f 1 (53,5 %), Can f 5 (50,5 % случаев) и Can f 6 (45,5 % случаев)). Кроме того, в данной группе чаще регистрировали высокие значения ISU-E (>15) к Fel d 1 (34,7 % случаев), Can f 1 (23,8 % случаев) и Fel d 7 (21,8 % случаев). Санкт-Петербург занимал 2-е место по частоте встречаемости sIgE к аллергенам кошки и собаки, но уровни ISU-E были ниже, чем в г. Москве. Для г. Сочи более характерна сенсibilизация к аллергенам кошки, прежде всего Fel d 1 и Fel d 7, при более низкой частоте реактивности к аллергенам собаки. Наименее выраженная IgE-реактивность к аллергенам кошки и собаки наблюдалась в г. Владивосток и г. Ростов-на-Дону.

Полученные данные указывают на существование различных региональных вариантов молекулярной сенсibilизации к аллергенам пушных животных. Для г. Москва характерен наиболее широкий профиль IgE-реактивности с одновременным вовлечением аллергенов кошки и собаки. В г. Санкт-Петербург наблюдалась сходная, но менее выраженная картина. В г. Сочи IgE-реактивность в большей степени связана с аллергенами кошки, тогда как в г. Владивосток и г. Ростов-на-Дону частота сенсibilизации к большинству аллергенов панели оказалась наиболее низкой.

Группы пациентов с различной структурой IgE-реактивности к аллергенам кошки и собаки. Для дальнейшего анализа выбраны молекулярные аллергены, позволяющие разграничить IgE-реактивность к аллергенам кошки, собаки и потенциально кросс-реактивным аллергенам семейства липокалинов. Fel d 1, являющийся мажорным аллергеном кошки, использовали в качестве маркера сенсibilизации к аллергенам кошки без выраженной кросс-реактивности с аллергенами собаки. Can f 5 — мажорный аллерген собаки из семейства простатических калликреинов — применяли как маркер сенсibilизации к аллергенам

Число пациентов с сенсбилизацией, % / Number of patients with sensitization, %

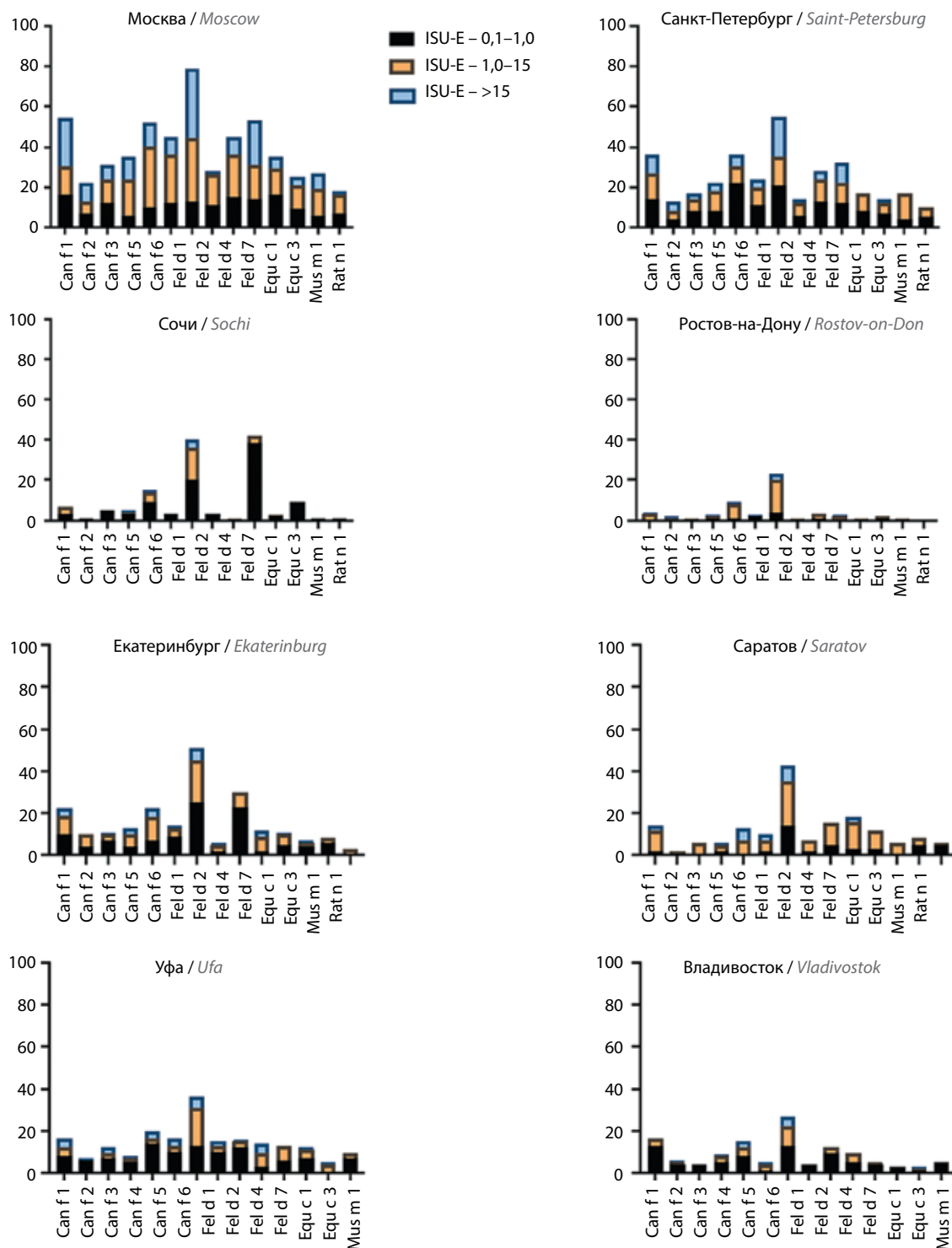


Рис. 1. Частота IgE-сенсбилизации (IgE – иммуноглобулин E) к некоторым молекулярным аллергенам кошки, собаки, лошади, мыши и крысы в городах России

Fig. 1. Frequency of immunoglobulin E sensitization to individual molecular allergens from cat, dog, horse, mouse, and rat across Russian cities

собаки без перекрестной реактивности с аллергенами кошки. Can f 4 был включен в число ключевых аллергенов собаки, несмотря на принадлежность к липокалинам, поскольку для него не характерна явная

перекрестная реактивность с липокалинами кошки. Напротив, Can f 1, Can f 6, Fel d 4 и Fel d 7 рассматривали как аллергены семейства липокалинов, которые могут участвовать в перекрестном IgE-распознавании

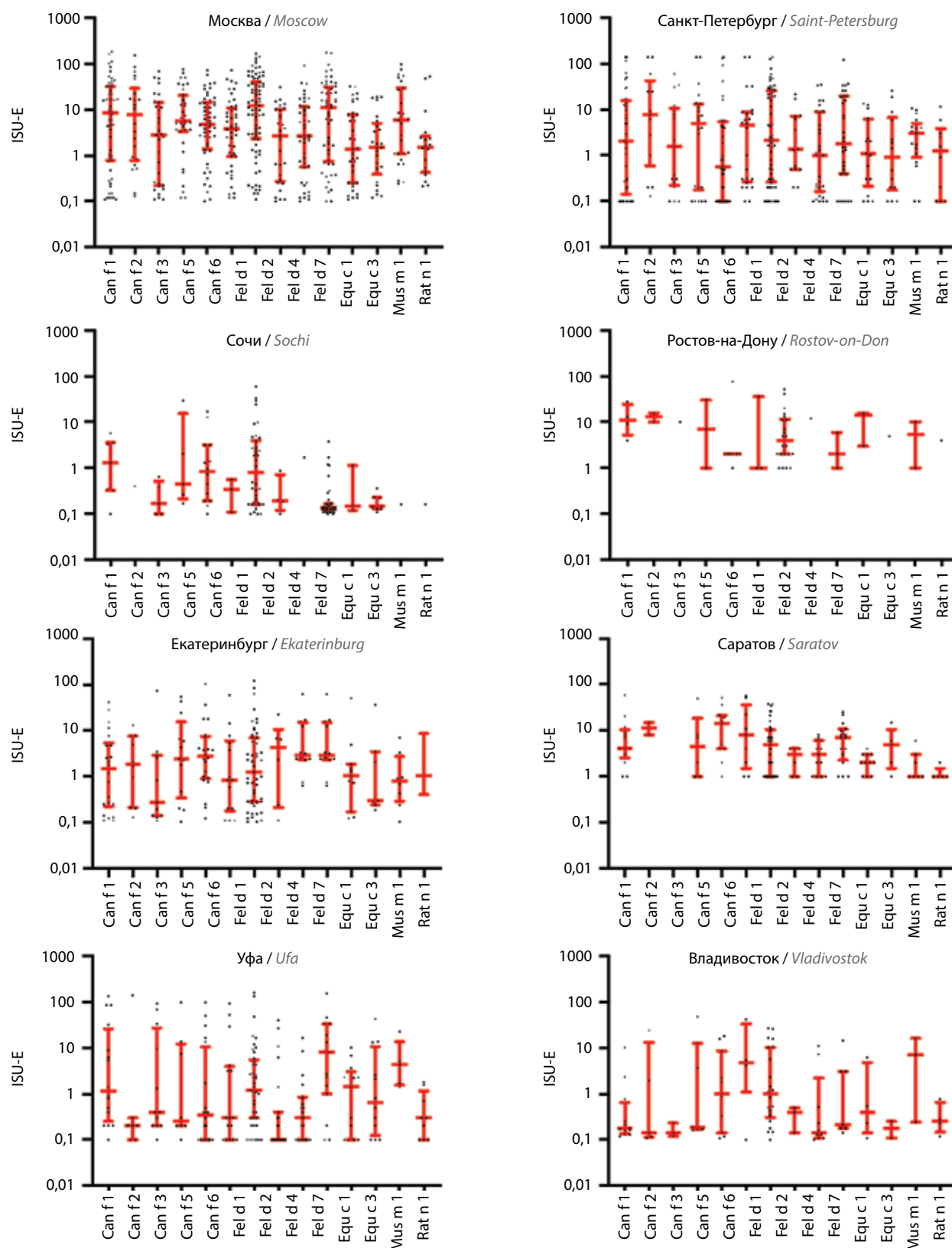


Рис. 2. Уровни специфического иммуноглобулина Е к отдельным молекулярным аллергенам в региональных группах. Точки соответствуют индивидуальным значениям у пациентов; горизонтальная красная линия обозначает медиану, вертикальный красный интервал показывает межквартильный размах для каждого аллергена

Fig. 2. Levels of specific immunoglobulin E to individual molecular allergens in regional groups. Dots represent individual patient values; the horizontal red line indicates the median, and the vertical red interval represents the interquartile range for each allergen

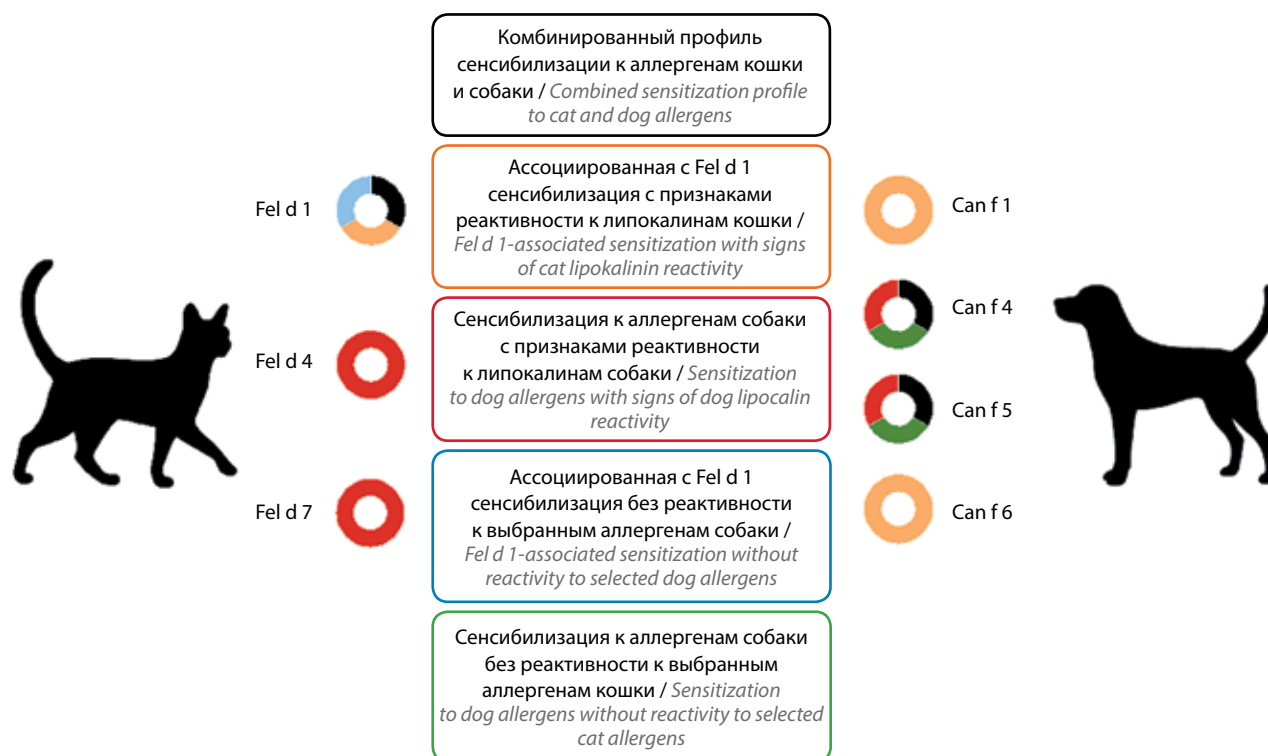


Рис. 3. Схема распределения пациентов по профилям IgE-сенситизации (IgE — иммуноглобулин E) к аллергенам кошки и собаки
Fig. 3. Schematic distribution of patients according to immunoglobulin E sensitization profiles to cat and dog allergens

аллергенов кошки и собаки. На основании этих признаков пациенты были распределены на 5 групп с различной структурой IgE-реактивности к аллергенам кошки и собаки (рис. 3).

В соответствии с указанными критериями у 399 пациентов определен 1 из 5 выделенных профилей IgE-реактивности. У этих больных рассчитывали относительную частоту каждого профиля ($n = 399$).

Наиболее распространенным был профиль сочетанной IgE-реактивности к Fel d 1 и Can f 5 и/или к Can f 4, выявленный у 173 (43,4 %) пациентов. Для данной группы характерны более высокие уровни специфического IgE к основным молекулярным аллергенам обоих источников, что отличало ее от группы ассоциации с Fel d 1 без реактивности к выбранным аллергенам собаки. Последняя включала 123 (30,8 %) пациента и характеризовалась преимущественно низкими и умеренными уровнями IgE к Fel d 1, что соответствует более ограниченному варианту сенситизации к аллергенам кошки.

Особого внимания заслуживают группы с включением липокалинов, Can f 1, Can f 6, Fel d 4 и Fel d 7. Несмотря на меньшую численность этих групп, можно выделить пациентов, у которых сочетание IgE-реактивности к аллергенам кошки и собаки может быть связано с перекрестным распознаванием липокалиновых молекул. IgE-реактивность к Fel d 1 в сочетании с IgE-реактивностью к липокалинам собаки

Can f 1 и/или Can f 6 выявлена у 48 (12 %) пациентов. В группу IgE-реактивности к Can f 5 и/или Can f 4 при отсутствии IgE к Fel d 1, Fel d 4 и Fel d 7 вошли 42 (10,5 %) пациента. Наиболее малочисленной была группа IgE-реактивности к Can f 5 и/или Can f 4 и IgE-реактивности к липокалинам кошки Fel d 4 и/или Fel d 7, включавшая 13 (3,3 %) больных.

Обсуждение

В настоящем исследовании на основании сочетанного анализа аллергенов Fel d 1, Can f 5, Can f 4 и липокалинов Can f 1, Can f 6, Fel d 4 и Fel d 7 выделены 5 вариантов молекулярной IgE-реактивности. Выбор данных аллергенов обусловлен их различной диагностической значимостью. Fel d 1 является мажорным аллергеном кошки, Can f 5 и Can f 4 относятся к значимым аллергенам собаки, тогда как липокалина млекопитающих могут участвовать в перекрестной IgE-реактивности между аллергенами разных видов животных [14, 15]. В соответствии с этим разграничены профили с преимущественной реактивностью к аллергенам кошки, собаки, с сочетанной реактивностью к обоим источникам, а также варианты с участием липокалиновых компонентов.

Согласно данным исследований, Fel d 1 является мажорным аллергеном кошки и наиболее информативным маркером IgE-сенситизации к данному источнику [16–18]. В настоящей работе наличие sIgE

к Fel d 1 при отсутствии sIgE к маркерным аллергенам собаки определяло профиль преимущественной сенсибилизации к аллергенам кошки. При рассмотрении возможности назначения аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ) клиническая значимость такого аллергологического профиля требует подтверждения данными анамнеза и воспроизводимостью симптомов при контакте с животными.

Для аллергии на собаку характерна более гетерогенная структура IgE-ответа, что ограничивает диагностическую значимость отдельных аллергенов. S. Saarelainen и соавт. показали, что Can f 1 и Can f 2 не обеспечивают достаточной информативности при их использовании в качестве единственных маркеров аллергии к собаке [19]. В ходе исследований с использованием расширенных панелей аллергенов подтверждена IgE-реактивность к нескольким аллергенам собаки, включая Can f 1, Can f 2, Can f 4, Can f 5 и Can f 6 [8, 12, 20]. С учетом этого в данном исследовании профиль сенсибилизации к аллергенам собаки оценивали по нескольким компонентам: Can f 1, Can f 4, Can f 5 и Can f 6.

Can f 5 рассматривается как мажорный аллерген собаки из семейства простатических калликреинов. Впервые он был охарактеризован L. Mattsson и соавт. [20]. Изолированная или преобладающая IgE-реактивность к данному аллергену может быть связана с контактом с самцами собак, что показали результаты исследований с использованием аллергенных экстрактов самцов и самок животных [21]. Вместе с тем наличие sIgE к Can f 5 не всегда соответствует клинически значимой аллергии на собаку. В исследовании U. Käck и соавт. положительные результаты назальной провокации у детей преимущественно ассоциировались с сенсибилизацией к Can f 4 и Can f 6, тогда как моносенсибилизация к Can f 5 чаще сочеталась с отрицательным результатом провокационного теста [22]. Поэтому при рассмотрении возможности проведения АСИТ у пациентов с преобладанием sIgE к Can f 5 необходима дополнительная оценка клинической значимости данного профиля.

Липокалиновые варианты имеют самостоятельное диагностическое значение. Can f 1, Can f 6, Fel d 4 и Fel d 7 относятся к одному белковому семейству и встречаются у разных видов млекопитающих. M. Curin и соавт. при анализе с помощью микрочипа показали, что IgE-реактивность к аллергенам нескольких животных может быть связана как с селективным распознаванием отдельных компонентов, так и с реакциями на гомологичные белки [23]. В связи с этим для выявления IgE к липокалинам кошки и собаки необходимо разграничить самостоятельную сенсибилизацию и перекрестную реактивность. У пациентов с одновременной IgE-реактивностью

к липокалинам кошки и собаки при интерпретации результатов необходимо учитывать анамнез, характер экспозиции и клинические проявления при контакте с каждым животным.

Выделенные варианты IgE-реактивности могут использоваться при предварительном отборе пациентов на АСИТ аллергенами пушных животных. У пациентов с аллергией на кошку терапевтическая оценка в большей степени связана с Fel d 1, тогда как при аллергии на собаку она затруднена участием нескольких аллергенных семейств и вариабельностью состава аллергенных экстрактов, применяемых для диагностики и иммунотерапии [24]. При ассоциированном с Fel d 1 варианте необходимо подтвердить клиническую значимость сенсибилизации к аллергенам кошки на основании анамнеза и наличия воспроизводимых симптомов при контакте с животным.

При сенсибилизации к Can f 5 и/или Can f 4 без Fel d 1 требуется оценка собаки как клинически значимого аллергенного источника. При преимущественной сенсибилизации к группе липокалинов следует учитывать вероятность перекрестной IgE-реактивности, поскольку выбор терапевтического аллергена должен соответствовать не только серологическому профилю, но и клинически значимым контактам с животным.

Выделение 5 вариантов профилей молекулярной IgE-реактивности к аллергенам кошки и собаки дополняет компонентную диагностику аллергии к пушным животным и может быть использовано для клинической интерпретации результатов перед рассмотрением назначения АСИТ. Серологический профиль должен оцениваться в сопоставлении с симптомами при контакте с животными, поскольку наличие аллерген-специфических IgE само по себе не определяет показания к иммунотерапии. Дальнейшие исследования целесообразно направить на оценку связи выделенных вариантов профилей молекулярной IgE-реактивности с результатами провокационных тестов и клинической эффективностью АСИТ.

Заключение

Наиболее высокая частота IgE-реактивности в обследованной когорте выявлена к Fel d 1 (46,4 % случаев), что подтверждает его значение как основного молекулярного маркера сенсибилизации к аллергенам кошки, тогда как сенсибилизация к аллергенам собаки характеризуется более сложным молекулярным профилем с участием Can f 5, Can f 1, Can f 6 и Can f 4.

Межрегиональные различия в частоте выявления и уровне специфических IgE указывают на неоднородность структуры сенсибилизации в обследованных группах. Выделение 5 молекулярных профилей создает основу для более точного разграничения истинной

и перекрестной сенсибилизации к аллергенам кошки и собаки. Дальнейшие исследования должны быть

направлены на клиническую валидацию этих профилей при отборе пациентов для АСИТ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Konradsen J.R., Fujisawa T., van Hage M. et al. Allergy to furry animals: new insights, diagnostic approaches, and challenges. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135(3):616–25. DOI: 10.1016/j.jaci.2014.08.026
- Van Hage M., Käck U., Asarnoj A., Konradsen J.R. An update on the prevalence and diagnosis of cat and dog allergy: emphasizing the role of molecular allergy diagnostics. *Mol Immunol* 2023;157:1–7. DOI: 10.1016/j.molimm.2023.03.003
- Matricardi P.M., van Hage M., Custovic A. et al. Molecular allergy diagnosis enabling personalized medicine. *J Allergy Clin Immunol* 2025;156(3):485–502. DOI: 10.1016/j.jaci.2025.01.014
- Hiller R., Laffer S., Harwaneg C. et al. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J* 2002;16(3):414–6. DOI: 10.1096/fj.01-0711fe
- Рябова К.А., Козлов Е.М., Трифонова Д. и др. Характеристики аллергенов кошки. *Иммунология* 2023;44(3):368–78. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-3-368-378
Riabova K.A., Kozlov E.M., Trifonova D. et al. Cat allergens characteristics. *Immunologiya = Immunology* 2023;44(3):368–78. (In Russ.). DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-3-368-378
- Kozlov E.M., Dubovets A.A., Ryabova K.A. et al. Modern concept of molecular diagnostics of allergy to dogs. *Bull Exp Biol Med* 2023;175(6):715–9. DOI: 10.1007/s10517-023-05932-w
- Kozlov E., Trifonova D., Dubovets A. et al. Recombinant IgE-reactive functional Can f 5 devoid of cross-reactive carbohydrate determinants. *Allergy* 2025;80(6):1785–9. DOI: 10.1111/all.16465
- Schoos A.M.M., Nwaru B.I., Borres M.P. Component-resolved diagnostics in pet allergy: current perspectives and future directions. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147(4):1164–73. DOI: 10.1016/j.jaci.2020.12.640
- Gromek W., Koldej N., Kurowski M., Majsiak E. Furry Animal allergy: lipocalins, serum albumins, and secretoglobins: cross-reactivity, diagnosis, and management strategies. *Clin Rev Allergy Immunol* 2025;68(1):75. DOI: 10.1007/s12016-025-09086-7
- Liu Z., Trifonova D., Tulaeva I. et al. Albumins represent highly cross-reactive animal allergens. *Front Immunol* 2023;14:1241518. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1241518
- Dubovets A., Lukashevich A., Artemova V. et al. Towards sensitization profiling for allergy prevention in Russia: a systematic review. *Int J Mol Sci* 2026;27(12):5334. DOI: 10.3390/ijms27125334
- Kazancioglu A., Huang H.J., Aksakal S. et al. Molecular IgE reactivity profiling with micro-arrayed allergens reveals distinct interregional patterns of sensitization and a hypoallergenic region in T rkiye. *Allergy* 2026;81(4):1247–64. DOI: 10.1111/all.70145
- Elisyutina O., Lupinek C., Fedenko E. et al. IgE-reactivity profiles to allergen molecules in Russian children with and without symptoms of allergy revealed by micro-array analysis. *Pediatr Allergy Immunol* 2021;32(2):251–63. DOI: 10.1111/pai.13354
- Рябова К.А., Козлов Е.М., Трифонова Д.Р. и др. Аллергочипы в молекулярной диагностике: от когортной оценки к персонализированному ведению пациента. *Российский биотерапевтический журнал* 2025;24(1):10–26. DOI: 10.17650/1726-9784-2025-24-1-10-26
- Riabova K.A., Kozlov E.M., Trifonova D.R. et al. Allergen chip in molecular diagnostic: from cohort analysis to personalized patient care. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2025;24(1):10–26. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2025-24-1-10-26
- Козлов Е.М., Трифонова Д.Р., Рябова К.А. и др. Молекулярный профиль сенсибилизации к аллергенам собаки: диагностика с использованием «АллергочипРФ». *Иммунопатология, аллергология, инфектология* 2025;(1):59–67. DOI: 10.14427/jipai.2025.1.59
- Kozlov E.M., Trifonova D.R., Riabova K.A. et al. Molecular profile of sensitization to dog allergens: diagnostics using the AllergochipRF platform. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya = Immunopathology, Allergology, Infectology* 2025;(1):59–67. (In Russ.). DOI: 10.14427/jipai.2025.1.59
- Козлов Е.М., Трифонова Д.Р., Рябова К.А. и др. Оценка уровней специфических IgE к мажорным аллергенам Fel d 1 и Can f 1 с применением диагностических платформ «АллергочипРФ» и ImmunoCAP. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2025;180(7):76–80. DOI: 10.47056/0365-9615-2025-180-7-76-80
Kozlov E.M., Trifonova D.R., Riabova K.A. et al. Assessment of specific IgE levels to major allergens Fel d 1 and Can f 1 using the AllergochipRF and ImmunoCAP diagnostic platforms. *Byulleten eksperimentalnoy biologii y meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2025;180(7):76–80. (In Russ.). DOI: 10.47056/0365-9615-2025-180-7-76-80
- Riabova K., Karsonova A.V., van Hage M. et al. Molecular allergen-specific IgE recognition profiles and cumulative specific IgE levels associated with phenotypes of cat allergy. *Int J Mol Sci* 2022;23(13):6984. DOI: 10.3390/ijms23136984
- Trifonova D., Curin M., Riabova K. et al. Allergenic activity of individual cat allergen molecules. *Int J Mol Sci* 2023;24(23):16729. DOI: 10.3390/ijms242316729
- Saarelainen S., Taivainen A., Rytönen-Nissinen M. et al. Assessment of recombinant dog allergens Can f 1 and Can f 2 for the diagnosis of dog allergy. *Clin Exp Allergy* 2004;34(10):1576–82. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2004.02071.x
- Mattsson L., Lundgren T., Everberg H., Larsson H., Lidholm J. Prostatic kallikrein: a new major dog allergen. *J Allergy Clin Immunol* 2009;123(2):362–8. DOI: 10.1016/j.jaci.2008.11.021
- Schoos A.M.M., Chawes B.L., Bloch J. et al. Children monosensitized to Can f 5 show different reactions to male and female dog allergen extract provocation: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2020;8(5):1592–7. e2. DOI: 10.1016/j.jaip.2019.12.012
- Käck U., Asarnoj A., Grönlund H. et al. Molecular allergy diagnostics refine characterization of children sensitized to dog dander. *J Allergy Clin Immunol* 2018;142(4):1113–20.e9. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.05.012
- Curin M., Swoboda I., Wollmann E. et al. Microarrayed dog, cat, and horse allergens show weak correlation between allergen-specific IgE and IgG responses. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133(3):918–21.e6. DOI: 10.1016/j.jaci.2013.10.058
- Wintersand A., Asplund K., Binnmyr J. et al. Allergens in dog extracts: implication for diagnosis and treatment. *Allergy* 2019;74(8):1472–9. DOI: 10.1111/all.13785

Вклад авторов

Е.М. Козлов: разработка концепции исследования, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи;
А.А. Дубовец, Д.Р. Бохилова, А.М. Винцевская: сбор и систематизация клиничко-лабораторных данных, анализ результатов молекулярной аллергодиагностики, написание текста статьи;
А.Д. Лукашевичус, А.А. Баскаков: обработка данных, подготовка таблиц и иллюстративного материала;
И.В. Евсегнеева, А.Ю. Нуртазина, Н.Л. Бондаренко: клиническая интерпретация данных, научное редактирование;
А.В. Караулов: научное руководство исследованием, редактирование.

Author's contributions

E.M. Kozlov: study concept development, data analysis and interpretation, manuscript preparation;
A.A. Dubovets, D.R. Bokhirova, A.M. Vintsevskaya: collection and systematization of clinical and laboratory data, analysis of molecular allergy diagnostics results, preparation of manuscript materials;
A.D. Lukashevichus, A.A. Baskakov: data processing, preparation of tables and illustrative materials;
I.V. Evsegneeveva, A.Yu. Nurtazina, N.L. Bondarenko: clinical interpretation of data, expert review of the manuscript content;
A.V. Karaulov: scientific supervision, critical revision and final editing of the manuscript.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.М. Козлов / E.M. Kozlov: <https://orcid.org/0000-0001-6244-1088>
А.А. Дубовец / A.A. Dubovets: <https://orcid.org/0000-0002-9804-4364>
Д.Р. Бохилова / D.R. Bokhirova: <https://orcid.org/0009-0002-4305-0529>
А.М. Винцевская / A.M. Vintsevskaya: <https://orcid.org/0009-0001-6924-5597>
А.Д. Лукашевичус / A.D. Lukashevichus: <https://orcid.org/0009-0009-2254-3608>
А.А. Баскаков / A.A. Baskakov: <https://orcid.org/0009-0000-8996-505X>
И.В. Евсегнеева / I.V. Evsegneeveva: <https://orcid.org/0000-0002-6624-1363>
А.Ю. Нуртазина / A.Yu. Nurtazina: <https://orcid.org/0000-0002-2337-3307>
Н.Л. Бондаренко / N.L. Bondarenko: <https://orcid.org/0000-0002-1418-2517>
А.В. Караулов / A.V. Karaulov: <https://orcid.org/0000-0002-1930-5424>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено при поддержке гранта Российского научного фонда (грант № 23-75-30016 «Оценка профилей аллергической сенсибилизации в Российской Федерации на основе микрочипов аллергенов как основа для персонализированного лечения и профилактики аллергии («АллергочипРФ»)).

Funding. This study was supported by a grant from the Russian Science Foundation (grant No. 23-75-30016 "Allergen micro-array-based assessment of allergic sensitization profiles in the Russian Federation as basis for personalized treatment and prevention of allergy ("AllergochipRUS"))).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен локальными этическими комитетами ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-исследовательский центр Больница 52 Департамента здравоохранения г. Москвы» (протокол № 01вн/0423 от 12.04.2023), ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России (протокол № 7 от 04.07.2023), ООО «Клиника Екатерининская Сочи» (протокол № 5 от 26.05.2023), ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 9/23 от 27.04.2023), ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России (протокол № 02 от 15.09.2023), ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 4 от 26.05.2023), ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 8 от 23.10.2024) и ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокол № 1 от 18.09.2023).

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the ethics committees of the participating centers: Moscow Clinical Scientific Center Hospital No. 52 of the Moscow Healthcare Department (protocol No. 01вн/0423, dated 12.04.2023), North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Ministry of Health of Russia (protocol No. 7, dated 04.07.2023), Ekaterininskaya Clinic Sochi (protocol No. 5, dated 26.05.2023), Rostov State Medical University, Ministry of Health of Russia (protocol No. 9/23, dated 27.04.2023), V.I. Razumovsky Saratov State Medical University, Ministry of Health of Russia (protocol No. 02, dated 15.09.2023), Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia (protocol No. 4, dated 26.05.2023), Bashkir State Medical University, Ministry of Health of Russia (protocol No. 8, dated 23.10.2024), and Pacific State Medical University, Ministry of Health of Russia (protocol No. 1, dated 18.09.2023).

All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 15.06.2026. Принята в печать: 28.08.2026. Опубликовано онлайн: 05.10.2026.

Article submitted: 15.06.2026. Accepted for publication: 28.08.2026. Published online: 05.10.2026.

Экспрессия генов *FoxP3*, *ICAM1* и *IL-32* в опухолях больных колоректальным раком при разных вариантах сплайсинга матричной РНК *MUC1*

Д.В. Новиков^{1,2}, А.В. Калугин¹, А.В. Алясова³, С.В. Шумилова⁴, Н.И. Кубышева⁵, 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» Роспотребнадзора; Россия, 603950 Нижний Новгород, ул. Малая Ямская, 71;

³ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119048 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

⁴ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава России; Россия, 603005 Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

⁵ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»; Россия, 420008 Казань, ул. Кремлевская, 18, корп. 1

Контакты: Наилия Исхаковна Кубышева aibolit70@mail.ru

Введение. Известно, что экспрессия муцина 1 (MUC1) опухолевыми клетками влияет на инфильтрацию иммунных клеток. Благодаря альтернативному сплайсингу образуется большой репертуар структурно и функционально различных вариантов MUC1, роль которых при колоректальном раке остается малоизученной.

Цель исследования – сравнительная оценка уровней матричных РНК (мРНК) генов *FoxP3*, *ICAM1* и *IL-32* в опухолях, экспрессирующих различные варианты мРНК *MUC1*.

Материалы и методы. В 58 образцах опухолевой ткани больных колоректальным раком методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени детектировали мРНК генов *MUC1/REP*, *MUC1/SEC*, *MUC1/A-D* и *MUC1/X-Z*, а также относительные уровни мРНК генов *FoxP3*, *IL-32* и *ICAM1*.

Результаты. Обнаружены различия в частоте встречаемости альтернативных вариантов мРНК *MUC1* при колоректальном раке. Чаше других выявлялась мРНК *MUC1/SEC* (50 % случаев). Показана корреляционная связь между уровнями мРНК *MUC1* и мРНК *IL-32*, а также между уровнями мРНК *IL-32*, *FoxP3* и *ICAM1*. Продemonстрировано, что в MUC1-положительных опухолях отмечаются более высокие уровни мРНК *FoxP3* и мРНК *IL-32* по сравнению с MUC1-отрицательными опухолями. Выявленные различия обусловлены повышенными уровнями мРНК *FoxP3* в мРНК *MUC1/REP*-положительных опухолях и уровнем мРНК *IL-32* в MUC1/A-D-положительных новообразованиях. В MUC1/A-D-положительных опухолях обнаружен также высокий уровень мРНК гена *ICAM1*, что указывает на возможную роль в метастазировании вариантов *MUC1*, мРНК которых содержит тандемные повторы с небольшими делециями.

Заключение. Полученные результаты расширяют и детализируют представления о проопухолевой роли MUC1 и демонстрируют участие отдельных вариантов MUC1 в онкогенезе колоректального рака.

Ключевые слова: колоректальный рак, изоформа матричной РНК *MUC1*, уровень матричной РНК гена *FoxP3*, уровень матричной РНК гена *IL-32*, уровень матричной РНК гена *ICAM1*

Для цитирования: Новиков Д.В., Калугин А.В., Алясова А.В. и др. Экспрессия генов *FoxP3*, *ICAM1* и *IL-32* в опухолях больных колоректальным раком при разных вариантах сплайсинга матричной РНК *MUC1*. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(3):70–8.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-70-78>

Expression of the *FoxP3*, *ICAM1*, and *IL-32* genes in tumors from colorectal cancer patients with different *MUC1* messenger RNA splicing variants

Dmitry V. Novikov^{1,2}, Alexander V. Kalugin¹, Anna V. Alyasova³, Svetlana V. Shumilova⁴, Nailia I. Kubysheva⁵, Victor 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;

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

⁴Privolzhsky Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 10/1 Minina and Pozharskogo Sq., Nizhny Novgorod 603005, Russia;

⁵Kazan (Volga Region) Federal University; Bld. 1, 18 Kremlyovskaya St., Kazan 420008, Russia

Contacts: Nailya Iskhakovna Kubysheva aibolit70@mail.ru

Background. Mucin 1 (MUC1) expression by cancer cells is known to influence immune cell infiltration into the tumor. Alternative splicing produces a large repertoire of structurally and functionally distinct MUC1 variants, the functional role of which in colorectal cancer remains poorly understood.

Aim. To comparatively evaluate *FoxP3*, *ICAM1*, and *IL-32* messenger RNA (mRNA) levels in tumors expressing different *MUC1* mRNA variants.

Materials and methods. *MUC1/REP*, *MUC1/SEC*, *MUC1/A-D*, and *MUC1/X-Z* mRNA, as well as the relative levels of *FoxP3*, *IL-32*, and *ICAM1* mRNA, were detected in 58 tumor tissue samples from colorectal cancer patients using real-time reverse transcription polymerase chain reaction.

Results. Differences in the frequency of occurrence of alternative variants of MUC1 mRNA in tumors of patients with colorectal cancer were found. *MUC1/SEC* mRNA was characterized by the highest frequency of occurrence (50 % cases). A correlation was shown between the levels of *MUC1* mRNA and *IL-32* mRNA, as well as between the levels of *IL-32*, *FoxP3*, and *ICAM1* mRNA. It was demonstrated that higher levels of *FoxP3* mRNA and *IL-32* mRNA were recorded in MUC1-positive tumors compared to MUC1-negative ones. The identified differences are due to high levels of *FoxP3* mRNA in *MUC1/REP* mRNA-positive tumors and high levels of *IL-32* mRNA in *MUC1/A-D*-positive tumors. High levels of *ICAM1* mRNA are also detected in *MUC1/A-D*-positive tumors, suggesting that *MUC1* variants whose mRNA contains tandem repeats with small deletions may play a role in metastasis.

Conclusion. These results expand and refine our understanding of the pro-tumor role of MUC1 and demonstrate the involvement of individual MUC1 variants in colorectal cancer oncogenesis.

Keywords: colorectal cancer, MUC1 mRNA isoform, *FoxP3* mRNA level, *IL-32* mRNA level, *ICAM1* mRNA level

For citation: Novikov D.V., Kalugin A.V., Alyasova A.V. et al. Expression of the *FoxP3*, *ICAM1*, and *IL-32* genes in tumors from colorectal cancer patients with different *MUC1* messenger RNA splicing variants. *Rossiiskij bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(3):70–8. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-70-78>

Введение

При колоректальном раке (КРР) опухолевые клетки постоянно взаимодействуют с иммунной системой организма. Они способны влиять на инфильтрирующие опухоль иммунные клетки путем прямого контакта или секреции различных факторов. В свою очередь, инфильтрирующие опухоль клетки иммунной системы регулируют рост и метастазирование опухоли [1]. Одним из факторов, влияющих на клетки иммунной системы, является опухолеассоциированный муцин 1 (MUC1), экспрессируемый опухолевыми клетками [2, 3]. Результаты модельных экспериментов на мышах показали, что при MUC1-положительном КРР рекрутируется больше инфильтрирующих лимфоцитов в опухолевое микроокружение по сравнению с MUC1-отрицательным раком толстой кишки. Однако привлеченные клетки не проявляют противоопухолевую активность и секретируют большое количество провоспалительных цитокинов [4, 5].

Показано, что высокая экспрессия MUC1 является маркером неблагоприятного прогноза при КРР. Между тем повышенная экспрессия MUC1 связана

с поздней стадией заболевания по международной классификации TNM (Tumor, Nodus and Metastasis), большей глубиной инвазии и метастазированием в лимфатические узлы [6, 7].

Молекула MUC1 состоит из 2 полипептидных сегментов (MUC1-N и MUC1-C), соединенных водородными связями. MUC1-C локализован в клеточной мембране, а MUC1-N находится на поверхности клетки и содержит область tandemных повторов, включающих множество сайтов гликозилирования [8]. Кроме того, в результате альтернативного сплайсинга образуется большой репертуар структурно и функционально различных вариантов MUC1 [9], в том числе изоформы белка, ассоциированные с мембраной (REP), и секреторные изоформы белка (SEC). Среди изоформ REP выделяют 2 большие группы: варианты MUC1, содержащие tandemные повторы с небольшими deletиями (MUC1/A, MUC1/B, MUC1/C, MUC1/D и др.), и варианты MUC1, не содержащие tandemных повторов (MUC1/X, MUC1/Y, MUC1/Z и др.) [10].

Показано, что изоформы MUC1 по-разному влияют на клетки иммунной системы. На мышинной

модели рака молочной железы продемонстрировано, что экспрессия MUC1/REP сопровождается привлечением миелоидных клеток, в то время как экспрессия MUC1/SEC — привлечением макрофагов [11]. При злокачественных опухолях предстательной, молочной желез и яичников наблюдаются различия в экспрессии MUC1/A и MUC1/B [12–14]. При KPP уровни экспрессии и роль сплайс-вариантов *MUC1* остаются неясными, а детали взаимоотношений разных вариантов MUC1 с клетками иммунной системы, инфильтрирующими опухоль, их мембранными маркерами и продукцией цитокинов малопонятны. В частности, существует необходимость в изучении экспрессии генов, связанных как с активацией, так и торможением иммунных реакций в присутствии в опухоли различных альтернативных вариантов *MUC1* и в их отсутствии.

Цель исследования — сравнительная оценка уровней матричных РНК (мРНК) генов *FoxP3*, *ICAM1* и *IL-32* в опухолях, экспрессирующих различные варианты мРНК *MUC1*.

Материалы и методы

Исследованы образцы первичного KPP II–III стадии, N0–2M0 58 пациентов (46 мужчин и 12 женщин) в возрасте от 45 до 78 лет, получавших лечение в Нижегородском областном клиническом онкологическом диспансере. Сразу после резекции опухоли образцы, не содержащие кровеносные сосуды, промывали водой и помещали в 2 объема лизирующего раствора (4 М тиоцианата гуанидина (Helicon, Россия); 25 мМ ацетата натрия («Компонент-реактив», Россия); 0,5 % тритон X100 (MP Biomedicals, Китай)) и замораживали при температуре -70°C . Нуклеиновые кислоты выделяли с помощью набора TRIzol Reagent (Termo Fisher Scientific, США) и обрабатывали ДНКазой I (Termo Fisher Scientific, США) 30 мин при 37°C в соответствии с инструкцией производителя. Реакцию обратной транскрипции (ОТ) проводили в объеме 10 мкл с использованием обратной транскриптазы RNAscribe RT («Биолабмикс», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя.

Частоту встречаемости матричной РНК (мРНК) *MUC1* и относительные уровни мРНК *IL-32*, *ICAM1* и *FoxP3* определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с применением праймеров и зондов, использованных нами ранее [15] (табл. 1). Синтез праймеров и зондов для ПЦР в реальном времени осуществляли в компании «Синтол». Для определения уровня суммарной мРНК *MUC1* использовали праймеры, специфичные к экзонам 6 и 7 мРНК *MUC1* [16]. Для уменьшения погрешности, вызванной изменениями экспрессии генов домашнего хозяйства в опухолевых клетках, уровни нормализовали относительно мРНК 3 референсных генов:

убиквитина С (*UBC*), β_2 -микроглобулина (*B₂M*) и белка активации тирозин-3-монооксигеназы/триптофан-5-монооксигеназы дзета (*YWHA5*).

Для каждой пары мРНК ген интереса/ген домашнего хозяйства проводили дуплексную ПЦР в объеме 25 мкл. Реакционная смесь содержала 2 мкл комплементарной ДНК, 0,4 пМ каждого праймера и TaqMan-зонда (см. табл. 1) для мРНК мишени и мРНК гена домашнего хозяйства; 0,8 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатов; 2 мМ MgCl_2 и 2,5 единиц ДНК-полимеразы HS-Taq-Next в 1X буфере («Биолабмикс», Россия). Смесь прогревали в течение 15 мин при 94°C и проводили 45 циклов ПЦР ($94^{\circ}\text{C} - 30\text{ с}$, $55^{\circ}\text{C} - 30\text{ с}$, $72^{\circ}\text{C} - 30\text{ с}$).

Уровни исследуемых мРНК оценивали методом пороговых циклов с учетом эффективности реакции ($\Delta\Delta\text{Ct}$) относительно каждого референсного гена. Среднее геометрическое относительных уровней исследуемых мРНК использовали для сравнения между собой и с клиническими показателями. При дальнейшем сравнении, если в исследуемом образце отсутствовала мРНК, ее уровень принимали за ноль. Сплайс-варианты мРНК *MUC1/REP*, *MUC1/SEC*, *MUC1/A-D* и *MUC1/X-Z* определяли методом ОТ-ПЦР, как описано ранее [9, 12].

Статистические расчеты проводили с использованием программы GraphPadPrism 5.0. Поскольку полученные данные не имели нормального распределения, связи между уровнями мРНК оценивали по коэффициенту ранговой корреляции Спирмена, а для сравнения уровней мРНК использовали U-критерий Манна–Уитни. Количественные параметры относительных уровней мРНК представлены медианой (Me) и межквартильным размахом (Q_1 ; Q_3). Для сравнения частоты обнаружения мРНК использовали χ^2 -критерий. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В образцах опухолей 44 (75,9 %) из 58 больных KPP обнаружены различные варианты мРНК *MUC1*, мРНК *MUC1/SEC* выявлена в 29 (50 %) случаях. Остальные альтернативные формы мРНК *MUC1* встречались несколько реже. Так, мРНК *MUC1/REP* детектирована у 1/3 больных, мРНК *MUC1/A-D* и мРНК *MUC1/X-Z* — у 14 и 4 пациентов соответственно. Статистически значимых различий в частоте встречаемости и относительном уровне тестируемых мРНК у пациентов с KPP стадий II ($n = 24$) и III ($n = 34$) не выявлено. Также не обнаружена зависимость частоты встречаемости и относительного уровня тестируемых мРНК от пола и возраста больных.

Проведена сравнительная оценка уровней мРНК *FoxP3*, *ICAM1* и *IL-32* в опухолях, экспрессирующих и не экспрессирующих различные варианты мРНК *MUC1*.

Таблица 1. Используемые праймеры и зонды

Table 1. Primers and probes used

Ген Gene	Олигонуклеотид Oligonucleotide	Нуклеотидная последовательность (5'–3') Nucleotide sequence (5'–3')
UBC	Прямой праймер Forward primer	GCACAGCTAGTTCCGTCGCA
	Обратный праймер Reverse primer	TGCATTGTCAAGTGACGAT
	Зонд Probe	CY5-ATTTGGGTCGCAGTTCTTGTGTTGTGGAT-BHQ-2
B2M	Прямой праймер Forward primer	CTGGAGGCTATCCAGCGTAC
	Обратный праймер Reverse primer	GCTTACATGTCTCGATCCCA
	Зонд Probe	CY5-TTCAGGTTTACTCACGTCATCCAGCA-BHQ-2
YWHAS	Прямой праймер Forward primer	TGCAATGATGTACTGTCTCT
	Обратный праймер Reverse primer	ACTGATCGACAATCCCTTTC
	Зонд Probe	CY5-ATTACTACCGTTACTTGGCTGAGGTTGCC-BHQ-2
MUC1	Прямой праймер Forward primer	CGCTGGCCATTGTCTATCTCA
	Обратный праймер Reverse primer	AGAGGCTGCTGCCACCATTA
	Зонд Probe	ROX-CTTGGCTGTCTGTCTCAGTGCCGCCGAAAG-BHQ-2
IL-32	Прямой праймер Forward primer	CTGAAGGCCCGAATGCACCA
	Обратный праймер Reverse primer	TAGAGGAGTGAGCTCTGGGT
	Зонд Probe	FAM-AGGGCTACCTGGAGACAGTGGCGGCTTA-BHQ-1
ICAM1	Прямой праймер Forward primer	GAGCTTCGTGTCCTGTATGG
	Обратный праймер Reverse primer	CTCATACCGGGGGGAGAGCA
	Зонд Probe	ROX-CCCATTGCCCGAGCTCAAGTGTCTAAAGGA-BHQ-2
FoxP3	Прямой праймер Forward primer	GAGAAGCTGAGTGCCATGCA
	Обратный праймер Reverse primer	GGAGCCCTTGTCGGATGAT
	Зонд Probe	FAM-TGCCATTTTCCCAGCCAGGTGG-BHQ-1

В ходе анализа уровней мРНК 3 указанных генов в опухолях с наличием суммарной мРНК *MUC1* и без нее выявлены статистически значимые различия в экспрессии генов *FoxP3* и *IL-32* (рис. 1). Уровень мРНК *FoxP3* в *MUC1*-положительных опухолях был статистически значимо (в 4 раза) выше, чем в *MUC1*-отрицательных опухолях ($p = 0,001$), относительное содержание мРНК *IL-32* – в 2,2 раза ($p = 0,003$). При этом уровень мРНК *IL-32* положительно коррелировал с уровнем мРНК *MUC1* ($r = 0,56$; $p = 0,001$). Различий в уровнях мРНК *ICAM1* не выявлено. Однако уровень мРНК *ICAM1* положительно коррелировал с уровнями мРНК *FoxP3* ($r = 0,37$; $p = 0,0005$) и *IL-32* ($r = 0,39$; $p = 0,02$).

Опухолевые образцы больных КРР, положительных и отрицательных по мРНК *MUC1/REP*, кодирующей мембранную форму *MUC1*, характеризовались статистически значимыми различиями в уровне мРНК *FoxP3*, который был в 2,1 раза выше в образцах с экспрессией *MUC1/REP*. Относительные уровни

мРНК *IL-32* и мРНК *ICAM1* в *MUC1*-положительных и *MUC1*-отрицательных опухолях статистически значимо не различались (рис. 2). Статистически значимых различий в уровнях мРНК *FoxP3*, мРНК *ICAM1* и мРНК *IL-32* в мРНК *MUC1/Sec-* и *MUC1/X-Z*-положительных и *MUC1/Sec-* и *MUC1/X-Z*-отрицательных опухолях также не выявлено (табл. 2).

В опухолях с наличием мРНК *MUC1/A-D* выявлены более высокие уровни мРНК *IL-32* ($p = 0,005$) и мРНК *ICAM1* ($p = 0,03$) по сравнению с *MUC1/A-D*-отрицательными опухолями. Уровень мРНК *IL-32* в таких опухолях был выше в среднем в 1,8 раза, а мРНК *ICAM1* – в 1,5 раза по сравнению с *MUC1/A-D*-отрицательными опухолями. Статистически значимых различий в уровне мРНК *FoxP3* между *MUC1/A-D*-положительными и *MUC1/A-D*-отрицательными опухолями не выявлено (рис. 3).

Таким образом, альтернативные варианты мРНК *MUC1* с разной частотой встречаются в опухолях больных КРР; их наличие или отсутствие обуславливают

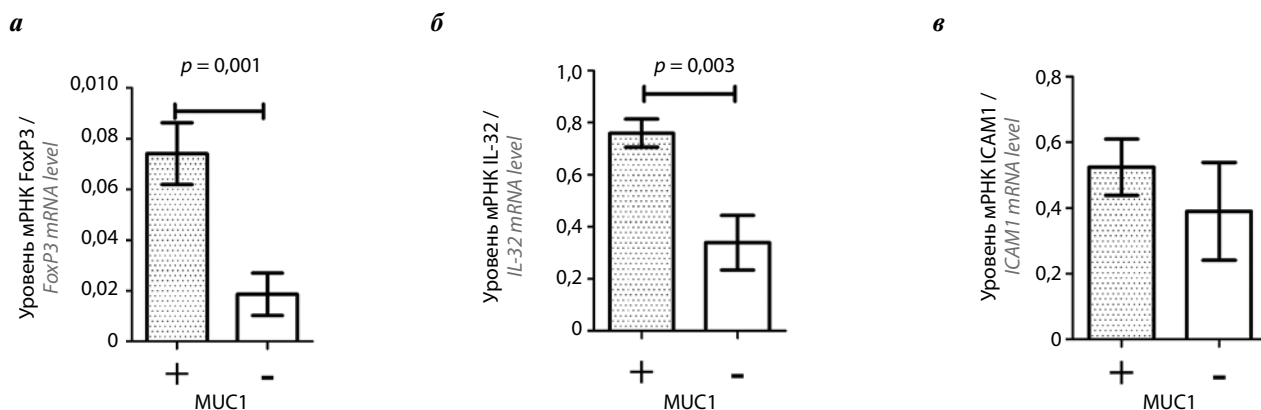


Рис. 1. Результаты сравнения относительных уровней матричных РНК (мРНК) генов *FoxP3* (а), *IL-32* (б) и *ICAM1* (в) в опухолях, экспрессирующих (+) и не экспрессирующих (–) мРНК *MUC1*

Fig. 1. Comparison results of relative levels of *FoxP3* messenger RNA (mRNA) (а), *IL-32* mRNA (б), and *ICAM1* mRNA (в) in tumors expressing (+) and not expressing (–) *MUC1* mRNA

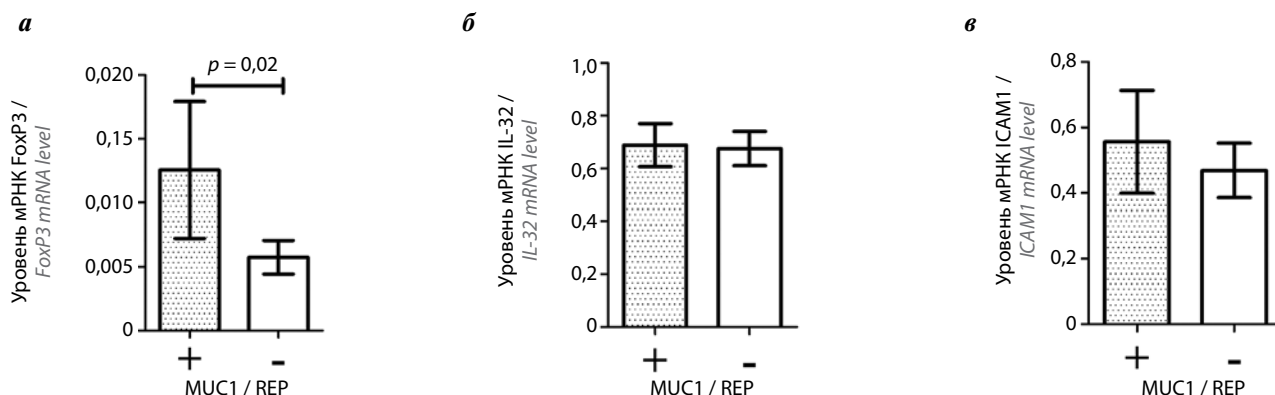


Рис. 2. Уровни матричных РНК (мРНК) *FoxP3* (а), *IL-32* (б) и *ICAM1* (в) в опухолях, экспрессирующих (+) и не экспрессирующих (–) мРНК *MUC1/REP*

Fig. 2. The levels of *FoxP3* messenger RNA (mRNA) (а), *IL-32* mRNA (б) and *ICAM1* mRNA (в) in tumors expressing (+) and not expressing (–) *MUC1/REP* mRNA

Таблица 2. Относительные уровни матричных РНК (мРНК) *FoxP3*, *IL-32* и *ICAM1* в *MUC1/SEC*- и *MUC1/X*-положительных и *MUC1/SEC*- и *MUC1/X*-отрицательных опухолях больных колоректальным раком

Table 2. Relative levels of *FoxP3* messenger RNA (mRNA), *IL-32* mRNA, and *ICAM1* mRNA in *MUC1/SEC*- and *MUC1/X*-Z-positive and *MUC1/SEC*- and *MUC1/X*-Z-negative tumors from patients with colorectal cancer

Вариант <i>MUC1</i> Variant of <i>MUC1</i>	мРНК <i>FoxP3</i> mRNA <i>FoxP3</i>	мРНК <i>IL-32</i> mRNA <i>IL-32</i>	мРНК <i>ICAM1</i> mRNA <i>ICAM1</i>
<i>MUC1/SEC</i> +	0,0038 (0,0015–0,0081)	0,7215 (0,5694–1,0630)	0,4154 (0,1461–0,8692)
<i>MUC1/SEC</i> –	0,0023 (0,0008–0,0049)	0,6973 (0,5019–0,9134)	0,1678 (0,0905–0,4573)
<i>MUC1/X</i> -Z+	0,00195 (0,0013–0,0023)	0,9918 (0,6201–1,7660)	0,4243 (0,0883–1,1730)
<i>MUC1/X</i> -Z –	0,0034 (0,0009–0,0074)	0,6920 (0,4730–0,9508)	0,2974 (0,0840–0,8049)

Примечание. В скобках указан межквартильный размах.
Note. The interquartile range is indicated in parentheses.

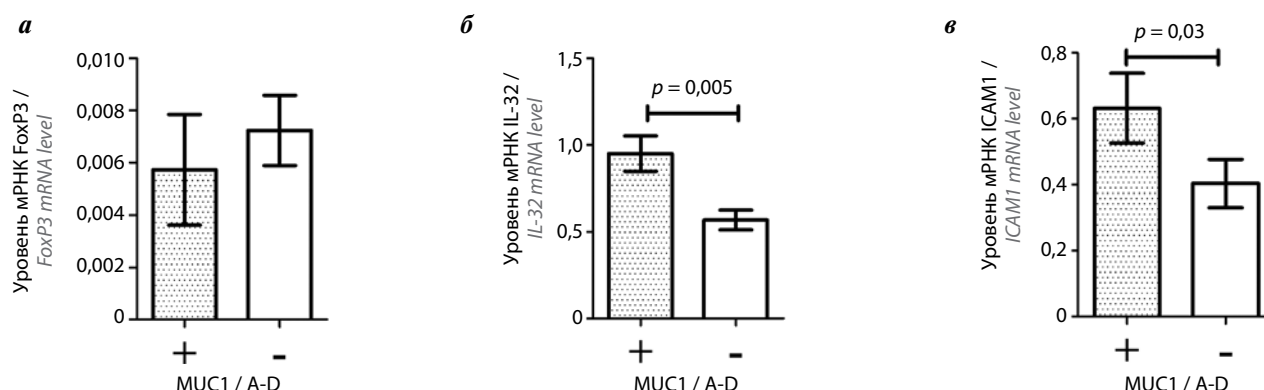


Рис. 3. Относительные уровни матричных РНК (мРНК) *FoxP3* (а), *IL-32* (б) и *ICAM1* (в) в опухолях, экспрессирующих (+) и не экспрессирующих (–) мРНК *MUC1/A-D*

Fig. 3. Relative levels of *FoxP3* messenger RNA (mRNA) (а), *IL-32* mRNA (б), and *ICAM1* mRNA (в) in tumors expressing (+) and not expressing (–) *MUC1/A-D* mRNA

различия в уровнях мРНК *FoxP3*, мРНК *IL-32* и мРНК *ICAM1*.

Обсуждение

Известно 78 вариантов сплайсинга *ICAM1*, возникающих из-за пропуска экзонов, альтернативного использования 5'- и 3'-сайтов сплайсинга, а также полного или частичного сохранения интронов [9]. Наличие большого количества вариантов *ICAM1* затрудняет их анализ. В связи с этим для определения суммарной мРНК *MUC1* мы использовали праймеры, специфичные к экзонам 6 и 7 мРНК данного гена, которые не подвержены альтернативному сплайсингу [16]. Такой подход позволил одновременно детектировать все альтернативные формы мРНК *MUC1*. Его использование вместе с набором праймеров, выявляющих отдельные варианты мРНК *MUC1*, показало, что различные варианты данного гена обнаруживаются в опухолевых очагах с разной частотой.

Суммарную мРНК *MUC1* определяли чаще всего, а мРНК *MUC1/X-Z* регистрировали лишь в отдельных случаях. В дальнейшем для изучения роли отдельных сплайс-вариантов мРНК *MUC1* проведено сравнение уровней мРНК *FoxP3*, мРНК *IL-32* и мРНК *ICAM1* в образцах опухолей, содержащих и не содержащих мРНК *MUC1* разных вариантов.

Подход, подобный использованному нами, применен также в работе Y. Zhang и соавт. Авторы проанализировали опухолевое микроокружение в *MUC1*-положительных и *MUC1*-отрицательных опухолях мышей. Показано, что в *MUC1*-положительных опухолевых тканях вырабатывается больше интерлейкина (IL) 17A, чем в *MUC1*-отрицательных. Количество Т-регуляторов, миелоидных супрессорных клеток, уровни экспрессии интерферона γ и процент CD8⁺-Т-клеток, его продуцирующих, также были выше в *MUC1*-положительных опухолях по сравнению с *MUC1*-отрицательными. Полученные

данные позволили сделать вывод о проопухолевой роли MUC1, что подтверждается результатами других исследований [5].

В нашем исследовании суммарная экспрессия тестированных вариантов мРНК *MUC1* сопровождалась повышенным по сравнению с MUC1-отрицательными опухолями уровнем мРНК *FoxP3* — маркера Т-регуляторных клеток, что соответствует представленным выше данным. Таким образом, подтверждено, что *MUC1*-положительные опухоли характеризуются более выраженным супрессорным статусом, связанным с Т-регуляторными клетками.

Кроме того, продемонстрировано, что в *MUC1*-положительных опухолях повышается уровень мРНК *IL-32*, а уровень мРНК *MUC1* положительно коррелирует с уровнем мРНК *IL-32*. Полученные данные позволяют предположить, что MUC1 стимулирует выработку IL-32. Повышенные уровни IL-32, секретируемые у человека активированными естественными киллерами и Т-клетками, рассматривают как биологический маркер метастазирования КРР, а IL-32 в избыточных концентрациях способен ингибировать пролиферацию клеток при этой патологии [17].

Известно, что MUC1 играет ключевую роль в регуляции иммунной системы, взаимодействуя с иммунными клетками и индуцируя в микроокружении опухоли реакции, направленные на выживание и пролиферацию опухолевых клеток [18]. Так, MUC1 индуцирует созревание маркеров клеточной поверхности на дендритных клетках, таких как CD83, CD80, CD86, CD40 и МНС II. Он стимулирует выработку IL-6, фактора некроза опухоли и IL-10 и подавляет продукцию IL-2 дендритными клетками. Кроме того, MUC1 ингибирует пролиферацию и функцию Т-лимфоцитов, регулируя экспрессию различных белковых молекул [19]. Полученные нами данные соответствуют результатам других исследований, подтверждающих супрессорную функцию MUC1 на уровне опухолевого микроокружения, и дополняют эти представления сведениями о возможной стимулирующей роли MUC1 в продукции IL-32.

Чтобы понять, какие именно варианты мРНК *MUC1* ассоциированы с выявленными изменениями в уровне тестированных мРНК клеток иммунной системы, мы провели сравнительный анализ уровней мРНК *FoxP3*, мРНК *IL-32* и мРНК *ICAM1* в опухолях, положительных и отрицательных по альтернативным формам мРНК *MUC1*. Повышенный уровень мРНК *FoxP3* обнаружен только в *MUC1/REP*-положительных образцах опухоли. На основании этого можно заключить, что увеличение уровня суммарной мРНК *MUC1* в опухолях больных КРР обусловлено повышением уровня варианта мРНК, кодирующего мембранную форму MUC1. Это свидетельствует о том, что при КРР не секреторная, а в основном мембран-

ная форма MUC1 участвует в формировании супрессорного микроокружения опухоли, обусловленного наличием Т-регуляторных клеток.

В свою очередь, наличие в опухолях другого варианта мРНК — *MUC1/A-D* — ассоциировано с повышением уровня мРНК *IL-32*. Показано, что IL-32 стимулирует провоспалительное звено иммунитета через активацию транскрипционного ядерного фактора κВ (NF-κВ) и MAPK p38-опосредованной продукции фактора некроза опухоли α, IL-1β, IL-8 и IL-6. Избыточная экспрессия IL-32 стимулирует метастазирование КРР в органы и лимфатические узлы [17]. Природа связи между экспрессией IL-32 и делетированными формами MUC1 остается неясной. Однако обнаруженное нами сравнительно высокое содержание мРНК *IL-32* в общей совокупности тестированных образцов опухоли по сравнению с *MUC1*-отрицательными опухолями можно объяснить повышенным уровнем мРНК *IL-32* в мРНК *MUC1/A-D*-положительных опухолях. Обращает на себя внимание и повышенный уровень мРНК *ICAM1* в мРНК *MUC1/A-D*-положительных опухолях. Если в *MUC1*-положительных новообразованиях зарегистрирована лишь статистически незначимая тенденция к увеличению уровня мРНК *ICAM1* по сравнению с *MUC1*-отрицательными опухолями, то в мРНК *MUC1/A-D*-положительных опухолях такие различия оказались статистически значимыми. Таким образом, экспрессия ICAM1 на клетках опухолевого микроокружения в большей степени ассоциирована с уровнем мРНК вариантов *MUC1*, содержащих tandemные повторы с небольшими делециями (*MUC1/A-D*). ICAM1 принимает участие в метастазировании опухолей, обеспечивая подвижность клеток, и способен взаимодействовать с MUC1. Также хорошо известна тесная связь экспрессии MUC1 с низкой выживаемостью больных КРР, которую объясняют в том числе важной ролью в образовании метастазов опухоли молекул клеточной адгезии, в частности ICAM1. Показано, что ICAM1 взаимодействует с MUC1, вызывая агрегацию выходящих в циркуляцию опухолевых клеток с формированием промиграционных сигналов на основе кальция, что способствует метастазированию и возникновению вторичных опухолей [20, 21]. Видимо, большая роль в этих событиях, происходящих на фоне, как показано нами, повышенной экспрессии *FoxP3* и *IL-32*, принадлежит вариантам *MUC1*, содержащим tandemные повторы с небольшими делециями. Мы выявили положительную корреляционную связь между уровнями мРНК *FoxP3*, мРНК *IL-32* и мРНК *ICAM1*, детектируемых в опухолях больных КРР.

Заключение

Результаты данного исследования расширяют и детализируют представления о проопухолевой роли

MUC1 и демонстрируют участие его отдельных вариантов в онкогенезе KPP. Так, продемонстрированы различия в частоте встречаемости альтернативных вариантов мРНК *MUC1* в опухолях больных KPP, показана корреляционная связь между уровнями мРНК *MUC1* и мРНК *IL-32*, а также мРНК *IL-32*, мРНК *FoxP3* и мРНК *ICAM1*. Выявлено, что в *MUC1*-положительных опухолях отмечаются более высокие уровни мРНК *FoxP3* и мРНК *IL-32* по сравнению

с *MUC1*-отрицательными опухолями. Эти различия обусловлены повышенными уровнями мРНК *FoxP3* в мРНК *MUC1/REP*-положительных опухолях и мРНК *IL-32* в *MUC1/A-D*-положительных опухолях. В новообразованиях с экспрессией *MUC1/A-D* обнаружен также высокий уровень мРНК *ICAM1*, что указывает на возможную роль в метастазировании вариантов *MUC1*, мРНК которых содержит tandemные повторы с небольшими делециями.

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

1. Viswanathan S., Raha M., Mishra S., Patnaik S. Colorectal cancer stem cells in the tumor microenvironmental niche: Mechanistic insights and emerging therapies. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer* 2026;1881(2):189559. DOI: 10.1016/j.bbcan.2026.189559
2. Chen C., Patel A., Demirkhanyan L., Gondi C.S. the role of mucins in cancer and cancer progression: a comprehensive review. *Curr Issues Mol Biol* 2025;47(6):406. DOI: 10.3390/cimb47060406
3. Cox K.E., Liu S., Lwin T.M. et al. the mucin family of proteins: candidates as potential biomarkers for colon cancer. *Cancers (Basel)* 2023;27:15(5):1491. DOI: 10.3390/cancers15051491
4. David J.M., Hamilton D.H., Palena C. MUC1 upregulation promotes immune resistance in tumor cells undergoing brachyury-mediated epithelial-mesenchymal transition. *Oncoimmunology* 2016;5(4):e1117738. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1117738
5. Zhang Y., Dong X., Bai L. et al. MUC1-induced immunosuppression in colon cancer can be reversed by blocking the PD1/PDL1 signaling pathway. *Oncol Lett* 2020;20(6):317. DOI: 10.3892/ol.2020.12180
6. Караулов А.В., Гурина Н.Н., Новиков Д.В. и др. Роль экспрессии белка MUC1 в прогрессии опухоли. *Вестник РАМН* 2016;71(5):392–96. DOI: 10.15690/vramn736
7. Karaulov A.V., Gurina N.N., Novikov D.V. et al. The role of MUC1 protein expression in tumor progression. *Vestnik RAMN = Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences* 2016;71(5):392–96. (In Russ.). DOI: 10.15690/vramn736
8. Li C., Liu T., Yin L. et al. Prognostic and clinicopathological value of MUC1 expression in colorectal cancer: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2019;98(9):e14659. DOI: 10.1097/MD.00000000000014659
9. Chen W., Zhang Z., Zhang S. et al. MUC1: Structure, function, and clinic application in epithelial cancers. *Int J Mol Sci* 2021;22(12):6567. DOI: 10.3390/ijms22126567
10. Zhang L., Vlad A., Millcreek C., Finn O.J. Human mucin MUC1 RNA undergoes different types of alternative splicing resulting in multiple isoforms. *Cancer Immunol Immunother* 2013;62(3):423–35. DOI: 10.1007/s00262-012-1325-2
11. Kumar S., Cruz E., Joshi S. et al. Genetic variants of mucins: unexplored conundrum. *Carcinogenesis* 2017;38(7):671–9. DOI: 10.1093/carcin/bgw120
12. Ilkovitch D., Carrio R., Lopez D.M. Mechanisms of antitumor and immune-enhancing activities of MUC1/sec, a secreted form of mucin-1. *Immunol Res* 2013;57(1–3):70–80. DOI: 10.1007/s12026-013-8451-6
13. Obermair A., Schmid B.C., Packer L.M. et al. Expression of MUC1 splice variants in benign and malignant ovarian tumours. *Int J Cancer* 2002;100(2):166–71. DOI: 10.1002/ijc.10456
14. Strawbridge R.J., Nistér M., Brismar K. et al. MUC1 as a Putative prognostic marker for prostate cancer. *Biomark Insights* 2008;14:3:303–15. DOI: 10.4137/bmi.s666
15. Kakhkhaie K.R., Moaven O., Abbaszadegan M.R. et al. Specific MUC1 splice variants are correlated with tumor progression in esophageal cancer. *World J Surg* 2014;38:2052–7. DOI: 10.1007/s00268-014-2523-1
16. Новиков Д.В., Фомина С.Г., Гурина Н.Н. и др. Корреляция экспрессии *MUC1*, *ICAM1*, *IL32*, *FcyR3A* и *FoxP3* в опухолевых очагах больных раком молочной железы. *Клиническая лабораторная диагностика* 2017;62(1):35–9. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-1-35-39
17. Novikov D.V., Fomina S.G., Gurina N.N. et al. The correlation of expression of *MUC1*, *ICAM1*, *IL32*, *FcyR3A* and *FoxP3* in tumor nidus of patients with breast cancer. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics* 2017;62(1):35–9. (In Russ.). DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-1-35-39
18. Sousa A.M., Grandgenett P.M., David L. et al. Reflections on MUC1 glycoprotein: the hidden potential of isoforms in carcinogenesis. *APMIS* 2016;124(11):913–24. DOI: 10.1111/apm.12587
19. Meng D., Dong H., Wang C. et al. Role of interleukin-32 in cancer progression (review). *Oncol Lett* 2023;27(2):54. DOI: 10.3892/ol.2023.14187
20. Palollathil A., Dagamajalu S., Ahmed M. et al. The network map of mucin 1 mediated signaling in cancer progression and immune modulation. *Discov Oncol* 2025;16(1):1404. DOI: 10.1007/s12672-025-03030-z
21. Chen X., Sandrine I.K., Yang M. et al. MUC1 and MUC16: critical for immune modulation in cancer therapeutics. *Front Immunol* 2024;15:1356913. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1356913
22. Hayashi T., Takahashi T., Motoya S. et al. MUC1 mucin core protein binds to the domain of ICAM1. *Digestion* 2001;63(Suppl. 1):87–92. DOI: 10.1159/000051917
23. Rahn J.J., Shen Q., Math B.K., Hugh J.C. MUC1 initiates a calcium signal after ligation by intercellular adhesion molecule-1. *J Biol Chem* 2004;279(28):29386–90. DOI: 10.1074/jbc.C400010200

Вклад авторов

Д.В. Новиков, В.В. Новиков: разработка концепции и дизайна исследования, написание текста статьи;
А.В. Калугин, А.В. Алясова, С.В. Шумилова, Н.И. Кубышева: сбор и обработка данных.

Authors' contributions

D.V. Novikov, V.V. Novikov: development of the research concept and design, article writing;
A.V. Kalugin, A.V. Alyasova, S.V. Shumilova, N.I. Kubysheva: data collection and processing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Д.В. Новиков / D.V. Novikov: <https://orcid.org/0000-0001-7049-6935>
А.В. Калугин / A.V. Kalugin: <https://orcid.org/0000-0002-5484-5645>
А.В. Алясова / A.V. Alyasova: <https://orcid.org/0000-0003-2621-0359>
С.В. Шумилова / S.V. Shumilova: <https://orcid.org/0000-0002-2727-2888>
Н.И. Кубышева / N.I. Kubysheva: <https://orcid.org/0000-0002-5582-5814>
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 conflicts of interest.

Финансирование. Исследование выполнено за счет государственного бюджета (Государственный контракт №П802 «Особенности транскриптома опухолевых клеток»).

Funding. The study was funded by the state budget (State contract No. P802 “Characteristics of the tumor cells transcriptome”).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

All patients signed informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 22.10.2025. Принята в печать: 28.08.2026. Опубликовано онлайн: 05.10.2026.

Article submitted: 22.10.2025. Accepted for publication: 28.08.2026. Published online: 05.10.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-79-87>

Исследование параметров крови, взаимосвязанных с формированием нейтрофильных внеклеточных ловушек, у пациентов с местно-распространенным немелкоклеточным раком легкого

А.Е. Глухарева¹, Л.Ю. Гривцова^{1,2}, Г.В. Афонин¹, С.А. Иванов^{1,3}, А.Д. Каприн³⁻⁵

¹Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 249031 Обнинск, ул. Маршала Жукова, 10;

²ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова»; Россия, 115522 Москва, ул. Москворечье, 1;

³ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы»; Россия, 117198 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6;

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 249036 Обнинск, ул. Королева, 4;

⁵Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский проезд, 3

Контакты: Анастасия Евгеньевна Глухарева gluharevaa78@gmail.com

Введение. Рак легкого занимает лидирующие позиции по смертности от злокачественных новообразований. Около 80 % случаев этой патологии приходится на немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ); у 40 % пациентов заболевание диагностируют на распространенной нерезектабельной стадии. Высокие распространенность данной патологии и смертность, связанная с ней, диктуют необходимость поиска новых терапевтических мишеней. В качестве одного из потенциальных маркеров метастазирования и прогрессии опухоли рассматривается феномен НЕТоза — процесс формирования нейтрофилами внеклеточных ловушек. В настоящее время описаны несколько параметров крови, ассоциированных с НЕТозом: двухцепочечная ДНК (дцДНК), цитруллинированные гистоны и комплексы миелопероксидазы с ДНК.

Цель исследования — оценить наличие и концентрации в сыворотке крови пациентов с местно-распространенным нерезектабельным НМРЛ дцДНК, цитруллинированных гистонов и комплексов миелопероксидазы с ДНК, присутствие которых ассоциировано с феноменом НЕТоза.

Материалы и методы. В исследование включены образцы крови 49 первичных пациентов с местно-распространенным нерезектабельным НМРЛ на этапе диагностики. В сыворотке крови методом иммуноферментного анализа определяли уровень цитруллинированного гистона H3, комплексы миелопероксидазы с ДНК и дцДНК. Уровень цитруллинированного гистона H3 оценивали с помощью набора Cayman Chemical, комплексы миелопероксидазы с ДНК — с использованием планшетов Nunc Polysorb, сенсibilизированных антителами к миелопероксидазе, двухцепочечную ДНК — с помощью набора Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Для статистической обработки данных применяли пакет Statistica v.13.3.

Результаты. Частота наблюдений (число пациентов), в которых значение оцениваемого параметра было выше верхней границы его значения у здоровых доноров, по дцДНК составила 100 %. Уровни цитруллинированного гистона были выше медианных значений у здоровых доноров в 26,5 % случаев (13 из 49 наблюдений). Медиана концентрации дцДНК значительно превышала аналогичные показатели у здоровых доноров и составила 417,5 (347,2; 638,2) нг/мл, при этом абсолютные значения этого параметра составили от 267,9 до 1523,0 нг/мл. Анализ комплексов миелопероксидазы с ДНК у пациентов был затруднительным вследствие отсутствия калибровочной кривой у доноров.

Заключение. На основании оценки двух независимых параметров выявлена высокая вероятность наличия в крови первичных пациентов с нерезектабельным НМРЛ нейтрофильных внеклеточных ловушек.

Ключевые слова: немелкоклеточный рак легкого, нейтрофильная внеклеточная ловушка, двухцепочечная ДНК, цитруллинированный гистон H3, комплекс миелопероксидазы с ДНК, терапевтическая мишень

Для цитирования: Глухарева А.Е., Гривцова Л.Ю., Афонин Г.В. и др. Исследование параметров крови, взаимосвязанных с формированием нейтрофильных внеклеточных ловушек, у пациентов с местно-распространенным немелкоклеточным раком легкого. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(3):79–87.
DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-79-87>

Investigation of blood parameters related to the formation of neutrophil extracellular traps in patients with locally advanced non-small cell lung cancer

Anastasia E. Glukhareva¹, Lyudmila Yu. Gritsova^{1,2}, Grigory V. Afonin¹, Sergey A. Ivanov^{1,3}, Andrey D. Kaprin³⁻⁵

¹A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Centre, Ministry of Health of Russia; 10 Marshala Zhukova St., Obninsk 249031, Russia;

²N.P. Bochkov Research Centre for Medical Genetics; 1 Moskvorechye St., Moscow 115522, Russia;

³RUDN University; 6 Miklukho-Maklaya St., Moscow 117198, Russia;

⁴National Medical Research Radiological Centre, Ministry of Health of Russia; 4 Koroleva St., Obninsk 249036, Russia;

⁵P.A. Herten Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Centre, Ministry of Health of Russia; 3 2nd Botkinsky Proezd, Moscow 125284, Russia

Contacts: Anastasia Evgenievna Glukhareva glukhareva78@gmail.com

Background. Lung cancer remains the leading cause of mortality among all malignancies. Non-small cell lung cancer (NSCLC) accounts for approximately 80 % of all lung cancer cases, and 40 % of patients are diagnosed at an advanced, unresectable stage. The high prevalence and mortality associated with this disease necessitates the search for new therapeutic targets. Among the potential markers of metastasis and tumor progression is the biological phenomenon of neutrophil extracellular trap formation (NETosis). Several blood parameters associated with NETosis have been described, including double-stranded DNA, citrullinated histones, and myeloperoxidase-DNA complexes.

Aim. To evaluate the presence and concentrations of double-stranded DNA, citrullinated histones and myeloperoxidase-DNA complexes in blood serum associated with the NETosis phenomenon in patients with locally advanced unresectable non-small cell lung cancer.

Materials and methods. Serum samples from 49 primary patients with locally advanced unresectable NSCLC were examined at diagnosis. Citrullinated histone H3, myeloperoxidase-DNA complexes and double-stranded DNA (dsDNA) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Citrullinated histone H3 was measured with a Cayman Chemical kit, myeloperoxidase-DNA complexes on Nunc Polysorb plates sensitized with myeloperoxidase antibodies, and dsDNA with the Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, USA). Data were processed with Statistica v.13.3.

Results. The frequency of observations (the number of patients) with values above the upper limit reported for donors was 100 % for dsDNA; citrullinated histone H3 exceeded the donor median in 26.5 % of cases (13 of 49). The median dsDNA concentration in patients was significantly higher than in healthy donors: 417.5 (347.2; 638.2) ng/ml, with individual values ranging from 267.9 to 1523.0 ng/ml. The analysis of myeloperoxidase-DNA complexes in patients was difficult due to the lack of a calibration curve for donors.

Conclusion. Assessment of two independent parameters indicates a high probability of neutrophil extracellular traps in the blood of primary patients with unresectable NSCLC.

Keywords: non-small cell lung cancer, neutrophil extracellular trap, double-stranded DNA, citrullinated histone H3, myeloperoxidase-DNA complex, therapeutic target

For citation: Glukhareva A.E., Gritsova L.Yu., Afonin G.V. et al. Investigation of blood parameters related to the formation of neutrophil extracellular traps in patients with locally advanced non-small cell lung cancer. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(3):79–87. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-79-87>

Введение

Рак легкого занимает лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости и смертности от злокачественных опухолей в мире; смертность, связанная с этой патологией, выше среди мужского населения [1, 2]. Частота выявления случаев рака легкого (РЛ) в Российской Федерации увеличивается ежегодно, прирост заболеваемости РЛ за последние 10 лет составил 10 % [2]. Выделяют немел-

коклеточный и мелкоклеточный гистологические типы РЛ, при этом 80 % всех карцином составляет немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) [2].

Современные методы диагностики, программы скрининга, повышенная онкологическая настороженность населения позволяют диагностировать РЛ на ранней стадии, и все же в 70 % случаев на момент установления диагноза у пациентов выявляют распространенную, нерезектабельную форму заболевания

(III–IV стадии) [2]. Когорта пациентов с НМРЛ разнородна и включает больных как с потенциально резектабельным, так и с нерезектабельным процессом.

Эффективность противоопухолевого лечения до внедрения в клиническую практику иммунотерапии значительно варьировала: 5-летняя общая выживаемость при стадии ПИА составляла 41 %, при стадии ППС — 12 % [3]. В настоящее время основным методом лечения нерезектабельного местно-распространенного НМРЛ является химиолучевая терапия. При использовании данного подхода 5-летняя общая выживаемость составляет 33,4 %. При этом, согласно данным статистики, 5-летняя выживаемость без прогрессирования не превышает 19 %, т.е. более чем у 80 % пациентов в течение 5 лет регистрируют прогрессирование заболевания, что свидетельствует о недостаточной эффективности химиолучевой терапии [4]. Кроме того, адекватные маркеры прогноза развития болезни в настоящее время отсутствуют. Таким образом, существует необходимость проведения исследований, направленных на изучение механизмов злокачественного процесса как на клеточном, так и на молекулярном уровне. В последние годы оценка состава опухолевого микроокружения и иммунных механизмов управления опухолевым ростом вызывает особый интерес.

Одним из важных участников опухолевого микроокружения и значимым компонентом иммунной системы являются нейтрофилы. Данная популяция клеток обладает особым механизмом противомикробной защиты, получившим название НЕТоз. При активации нейтрофилы разрушают патогены посредством фагоцитоза путем высвобождения цитотоксических гранул или с помощью формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ), которые способны нейтрализовать патоген вне клетки, без формирования фагосомы, за счет высокой концентрации антимикробных компонентов. НВЛ состоят из деконденсированного хроматина, который образует сетевидные структуры ДНК с порами размером около 200 нм [5–7]. Они покрыты ядерными белками, включая гистоны, гранулярные (такие как эластаза нейтрофилов и миелопероксидаза (МПО)) и цитозольные (такие как кальцийсвязывающие белки S100A8, A9 и A12, а также актин и α -актинин) белки [8]. В последнее время феномен НЕТоза рассматривается не только в контексте противомикробной защиты. Оказалось, что НВЛ могут участвовать в различных патологических процессах, включая рак.

Результаты исследований продемонстрировали участие НВЛ в процессах метастазирования при различных злокачественных опухолях. В частности, установлено, что НВЛ способствуют миграции и инвазии клеток НМРЛ. Так, Х. Уе и соавт. продемонстрировали

участие НВЛ на молекулярном уровне в метастазировании НМРЛ. У пациентов с НМРЛ нейтрофильные ловушки рассматриваются и как маркер прогноза [9]. Данные наблюдения диктуют необходимость подробного изучения предикторов, взаимосвязанных с формированием НВЛ у пациентов с НМРЛ, что в дальнейшем позволит рассмотреть их как возможную терапевтическую мишень.

Выявление НВЛ как биологического объекта — непростая задача, которая может быть осуществлена методом микроскопии. В настоящее время описано несколько биологических параметров крови, ассоциированных с формированием НВЛ. В первую очередь это двухцепочечные ДНК (дцДНК), цитруллинированные гистоны и комплексы миелопероксидазы с ДНК (МПО-ДНК), которые фактически являются компонентами гранул нейтрофилов и при запуске процесса НЕТоза (т.е. при нарушении целостности мембраны нейтрофила или его полном разрушении) поступают в циркуляцию, и, соответственно, могут быть определены посредством несложных лабораторных методов [10].

Цель исследования — проанализировать наличие и концентрации дцДНК, цитруллинированных гистонов и комплексов МПО-ДНК, ассоциированных с НВЛ, в сыворотке крови у пациентов с местно-распространенным нерезектабельным НМРЛ.

Материалы и методы

В исследование включены образцы крови 49 первичных пациентов с местно-распространенным нерезектабельным НМРЛ на этапе диагностики. Характеристика больных представлена в табл. 1.

Образцы крови были получены перед началом терапии из периферической вены с помощью вакуумной системы в пробирки Vacuette 3,5 мл с активатором свертывания. Далее из цельной крови посредством центрифугирования выделялась сыворотка с последующим отделением супернатанта от форменных элементов крови. Образцы сыворотки замораживали и хранили при температуре -70°C до момента проведения иммуноферментного анализа (ИФА), с помощью которого определено содержание цитруллинированных гистонов НЗ (citH3), комплексов МПО-ДНК и дцДНК.

Определение citH3. Оценку citH3 выполняли с помощью коммерческого набора Cayman Chemical (501620; США) по инструкции производителя. Перед этим сыворотку разводили буфером, входящим в состав набора (Assay Buffer), в соотношении 1:1.

Выявление комплексов МПО-ДНК. Комплексы МПО-ДНК определяли с помощью планшетов Nunc Polysorb, сенсibilизированных антителами к МПО (MCA 1757; Bio-Rad, США) в количестве 75 мкл на лунку и концентрации 5 мкг/мл в течение ночи

Таблица 1. Характеристика пациентов с нерезектабельным немелкоклеточным раком легкого ($n = 49$)

Table 1. General characteristics of patients with unresectable non-small cell lung cancer ($n = 49$)

Показатель Parameter	Значение Value
Средний возраст, лет Average age, years	61,9
Средний показатель стажа курения, лет Average smoking experience, years	35,1
Пол, n : Sex, n :	
мужской male	45
женский female	4
Гистологический тип опухоли, n : Tumor histological type, n :	
аденокарцинома adenocarcinoma	20
плоскоклеточный рак squamous cell carcinoma	29
Стадия заболевания, n : Stage of the disease, n :	
IIIb	35
IIIc	14

при $+4...+8$ °C. На следующий день несвязавшиеся антитела трижды отмывали фосфатно-солевым буфером (PBS), свободные сайты связывания блокировали 1 % бычьим сывороточным альбумином («ПанЭко», Россия) в течение 1 ч при комнатной температуре на шейкере, отмывали PBS и вносили тестовые образцы и контроли, разведенные в PBS с 0,1 % бычьим сывороточным альбумином. Инкубирование проводили в течение 2 ч при комнатной температуре на шейкере, отмывали PBS, вносили антитела к ДНК (ab27156; Abscam, США) на 1 ч, отмывали и добавляли вторичные антитела к IgG2a мыши, конъюгированные с пероксидазой (115-035-206; Jackson ImmunoResearch, США) в конечном разведении 1:5000. Затем инкубировали в течение 1 ч при 37 °C на шейкере, отмывали PBS и вносили субстрат для пероксидазы — 3,3',5,5'-тетраметилбензидина гидрохлорид. Проводили инкубацию при 37 °C до развития окраски. Реакцию учитывали на ИФА-ридере BioTek ELx 808 (BioTek, Германия) при длине волны 450 нм.

Определение дцДНК. Оценку дцДНК выполняли по инструкции производителя с помощью набора Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Сыворотку разводили в соотношении 1:9 однократным ТЕ-реагентом, который входит в состав набора. Интенсивность флуоресценции измеряли на флуориметре Synergy LX (BioTek, Герма-

ния) при максимуме поглощения 480 нм и максимуме испускания 520 нм.

Статистическая обработка данных. Результаты статистической обработки данных по исследуемым параметрам представляли в виде медианы и межквартильного размаха, а также среднего значения и стандартного отклонения. Для определения значимости межгрупповых различий использовали U-критерий Манна–Уитни, а для оценки динамики показателей — критерий Уилкоксона. Различия величин расценивали как значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Изучение феномена нейтрофильных ловушек в настоящее время — одно из перспективных направлений онкологии, именно НВЛ рассматриваются в качестве одного из важных биомаркеров формирования метастазов. Результаты исследований демонстрируют участие НВЛ в процессах метастазирования с помощью различных механизмов [11, 12]. В частности, НВЛ содействуют эпителиально-мезенхимальному переходу [11]. В исследовании В.Е. Hsu и соавт. также продемонстрирована роль НВЛ в метастазировании рака молочной железы в печень [13]. При колоректальном раке они участвуют в процессах адгезии циркулирующих опухолевых клеток к печеночной или легочной эндотелиальной поверхности и способствуют миграции опухолевых клеток в печень и легкие [14]. Также НВЛ могут способствовать тромбозу, повышая вязкость крови и усиливая состояние гиперкоагуляции у онкологических пациентов [15, 16].

Таким образом, выявление и ингибирование НВЛ могут иметь большое значение не столько для диагностики онкологических заболеваний, сколько для определения их прогноза и, возможно, для предотвращения процессов метастазирования.

На сегодняшний день не существует стандартизированного определения параметров НВЛ. На основании биологических свойств нейтрофилов и состава их цитотоксических гранул, которые содержат различные белки (сериновые протеазы, нейтрофильную эластазу, катепсин G, МПО), а также механизмов формирования нейтрофильных ловушек предполагают, что данный феномен может быть оценен по количеству ряда биологических маркеров, включающих дцДНК, комплексы МПО-ДНК и citH3 [14].

Мы оценили 3 биомаркера (дцДНК, citH3 и комплексы МПО-ДНК), наличие которых в периферической крови может указывать на образование нейтрофилами внеклеточных ловушек. Двухпочечная ДНК не является специфическим параметром для определения эффекта формирования нейтрофильных ловушек, в то время как выявление citH3 и комплексов МПО-ДНК более специфично и может

свидетельствовать о дегрануляции нейтрофилов и образовании ими нейтрофильных ловушек [16].

На предварительном этапе работы мы провели поиск литературы по теме и проанализировали данные зарубежных исследований, имеющихся в открытом доступе (в базах PubMed, Российский индекс научного цитирования, Scopus и др.), для выявления уровня изучаемых показателей у здоровых лиц (без признаков инфекционного процесса и злокачественных новообразований). В результате были найдены 6 исследований, посвященных двум изучаемым маркерам у здоровых лиц (табл. 2).

С учетом представленных выше данных пороговым уровнем дцДНК (медиана значений у условно здоровых доноров) можно считать 117 нг/мл, тогда как для ситНЗ этот показатель составляет 10 нг/мл. Уровни исследуемых показателей в нашей группе пациентов значительно варьировали, их средние величины и межквартильный размах представлены в табл. 3.

Далее мы сравнили средние уровни параметров пациентов с выявленными нами в результате анализа данных литературы медианными значениями уровней этих показателей у здоровых доноров. Несмотря

Таблица 2. Данные по оцениваемым показателям в популяции условно здоровых лиц

Table 2. Data on the assessed indicators in the population of conditionally healthy individuals

Показатель Indicator	Число пациентов, <i>n</i> Number of patients, <i>n</i>	Возраст пациентов, mean ± SD/Me (Q ₁ ; Q ₃), лет Age of patients, mean ± SD/Me (Q ₁ ; Q ₃), years	Пол пациентов Sex of patients	Уровень показателя, Me (Q ₁ ; Q ₃), нг/мл Indicator level, Me (Q ₁ ; Q ₃), ng/ml	Источник References
Двухцепочечная ДНК Double-stranded DNA	40	34 ± 10	19 мужчин, 21 женщина 19 men, 21 women	92 (80; 115)	[17]
	22	32,3 ± 7,2	10 мужчин, 12 женщин 10 men, 12 women	127,39 (105,56; 161,03)	[18]
	20	51,0 (28,3; 60,8)	10 мужчин, 10 женщин 10 men, 10 women	116,8 (103,1; 129,1)	[19]
Цитруллинированные гистоны НЗ Citrullinated histone H3	32	62,71 ± 14,03	22 мужчины, 10 женщин 22 men, 10 women	8 (0; 30)	[10]
	30	Нет данных No data	Нет данных No data	≈10 нг/мл (нет данных) ≈10 ng/ml (no data)	[20]
	20	51,0 (28,3; 60,8)	10 мужчин, 10 женщин 10 men, 10 women	≈8 нг/мл (нет данных) ≈8 ng/ml (no data)	[19]

Примечание. Me — медиана; Q₁ — 1-й квартиль; Q₃ — 3-й квартиль; mean — среднее значение; SD — стандартное отклонение.
Note. Me — median; Q₁ — 1st quartile; Q₃ — 3rd quartile; mean — mean; SD — standard deviation.

Таблица 3. Средние уровни исследуемых показателей, ассоциированных с нейтрофильными внеклеточными ловушками у первичных пациентов с мелкоклеточным раком легкого, нг/мл

Table 3. Average levels of the studied parameters associated with neutrophil extracellular traps in patients with newly diagnosed non-small cell lung cancer, ng/ml

Показатель Indicator	Число пациентов, <i>n</i> Number of patients, <i>n</i>	Mean ± SD	Минимальное значение Minimum	Межквартильный размах Interquartile range	Me	Максимальное значение Maximum
Двухцепочечная ДНК Double-stranded DNA	49	503,6 ± 237,5	267,9	347,2–638,2	417,5	1523,0
Цитруллинированные гистоны НЗ Citrullinated histone H3	48	6,9 ± 8,8	0,1	1,4–8,2	3,5	41,0
Комплексы миелопероксидазы с ДНК Myeloperoxidase-DNA complexes	49	0,9 ± 0,6	0,2	0,4–1,1	0,9	3,5

Таблица 4. Результаты сравнения показателей, характеризующих формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек, у пациентов с немелкоклеточным раком легкого и у здоровых доноров, медиана (Q1; Q3), нг/мл

Table 4. The results of the comparison of indicators characterizing the formation of neutrophil extracellular traps in patients with non-small cell lung cancer and in healthy donors, median (Q1; Q3), ng/ml

Показатель Indicator	Пациенты Patients	Доноры Donors	Примечание Note
Двухцепочечная ДНК Double-stranded DNA	417,5 (267,9; 1523,0)	111,6 (80; 61)	Высока вероятность значимых различий There is a high probability of significant differences
Цитруллинированные гистоны H3 Citrullinated histone H3	3,5 (0,1; 41,0)	8 (0; 30)	Достоверность маловероятна Reliability is unlikely

Таблица 5. Характеристика пациентов, у которых уровни исследуемых параметров выше максимальных значений у доноров

Table 5. Characteristics of patients with levels of the studied parameters above the maximum values in donors

Пациент Patient	Возраст, лет Age, years	Пол Sex	Уровень дцДНК, нг/мл Level of dsDNA, ng/ml	Уровень citH3, нг/мл Level citH3, ng/ml
1	77	Мужской Male	784,7	41,0
2	62	Мужской Male	800,0	30,0
3	50	Женский Female	740,0	25,5
4	63	Мужской Male	1000,0	24,1
5	63	Мужской Male	766,0	22,4
6	64	Мужской Male	597,5	17,6
7	59	Мужской Male	797,0	14,5
8	73	Мужской Male	657,0	13,3
9	74	Мужской Male	883,0	10,9
10	76	Мужской Male	1522,9	8,2
11	69	Мужской Male	718,5	8,2
12	58	Мужской Male	638,0	12,7
13	72	Мужской Male	366,6	12,6

на предполагаемую высокую специфичность комплексов МПО-ДНК, данный маркер не исследовался в связи с отсутствием данных у здоровых лиц и невозможностью построения калибровочной кривой (табл. 4).

Согласно результатам анализа у всех пациентов уровни дцДНК были существенно выше верхней границы этого показателя у здоровых доноров. Уровни citH3 у больных НМРЛ оказались выше медианных значений данного маркера у здоровых доноров

в 26,5 % случаев (13 из 49 наблюдений). На основании результатов анализа можно говорить, что медиана концентрации дцДНК значительно превышает аналогичные показатели у здоровых доноров и составляет 417,5 (347,2; 638,2) нг/мл при вариабельности значений в диапазоне от 267,9 до 1523,0 нг/мл. Есть вероятность, что данный параметр был бы значимо более высоким при прямом сравнении переменных.

По данным литературы, уровни *citH3* в образцах крови пациентов с НМРЛ отличались от этого показателя у здоровых доноров; вероятность значимости различий при прямом сравнении тоже высока.

Также были изучены уровни *citH3* у пациенток с онкогинекологическими заболеваниями [6]. Значимых различий в концентрации *citH3* между группами пациентов с НМРЛ и здоровых доноров не выявлено. Однако, как и в нашем исследовании, у некоторых больных (в 10 % случаев — у 7 из 70 пациенток) уровень этого показателя был повышен. Более того, авторам удалось установить, что этот показатель ассоциирован с более высокой частотой развития тромботических осложнений [6, 16].

В табл. 5 представлена характеристика пациентов, у которых уровни *citH3* и дцДНК были выше порогового значения этих показателей у доноров.

Оценка уровней комплексов МПО-ДНК у пациентов с НМРЛ и здоровых доноров в нашем исследовании оказалась затруднительной вследствие отсут-

ствия калибровочных кривых. Уровни МПО при онкогинекологических процессах были исследованы Д.Х. Хизроевой и соавт. Высокое содержание МПО установлено у большинства пациенток — в 91,4 % случаев (у 64 женщин из 70) и варьировало от 7,61 до 36,86 нг/мл при нормальных значениях 2,23–2,89 нг/мл. Анализ уровня МПО в данной работе позволил авторам установить пороговые уровни этого параметра, ассоциированные с риском развития метастазов. Так, в группе пациенток с метастазами уровень МПО оказался значимо более высоким (>22,99 нг/мл) по сравнению с пациентками без метастатического процесса. Однако следует отметить, что в работе Д.Х. Хизроевой и соавт. оценивалась МПО, а не комплексы МПО-ДНК [6].

Заключение

Таким образом, на основании оценки двух независимых параметров — *citH3* и дцДНК — продемонстрирована высокая вероятность формирования НВЛ в крови у первичных, нелеченых пациентов с нерезектабельным НМРЛ по сравнению с условно здоровыми донорами. Частота выявления данного биологического феномена при наличии *citH3* составила 26,5 %, при наличии дцДНК — 100 %. Для оценки уровня комплексов МПО-ДНК и клинической значимости изучаемых параметров необходимы дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Bray F, Laversanne M., Sung H. et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2024;74(3):229–63. DOI: 10.3322/caac.21834
- Состояние онкологической помощи населению России в 2023 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. 262 с. The state of cancer care in Russia in 2023. Eds: A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, A.O. Shakhzadova. Moscow: P. Hertsen Moscow Oncology Research Institute — branch of the National Medical Research Radiological Centre, 2024. 262 p. (In Russ.).
- Юдин Д.И., Лактионов К.К., Моисеенко Ф.В. и др. Первые результаты применения дурвалумаба после химиолучевой терапии в лечении местнораспространенного немелкоклеточного рака легкого в России. *Медицинский совет* 2022;(22):12–20. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-22-12-20 Yudin D.I., Laktionov K.K., Moiseenko F.V. et al. First results of durvalumab after chemoradiotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer in Russia. *Medical advice = Meditsinskiy Sovet* 2022;(22):12–20. (In Russ.). DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-22-12-20
- Spigel D.R., Faivre-Finn C., Gray J.E. et al. Five-year survival outcomes from the PACIFIC trial: durvalumab after chemoradiotherapy in stage III non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2022;40(12):1301–11. DOI: 10.1200/JCO.21.01308
- Pires R.H., Felix S.B., Delcea M. The architecture of neutrophil extracellular traps investigated by atomic force microscopy. *Nanoscale* 2016;8(29):14193–202. DOI: 10.1039/c6nr03416k
- Хизроева Д.Х., Асланова З.Д., Солопова А.Г. и др. Роль внеклеточных ловушек нейтрофилов в прогрессии рака и развитии тромбозов. *Акушерство, гинекология и репродукция* 2024;18(1):55–67. DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2024.475 Khizroeva J.Kh., Aslanova Z.D., Solopova A.G. et al. The role of neutrophil extracellular traps in cancer progression and thrombosis development. *Akusherstvo, ginekologiya y reproduksiya = Obstetrics, Gynecology and Reproduction* 2024;18(1):55–67. (In Russ.). DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2024.475
- Глухарева А.Е., Афонин Г.В., Мельникова А.А. и др. Феномен НЕТоза как функциональная особенность нейтрофилов периферической крови и его возможная роль в патогенезе инфекционных и онкологических заболеваний. *Современная онкология* 2022;24(4):487–93. DOI: 10.26442/18151434.2022.4.201786 Glukhareva A.E., Afonin G.V., Melnikova A.A. et al. The phenomenon of NETosis as a functional feature of peripheral

- blood neutrophils and its possible role in the pathogenesis of infectious and oncological diseases. *Sovremennaya onkologiya = Journal of Modern Oncology* 2022;24(4):487–93. (In Russ.). DOI: 10.26442/18151434.2022.4.201786
8. Chapman E.A., Lyon M., Simpson D. et al. Caught in a trap? Proteomic analysis of neutrophil extracellular traps in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Front Immunol* 2019;10:423. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00423
 9. Ye X., Fang C., Hong W. et al. LncRNA MIR503HG regulates NETs-mediated NLRP3 inflammasome activation and NSCLC metastasis by enhancing the ubiquitination of C/EBP β . *Clin Transl Med* 2025;15(6):e70342. DOI: 10.1002/ctm2.70342
 10. Tian Y., Russo R.M., Li Y. et al. Serum citrullinated histone H3 concentrations differentiate patients with septic versus non-septic shock and correlate with disease severity. *Infection* 2021;49(1):83–93. DOI: 10.1007/s15010-020-01528-y
 11. De Meo M.L., Spicer J.D. The role of neutrophil extracellular traps in cancer progression and metastasis. *Semin Immunol* 2021;57:101595. DOI: 10.1016/j.smim.2022.101595
 12. Albregues J., Shields M.A., Ng D. et al. Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken dormant cancer cells in mice. *Science* 2018;361(6409):eaao4227. DOI: 10.1126/science.aao4227
 13. Hsu B.E., Tabariès S., Johnson R.M. et al. Immature low-density neutrophils exhibit metabolic flexibility that facilitates breast cancer liver metastasis. *Cell Rep* 2019;27(13):3902–15.e6. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.05.091
 14. Нуралы Ш.С., Шакеев К.Т., Тургунов Е.М. и др. Перспективы применения уровней внеклеточных нейтрофильных ловушек при колоректальном раке: обзор литературы. *Онкология и радиология Казахстана* 2024;(4):86–93. DOI: 10.52532/2521-6414-2024-4-74-314
Nuraly Sh.S., Shakeyev K.T., Turgunov E.M. et al. Prospects for the use of extracellular neutrophil trap levels in colorectal cancer: a literature review. *Onkologiya i radiologiya Kazakhstana = Oncology and Radiology of Kazakhstan*. 2024;(4):86–93. (In Russ.). DOI: 10.52532/2521-6414-2024-4-74-314
 15. Mauracher L.M., Posch F., Martinod K. et al. Citrullinated histone H3, a biomarker of neutrophil extracellular trap formation, predicts the risk of venous thromboembolism in cancer patients. *J Thromb Haemost* 2018;16(3):508–18. DOI: 10.1111/jth.13951
 16. Слуханчук Е.В., Бицадзе В.О., Солопова А.Г. и др. Вклад внеклеточных ловушек нейтрофилов в протромботическое состояние и прогрессию опухоли у онкогинекологических пациенток. *Акушерство, гинекология и репродукция* 2023;17(1):53–64. DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.385
Slukhanchuk E.V., Bitsadze V.O., Solopova A.G. et al. An impact of neutrophil extracellular traps to the prothrombotic state and tumor progression in gynecological cancer patients. *Akusherstvo, ginekologiya y reproduksiya = Obstetrics, Gynecology and Reproduction* 2023;17(1):53–64. (In Russ.). DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.385
 17. Свистушкин В.М., Никифорова Г.Н., Пинегин Б.В. и др. Нейтрофильные внеклеточные ловушки как важная часть патогенеза хронического риносинусита без полипов. *Consilium Medicum* 2024;26(9):587–93. DOI: 10.26442/20751753.2024.9.202834
Svistushkin V.M., Nikiforova G.N., Pinegin B.V. et al. Neutrophil extracellular traps as an important part of the pathogenesis of chronic rhinosinusitis without polyps. *Consilium Medicum* 2024;26(9):587–93. (In Russ.). DOI: 10.26442/20751753.2024.9.202834
 18. Wang H., Sha L.L., Ma T.T. et al. Circulating level of neutrophil extracellular traps is not a useful biomarker for assessing disease activity in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *PLoS One* 2016;11(2):e0148197. DOI: 10.1371/journal.pone.0148197
 19. Kim S., Hong K.H., Gu J.Y. et al. High circulating levels of neutrophil extracellular traps parameters predicting poor outcome in COVID-19. *Ann Clin Lab Sci* 2022;52(3):374–81.
 20. Zuo Y., Yalavarthi S., Shi H. et al. Neutrophil extracellular traps in COVID-19. *JCI Insight* 2020;5(11):e138999. DOI: 10.1172/jci.insight.138999

Вклад авторов

А.Е. Глухарева: разработка концепции и дизайна исследования, сбор, анализ и интерпретация данных, написание текста статьи;
Л.Ю. Гривцова: разработка концепции и дизайна исследования, научное редактирование;
Г.В. Афонин: научное редактирование, оформление библиографии;
С.А. Иванов, А.Д. Каприн: анализ научной работы, научное редактирование.

Authors' contributions

A.E. Glukhareva: development of the concept and design of research, collection, analysis and interpretation of data, article writing;
L.Y. Grivtsova: development of the concept and design of research, scientific editing;
G.V. Afonin: scientific editing, bibliography design;
S.A. Ivanov, A.D. Kaprin: analysis of scientific work, scientific editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.Е. Глухарева / A.E. Glukhareva: <https://orcid.org/0000-0002-4122-1569>
Л.Ю. Гривцова / L.Yu. Grivtsova: <https://orcid.org/0000-0001-9103-9688>
Г.В. Афонин / G.V. Afonin: <https://orcid.org/0000-0002-7128-2397>
С.А. Иванов / S.A. Ivanov: <https://orcid.org/0000-0001-7689-6032>
А.Д. Каприн / A.D. Kaprin: <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов 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.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба — филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (протокол № 661 от 19.01.2022). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center — branch of the National Medical Research Radiological Centre, Ministry of Health of Russia (protocol No. 661 dated 19.01.2022).

All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 21.11.2025. Принята в печать: 28.08.2026. Опубликовано онлайн: 05.10.2026.

Article submitted: 21.11.2025. Accepted for publication: 28.08.2026. Published online: 05.10.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-88-100>

Иммунные профили периферической крови и опухоли при молекулярных подтипах рака молочной железы: корреляция с растворимыми формами рецептора программируемой клеточной гибели 1 и его лиганда

С.С. Саламатин¹, А.А. Борунова¹, Д.В. Рогожин², А.И. Черткова², З.Г. Кадагидзе²,
Т.Н. Заботина², Н.Е. Кушлинский^{1,2}

¹ФГБОУ ВО «Российский медицинский университет» Минздрава России; Россия, 127006 Москва, ул. Долгоруковская, 4;
²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Сергей Сергеевич Саламатин salamatinsergey26@yandex.ru

Введение. Молекулярные подтипы рака молочной железы определяют не только биологическое поведение опухоли, но и характер противоопухолевого иммунного ответа. Однако связь между субпопуляциями Т-лимфоцитов и растворимыми формами рецептора программируемой клеточной гибели 1 (sPD-1) и его лиганда (sPD-L1) изучена недостаточно.

Цель исследования – изучить взаимосвязь уровней sPD-1/sPD-L1 и функционального состояния Т-лимфоцитов периферической крови и опухолевого микроокружения при различных молекулярных подтипах рака молочной железы.

Материалы и методы. В исследование включены 63 пациентки с люминальным В (HER2⁻) (HER2 – человеческий рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа), люминальным В (HER2⁺), нелюминальным (HER2⁺) и трижды негативным раком молочной железы. Проведен анализ субпопуляций лимфоцитов методом проточной цитометрии и определены уровни sPD-1/sPD-L1 методом иммуноферментного анализа.

Результаты. При трижды негативном раке молочной железы выявлен профиль функционально компетентных цитотоксических Т-лимфоцитов с сильной отрицательной корреляцией уровня sPD-L1 с долей TILs CD8⁺перфорин⁺ ($r = -0,975$; $p = 0,005$). Для люминального подтипа В HER2⁻ характерны признаки истощения Т-клеток и «холодный» иммунный фенотип.

Заключение. Растворимые формы PD-1/PD-L1 демонстрируют подтип-специфические корреляции с функциональным состоянием Т-лимфоцитов, что указывает на их потенциал в качестве прогностических биомаркеров, особенно при трижды негативном раке молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы, молекулярный подтип, опухоль-инфильтрирующий лимфоцит, растворимая форма рецептора программируемой клеточной гибели 1, прогностический биомаркер

Для цитирования: Саламатин С.С., Борунова А.А., Рогожин Д.В. и др. Иммунные профили периферической крови и опухоли при молекулярных подтипах рака молочной железы: корреляция с растворимыми формами рецептора программируемой клеточной гибели 1 и его лиганда. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(3):88–100.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-88-100>

Immune profiles of peripheral blood and tumor tissue in molecular subtypes of breast cancer: correlation with soluble forms of programmed cell death-1 receptor and its ligand

Sergey S. Salamatina¹, Anna A. Borunova¹, Dmitry V. Rogozhin², Antonina I. Chertkova², Zaira G. Kadagidze²,
Tatyana N. Zabolina², Nikolay E. Kushlinskiy^{1,2}

¹Russian Medical University, Ministry of Health of Russia; 24 Dolgorukovskaya St., Moscow 127006, Russia;

²N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

Contacts: Sergey Sergeevich Salamatina salamatinsergey26@yandex.ru

Background. Molecular subtypes of breast cancer determine not only the biological behavior of the tumor, but also the nature of the antitumor immune response. However, the connection between T-lymphocyte subpopulations and the soluble forms of the programmed cell death 1 receptor (sPD-1) and its ligand (sPD-L1) is not well studied.

Aim. To study the relationship of sPD-1/sPD-L1 levels with the functional state of peripheral blood T-lymphocytes and the tumor microenvironment in various molecular subtypes of breast cancer.

Materials and methods. The study included 63 patients with luminal B (HER2⁻) (HER2 – human epidermal growth factor receptor 2), luminal B (HER2⁺), non-luminal (HER2⁺), and triple negative breast cancer. Lymphocyte subpopulations were analyzed by flow cytometry and sPD-1/sPD-L1 levels were determined by enzyme immunoassay.

Results. In triple negative cancer, a profile of functionally competent cytotoxic T-lymphocytes was revealed with a strong negative correlation between the level of sPD-L1 and the proportion of CD8⁺perforin⁺ tumor-infiltrating lymphocytes ($r = -0.975$; $p = 0.005$). Luminal subtype B (HER2⁻) is characterized by signs of T cell depletion and a “cold” immune phenotype.

Conclusion. Soluble forms of PD-1/PD-L1 demonstrate subtype-specific correlations with the functional state of T-lymphocytes, which indicates their potential as prognostic biomarkers, especially in triple negative breast cancer.

Keywords: breast cancer, molecular subtype, tumor-infiltrating lymphocyte, soluble form of the programmed cell death 1 receptor, prognostic biomarker

For citation: Salamatina S.S., Borunova A.A., Rogozhin D.V. et al. Immune profiles of peripheral blood and tumor tissue in molecular subtypes of breast cancer: correlation with soluble forms of programmed cell death-1 receptor and its ligand. *Rossiiskij bioterapevticheskij zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2026;25(3):88–100. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-88-100>

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) – гетерогенное заболевание, делящееся на несколько молекулярных подтипов (люминальный А, люминальный В, HER2-положительный (HER2 – человеческий рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа) нелюминальный и трижды негативный (ТНРМЖ)). Эта классификация определяет биологию опухоли, стратегию терапии и особенности ее взаимодействия с иммунной системой [1–3]. В последние годы ключевое значение в прогнозировании эффективности лечения РМЖ приобрела оценка функционального состояния Т-лимфоцитов, поскольку именно их способность к распознаванию и уничтожению опухолевых клеток лежит в основе успешной иммунотерапии [4]. Критически важным является не только количество опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TILs), но и сохранение у них неистощенного, функционально активного фенотипа с высоким пролиферативным и эффекторным потенциалом [5, 6].

Ключевыми маркерами функциональной компетентности Т-клеток считают костимулирующий рецептор CD28 и активационный маркер – человеческий лейкоцитарный антиген изотипа DR (HLA-DR), в то время как экспрессия рецептора программируемой клеточной гибели 1 (PD-1) и CD95 (Fas) может указывать на различные стадии активации или истощения [7, 8]. Это особенно актуально при ТНРМЖ,

при котором, несмотря на высокую лимфоцитарную инфильтрацию, ответ на ингибиторы контрольных точек (PD-1/лиганд рецептора PD-1 (PD-L1)) наблюдается лишь у некоторых пациенток [9]. Помимо мембранных форм PD-1 и PD-L1 все большее внимание привлекают их растворимые формы – sPD-1 и sPD-L1, которые способны модулировать системный иммунный ответ и служить потенциальными биомаркерами прогноза и ответа на терапию [10, 11].

Оценка растворимых форм имеет преимущества перед анализом тканевых образцов: во-первых, это малоинвазивный метод, позволяющий проводить мониторинг в динамике; во-вторых, растворимые молекулы отражают суммарную активность иммуносупрессивных механизмов как в опухолевом микроокружении, так и в системном кровотоке [12]. Тем не менее данные о взаимосвязи уровней sPD-1 и sPD-L1 с функциональным статусом Т-лимфоцитов в контексте различных молекулярных подтипов РМЖ остаются неоднозначными и недостаточно систематизированными. Особенно мало изучена прогностическая ценность комбинации этих биомаркеров для прогнозирования ответа на иммунотерапию. Комплексная оценка функционального состояния Т-лимфоцитов, основанная на анализе костимулирующих (CD28), активационных (HLA-DR) маркеров и маркеров истощения (PD-1, CD95), может служить альтернативным подходом к идентификации

прогностически значимых субпопуляций Т-лимфоцитов. Анализ уровня наивных $CD8^+CD11b^-CD28^+$ -Т-лимфоцитов в периферической крови и опухолевой ткани пациенток с различными молекулярными подтипами РМЖ позволяет оценить состояние противоопухолевого иммунного ответа и спрогнозировать эффективность иммунотерапии.

Цель исследования — изучить взаимосвязь уровней sPD-1/sPD-L1 с функциональным состоянием Т-лимфоцитов периферической крови и опухолевого микроокружения при различных молекулярных подтипах РМЖ.

Материалы и методы

В исследование включены 63 пациентки с верифицированным диагнозом «рак молочной железы» (медиана возраста — 47,5 года), которые проходили плановое обследование и получали стационарное лечение в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина. Клинико-морфологическая характеристика больных представлена в табл. 1.

Клинический диагноз у всех пациенток подтвержден данными морфологического исследования опухоли согласно Международной гистологической классификации опухолей молочной железы Всемирной организации здравоохранения (2019).

Таблица 1. Клинико-морфологическая характеристика больных с раком молочной железы (РМЖ)

Table 1. Clinical and morphological characteristics of breast cancer (BC) patients

Показатель Parameter	Значение Value
Возраст, лет, Ме (интерквартильный размах) Age, years, median (interquartile range)	47,5 (28–69)
Молекулярно-биологический подтип опухоли, n (%): Molecular and biological subtypes of breast cancer, n (%):	
люминальный В (HER2 ⁻) luminal B (HER2 ⁻)	22 (34,92)
люминальный В (HER2 ⁺) luminal B (HER2 ⁺)	13 (20,63)
нелюминальный (HER2 ⁺) non-luminal (HER2 ⁺)	6 (9,52)
трижды негативный РМЖ thrice negative BC	22 (34,92)

Примечание. Ме — медиана; HER2 — человеческий рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа.

Note. Me — median; HER2 — human epidermal growth factor receptor 2.

Забор и подготовка образцов. У всех пациенток в момент установления диагноза до начала лечения взяты парные образцы: периферическая кровь (в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой)

и фрагменты опухолевой ткани, полученные путем трепанобиопсии. Концентрацию растворимых форм sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови определяли до начала специфического лечения с использованием коммерческих наборов для иммуноферментного анализа Human PD-L1 Platinum ELISA, Human PD-1 ELISA Kit (eBioscience, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили с помощью автоматического иммуноферментного анализатора BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Содержание маркеров выражали в пикограммах на миллилитр сыворотки крови. Рецепторы эстрогенов, прогестерона и HER2 в ткани опухоли исследовали иммуногистохимическим методом.

Проточная цитометрия. Метод проточной цитометрии использовали для иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови и TILs. Образцы опухолевой ткани подвергали механической гомогенизации с использованием системы BD Medimachine Module (BD Bioscience, США) с последующей фильтрацией через Filcon с размером пор 50 мкм (BD Bioscience, США) для получения единичной клеточной суспензии. Для оценки субпопуляционного состава лимфоцитов применяли 2-, 3-, 4- и 6-цветное окрашивание клеток. Применяли панель моноклональных антител к следующим поверхностным и внутриклеточным маркерам: CD3, CD4, CD8, CD28, CD11b, CD25, CD16, CD56, CD50, CD95, CD19, CD127, CD278 (ICOS), CD279 (PD-1), Lag-3, GITR, HLA-DR, а также к внутриклеточному перфорину и CD152 (CTLA-4). Реакцию внутриклеточного окрашивания проводили с помощью набора для пермеабиллизации Intra-Prep (Beckman Coulter, США) в соответствии с инструкцией производителя. Гейт лимфоцитов выделяли по экспрессии панлейкоцитарного маркера CD45 в координатах бокового светорассеяния (SSC) vs CD45.

С помощью метода последовательного гейтирования анализировали следующие лимфоидные популяции: общие Т-клетки ($CD3^+CD19^-$), хелперные Т-клетки ($CD3^+CD4^+$), цитотоксические Т-клетки ($CD3^+CD8^+$), В-лимфоциты ($CD3^-CD19^+$), активированные Т-лимфоциты ($CD4^+CD25^+$, $CD3^+HLA-DR^+$), активированные $CD3^-HLA-DR^+$ -клетки, естественные киллеры (NK) ($CD3^-CD16^+CD56^+$), NKT-клетки ($CD3^+CD16^+CD56^+$), регуляторные Т-клетки ($CD4^+CD25^{high}CD127^{low/-}$), а также субпопуляции $CD8^+$ -Т-лимфоцитов, дифференцированные по экспрессии CD11b и CD28 ($CD8^+CD11b^-CD28^-$, $CD8^+CD11b^+CD28^-$, $CD8^+CD11b^+CD28^+$ и $CD8^+CD11b^-CD28^+$). Отдельно оценивали лимфоциты, экспрессирующие контрольные точки иммунного ответа: $CD8^+CD279^+$ (PD-1⁺) и $CD4^+CD279^+$ (PD-1⁺). Цитотоксический потенциал оценивали как

процентное содержание перфоринположительных клеток в рамках популяций CD16⁺-лимфоцитов и CD8⁺-лимфоцитов. Соотношение CD4⁺/CD8⁺ рассчитывали на основе полученных процентных значений соответствующих популяций.

Регистрацию и анализ данных выполняли на проточных цитофлуориметрах FACSCalibur и FACSCanto II (Becton Dickinson, США) с использованием программного обеспечения FACSDiva 7.0. В каждом анализируемом образце регистрировали не менее 5000 событий в предварительно установленном гейте CD45⁺-лимфоцитов.

Статистический анализ. Статистический анализ данных проводили с использованием пакета статистических программ SPSS v.27 (IBM SPSS Statistics, США). Для описания количественных показателей определяли медиану (Me) и межквартильный размах

($Q_{25}-Q_{75}$). Различия в показателях оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Для анализа корреляций между параметрами использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В исследовании проанализированы иммунные профили периферической крови и ткани опухоли, а также уровни sPD-1 и sPD-L1 у 63 пациенток с различными молекулярно-биологическими подтипами РМЖ.

Анализ субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови выявил значительные различия между молекулярно-биологическими подтипами РМЖ (табл. 2). Наиболее выраженные различия

Таблица 2. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови пациенток с разными молекулярно-биологическими подтипами рака молочной железы (РМЖ), %

Table 2. Subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes in patients with different molecular biological subtypes of breast cancer (BC), %

Субпопуляция лимфоцитов Lymphocyte subpopulation	Медиана (интерквартильный размах); диапазон Median (interquartile range); limits				p
	Люминальный В (HER2 ⁻) подтип Luminal B (HER2 ⁻) subtype (n = 22)	Люминальный В (HER2 ⁺) подтип Luminal B (HER2 ⁺) subtype (n = 13)	Нелюминальный (HER2 ⁺) подтип Not luminal (HER2 ⁺) subtype (n = 6)	Трижды негативный РМЖ Triple-negative BC (n = 22)	
CD4 ⁺ CD3 ⁺	39,3 (32,1–45,6); 17,7–61,6	45,9 (41,5–54,4); 31,6–61,6	39,9 (33,8–41,6); 26,8–43,4	42,8 (36,3–47,3); 19,9–66,4	$p_{1,2} = 0,040^*$; $p_{1,3} = 0,755$; $p_{1,4} = 0,264$; $p_{2,3} = 0,033$; $p_{2,4} = 0,327$; $p_{3,4} = 0,194$
CD8 ⁺ CD3 ⁻	6,4 (5,4–8,6); 1,4–21,4	5,1 (4,6–6,5); 2,3–10,7	4,4 (2,9–5,6); 1,5–14,4	4,2 (3,6–6,6); 1,5–18	$p_{1,2} = 0,048^*$; $p_{1,3} = 0,097$; $p_{1,4} = 0,030^*$; $p_{2,3} = 0,397$; $p_{2,4} = 0,360$; $p_{3,4} = 0,806$
CD19 ⁺	0,7 (0,6–1,7); 0,1–17,3	5,1 (2,2–7,1); 0,8–10,6	1,1 (0,7–1,6); 0,3–6,5	2,5 (1,1–6,15); 0,6–10,8	$p_{1,2} = 0,005^*$; $p_{1,3} = 0,932$; $p_{1,4} = 0,011^*$; $p_{2,3} = 0,026^*$; $p_{2,4} = 0,360$; $p_{3,4} = 0,126$
CD3 ⁻ HLA-DR ⁺	3,3 (2,6–4,8); 1,3–14,9	6,2 (4,9–8,1); 2,5–8,9	4,3 (2,2–6,2); 0,6–8,3	4,9 (2,1–8,3); 0,2–21,2	$p_{1,2} = 0,015^*$; $p_{1,3} = 0,887$; $p_{1,4} = 0,459$; $p_{2,3} = 0,179$; $p_{2,4} = 0,395$; $p_{3,4} = 0,566$
CD25 ⁺	17,8 (13,6–23,9); 4,8–55,9	21,8 (17,6–30,6); 11,3–62,6	12,8 (11,2–14,8); 10,7–24,4	17,9 (15,2–22,5); 7,5–30,3	$p_{1,2} = 0,222$; $p_{1,3} = 0,157$; $p_{1,4} = 0,942$; $p_{2,3} = 0,012^*$; $p_{2,4} = 0,095$; $p_{3,4} = 0,100$

Продолжение табл. 1
Continuation of table 1

Субпопуляция лимфоцитов Lymphocyte subpopulation	Медиана (интерквартильный размах); диапазон Median (interquartile range); limits				
	Люминальный В (HER2 ⁻) подтип Luminal B (HER2 ⁻) subtype (n = 22)	Люминальный В (HER2 ⁺) подтип Luminal B (HER2 ⁺) subtype (n = 13)	Нелюминальный (HER2 ⁺) подтип Not luminal (HER2 ⁺) subtype (n = 6)	Трижды негативный РМЖ Triple-negative BC (n = 22)	p
CD4 ⁺ CD25 ⁺	12,3 (8,5–16,3); 3,5–26,9	15,4 (12,7–23,3); 7,6–28,6	10,5 (8,7–11,6); 7,6–15,7	12,8 (11,2–16,3); 5,8–21,4	$p_{1,2} = 0,048^*$; $p_{1,3} = 0,376$; $p_{1,4} = 0,653$; $p_{2,3} = 0,020^*$; $p_{2,4} = 0,071$; $p_{3,4} = 0,112$
CD4 ⁺ CD25 ^{high} CD127 ^{low}	6,7 (5,2–8,3); 2,6–11,1	5,9 (5,1–7,4); 4–11,8	7,3 (6,2–7,8); 4,7–8,7	6,4 (5,3–7,6); 2,7–11,2	$p_{1,2} = 0,630$; $p_{1,3} = 0,629$; $p_{1,4} = 0,836$; $p_{2,3} = 0,444$; $p_{2,4} = 0,713$; $p_{3,4} = 0,395$
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	14,5 (11,5–20,4); 6,9–37,1	9,9 (8,8–15,9); 5,2–24,7	7,9 (5,7–10,5); 5,1–16,8	8,9 (8,2–14,9); 4,8–20,7	$p_{1,2} = 0,040^*$; $p_{1,3} = 0,010^*$; $p_{1,4} = 0,014^*$; $p_{2,3} = 0,239$; $p_{2,4} = 0,553$; $p_{3,4} = 0,336$
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	11,4 (7,3–13,9); 2,6–18,4	13,6 (9,9–16,6); 6,3–27,9	11,6 (8,3–11,7); 6,5–16,2	11,1 (7,5–17,2); 2,6–44,4	$p_{1,2} = 0,040^*$; $p_{1,3} = 0,110$; $p_{1,4} = 0,481$; $p_{2,3} = 0,239$; $p_{2,4} = 0,377$; $p_{3,4} = 0,764$
CD8 ⁺ CD11b ⁻ CD28 ⁺	30,4 (23,9–40,7); 10,6–71,7	34,7 (25,9–45,5); 13,6–59,4	38,9 (32,8–44,6); 29,5–59,4	37,4 (22,7–48,4); 6,9–57,2	$p_{1,2} = 0,434$; $p_{1,3} = 0,157$; $p_{1,4} = 0,466$; $p_{2,3} = 0,494$; $p_{2,4} = 0,911$; $p_{3,4} = 0,460$
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	46,7 (37,6–51,3); 20,4–74,2	44,8 (35,5–52,6); 16,6–77,5	38,2 (33,5–48,8); 16,6–53,5	46,2 (35,3–53,7); 22,7–72,5	$p_{1,2} = 0,654$; $p_{1,3} = 0,216$; $p_{1,4} = 0,551$; $p_{2,3} = 0,397$; $p_{2,4} = 0,962$; $p_{3,4} = 0,395$
CD95	58,3 (47,7–63,5); 34,1–71,6	60,1 (45,3–64,7); 29,4–72,9	61,9 (55,1–64,3); 49,8–65,5	51,7 (44,2–66,2); 17,2–74,3	$p_{1,2} = 0,727$; $p_{1,3} = 0,408$; $p_{1,4} = 0,725$; $p_{2,3} = 0,521$; $p_{2,4} = 0,842$; $p_{3,4} = 0,387$
CD8 ⁺ перфорин ⁺ CD16 ⁺ perforin ⁺	15,5 (10,2–22,1); 5,9–34,0	16,4 (11,6–19,6); 7–31,2	10,4 (9,4–16,6); 7–22,9	15,8 (8,9–19,7); 6,6–24,6	$p_{1,2} = 0,861$; $p_{1,3} = 0,345$; $p_{1,4} = 0,496$; $p_{2,3} = 0,368$; $p_{2,4} = 0,674$; $p_{3,4} = 0,530$

Окончание табл. 1
End of table 1

Субпопуляция лимфоцитов Lymphocyte subpopulation	Медиана (интерквартильный размах); диапазон Median (interquartile range); limits				p
	Люминальный В (HER2 ⁻) подтип Luminal B (HER2 ⁻) subtype (n = 22)	Люминальный В (HER2 ⁺) подтип Luminal B (HER2 ⁺) subtype (n = 13)	Нелюминальный (HER2 ⁺) подтип Not luminal (HER2 ⁺) subtype (n = 6)	Трижды негативный РМЖ Triple-negative BC (n = 22)	
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1,1 (0,7–1,4); 0,4–2,3	1,5 (1,2–1,67); 0,7–2,6	1,1 (0,8–1,3); 0,5–1,4	1,4 (0,9–1,5); 0,6–3,7	$p_{1,2} = 0,024^*$; $p_{1,3} = 0,670$; $p_{1,4} = 0,206$; $p_{2,3} = 0,041^*$; $p_{2,4} = 0,281$; $p_{3,4} = 0,157$

*Различия статистически значимы ($p < 0,05$).

Примечание. Здесь и в табл. 3, 4: статистическая значимость различий между группами оценивалась с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. $p_{1,2}$ – различия между люминальным В (HER2⁻) и люминальным В (HER2⁺) подтипами; $p_{1,3}$ – различия между люминальным В (HER2⁻) и нелюминальным (HER2⁺) подтипами; $p_{1,4}$ – различия между люминальным В (HER2⁻) и трижды негативным РМЖ; $p_{2,3}$ – между люминальным В (HER2⁺) и нелюминальным (HER2⁺) подтипами; $p_{2,4}$ – различия между люминальным В (HER2⁺) и трижды негативным РМЖ; $p_{3,4}$ – различия между нелюминальным (HER2⁺) и трижды негативным РМЖ. HER2 – человеческий рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа.

*The differences are statistically significant ($p < 0.05$).

Note. Here and in tables 3, 4: statistical significance of differences between groups was assessed using the non-parametric Mann–Whitney U test. $p_{1,2}$ – differences between luminal B (HER2⁻) and luminal B (HER2⁺) subtypes; $p_{1,3}$ – differences between luminal B (HER2⁻) and non-luminal (HER2⁺) subtypes; $p_{1,4}$ – differences between luminal B (HER2⁻) and thrice negative BC; $p_{2,3}$ – differences between luminal B (HER2⁺) and non-luminal (HER2⁺) subtypes; $p_{2,4}$ – differences between luminal B (HER2⁺) and thrice negative BC; $p_{3,4}$ – differences between non-luminal (HER2⁺) and thrice negative BC. HER2 – human epidermal growth factor receptor 2.

обнаружены при сравнении люминального В (HER2⁻) подтипа РМЖ с другими подтипами этой опухоли.

У пациенток с люминальным В HER2⁻ подтипом РМЖ регистрировалось значимое снижение уровня CD19⁺-В-лимфоцитов в периферической крови по сравнению с пациентками с люминальным В (HER2⁺) подтипом (0,7 % против 5,1 %; $p = 0,005$) и ТНРМЖ (0,7 % против 2,5 %; $p = 0,011$). Кроме того, выявлено увеличение относительного содержания NK-клеток с фенотипом CD8⁺CD3⁻ в периферической крови при люминальном В (HER2⁻) подтипе РМЖ по сравнению с люминальным В (HER2⁺) подтипом (6,4 % против 5,1 %; $p = 0,048$) и ТНРМЖ (6,4 % против 4,2 %; $p = 0,030$). Для люминального подтипа В (HER2⁺) было характерно значимое увеличение доли CD4⁺CD25⁺-Т-клеток по сравнению с люминальным подтипом В (HER2⁻) (15,4 % против 12,3 %; $p = 0,048$) и нелюминальным (HER2⁺) подтипом (15,4 % против 10,5 %; $p = 0,020$).

В группе нелюминального (HER2⁺) подтипа РМЖ выявлены особенности иммунного профиля: значимое снижение доли CD25⁺-лимфоцитов по сравнению с люминальным В (HER2⁺) подтипом (12,8 % против 21,8 %; $p = 0,012$), а также тенденции к повышению уровня CD95⁺-клеток и уменьшению CD8⁺CD11b⁺CD28-субпопуляции.

У пациенток с люминальным В (HER2⁺) подтипом РМЖ отмечены повышение количества CD3⁻/HLA-DR⁺-клеток по сравнению с люминальным В (HER2⁻) подтипом (6,2 % против 3,3 %; $p = 0,015$) и увеличение CD3⁺/CD16⁺CD56⁺-популяции. При этом выявлены более высокие уровни CD8⁺перфорин⁺-клеток, что может свидетельствовать об активации эффекторных механизмов в периферической крови.

При сравнительном анализе доли наивных CD8⁺-Т-лимфоцитов (CD8⁺CD11b⁻CD28⁺) в периферической крови при разных молекулярных подтипах РМЖ статистически значимых различий не выявлено. Медиана их количества при люминальном В (HER2⁻) подтипе составила 30,4 (23,9–40,7) %, при люминальном В (HER2⁺) подтипе – 34,7 (25,9–45,5) %, при нелюминальном (HER2⁺) подтипе – 38,9 (32,8–44,6) %, при ТНРМЖ – 37,4 (22,7–48,4) %.

Анализ уровней sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови показал отсутствие статистически значимых различий между молекулярными подтипами РМЖ (табл. 3). Тем не менее наиболее высокие уровни sPD-1 отмечены при нелюминальном (HER2⁺) подтипе (медиана – 81,48 пг/мл), хотя различия не были статистически значимы ($p = 0,072$ при сравнении с люминальным В (HER2⁻) подтипом и $p = 0,051$ при сравнении с люминальным В (HER2⁺) подтипом).

Таблица 3. Уровень растворимых форм рецептора программируемой клеточной гибели 1 (sPD-1) и его лиганда (sPD-L1) в сыворотке крови больных с различными молекулярно-биологическими подтипами рака молочной железы (РМЖ), пг/мл

Table 3. Levels of soluble forms of programmed cell death-1 (sPD-1) and its ligand (sPD-L1) in serum of patients with different molecular biological subtypes of breast cancer (BC), pg/ml

Показатель Parameter	Медиана (интерквартильный размах); диапазон Median (interquartile range); limits				
	Люминальный В (HER2 ⁻) подтип Luminal B (HER2 ⁻) subtype (n = 22)	Люминальный В (HER2 ⁺) подтип Luminal B (HER2 ⁺) subtype (n = 13)	Нелюминальный (HER2 ⁺) подтип Not luminal (HER2 ⁺) subtype (n = 6)	Трижды негативный РМЖ Triple-negative BC (n = 22)	p
sPD-1	50,85 (48,37–63,22); 20,65–237,27	49,39 (34,53–68,02); 14,01–172,11	81,48 (74,63–94,65); 49,33–99,68	48,46 (40,79–82,15); 14,61–162,53	$p_{1,2} = 0,522$; $p_{1,3} = 0,072$; $p_{1,4} = 0,743$; $p_{2,3} = 0,051$; $p_{2,4} = 0,470$; $p_{3,4} = 0,157$
sPD-L1	7,01 (5,69–9,10); 1,16–13,93	7,16 (6,26–8,42); 2,79–13,57	7,74 (6,77–9,00); 5,28–13,57	7,21 (6,26–8,40); 2,62–20,18	$p_{1,2} = 0,986$; $p_{1,3} = 0,573$; $p_{1,4} = 0,860$; $p_{2,3} = 0,444$; $p_{2,4} = 0,987$; $p_{3,4} = 0,566$

Анализ субпопуляций TILs выявил специфические иммунные профили для молекулярных подтипов РМЖ (табл. 4). Для нелюминального (HER2⁺) подтипа характерна значимо более высокая доля CD3⁺-лимфоцитов (91,3 % против 83,2 % при люминальном В (HER2⁻) подтипе; $p = 0,033$) и минимальное содержание CD19⁺-В-клеток (1,9 %). Доля CD8⁺CD3⁻-NK-клеток в опухолевой ткани варьировала: выявлены значимые различия между люминальным В (HER2⁻) и люминальным В (HER2⁺) подтипами (6,4 % против 5,1 %; $p = 0,048$), а также между люминальным В (HER2⁻) подтипом и ТНРМЖ (6,4 % против 4,2 %; $p = 0,030$). При этом между остальными подтипами (нелюминальным HER2⁺ и ТНРМЖ) статистически значимых различий не обнаружено ($p = 0,806$). Однако на уровне эффекторных клеток при ТНРМЖ доля цитотоксических CD8⁺CD3⁺-лимфоцитов была выше, чем при люминальном В (HER2⁺) подтипе (40,7 % против 37 %; $p = 0,048$). При нелюминальном (HER2⁺) подтипе РМЖ наблюдалась тенденция к увеличению количества CD8⁺ перфорин⁺-клеток (23,8 %). В ходе анализа регуляторных популяций (CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}) не выявлено статистически значимого повышения их доли при люминальном В (HER2⁻) подтипе (11,4 %), что не подтверждает гипотезу о высокой регуляторной активности в его микроокружении.

Анализ доли наивных CD8⁺CD11b⁻CD28⁺-Т-лимфоцитов в опухолевой ткани показал подтип-специфические особенности: медиана при люминальном В (HER2⁻) подтипе составила 22,4 (15,7–28,9) %, при

люминальном В (HER2⁺) подтипе – 24,8 (21,6–28,6) %, при нелюминальном (HER2⁺) подтипе – 13,8 (10,2–19,6) %, при ТНРМЖ – 25,7 (14,1–30,3) %. Наиболее низкий уровень содержания данной популяции отмечен при нелюминальном (HER2⁺) подтипе (13,8 % против более 22 % в других группах), что может свидетельствовать о повышенной миграции и активации наивных Т-лимфоцитов в этом молекулярном подтипе РМЖ.

Корреляционный анализ выявил подтип-специфические взаимосвязи уровней растворимых форм контрольных точек иммунного ответа (sPD-1/sPD-L1) и субпопуляций лимфоцитов периферической крови (табл. 5). Наиболее значимые корреляции обнаружены в группе люминального В (HER2⁻) подтипа РМЖ и ТНРМЖ. В группе люминального В подтипа зафиксированы отрицательные корреляции sPD-L1 с CD19⁺-В-лимфоцитами ($r = -0,444$; $p = 0,050$) и sPD-1 с CD95⁺-лимфоцитами ($r = -0,502$; $p = 0,024$). Для ТНРМЖ характерны сильная отрицательная корреляция sPD-1 с CD19⁺-В-лимфоцитами ($r = -0,613$; $p = 0,002$) и положительная связь sPD-L1 с цитотоксическим потенциалом (долей перфоринположительных клеток) CD16⁺-лимфоцитов ($r = 0,471$; $p = 0,027$). Полученные данные свидетельствуют о различиях в механизмах иммунорегуляции, опосредованных PD-1/PD-L1, между молекулярными подтипами РМЖ.

Корреляционный анализ уровней sPD-1/sPD-L1 и TILs выявил наиболее значимую взаимосвязь при ТНРМЖ: сильную отрицательную корреляцию sPD-L1 с цитотоксическими CD8⁺перфорин⁺-TILs

Таблица 4. Субпопуляционный состав лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, у пациенток с разными молекулярно-биологическими подтипами рака молочной железы (РМЖ), %

Table 4. Subpopulation composition of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with different molecular biological subtypes of breast cancer (BC), %

Субпопуляция лимфоцитов Lymphocyte subpopulation	Медиана (интерквартильный размах); диапазон Median (interquartile range); limits				
	Люминальный В (HER2 ⁻) подтип Luminal B (HER2 ⁻) subtype (n = 22)	Люминальный В (HER2 ⁺) подтип Luminal B (HER2 ⁺) subtype (n = 13)	Нелюминальный (HER2 ⁺) подтип Not luminal (HER2 ⁺) subtype (n = 6)	Трижды негативный РМЖ Triple-negative BC (n = 22)	p
CD3 ⁺	83,2 (79,2–87,6); 68,3–94,0	84,8 (82,2–87,8); 73,8–100,0	91,3 (90,0–92,4); 83,7–92,9	86,6 (79,6–90,1); 73,6–93,9	$p_{1,2} = 0,548$; $p_{1,3} = 0,033^*$; $p_{1,4} = 0,167$; $p_{2,3} = 0,082$; $p_{2,4} = 0,484$; $p_{3,4} = 0,235$
CD8 ⁺ CD3 ⁺	44 (37,4–45,9); 26,1–58,2	37 (25,4–46,6); 20,5–56,0	36,2 (33,0–40,8); 20,5–76,2	40,7 (35,5–53,5); 28,0–74,8	$p_{1,2} = 0,145$; $p_{1,3} = 0,298$; $p_{1,4} = 0,760$; $p_{2,3} = 0,959$; $p_{2,4} = 0,048^*$; $p_{3,4} = 0,489$
CD19 ⁺	5,8 (3,6–11,7); 0,6–26,2	6,8 (3,5–10,0); 2,4–12,7	1,9 (1,7–2,1); 1,5–2,3	3,3 (2,2–7,2); 0,8–13,9	$p_{1,2} = 1,000$; $p_{1,3} = 0,218$; $p_{1,4} = 0,235$; $p_{2,3} = 0,056$; $p_{2,4} = 0,211$; $p_{3,4} = 0,305$
CD25 ⁺	19,4 (16,0–22,3); 9,7–40,4	11 (8,4–16,7); 7,7–21,1	14,3 (13,7–14,6); 13,1–14,9	19 (12,8–21,7); 9,2–27,8	$p_{1,2} = 0,029^*$; $p_{1,3} = 0,156$; $p_{1,4} = 0,603$; $p_{2,3} = 0,630$; $p_{2,4} = 0,042^*$; $p_{3,4} = 0,432$
CD4 ⁺ CD25 ^{high} CD127 ^{low}	11,4 (8,8–18,5); 4,2–27,2	9,3 (3,6–14,6); 1,7–17,1	12,4 (6,7–14,8); 1–17,1	11,3 (5,7–15,5); 2,6–30,8	$p_{1,2} = 0,188$; $p_{1,3} = 0,676$; $p_{1,4} = 0,603$; $p_{2,3} = 0,921$; $p_{2,4} = 0,482$; $p_{3,4} = 0,859$
CD8 ⁺ CD11b ⁻ CD28 ⁺	22,4 (15,7–28,9); 10,6–42,9	24,8 (21,6–28,6); 13,8–48,5	13,8 (10,2–19,6); 6,6–25,3	25,7 (14,1–30,3); 1,2–45,9	$p_{1,2} = 0,473$; $p_{1,3} = 0,180$; $p_{1,4} = 0,873$; $p_{2,3} = 0,133$; $p_{2,4} = 0,697$; $p_{3,4} = 0,303$
CD16 ⁺ перфорин ⁺ CD16 ⁺ perforin ⁺	2,5 (1,2–4,2); 0,6–6	7,3 (4,5–10,2); 1,6–13	4,4 (4,4–4,4); 4,4–4,4	3,3 (1,4–3,9); 0–16,2	$p_{1,2} = 0,533$; $p_{1,3} = 0,800$; $p_{1,4} = 0,905$; $p_{2,3} = 1,000$; $p_{2,4} = 0,857$; $p_{3,4} = 0,667$
CD8 ⁺ перфорин ⁺ CD8 ⁺ perforin ⁺	1,5 (1–3,4); 1–5,6	3,6 (3–4,2); 2,4–4,8	23,8 (23,8–23,8); 23,8–23,8	3,5 (2,9–8,9); 1,9–12	$p_{1,2} = 0,571$; $p_{1,3} = 0,333$; $p_{1,4} = 0,151$; $p_{2,3} = 0,667$; $p_{2,4} = 0,857$; $p_{3,4} = 0,333$

Окончание табл. 4
End of table 4

Субпопуляция лимфоцитов Lymphocyte subpopulation	Медиана (интерквартильный размах); диапазон Median (interquartile range); limits				
	Люминальный В (HER2 ⁻) подтип Luminal B (HER2 ⁻) subtype (n = 22)	Люминальный В (HER2 ⁺) подтип Luminal B (HER2 ⁺) subtype (n = 13)	Нелюминальный (HER2 ⁺) подтип Not luminal (HER2 ⁺) subtype (n = 6)	Трижды негативный РМЖ Triple-negative BC (n = 22)	p
CD8 ⁺ CD3 ⁻	6,4 (5,4–8,6); 1,4–21,4	5,1 (4,6–6,5); 2,3–10,7	4,35 (2,9–5,6); 0,5–1,8	4,2 (3,6–6,6); 1,5–18	p _{1,2} = 0,048*; p _{1,3} = 0,097; p _{1,4} = 0,030*; p _{2,3} = 0,397; p _{2,4} = 0,360; p _{3,4} = 0,806

*Различия статистически значимы (p < 0,05).

*The differences are statistically significant (p < 0.05).

Таблица 5. Корреляция уровней растворимых форм рецептора программируемой клеточной гибели 1 (PD-1) и его лиганда (PD-L1) с субпопуляционным составом лимфоцитов периферической крови при различных подтипах рака молочной железы (РМЖ)

Table 5. Correlation of the levels of soluble forms of programmed cell death-1 (sPD-1) and its ligand (sPD-L1) with the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes in different subtypes of breast cancer (BC)

Показатель Parameter	Субпопуляция лимфоцитов Subpopulation of lymphocytes	Коэффициент корреляции Спирмена (r) (95 % ДИ) Spearman's correlation coefficient (r) (95 % CI)			
		Люминальный В (HER2 ⁻) подтип Luminal B (HER2 ⁻) subtype	Люминальный В (HER2 ⁺) подтип Luminal B (HER2 ⁺) subtype	Нелюминальный (HER2 ⁺) подтип Not luminal (HER2 ⁺) subtype	Трижды негативный РМЖ Triple-negative BC
sPD-1	CD19 ⁺	—	−0,345 (−0,748...+0,243); p = 0,226	−0,319 (−0,904...+0,683); p = 0,538	−0,613 (−0,826...+0,245); p = 0,002*
	CD95	−0,502 (−0,778...−0,062); p = 0,024*	−0,385 (−0,779...+0,229); p = 0,194	0,371 (−0,650...+0,915); p = 0,468	0,352 (−0,108...+0,687); p = 0,118
	CD8	−0,027 (−0,487...+0,444); p = 0,912	0,371 (−0,276...+0,786); p = 0,236	−0,829 (−0,982...+0,019); p = 0,042*	0,021 (−0,415...+0,449); p = 0,926
sPD-L1	CD8 ⁺ CD3 ⁺	0,461 (0,009...0,756); p = 0,041*	−0,502 (−0,821...+0,057); p = 0,068	0,200 (−0,745...+0,878); p = 0,704	−0,219 (−0,595...+0,236); p = 0,328
	CD8 ⁺ CD3 ⁻	−0,436 (−0,743...+0,022); p = 0,054	0,003 (−0,541...+0,545); p = 0,991	−0,829 (−0,982...+0,019); p = 0,042*	−0,086 (−0,500...+0,360); p = 0,704
	CD19 ⁺	−0,444 (−0,747...−0,012); p = 0,050*	−0,163 (−0,649...−0,417); p = 0,578	−0,551 (−0,945...+0,497); p = 0,257	−0,345 (−0,676...+0,103); p = 0,116
	CD3 ⁺ /HLA-DR ⁺	−0,447 (−0,009...+0,749); p = 0,048*	−0,170 (−0,653...+0,411); p = 0,562	0,257 (−0,717...+0,891); p = 0,623	0,134 (−0,317...+0,535); p = 0,552
	CD25 ⁺	−0,124 (−0,547...+0,339); p = 0,602	−0,238 (−0,692...+0,350); p = 0,413	−0,771 (−0,975...+0,140); p = 0,072	−0,457 (−0,743...+0,031); p = 0,032*

Окончание табл. 5
End of table 5

Показатель Parameter	Субпопуляция лимфоцитов Subpopulation of lymphocytes	Коэффициент корреляции Спирмена (r) (95 % ДИ) Spearman's correlation coefficient (r) (95 % CI)			
		Люминальный В (HER2 ⁻) подтип Luminal B (HER2 ⁻) subtype	Люминальный В (HER2 ⁺) подтип Luminal B (HER2 ⁺) subtype	Нелюминальный (HER2 ⁺) подтип Not luminal (HER2 ⁺) subtype	Трижды негативный РМЖ Triple-negative BC
sPD-L1	CD4 ⁺ CD25 ⁺	-0,132 (-0,553...+0,342); <i>p</i> = 0,578	-0,099 (-0,736...+0,469); <i>p</i> = 0,736	-0,314 (-0,903...+0,686); <i>p</i> = 0,544	-0,443 (-0,735...+0,013); <i>p</i> = 0,039*
	CD4 ⁺ CD25 ^{high} CD127 ^{low}	0,214 (-0,265...+0,609); <i>p</i> = 0,364	-0,664 (-0,887...+0,189); <i>p</i> = 0,010*	-0,371 (-0,915...+0,650); <i>p</i> = 0,468	-0,360 (-0,686...+0,085); <i>p</i> = 0,099
	CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	0,098 (-0,372...-0,528); <i>p</i> = 0,680	-0,486 (-0,814...-0,077); <i>p</i> = 0,078	-0,429 (-0,925...-0,609); <i>p</i> = 0,397	-0,337 (-0,672...-0,111); <i>p</i> = 0,125
	CD8 ⁺ CD11b ⁻ CD28 ⁻	0,481 (-0,035...+0,767); <i>p</i> = 0,032*	0,453 (-0,119...+0,799); <i>p</i> = 0,104	0,714 (-0,263...+0,968); <i>p</i> = 0,111	0,050 (-0,391...-0,472); <i>p</i> = 0,824
	CD16 ⁺ перфорин ⁺ CD16 ⁺ perforin ⁺	-0,147 (-0,564...+0,328); <i>p</i> = 0,535	0,341 (-0,275...+0,759); <i>p</i> = 0,254	-0,086 (-0,849...-0,793); <i>p</i> = 0,872	0,471 (0,048...-0,750); <i>p</i> = 0,027*
	CD8 ⁺ CD279 ⁺ (PD-1)	-0,468 (-0,767...+0,003); <i>p</i> = 0,043*	-0,056 (-0,581...+0,502); <i>p</i> = 0,849	-0,486 (-0,935...+0,561); <i>p</i> = 0,329	-0,165 (-0,557...+0,288); <i>p</i> = 0,464
	CD16	-0,233 (-0,630...+0,261); <i>p</i> = 0,338	0,399 (-0,245...-0,799); <i>p</i> = 0,198	-0,116 (-0,857...-0,781); <i>p</i> = 0,827	0,465 (-0,041...-0,747); <i>p</i> = 0,029*
	CD8	0,243 (-0,251...+0,637); <i>p</i> = 0,316	-0,144 (-0,674...-0,484); <i>p</i> = 0,656	-0,886 (-0,988...+0,232); <i>p</i> = 0,019*	0,186 (-0,573...+0,268); <i>p</i> = 0,407
	CD8 ⁺ CD3 ⁻	-0,436 (-0,743...+0,022); <i>p</i> = 0,054	0,003 (-0,541...+0,545); <i>p</i> = 0,991	-0,829 (-0,982...+0,019); <i>p</i> = 0,042*	-0,086 (-0,500...+0,360); <i>p</i> = 0,704

*Различия статистически значимы (*p* < 0,05).**Примечание.** Статистическая значимость различий между группами оценивалась с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. HER2 – рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа; ДИ – доверительный интервал.*The differences are statistically significant (*p* < 0.05).

Note. Statistical significance of differences between groups was assessed using the non-parametric Mann–Whitney U test. HER2 – human epidermal growth factor receptor 2; CI – confidence interval.

(*r* = -0,975; *p* = 0,005) (табл. 6). Эта закономерность подтверждает роль оси PD-1/PD-L1 в подавлении цитотоксической активности Т-лимфоцитов при ТНРМЖ и указывает на компенсаторную активацию иммуносупрессивных механизмов при интенсивном цитотоксическом иммунном ответе [13, 14].

Дополнительный анализ показал, что взаимосвязь маркеров периферической крови и опухоли имеет четкую подтип-специфичность. Так, при ТНРМЖ уровень CD8⁺CD3⁺-TILs значимо коррелирует с уровнем sPD-1 в сыворотке (*r* = 0,502; *p* = 0,029). В группе ТНРМЖ повышение уровня sPD-L1

сопровождалось увеличением доли HLA-DR⁺-клеток в опухоли (*r* = 0,745; *p* = 0,021), что, вероятно, отражает компенсаторную активацию механизмов иммунных контрольных точек на фоне активного антиген-специфического ответа [2, 9]. Для люминального В (HER2⁻) подтипа РМЖ, напротив, были характерны признаки иммуносупрессии и истощения Т-клеток: наблюдались положительная связь уровня sPD-L1 с CD8⁺CD11b⁻CD28⁻-клетками системного иммунитета (*r* = 0,481; *p* = 0,032) и отрицательная корреляция sPD-1 с CD95⁺-лимфоцитами (*r* = -0,502; *p* = 0,024) [7, 8].

Таблица 6. Корреляция уровней растворимых форм рецептора программируемой клеточной гибели 1 (PD-1) и его лиганда (PD-L1) с субпопуляционным составом лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль

Table 6. Correlation of the levels of soluble forms of programmed cell death-1 (sPD-1) and its ligand (sPD-L1) with the subpopulation composition of tumor-infiltrating lymphocytes

Показатель Parameter	Субпопуляция лимфоцитов Subpopulation of lymphocytes	Коэффициент корреляции Спирмена (r) (95 % ДИ) Spearman's correlation coefficient (r) (95 % CI)			
		Люминальный В (HER2 ⁻) подтип Luminal B (HER2 ⁻) subtype	Люминальный В (HER2 ⁺) подтип Luminal B (HER2 ⁺) subtype	Нелюминальный (HER2 ⁺) подтип Not luminal (HER2 ⁺) subtype	Трижды негативный РМЖ Triple-negative BC
sPD-1	CD8 ⁺	0,229 (-0,336...+0,672); p = 0,413	-0,179 (-0,693...+0,456); p = 0,579	-0,600 (-0,440...+0,953); p = 0,208	0,445 (-0,010...+0,748); p = 0,049*
	CD8 ⁺ CD3 ⁺	0,156 (-0,423...+0,644); p = 0,594	-0,161 (-0,683...+0,470); p = 0,618	0,600 (-0,625...+0,972); p = 0,285	0,502 (-0,047...+0,784); p = 0,029*
	CD19 ⁺	-0,167 (-0,758...+0,575); p = 0,668	0,821 (0,151-0,974); p = 0,023*	-0,500; p = 0,667	-0,022 (-0,578...+0,548); p = 0,943
	CD3 ⁻ /HLA- DR ⁺	-0,083 (-0,720...+0,629); p = 0,831	0,857 (0,267-0,980); p = 0,014*	—	-0,517 (-0,884...+0,247); p = 0,154
	CD4 ⁺ CD25 ⁺	0,600 (0,085-0,862); p = 0,023*	-0,405 (-0,870...+0,441); p = 0,320	0,200 (-0,948...+0,977); p = 0,800	0,134 (-0,441...+0,631); p = 0,647
	CD4 ⁺ CD25 ^{high} CD127 ^{low}	0,226 (-0,361...+0,685); p = 0,436	-0,238 (-0,816...+0,578); p = 0,570	-0,800 (-0,996...+0,726); p = 0,200	0,615 (0,107-0,868); p = 0,019*
	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	-0,236 (-0,677...+0,329); p = 0,396	0,274 (-0,447...+0,780); p = 0,443	-0,314 (-0,903...+0,686); p = 0,544	-0,334 (-0,692...+0,156); p = 0,162
sPD-L1	HLA-DR ⁺	0,117 (-0,609...+0,736); p = 0,765	-0,607 (-0,937...+0,295); p = 0,148	—	0,745 (0,136...+0,945); p = 0,021*
	CD25 ⁺	0,310 (-0,280...+0,730); p = 0,281	-0,714 (-0,947...+0,007); p = 0,047*	—	0,081 (-0,483...+0,598); p = 0,782
	CD8 ⁺ CD11b ⁻ CD28 ⁻	0,371 (-0,276...+0,786); p = 0,236	0,500 (-0,339...+0,896); p = 0,207	-1,000	-0,483 (-0,795...+0,033); p = 0,058
	CD8 ⁺ перфорин ⁺ CD8 ⁺ perforin ⁺	0,616 (-0,610-0,973); p = 0,269	—	—	-0,975 (-0,999...+0,636); p = 0,005*
	CD8 ⁺ CD3 ⁻	-0,436 (-0,743...+0,022); p = 0,054	0,003 (-0,541...+0,545); p = 0,991	-0,829 (-0,982...+0,019); p = 0,042*	-0,086 (-0,500...+0,360); p = 0,704

*Различия статистически значимы (p < 0,05).

Примечание. Статистическая значимость различий между группами оценивалась с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. HER2 – рецептор эпидермального фактора роста 2-го типа; ДИ – доверительный интервал
*The differences are statistically significant (p < 0.05).

Note. Statistical significance of differences between groups was assessed using the non-parametric Mann–Whitney U test. HER2 – human epidermal growth factor receptor 2; CI – confidence interval.

Иммунные профили принципиально различаются в зависимости от молекулярного подтипа РМЖ [1, 3], и комплексная оценка соотношения Т-/В-/NK-клеток, эффекторных популяций и определение иммунорегуляторного индекса $CD4^+/CD8^+$ помогает точно их охарактеризовать [4, 6]. ТНРМЖ характеризуется наиболее выраженной цитотоксической активностью. Главным результатом стала сильная отрицательная корреляция уровня $CD8^+$ перфорин $^+$ -TILs с уровнем sPD-L1 ($r = -0,975$; $p = 0,005$). Это свидетельствует о том, что интенсивный цитотоксический противоопухолевый ответ при ТНРМЖ запускает компенсаторную иммуносупрессию, что объясняет высокую целесообразность применения ингибиторов PD-1/PD-L1 у пациенток с ТНРМЖ (в полном соответствии с данными исследований KEYNOTE-355 и IMpassion130) [13–15].

Для HER2 $^+$ -нелюминального подтипа РМЖ характерно высокое содержание $CD8^+$ перфорин $^+$ -TILs (23,8 %) на фоне положительной связи HLA-DR $^+$ -клеток с sPD-L1 [2, 9], что предполагает комбинирование анти-HER2-терапии с иммунотерапией [2]. Люминальный В (HER2 $^-$) подтип, в свою очередь, демонстрирует скорее глубокое истощение Т-клеточного резерва [7, 8].

Особого внимания заслуживает статус наивных $CD8^+CD11b^-CD28^+$ -Т-лимфоцитов. Их относительно стабильный уровень в периферической крови при всех подтипах РМЖ свидетельствует о том, что системный иммунный резерв сохранен и способен к антиген-специфической дифференцировке.

Однако в самой опухолевой ткани при нелюминальном (HER2 $^+$) РМЖ доля этих клеток минимальна (13,8 % против >22 % в других группах). Вероятно, это отражает их активную миграцию из крови в опухоль и последующую активацию, что согласуется с высоким пулом $CD8^+$ перфорин $^+$ -TILs, обнаруженным в этой же группе.

Анализ регуляторных Т-клеток ($CD4^+CD25^{high}CD127^{low}$) не показал статистически значимого повышения их уровня при люминальном В (HER2 $^-$) подтипе РМЖ (11,4 %). Это свидетельствует о том, что в микроокружении таких опухолей преобладают скорее активированные, чем супрессорные $CD25^+$ -лимфоциты, и может объяснить низкую эффективность монотерапии ингибиторами контрольных точек при этом подтипе РМЖ, а также подчеркивает необходимость поиска альтернативных терапевтических стратегий [15–17].

Заключение

Полученные данные позволяют предположить, что различные молекулярные подтипы РМЖ характеризуются специфическими иммунными профилями с различными механизмами иммуносупрессии. Особенно значимой является обнаруженная сильная отрицательная корреляция цитотоксических $CD8^+$ перфорин $^+$ -TILs с уровнем sPD-L1 при ТНРМЖ ($r = -0,975$; $p = 0,005$), указывающая на активацию компенсаторных иммуносупрессивных механизмов при противоопухолевом иммунном ответе.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Xiong X., Zheng L.W., Ding Y. et al. Breast cancer: pathogenesis and treatments. *Signal Transduct Targeted Ther* 2025;10(1):49. DOI: 10.1038/s41392-024-02108-4
- Li Y.W., Dai L.J., Wu X.R. et al. Molecular characterization and classification of HER2-positive breast cancer inform tailored therapeutic strategies. *Cancer Res* 2024;84(21):3669–83. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-23-4066
- Tsang J.Y.S., Tse G.M. Molecular classification of breast cancer. *Adv Anat Pathol* 2020;27(1):27–35. DOI: 10.1097/PAP.0000000000000232
- Finkelman B.S., Zhang H., Hicks D.G. et al. Tumor infiltrating lymphocytes in breast cancer: a narrative review with focus on analytic validity, clinical validity, and clinical utility. *Hum Pathol* 2025;162:105866. DOI: 10.1016/j.humpath.2025.105866
- Bielecki M., Saednia K., Lu F.-I. et al. Assessment of tumor infiltrating lymphocytes in predicting stereotactic ablative radiotherapy (SABR) response in unresectable breast cancer. *Radiation* 2025;5(2):11. DOI: 10.3390/radiation5020011
- Salgado R., Denkert C., Demaria S. et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol* 2015;26(2):259–71. DOI: 10.1093/annonc/mdu450
- Papadaki M.A., Papadaki E., Chatziavraam S. et al. Prognostic value of Fas/Fas ligand expression on circulating tumor cells (CTCs) and immune cells in the peripheral blood of patients with metastatic breast cancer. *Cancers* 2024;16(17):2927. DOI: 10.3390/cancers16172927
- Peter M.E., Hadji A., Murmann A.E. et al. The role of CD95 and CD95 ligand in cancer. *Cell Death Differ* 2015;22(4):549–59. DOI: 10.1038/cdd.2015.3
- Quiroz-Bolaños A., Quintero-Ramos A., Godínez-Rubi J.M. et al. Immune-checkpoint expression in breast cancer patients: clinicopathological implications: a retrospective case series study. *Int J Mol Sci* 2025;26(12):5851. DOI: 10.3390/ijms26125851
- Salamatin S.S., Kovaleva O.V., Ryabchikov D.A. et al. Soluble forms of programmed cell death receptor PD-1 and its ligand PD-L1 in breast cancer. *Problems Biol Med Pharmaceut Chem* 2024;27(12):81–7. DOI: 10.29296/25877313-2024-12-10
- Заботина Т.Н., Черткова А.И., Борунова А.А. и др. Мембранные ($CD8^+PD-1^+$ и $CD4^+PD-1^+$) и растворимые (sPD-1 и sPD-L1) формы контрольных точек иммунитета у больных меланомой, раком молочной железы и раком слизистой оболочки полости рта. Современная онкология 2023;25(3):301–7. DOI: 10.26442/18151434.2023.3.202443
- Zabotina T.N., Chertkova A.I., Borunova A.A. et al. Membrane ($CD8^+PD-1^+$ and $CD4^+PD-1^+$) and soluble (sPD-1 and sPD-L1) forms of immune checkpoints in patients with melanoma, breast cancer and oral mucosa cancer. *Sovremennaya onkologiya = Modern Oncology* 2023;25(3):301–7. (In Russ.). DOI: 10.26442/18151434.2023.3.202443

12. Li J., Wang A., Guo H. et al. Exosomes: innovative biomarkers leading the charge in non-invasive cancer diagnostics. *Theranostics* 2025;15(11):5277–311. DOI: 10.7150/thno.113650
13. Schmid P., Adams S., Rugo H.S. et al. Atezolizumab and nab-paclitaxel in advanced triple-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2018;379(22):2108–21. DOI: 10.1056/NEJMoa1809615
14. Cortes J., Rugo H.S., Cescon D.W. et al. Pembrolizumab plus chemotherapy in advanced triple-negative breast cancer. *N Engl J Med* 2022;387(3):217–26. DOI: 10.1056/NEJMoa2202809
15. Bianchini G., De Angelis C., Licata L., Gianni L. Treatment landscape of triple-negative breast cancer – expanded options, evolving needs. *Nat Rev Clin Oncol* 2022;19(2):91–113. DOI: 10.1038/s41571-021-00565-2
16. Omilian A.R., Mendicino L., George A. et al. Quantitative analysis of T cell subsets in a population of Black women with invasive breast cancer. *NPJ Breast Cancer* 2025;11(1):64. DOI: 10.1038/s41523-025-00780-5
17. Syamsu S.A., Faruk M., Smaradania N. et al. PD-1/PD-L1 pathway: current research in breast cancer. *Breast Dis* 2024;43(1):79–92. DOI: 10.3233/BD-249006

Вклад авторов

C.C. Саламатин: разработка концепции и дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста статьи;
 A.A. Борунова: проведение иммунологических исследований, анализ полученных данных, написание текста статьи;
 Д.В. Рогожин: морфологическое исследование опухолей;
 А.И. Черткова, З.Г. Кадагидзе, Т.Н. Заботина: анализ полученных данных, написание текста статьи;
 Н.Е. Кушлинский: анализ полученных данных, редактирование.

Authors' contributions

S.S. Salamatina: development of the concept and design of the study, analysis of the data obtained, article writing;
 A.A. Borunova: conducting immunological studies, analyzing the data obtained, article writing;
 D.V. Rogozhin: morphological examination of tumors;
 A.I. Chertkova, Z.G. Kadagidze, T.N. Zabolina: analysis of the data obtained, article writing;
 N.E. Kushlinskii: analysis of the data obtained, editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

C.C. Саламатин / S.S. Salamatina: <https://orcid.org/0009-0008-0370-5897>
 A.A. Борунова / A.A. Borunova: <https://orcid.org/0000-0002-1854-3455>
 Д.В. Рогожин / D.V. Rogozhin: <https://orcid.org/0000-0003-0777-9152>
 А.И. Черткова / A.I. Chertkova: <https://orcid.org/0000-0001-9146-5986>
 З.Г. Кадагидзе / Z.G. Kadagidze: <https://orcid.org/0000-0002-0058-0987>
 Т.Н. Заботина / T.N. Zabolina: <https://orcid.org/0000-0001-7631-5699>
 Н.Е. Кушлинский / N.E. Kushlinskii: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

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

Финансирование. Исследование выполнено без финансовой поддержки.
Funding. The study was performed without financial support.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (протокол № 18 от 23.09.2024 г.).
 Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of the N.N. Blokhin National Medical Research Center (Protocol No.18 dated 23.09.2024).
 All patients signed an informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 27.02.2026. Принята в печать: 09.09.2026. Опубликовано онлайн: 05.10.2026.
 Article submitted: 27.02.2026. Accepted for publication: 09.09.2026. Published online: 05.10.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-101-110>

Разработка состава и технологии пастилок с эвтектическим экстрактом листьев володушки золотистой (*Bupleurum aureum* L.)

В.С. Дизик^{1,2}, М.А. Джавахян^{1,3}, Е.И. Каленикова²

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений»; Россия, 117216 Москва, ул. Грина, 7;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119991 Москва, ул. Ленинские горы, 1;

³Научно-образовательный институт фармации им. К.М. Лакина ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; Россия, 127473 Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1

Контакты: Виталия Сергеевна Дизик vitaliya.bobyleva@yandex.ru

Введение. Использование эвтектических растворителей, образование которых обусловлено формированием надмолекулярной структуры водородных связей, обеспечивает высокоэффективную экстракцию биологически активных веществ из растительного сырья. В ходе предыдущих исследований авторами получен эвтектический экстракт листьев володушки золотистой (*Bupleurum aureum* L.), а также показана его гастропротекторная активность.

Цель исследования – разработка новой лекарственной формы (пастилок) на основе эвтектического экстракта володушки золотистой, обоснование выбора пероральной формы и подбор оптимального состава вспомогательных веществ для обеспечения приятных органолептических свойств, что является стратегическим направлением повышения комплаенса.

Материалы и методы. В качестве активной субстанции использовали полученный ранее эвтектический экстракт володушки золотистой (содержание рутина, установленное с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием, – 1,493 мг/мл, хлорогеновой кислоты – 0,716 мг/мл). Вспомогательные вещества: спирт этиловый (96 %; ГОСТ Р 5962–2013, Россия), агар-агар 900 (E406) (S-Chief SFC-014, Россия), пектин яблочный (S-Chief SFC-015, Россия), желатин медицинский (Xiamen Gelken Gelatin Co, Китай), натрий карбоксиметилцеллюлоза (ТУ 2231-034-79249837-2006), альгинат пищевой (ГОСТ 33310–2015), гуаровая камедь (ГОСТ 33310–2015), ксантановая камедь (E415) (ГОСТ 33310–2015), кислота лимонная пищевая (ГОСТ 908–2004), карнаубский воск (E903) (ГОСТ 33310–2015). Разработку составов пастилок с эвтектическим экстрактом володушки золотистой проводили согласно определениям и требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации.

Результаты. С учетом органолептических характеристик выбрана оптимальная комбинация основообразующих компонентов – агар и пектин (2 %). Концентрация и тип влагосберегающего вспомогательного вещества установлены путем оценки высыхаемости экспериментальных образцов. На основе модифицированного метода А.И. Тенцовой подобраны коррегенты вкуса и покрытие пастилок.

Заключение. На основе жидкого эвтектического экстракта володушки золотистой разработаны пастилки оптимального состава, включающего агар, пектин, ксантановую камедь, глюкозный сироп и лимонную кислоту. Такой состав обеспечивает стабильность формы и коррекцию органолептических свойств для повышения комплаенса.

Ключевые слова: эвтектический растворитель, разработка лекарственной формы, пастилка, володушка золотистая

Для цитирования: Дизик В.С., Джавахян М.А., Каленикова Е.И. Разработка состава и технологии пастилок с эвтектическим экстрактом листьев володушки золотистой (*Bupleurum aureum* L.). Российский биотерапевтический журнал 2026;25(3):101–10.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-101-110>

Development of the composition and technology of pastilles with eutectic extract of leaves of *Bupleurum aureum* L.

Vitaliya S. Dizik^{1,2}, Marina A. Dzhavakhyan^{1,3}, Elena I. Kalenikova²

¹All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants; 7 Green St., Moscow 117216, Russia;

²Lomonosov Moscow State University; 1 Leninskie Gory, Moscow 119991, Russia;

³K.M. Lakin Research and Education Institute of Pharmacy of Russian University of Medicine, Ministry of Health of Russia; Bld. 1, 20 Delegatskaya St., Moscow 127473, Russia

Contacts: Vitaliya Sergeevna Dizik vitaliya.bobyleva@yandex.ru

Background. The use of eutectic solvents, whose formation is driven by the creation of a supramolecular network of hydrogen bonds, enables highly efficient extraction of biologically active substances from plant materials. In previous studies, the authors obtained a eutectic extract from the leaves of *Bupleurum aureum* L. and demonstrated its gastroprotective activity.

Aim. To develop a novel pharmaceutical form (pastilles) based on the highly effective eutectic extract of *Bupleurum aureum* L. The research focuses on substantiating the choice of an oral dosage form and selecting an optimal composition of excipients to ensure pleasant organoleptic properties, which is a strategic direction for improving patient compliance.

Materials and methods. The previously obtained eutectic extract of *Bupleurum aureum* L. (rutin content – 1.493 mg/ml, chlorogenic acid – 0.716 mg/ml) was used as the active substance. Excipients: ethyl alcohol (96 %, GOST R 5962–2013, Russia), agar-agar 900 (E406) (S-Chief SFC-014, Russia), apple pectin (S-Chief SFC-015, Russia), medical gelatin (Xiamen Gelken Gelatin Co, China), sodium carboxymethylcellulose (TU 2231-034-79249837-2006), food-grade alginate (GOST 33310–2015), guar gum (GOST 33310–2015), xanthan gum (E415) (GOST 33310–2015), food-grade citric acid (GOST 908–2004), carnauba wax (E903) (GOST 33310–2015). Development of pastilles formulations with extract was conducted in accordance with the definitions and requirements of the Russian Pharmacopoeia.

Results. Based on organoleptic characteristics, the optimal combination of base-forming components was selected – agar and pectin (2 % each). The concentration and type of moisture-retaining excipient were established by assessing the drying rate of experimental samples. Taste correctors and lozenge coating were selected using a modified method by A.I. Tenzova.

Conclusion. An optimal formulation for pastilles based on the liquid eutectic extract of *Bupleurum aureum* L. has been developed, comprising agar, pectin, xanthan gum, glucose syrup, and citric acid. The developed composition ensures the stability of the dosage form and the correction of organoleptic properties to enhance patient compliance.

Keywords: eutectic solvent, drug development, pastille, *Bupleurum aureum* L.

For citation: Dizik V.S., Dzhavakhyan M.A., Kalenikova E.I. Development of the composition and technology of pastilles with eutectic extract of leaves of *Bupleurum aureum* L. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(3):101–10. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-101-110>

Введение

Одной из ключевых задач современной фармацевтической отрасли является повышение эффективности фармакотерапии через обеспечение приверженности (комплаенса) пациентов к лечению. Разработка препаратов в пероральных формах, обладающих приятными органолептическими свойствами (вкус, аромат, текстура), становится стратегическим направлением, позволяющим значительно повысить комплаенс как среди детей, так и среди других возрастных групп населения.

Параллельно с этим наблюдается устойчивая тенденция к росту потребления лекарственных средств растительного происхождения [1, 2], в связи с чем актуальной задачей является разработка новых фитопрепаратов, соответствующих требованиям дока-

зательной медицины и современным фармацевтическим стандартам качества.

Среди перспективных объектов фитотерапии выделяется володушка золотистая (*Bupleurum aureum* L.), обладающая гепатопротекторным, желчегонным и противовоспалительным действием [3]. Фармакологическая активность этого растения связана с содержанием в нем комплекса биологически активных веществ (БАВ), включающих флавоноиды (рутин, кверцетин, изокверцитрин), сапонины и фенольные кислоты [4, 5]. Для выделения суммы БАВ из листьев володушки золотистой ранее мы предложили технологию экстракции с помощью разработанного эвтектического растворителя [6]. Данная технология позволяет наиболее полно реализовать экстракционную способность эвтектического растворителя, существенно

увеличить выход и стабильность извлекаемых БАВ за счет формирования водородных связей между компонентами эвтектической смеси и целевыми молекулами, что делает его высокоэффективным для получения сбалансированных по составу фитоэкстрактов [6].

Цель исследования — разработка новой лекарственной формы (пастилок) на основе эвтектического экстракта володушки золотистой (ЭвЭЛВЗ), обоснование выбора пероральной формы и подбор оптимального состава вспомогательных веществ для обеспечения приятных органолептических свойств, что является стратегическим направлением повышения комплаенса.

Материалы и методы

Активная субстанция — ЭвЭЛВЗ с содержанием рутина (1,493 мг/мл) и хлорогеновой кислоты (0,716 мг/мл) — представляет собой жидкость темно-коричневого цвета, без запаха, с ярко выраженным горьким вкусом и характерным «травяным» послевкусием [6].

В экспериментальных исследованиях использовали вспомогательные вещества: спирт этиловый (96 %, ГОСТ Р 5962–2013, Россия), агар-агар 900 (E406) (S-Chief SFC-014, Россия), пектин яблочный (S-Chief SFC-015, Россия), желатин медицинский (Xiamen Gelken Gelatin Co, Китай), натрий карбоксиметилцеллюлозу (ТУ 2231-034-79249837-2006), альгинат пищевой (ГОСТ 33310–2015), гуаровую камедь (ГОСТ 33310–2015), ксантановую камедь (E415) (ГОСТ 33310–2015), кислоту лимонную пищевую (ГОСТ 908–2004) и карнаубский воск (E903) (ГОСТ 33310–2015).

Разработку составов пастилок с ЭвЭЛВЗ проводили в соответствии с требованиями, предъявляемыми Государственной фармакопеей Российской Федерации (ОФС. 1.4.1.0032 «Пастилки лекарственные») [7]. Полученные экспериментальные образцы подвергали органолептической оценке, включавшей визуальный анализ гомогенности системы и отсутствия фазового расслоения.

Определение высыхаемости выполняли в специальных пластиковых кюветах 70 см² (10 × 7) высотой 1 см при температуре 25,2 ± 0,4 °С и относительной влажности воздуха 65–72 % в течение 10 дней. Убыль в массе определяли в процентах по отношению к первоначальной согласно формуле:

$$a = 100 - \frac{m - m_i}{m} \times 100,$$

где a — высыхаемость, %; m_i — масса пастилки на i -й день взвешивания; m — масса пастилки после изготовления.

При выборе корригентов вкуса в разрабатываемой лекарственной форме применяли модифици-

рованный органолептический метод, предложенный А.И. Тенцовой [8, 9]. Согласно методике образцы пастилок были предложены 10 добровольцам. При выставлении оценки учитывали следующие критерии: сладость (1 — несладко, горько; 5 — очень сладко), послевкусие (1 — присутствует, неприятное; 5 — практически отсутствует), консистенция пастилки (1 — хрупкая, легко разламывается; 5 — упругая, прочная), поверхность (1 — липкая, неровная; 5 — нелипкая, ровная) [8, 9].

Результаты предшествующих исследований продемонстрировали выраженную биологическую активность сухого экстракта *Bupleurum aureum* L., включающую гастропротективный эффект, гепатопротекторное действие, а также противовоспалительную активность [3, 5]. В эксперименте *in vivo*, модельным объектом которого являлись нелинейные белые крысы-самцы, определена эффективная доза — 100 мг сухого экстракта/кг массы тела (содержание рутина — 6,2 мг/г) [3]. Сотрудники Центра доклинических исследований Всероссийского научно-исследовательского института лекарственных и ароматических растений сравнили гастропротекторную активность сухого экстракта и полученного нами ранее ЭвЭЛВЗ и установили фармакологическую эффективность последнего. Для пересчета доз проведен расчет эквивалентного содержания рутина в эвтектическом жидком экстракте (1,5 мг/мл). Затем с применением межвидового коэффициента крыса/человек осуществлен расчет терапевтической дозы для человека со средней массой тела 70 кг. Оптимальная разовая доза эвтектического экстракта составила 4,69 ± 0,3 мл, что позволило установить дозу 5 мл ЭвЭЛВЗ для разработки лекарственной формы.

Результаты и обсуждение

Обоснование выбора основы. В качестве основы для разработки пастилок используют природные высокомолекулярные соединения, а также синтетические полимеры с добавлением корригентов вкуса и запаха [7]. Критически важным аспектом при создании данной лекарственной формы является подбор желирующих агентов, обеспечивающих оптимальные структурно-механические характеристики, при этом предпочтение отдается соединениям природного происхождения. В рамках настоящего исследования для разработки основы отобраны 3 желирующих агента: медицинский желатин, агар и пектин. Экспериментальные образцы, созданные с учетом технологических особенностей каждого из основообразователей, подвергались органолептической оценке, включавшей визуальный анализ гомогенности системы, отсутствие фазового расслоения и определение степени желирования.

Применение агара и пектина в качестве желирующих компонентов имеет ряд специфических особенностей. Их использование в концентрациях, превышающих 2 %, приводит к значительным изменениям реологических характеристик: в отношении агара наблюдается чрезмерное увеличение плотности матрикса, в то время как для пектина — формирование избыточно мягкой структуры, его агломерация и невозможность смешивания с экстрактом. В связи с этим мы установили оптимальный диапазон концентраций для данных полисахаридов, не превышающий 2 %. В отличие от указанных соединений желатин проявляет иную зависимость желирующих свойств от концентрации: при низком содержании желирующий эффект отсутствует, тогда как с повышением концентрации наблюдается постепенное формирование гелевой структуры (табл. 1).

На основании результатов экспериментальных исследований установлено, что агар демонстрирует наиболее выраженные желирующие свойства в комбинации с эвтектическим экстрактом. Формирование твердого матрикса наблюдается в интервале концентраций агара от 0,5 до 2 %, при этом оптимальные реологические характеристики и стабильность достигаются при концентрации 2 %. Эта концентрация выбрана в качестве базовой для дальнейших разработок.

Для оптимизации структурных характеристик лекарственной формы исследована возможность создания комбинированных желирующих систем. Разработаны экспериментальные составы, в которых агар в концентрации 2 % выступает в качестве основного структурообразующего компонента, а желатин,

пектин и крахмал различной концентрации — в роли модифицирующих добавок (табл. 2).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о значительном ухудшении структурно-механических характеристик основы при введении желатина и крахмала в концентрациях, превышающих 5 %, что проявлялось в снижении механической прочности и нарушении гомогенности матрикса. В противоположность этому, включение пектина в состав композиции в концентрации 2 % продемонстрировало улучшение поверхностных характеристик пастилок (уменьшение шероховатости), снижение экссудации влаги и повышение стабильности при хранении.

Обоснование выбора влагосберегающего компонента. Оптимизация влагоудерживающих свойств лекарственной формы является критически важным этапом разработки пастилок, поскольку определяет стабильность текстуры, органолептические характеристики (мягкость, эластичность) и продолжительность срока годности продукта. Регуляция структурно-механических и реологических параметров, а также контроль над процессами влагопереноса в системе достигаются посредством модификации содержания гидроколлоидных компонентов [10, 11].

К числу наиболее эффективных гидрогелеобразующих агентов относятся полисахаридные производные, включая натрия карбоксиметилцеллюлозу, различные виды камедей и альгинат натрия [11, 12]. В традиционных рецептурах концентрация гидроколлоидов обычно не превышает 1–1,5 %, что обусловило выбор верхнего предела содержания влагоудерживающих компонентов на уровне 1 % в рамках

Таблица 1. Характеристика основных желирующих агентов при разработке пастилок с эвтектическим экстрактом володушки золотистой (ЭвЭЛВЗ)

Table 1. Characteristics of the main gelling agents in the development of pastilles with the eutectic extract of *Bupleurum aureum* L. leaves

Реагент Reagent	Концентрация, % Concentration, %									
	0,1	0,2	0,5	1,0	1,5	2,0	5,0	7,5	10,0	15,0
Желатин Edible gelatin	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±
Агар Agar-agar	—	±	+	+	+	+	Уплотнение структуры, невозможность включения в нее ЭвЭЛВЗ Condensation of the structure, which prevents the incorporation of the eutectic extract of <i>Bupleurum aureum</i> L. into it			
Пектин Pectin	±	±	±	±	±	±	Агломерация пектина и несмешиваемость с ЭвЭЛВЗ Agglomeration of pectin and immiscibility with the eutectic extract of <i>Bupleurum aureum</i> L.			

Примечание. «—» — незастывающая масса; «±» — получение гелевой структуры, «+» — желирование образца.
Note. “—” — indicates a non-solidifying mass; “±” — indicates the formation of a gel structure; “+” — indicates sample gelation.

Таблица 2. Характеристика дополнительных желирующих агентов при разработке пастилок с эвтектическим экстрактом володушки золотистойTable 2. Characteristics of the additional gelling agent in the development of pastilles with the eutectic extract of *Bupleurum aureum* L.

Реагент Reagent	Концентрация, % Concentration, %			
	1,0	2,0	5,0	10,0
Желатин Edible gelatin	Упругая прозрачная пастилка с небольшим выделением влаги An elastic, transparent pastille with slight moisture release		Хрупкая, разламывающаяся при отделении от формы, пастилка Fragile pastille that break when separated from the mold	
Пектин Pectin	Упругая ровная прозрачная пастилка An elastic, transparent pastille		Агломерация пектина и несмешиваемость с эвтектическим экстрактом володушки золотистой Agglomeration of pectin and immiscibility with the eutectic extract of <i>Bupleurum aureum</i> L.	
Крахмал Starch	Непрозрачная ровная пастилка, изменившая цвет A non-transparent, even pastille that has changed color		Быстро затвердевающая масса, не поддающаяся выливанию в форму A rapidly solidifying mass that cannot be poured into a mold.	

Таблица 3. Характеристика экспериментальных образцов, использующихся в выборе влагоудерживающего компонента при разработке пастилок с эвтектическим экстрактом володушки золотистойTable 3. Characteristics of the composition of experimental samples for selecting a moisture-retaining component in the development of pastilles with the eutectic extract of *Bupleurum aureum* L.

Реагент Reagent	% содержания основы (агар 2 % + пектин 2 %) % content of base (agar 2 % + pectin 2 %)		
	0,2	0,5	1,0
Натрия карбоксиметилцеллюлоза Sodium carboxymethylcellulose	+	+	+
Гуаровая камедь Guar gum	+	+	Значительное увеличение вязкости и невозможность формовки пастилок Significant increase in viscosity and inability to mold pastilles
Ксантановая камедь Xanthan gum	+	+	Значительное увеличение вязкости и невозможность формовки пастилок Significant increase in viscosity and inability to mold pastilles
Альгинат натрия Sodium alginate	+	+	Значительное увеличение вязкости и невозможность формовки пастилок Significant increase in viscosity and inability to mold pastilles
Альгинат натрия + CaCl ₂ Sodium alginate + CaCl ₂	+	+	Значительное увеличение вязкости и невозможность формовки пастилок Significant increase in viscosity and inability to mold pastilles

Примечание. «+» — получение стабильного образца.

Note. “+” — indicates the formation of a stable sample.

настоящего исследования [12, 13]. Для альгината натрия, ксантановой и гуаровой камеди установлена максимально допустимая концентрация 0,5 %, поскольку дальнейшее увеличение их содержания приводит к повышению вязкости образцов, существенному ухудшению структурных характеристик основы, проявляющемуся в изменении реологических свойств и потере стабильности.

Альгинат натрия, представляющий собой природный полисахарид, выделяемый из бурых водорослей, демонстрирует исключительную способность к связыванию молекул воды, достигающую 300 % собственной массы. Уникальной особенностью данного соединения является образование прочных гелевых структур в присутствии ионов Ca²⁺, что нашло широкое применение в технологии производства

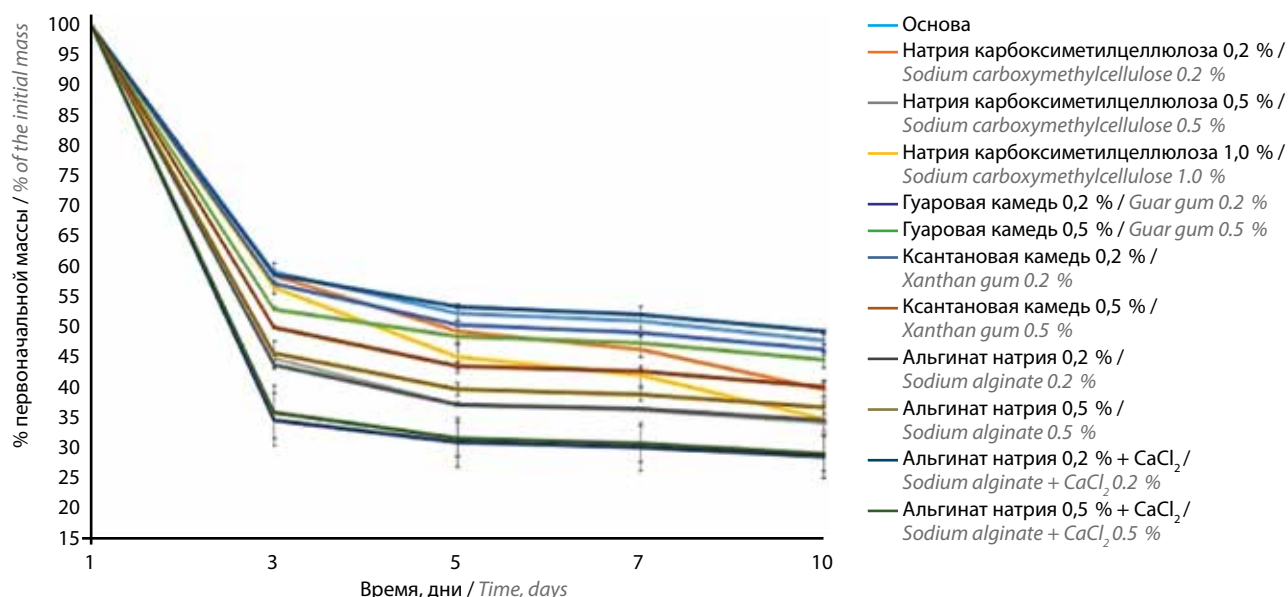


Рис. 1. Зависимость массы экспериментальных образцов пастилок с эвтектическим экстрактом володушки золотистой от времени хранения ($n = 3$)

Fig. 1. Dependence of the mass of experimental pastilles samples with the eutectic extract of *Bupleurum aureum* L. on storage ($n = 3$)

лекарственных капсул с защитными оболочками (патент РФ № RU 2287983 C1 от 27.11.2006). В рамках исследования проведен сравнительный анализ влияния альгината натрия на динамику потери массы лекарственной формы как в чистом виде при включении в состав пастилок, так и после дополнительной обработки хлоридом кальция (табл. 3, рис. 1).

Образцы пастилок, содержащие альгинат натрия и подвергнутые обработке солями кальция, характеризуются значительной потерей массы, достигающей 30 % исходного показателя (см. рис. 1). Сравнительный анализ различных композиционных вариантов выявил, что наименьшие потери влаги наблюдаются в образцах, содержащих 0,2 % ксантановой камеди. Полученные данные обусловили выбор данного гидроколлоида в качестве оптимального влагосберегающего компонента для разрабатываемой рецептуры пастилок, содержащих ЭвЭЛВЗ.

Обоснование выбора корригентов вкуса. Лекарственная форма пастилки обладает значительным фармацевтическим преимуществом, заключающимся в возможности коррекции органолептических характеристик и маскировки неприятных вкусовых свойств активных фармацевтических ингредиентов, в частности веществ с выраженной горечью. Высокая степень комплаенса пациентов различных возрастных групп при применении данной лекарственной формы обусловлена ее улучшенными вкусовыми качествами.

Органолептические характеристики ЭвЭЛВЗ — выраженный горький вкус с отчетливым травянистым оттенком и стойкое горькое послевкусие. Для коррекции вкусовых качеств в работе применяли

различные сиропы (сахарный, глюкозный, эритритный), выполняющие двойную функцию: улучшение вкусовых свойств и консервацию готовой лекарственной формы. Параллельно исследовали возможность использования сукралозы (пищевая добавка E955) — высокоинтенсивного искусственного подсластителя, сладость которого превышает аналогичный показатель сахарозы в 400–600 раз [14].

Дополнительно изучали влияние лимонной кислоты (концентрационный диапазон 0,5–1,5 % с шагом 0,5 %) на коррекцию остаточного послевкусия, обусловленного присутствием эвтектического экстракта. Следует отметить, что лимонная кислота также проявляет выраженные консервирующие свойства, что было учтено при разработке окончательной рецептуры.

Оценку экспериментальных образцов проводили органолептически согласно методу, предложенному А.И. Тенцовой, по 5-балльной системе [8, 9]. Критериями оценки выбраны сладость, послевкусие, консистенция пастилки, характеристики поверхности; выбор корригента вкуса осуществляли по средним оценкам в 4 категориях (рис. 2). Для маскировки горечи, обусловленной свойствами ЭвЭЛВЗ, использовали лимонную кислоту в концентрации от 0,5 до 1,5 %. Степень маскировки определяли по 10-балльной шкале, где 0 — присутствует ярко выраженное горькое послевкусие, 10 — присутствует ярко выраженное сладкое послевкусие.

Результаты проведенных органолептических исследований демонстрируют, что образцы пастилок, содержащие глюкозный сироп в комбинации с 1,5 %

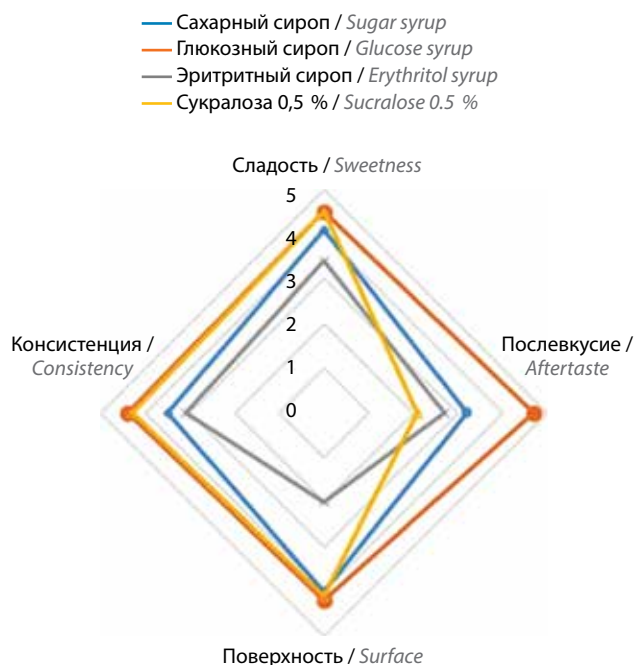


Рис. 2. Результаты оценки органолептических показателей экспериментальных образцов с эвтектическим экстрактом володушки золотистой по методу А.И. Тенцовой

Fig. 2. The results of organoleptic parameters of organoleptic parameters of experimental samples with the eutectic extract of *Bupleurum aureum* L. according to the method of A. I. Tentsova

лимонной кислотой, характеризуются приятным вкусом и послевкусием, а также наиболее полной маскировкой горького вкуса эвтектического экстракта по сравнению с другими исследуемыми вариантами композиций (рис. 3).

Покрывание пастилок. В технологии производства пастилок заключительным этапом является нанесение защитного покрытия, выполняющего двойную функцию: предотвращение дегидратации продукта и улучшение его органолептических характеристик. В рамках настоящего исследования разрабатывали глянцевое покрытие методом распыления растворов карнаубского воска в концентрациях 1, 3 и 5 % в растительном масле. Экспериментально установлено, что 5 % раствор карнаубского воска в растительном масле обеспечивает оптимальные характеристики покрытия, проявляющиеся в выраженном равномерном глянцевом блеске поверхности и значительном снижении остаточной липкости лекарственной формы.

Параллельно исследовали обсыпки, разрешенные к применению в пищевой промышленности, включающие комбинации крахмала, корицы, сахарной пудры и кокосовой стружки. В табл. 4 представлены составы исследуемых смесей с указанием комбинаций, продемонстрировавших наилучшие органолептические показатели.

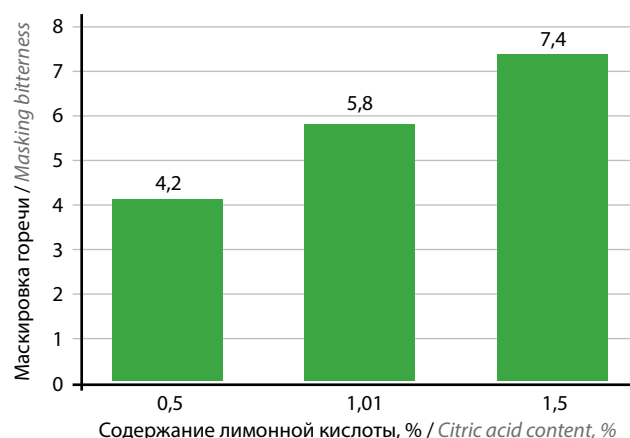


Рис. 3. Результаты оценки маскировки горечи экспериментальных образцов пастилок с эвтектическим экстрактом володушки золотистой в зависимости от концентрации лимонной кислоты

Fig. 3. The results of the evaluation of organoleptic parameters of bitterness masking in experimental lozenge samples with the eutectic extract of *Bupleurum aureum* L. depending on the concentration of citric acid



Рис. 4. Финальные образцы пастилок с эвтектическим экстрактом володушки золотистой с различными вариантами покрытий: а — карнаубский воск в растительном масле (5 %); б — кокосовая стружка; в — корица и крахмал (1:1)

Fig. 4. Final samples of lozenges with the eutectic extract of *Bupleurum aureum* L. with various coating options: а — carnauba wax in vegetable oil (5 %); б — coconut flakes; в — cinnamon and starch (1:1)

В результате разработаны 3 перспективных варианта покрытия для пастилок, содержащих ЭвЭЛВЗ: 5 % раствор карнаубского воска в растительном масле, обладающий выраженными гидрофобными свойствами; кокосовая стружка, обеспечивающая улучшенные органолептические показатели, а также смесь порошков корицы и крахмала в массовом соотношении 1:1, демонстрирующая оптимальные адгезионные характеристики (рис. 4).

Таким образом, предложенные варианты покрытий позволяют варьировать как органолептические свойства (вкус, внешний вид), так и функциональные характеристики готовых пастилок.

Заключение

Впервые разработана лекарственная форма — пастилки, содержащая активную фармацевтическую субстанцию ЭвЭЛВЗ. Подобран оптимальный состав пастилок, включающий в качестве вспомогательных веществ основообразователи — агар (2 %) и пектин

Таблица 4. Характеристика составов смесей, используемых для покрытия пастилок с эвтектическим экстрактом володушки золотистой
Table 4. Characteristics of the composition of mixtures used for coating pastilles with the eutectic extract of *Bupleurum aureum* L. compositions of mixtures used for coating lozenges

Компонент 1 Component 1	Компонент 2 Component 2			
	Крахмал Starch	Корица Cinnamon	Сахарная пудра Powdered sugar	Кокосовая стружка Coconut flakes
Крахмал Starch	±	+	—	—
Корица Cinnamon	+	±	—	—
Сахарная пудра Powdered sugar	—	—	—	—
Кокосовая стружка Coconut flakes	—	—	—	+

Примечание. Все смеси изготовлены в массовом соотношении 1:1. «—» — образец с неудовлетворительными органолептическими характеристиками; «±» — образец с удовлетворительными органолептическими характеристиками; «+» — образец с высокими органолептическими характеристиками.
Note. All mixtures were prepared in a 1:1 mass ratio. “—” — denotes a sample with unsatisfactory organoleptic characteristics; “±” — denotes a sample with satisfactory organoleptic characteristics; “+” — denotes a sample with high organoleptic characteristics.

(2 %), ксантановую камедь как влагоудерживающий компонент в концентрации 0,2 %, а также глюкозный сироп (массовая доля глюкозы — 38,4 %) и лимонную кислоту в концентрации 1,5 %, используемые в качестве корригентов вкуса. Физико-химическая совместимость экстракта и основы выбранной формы позволяет включить ЭвЭЛВЗ в количестве, достаточном для реализации его фармакотерапевтического действия (массовая доля — 35 %). Кроме того, выбор пастилок в качестве лекарственной формы обуславливает возможность

коррекции органолептических характеристик экстракта, что будет способствовать повышению приверженности пациентов к лечению.
Использование перечисленных вспомогательных веществ в технологии пастилок с ЭвЭЛВЗ, а также предложенных вариантов покрытий (5 % карнаубский воск в растительном масле, кокосовая стружка, смесь корицы и крахмала) обеспечивает необходимые показатели качества лекарственной формы: оптимальные органолептические свойства, однородность массы и стабильность при хранении.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ekor M. The growing use of herbal medicines: issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring safety. *Front Pharmacol* 2014;4:177. DOI: 10.3389/fphar.2013.00177

2. Мартынов А.И., Горелов А.В., Малявин А.Г. и др. Резолюция Совета экспертов «Растительные лекарственные препараты с доказанной клинической эффективностью в клинической практике врача». *Терапия* 2022;8(5):107–18. DOI: 10.18565/therapy.2022.5.107-118

Martynov A.I., Gorelov A.V., Malyavin A.G. et al. Resolution of the Expert Council: “Herbal medicinal products with proven clinical efficacy in clinical practice”. *Terapiya* =

Therapy 2022; 8(5):107–18. (In Russ.). DOI: 10.18565/therapy.2022.5.107-118

3. Курманова Е.Н., Ферубко Е.В., Стрелкова Л.Б. и др. Гепатопротективная активность володушки золотистой при экспериментальном моделировании патологии печени. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии* 2018;21(8):45–51. DOI: 10.29296/25877313-2018-08-07

Kurmanova Ye.N., Ferubko Ye.V., Strelkova L.B. et al. Hepatoprotective activity of golden volodushka in experimental modeling of liver pathology. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii* = Issues of Biological, Medical

- and Pharmaceutical Chemistry 2018;21(8):45–51. (In Russ.). DOI: 10.29296/25877313-2018-08-07
4. Джавахян М.А., Канунникова Ю.С. Анализ рынка современных средств гепатопротекторного действия. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии 2012;11:63–5.
Dzhavakhyan M.A., Kanunnikova Yu.S. Analysis of the market for modern hepatoprotective agents. Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Issues of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry 2012;11:63–5. (In Russ.).
 5. Канунникова Ю.С., Джавахян М.А. Разработка параметров экстрагирования суммы биологически активных веществ травы володушки золотистой (*Herba Bupleuri aurei*). Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии 2013;5:35.
Kanunnikova Yu.S., Dzhavakhyan M.A. Development of extraction parameters for the amount of biologically active substances of golden volodushka grass (*Herba Bupleuri aurei*). Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii = Issues of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry 2013;5:35. (In Russ.).
 6. Бобылева В.С., Джавахян М.А., Адамов Г.В. и др. Обоснование выбора состава глубокого эвтектического растворителя (ГЭР) для экстракции фенольных соединений из листьев володушки золотистой (*Bupleurum aureum fisch. seu longifolium L.*). Вопросы обеспечения качества лекарственных средств 2025;49(3):4–11. DOI: 10.34907/JPQAI.2025.90.30.001
Bobyleva V.S., Dzhavakhyan M.A., Adamov G.V. et al. Justification for the choice of the composition of a deep eutectic solvent (DES) for extracting phenolic compounds from the leaves of *Bupleurum aureum fisch. seu longifolium L.* Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennikh sredstv = Issues Related to Ensuring the Quality of Medicinal Products 2025;49(3):4–11. (In Russ.). DOI: 10.34907/JPQAI.2025.90.30.001
 7. Пастилки лекарственные (ОФС.1.4.1.0032). Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания. М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/> [Medicinal pastilles (OFS. 1.4.1.0032). State Pharmacopoeia of the Russian Federation of the XV edition. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation, 2023. (In Russ.). URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/>].
 8. Анурова М.Н., Бахрушина Е.О., Демина Н.Б. Проблемы коррекции органолептических свойств лекарственных препаратов. Разработка и регистрация лекарственных средств 2015;4:64–73.
Anurova M.N., Bakhrushina Ye.O., Demina N.B. Problems of correcting the organoleptic properties of medicinal products. Razrabotka i registratsiya lekarstvennikh sredstv = Development and Registration of Medicinal Products 2015;4:64–73. (In Russ.).
 9. Джавахян Д.Р., Бобылева В.С., Дул В.Н. и др. Разработка и стандартизация геля для приема внутрь с экстрактом володушки золотистой. Вопросы обеспечения качества лекарственных средств 2024;2(44):13–22. DOI: 10.34907/JPQAI.2024.38.88.003
Dzhavakhyan D.R., Bobyleva V.S., Dul V.N. et al. Development and standardization of an oral gel containing golden volodushka extract. Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennikh sredstv = Issues Related to Ensuring the Quality of Medicinal Products 2024;2(44):13–22. (In Russ.). DOI: 10.34907/JPQAI.2024.38.88.003
 10. Цебикова А.С., Семенова П.А. Выбор и обоснование гидроколлоидов в рецептуре кондитерского геля. Молодой ученый 2020;24(314):9.
Tsebikova A.S., Semenova P.A. Selection and justification of hydrocolloids in the formulation of confectionery gel. Molodoi ucheniy = Young Scientist 2020;24(314):9. (In Russ.).
 11. Богданова Ю.И., Туниева Е.К. Факторы, оказывающие влияние на свойства гелей белковых препаратов. Все о мясе 2023;4;30–3. DOI: 10.21323/2071-2499-2023-4-30-33
Bogdanova Yu.I., Tunieva Ye.K. Factors influencing the properties of protein gel preparations. Vse o myase = All about Meat 2023;4;30–3. (In Russ.). DOI: 10.21323/2071-2499-2023-4-30-33
 12. Yao X., Qian D., Changqing R., Dan X., Kaifang Z. Application of Carboxymethyl cellulose and its edible composite coating in fruit preservation. Packaging Technol Sci 2024;37:781–92. DOI: 10.1002/pts.2822
 13. Бутин С.А., Васькина В.А., Щеголева И.Д. Влияние полисахаридного комплекса в стеновом материале эмульсионного геля на качество шоколадно-ореховой начинки для кондитерских изделий. Хранение и переработка сельхозсырья 2022;2:173–87. DOI: 10.36107/10.36107/spfp.2022.303
Butin S.A., Vaskina V.A., Shchegoleva I.D. The influence of the polysaccharide complex in the wall material of an emulsion gel on the quality of chocolate-nut filling for confectionery products. Khranenie i pererabotka selkhozsiiry = Storage and Processing of Agricultural Raw Materials 2022;2:173–87. (In Russ.). DOI: 10.36107/10.36107/spfp.2022.303
 14. Aguayo-Guerrero J.A., Mendez-Garcia L.A., Solleiro-Villavicencio H. et al. Sucralose: from sweet success to metabolic controversies — unraveling the global health implications of a pervasive non-caloric artificial sweetener. Life 2024;14(3):323. DOI: 10.3390/life14030323

Вклад авторов

В.С. Дизик: получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста статьи;
М.А. Джавахян: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста статьи;
Е.И. Каленикова: анализ полученных данных, написание текста статьи.

Author's contributions

V.S. Dizik: obtaining data for analysis, analyzing the data obtained, article writing;
M.A. Dzhavakhyan: developing the design of the study, analyzing the data obtained, article writing;
E.I. Kalenikova: analysis of the data obtained, article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.С. Дизик / V.S. Dizik: <https://orcid.org/0009-0005-0149-4772>
М.А. Джавахян / M.A. Dzhavakhyan: <https://orcid.org/0000-0003-2673-6203>
Е.И. Каленикова / E.I. Kalenikova: <https://orcid.org/0000-0003-0068-2788>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

Финансирование. Исследование проведено в рамках научно-исследовательской работы «Разработка технологий рационального использования растительного сырья при создании новых лекарственных средств и функциональных пищевых продуктов (FGUU-2025-0002)».

Funding. The study was conducted as part of the research project “Development of technologies for the rational use of plant-based raw materials in the creation of new medicinal products and functional food products (FGUU-2025-0002).”

Статья поступила: 19.12.2025. Принята в печать: 28.08.2026. Опубликована онлайн: 05.10.2026.
Article submitted: 19.12.2025. Accepted for publication: 28.08.2026. Published online: 05.10.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-111-116>

Первый опыт терапевтического облучения ортотопической глиомы крыс 101.8 с лазерно-аблированными наночастицами золота

В.А. Скрибицкий¹⁻³, К.Е. Шпакова^{1,2}, Ю.А. Финогенова^{1,2}, А.А. Липенгольц¹⁻³, А.В. Смирнова^{1,4},
А.А. Постнов^{5,6}, А.И. Алексеева⁷, М.А. Абакумов⁸, С.М. Климентов³, А.А. Лактионов³, Е.Ю. Григорьева^{1,2}

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

²ФГБУ «Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова» Российской академии наук; Россия, 119991 Москва, Ленинский пр-т, 31;

³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»; Россия, 115409 Москва, Каширское шоссе, 31;

⁴ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 111123 Москва, ул. Новогиреевская, 1;

⁵ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России; Россия, 125047 Москва, ул. 4-я Тверская-Ямская, 16;

⁶ФГБУН «Физический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук»; Россия, 119991 Москва, Ленинский пр-т, 53;

⁷Научно-исследовательский институт морфологии человека им акад. А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии им. акад. Б.В. Петровского»; Россия, 117418, Москва, ул. Цюрупы, 3;

⁸ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1

Контакты: Анна Вячеславна Смирнова smirn-ova@mail.ru

Введение. Глиома крыс 101.8 – экспериментальная модель, максимально приближенная к человеческой глиобластоме, что определяет перспективность ее использования для исследований фотон-захватной терапии (ФЗТ). ФЗТ – метод бинарной лучевой терапии, при котором поглощенная доза в опухоли локально увеличивается с помощью препаратов, содержащих химические элементы с высоким зарядом ядра атома. В данном исследовании впервые проанализирована ортотопическая глиома крыс 101.8 для последующего экспериментального изучения ФЗТ с наночастицами золота *in vivo*.

Цель исследования – оценить пригодность модели ортотопической глиомы 101.8 для изучения ФЗТ с наночастицами золота.

Материалы и методы. Самкам крыс Wistar интракраниально вводили около 1 млн клеток глиомы 101.8. Животных разделили на 3 группы по 3 крысы: интактную контрольную, облученную контрольную и облученную опытную. Облучение головного мозга крыс проводили через 15 сут после имплантации клеток опухоли в дозе 22 Гр на экспериментальном рентгеновском аппарате. Крысам опытной группы за 3 сут до облучения внутривенно вводили наночастицы золота в дозе 1040 мг/кг. Накопление золота оценивали с помощью компьютерной томографии (КТ). Для мониторинга роста опухоли проводили магнитно-резонансную томографию (МРТ) до и после облучения, а для оценки метаболической активности – позитронную эмиссионную томографию с ¹⁸F-фтордезоксиглюкозой, совмещенную с рентгеновской КТ.

Результаты. Данные КТ подтвердили избирательное накопление наночастиц золота в опухоли в концентрации до $1,0 \pm 0,3$ мг/см³. Лучевая терапия привела к регрессу опухоли (по данным МРТ ее объем в среднем сократился на 50–55 %) и увеличению медианы выживаемости с 24 в группе необлученного контроля до 73–75 сут в группе облученного контроля и экспериментальной группе. При этом значимого усиления эффекта облучения при введении наночастиц золота не наблюдалось.

Заключение. Терапевтическое рентгеновское облучение привело к торможению роста глиомы 101.8 у крыс, что подтверждает пригодность данной модели для исследований лучевой терапии. При этом использованная доза наночастиц золота не обеспечивала дополнительного противоопухолевого эффекта.

Ключевые слова: радиосенсибилизация, фотон-захватная терапия, доклиническая визуализация, позитронная эмиссионная томография, магнитно-резонансная томография

Для цитирования: Скрибичский В.А., Шпакова К.Е., Финогенова Ю.А. и др. Первый опыт терапевтического облучения ортотопической глиомы крыс 101.8 с лазерно-аблированными наночастицами золота. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(3):111–6.
DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-111-116>

First experience in radiotherapy of orthotopic rat glioma 101.8 with laser-ablated gold nanoparticles

Vsevolod A. Skribitsky¹⁻³, Kristina E. Shpakova^{1,2}, Yulia A. Finogenova^{1,2}, Alexey A. Lipengolts¹⁻³, Anna V. Smirnova^{1,4}, Andrey A. Postnov^{5,6}, Anna I. Alekseeva⁷, Maxim A. Abakumov⁸, Sergey M. Klimentov³, Artem A. Laktionov³, Elena Yu. Grigorieva^{1,2}

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

²Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry; 31 Leninsky Prospekt, Moscow 119991, Russia;

³National Research Nuclear University MEPhI; 31 Kashirskoe Shosse, Moscow 115409, Russia;

⁴Loginov Moscow Clinical Scientific Center, of the Moscow Healthcare Department; 1 Novogireevskaya St., Moscow 111123, Russia;

⁵Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery; 16 4th Tverskaya-Yamskaya St., Moscow 125047, Russia;

⁶P.N. Lebedev Physical Institute of the Russian Academy of Sciences; 53 Leninsky Prospekt, Moscow 119991, Russia;

⁷Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Center of Surgery; 3 Tsurypy St., Moscow 117418, Russia;

⁸Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia

Contacts: Anna Vyacheslavna Smirnova smirn-ova@mail.ru

Background. Rat glioma 101.8 is an experimental model closely resembling human glioblastoma, making it a promising tool for studies on contrast-enhanced radiotherapy (CERT). CERT is a binary radiotherapy in which the absorbed dose is locally enhanced using agents containing high-Z elements. In this study, we performed the first evaluation of orthotopic rat glioma 101.8 for experimental *in vivo* investigation of CERT with gold nanoparticles.

Aim. To assess the suitability of the orthotopic 101.8 glioma model for CERT research with gold nanoparticles.

Materials and methods. Female Wistar rats underwent intracranial injection of approximately 1×10^6 glioma 101.8 cells. The animals were divided into three groups of three rats each: intact control, irradiated control, and irradiated experimental group. Brain irradiation was performed 15 days after tumor inoculation using an experimental X-ray unit at a dose of 22 Gy. The experimental group received an intravenous injection of gold nanoparticles (1040 mg/kg) three days prior to irradiation. Gold accumulation was assessed by computed tomography (CT). Tumor growth was monitored by magnetic resonance imaging (MRI) before and after irradiation, and metabolic activity was evaluated using ¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/CT.

Results. CT imaging confirmed selective accumulation of gold nanoparticles in the tumor, reaching concentrations of 1.0 ± 0.3 mg/cm³. Radiotherapy resulted in tumor regression (average volume reduction of 50–55 % by MRI) and an increase in median survival from 24 days (intact control) to 73–75 days in the irradiated groups. However, no significant radiosensitizing effect of gold nanoparticles was observed.

Conclusion. Therapeutic X-ray irradiation of orthotopic rat glioma 101.8 inhibited tumor growth, confirming the model's suitability for radiotherapy research, although the tested gold nanoparticle dose showed no additional benefit.

Keywords: radiosensitization, contrast-enhanced radiotherapy, preclinical imaging, positron emission tomography, magnetic resonance imaging

For citation: Skribitsky V.A., Shpakova K.E., Finogenova Yu.A. et al. First experience in radiotherapy of orthotopic rat glioma 101.8 with laser-ablated gold nanoparticles. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(3):111–6. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-3-111-116>

Введение

Глиома крыс 101.8 представляет собой стандартизованную экспериментальную модель, которая проявляет основные черты человеческой глиобластомы: быстрый инвазивный рост, формирование

центральных некрозов, неоваскуляризацию [1]. Данные преимущества определяют перспективность использования модели для исследований фотон-захватной терапии (ФЗТ) — метода бинарной лучевой терапии, основанного на локальном увеличении

поглощенной дозы от внешнего рентгеновского излучения в присутствии дозоповышающего агента преимущественно за счет фотоэффекта. Наночастицы золота являются оптимальным препаратом для ФЗТ благодаря высокому заряду атомного ядра ($Z = 79$).

Планирование ФЗТ осуществляют с помощью расчетного параметра — фактора повышения дозы (ФПД), который показывает, во сколько раз поглощенная доза увеличивается в присутствии в облучаемой мишени дозоповышающего агента (золота) в определенной концентрации [2]. Главным условием успешного применения ФЗТ является избирательное накопление дозоповышающего агента в опухолевой ткани в необходимой концентрации к моменту начала облучения. В связи с этим в данной работе оценивались накопление наночастиц золота в опухоли после их внутривенного введения, а также терапевтический ответ на воздействие рентгеновским излучением.

Цель исследования — оценка пригодности модели ортотопической глиомы 101.8 для изучения ФЗТ с наночастицами золота.

Материалы и методы

Наночастицы золота получены одностадийным методом фемтосекундной лазерной абляции в 180 μM растворе NaCl с использованием Yb: KGW-лазера и покрыты полимером mPEG-SH 2 кДа (Sigma Aldrich, США) [2]. Итоговая концентрация золота в растворе составила 22,7 мг/мл.

Для создания ортотопической опухолевой модели самкам крыс Wistar массой тела 120–130 г ($n = 9$) интракраниально имплантировали ~ 1 млн клеток глиомы 101.8. Затем животные были разделены на 3 группы: интактного контроля ($n = 3$), облученного контроля ($n = 3$) и опытную (с введением наночастиц золота и облучением) ($n = 3$). С целью оценки роста опухоли через 6 сут после имплантации опухолевых клеток всем животным проводили магнитно-резонансную томографию (МРТ) в режимах T1 и T2 (Bruker 7T; Billerica, США), а через 11 сут — позитронную эмиссионную томографию с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой, совмещенную с рентгеновской КТ (ПЭТ/КТ с ^{18}F -ФДГ) (VECTor6; MiLabs, Нидерланды). В ходе исследования 2 раза в неделю регистрировали изменение массы тела крыс, в случае потери $>10\%$ исходной массы из соображений гуманности животных выводили из эксперимента путем передозировки изофлураном.

Через 15 сут после имплантации клеток глиомы 101.8 проводили облучение головного мозга крыс группы облученного контроля и опытной группы в дозе 22 Гр (220 кВ) на экспериментальном рентгеновском аппарате (АО «НИИТФА», Россия). Крысам опытной группы за 3 сут до облучения внутривенно

вводили раствор наночастиц золота в дозе 1040 мг/кг. Непосредственно в день облучения животным выполняли КТ (VECTor6, MiLabs, Нидерланды) области головы в режиме UltraFocus для оценки накопления наночастиц золота в опухолевом узле. Для оценки результата терапии через 10 сут после окончания облучения (25 сут от имплантации клеток опухоли) проводили МРТ в режиме T2 (Bruker 7T, Billerica, США), через 16 сут после окончания облучения (31 сут от имплантации клеток опухоли) — ПЭТ/КТ с ^{18}F -ФДГ (VECTor6, MiLabs, Нидерланды). Крысы группы интактного контроля не подвергались никаким воздействиям, им выполняли только МРТ.

Результаты и обсуждение

Интракраниальная имплантация глиомы 101.8 привела к развитию опухоли у всех 9 крыс, что было подтверждено с помощью МРТ. По данным КТ в день облучения у 3 крыс опытной группы в области опухоли выявлено избирательное накопление наночастиц золота в концентрации до $1,0 \pm 0,3$ мг/см³, что визуально проявлялось как повышение рентгеноплотности от 123 ± 4 до 180 ± 26 HU (рис. 1). Согласно теории ФЗТ, присутствие золота в данной концентрации вносит вклад в локальное увеличение поглощенной дозы с коэффициентом ФПД = 1,1 [2].



Рис. 1. Компьютерная томография области головы крысы (сакитальный срез) в день облучения, через 3 сут после внутривенного введения наночастиц золота. Стрелкой указана область накопления золота в опухолевом очаге

Fig. 1. Computed tomography of the rat head (sagittal section) on the day of irradiation, 3 days after intravenous administration of gold nanoparticles. The arrow indicates the area of gold accumulation within the tumor

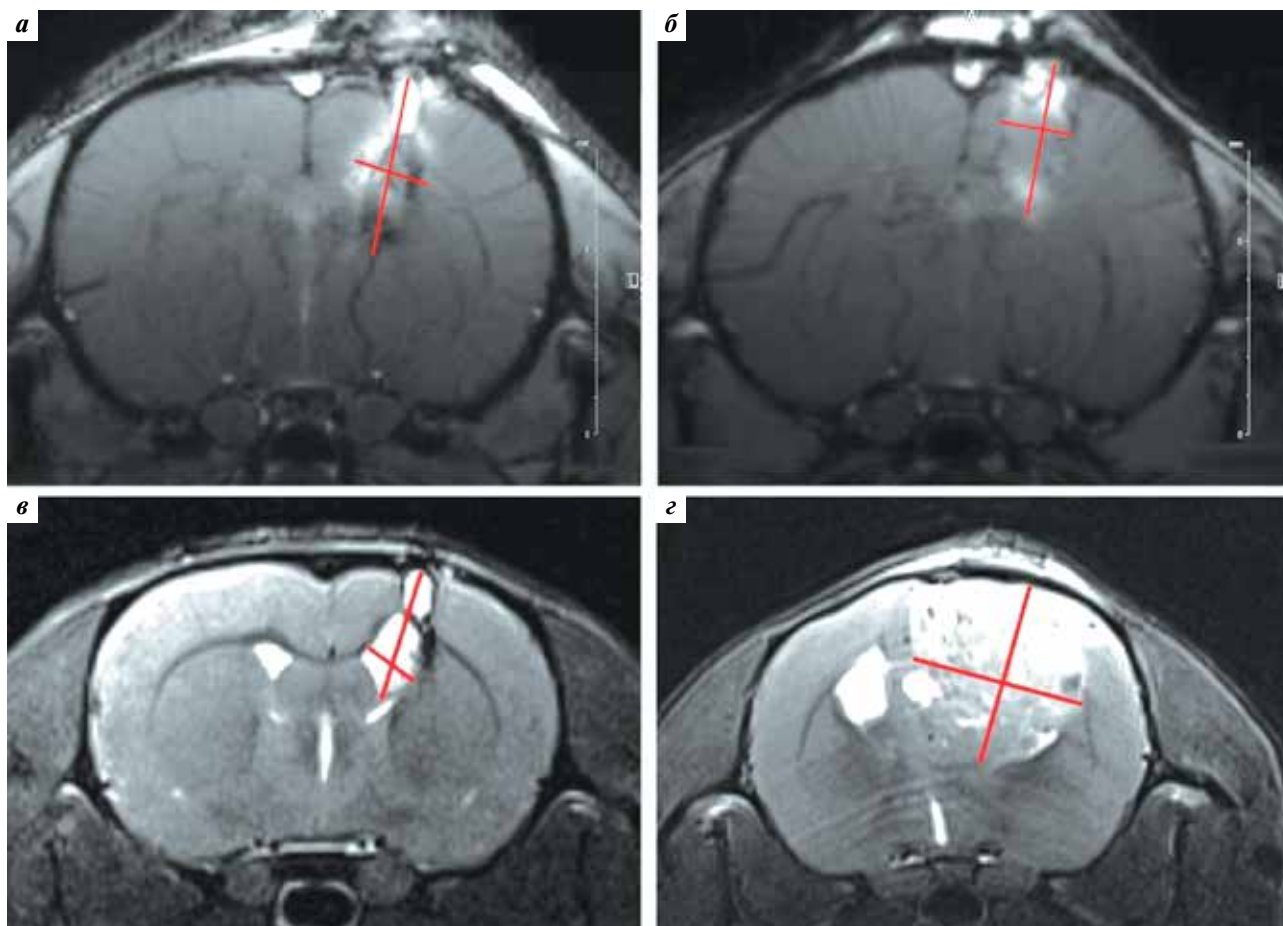


Рис. 2. Магнитно-резонансная томография головного мозга крыс с глиомой 101.8: а, б — до облучения (6 сут от имплантации опухолевых клеток); в — через 10 сут после облучения с наночастицами золота (25 сут от имплантации опухолевых клеток); г — без облучения (25 сут от имплантации опухолевых клеток). Красными линиями указаны размеры опухоли

Fig. 2. Magnetic resonance imaging of the rat brain with glioma 101.8: а, б — before irradiation (6 days after implantation of tumor cells); в — 10 days after irradiation with gold nanoparticles (25 days after implantation of tumor cells); г — intact control without irradiation (25 days after implantation from implantation of tumor cells of tumor cells). Red lines show tumor size measurements

Таким образом, при номинальной дозе 22 Гр с учетом локального энерговыделения область опухоли получила 24 Гр.

Через 6 сут после имплантации клеток опухоли размер опухолевого узла по данным МРТ составил в среднем 20 ± 6 мм³ (рис. 2, а, б). По данным МРТ в результате терапевтического воздействия через 10 сут после облучения у крыс группы облученного контроля и экспериментальной группы отмечено уменьшение объема опухоли на 26–84 % без значимых различий между группами: в среднем в группе облученного контроля — на 50 %, в опытной группе — на 55 % (рис. 2, в). В группе интактного контроля МРТ выполнена только 1 крысе из 3, поскольку остальные животные были выведены из эксперимента до назначенного дня сканирования в связи с прогрессией опухоли. У единственной крысы группы интактного контроля за данный временной интервал объем опухоли увеличился на 596 % (рис. 2, г).

По данным ПЭТ/КТ за 4 сут до облучения опухоль демонстрировала низкий уровень накопления ¹⁸F-ФДГ, вероятно, в связи с небольшим размером и ранней стадией заболевания (рис. 3, а). Коэффициент дифференциального накопления опухоль/мозг (КДН) составил от 1,0 до 1,2. По данным ПЭТ/КТ через 16 сут после облучения выявлено снижение накопления ¹⁸F-ФДГ в объеме опухоли с уменьшением КДН до $0,58 \pm 0,07$ в опытной группе и $0,51 \pm 0,11$ в группе облученного контроля; значимых различий между группами не обнаружено (рис. 3, б).

Медиана выживаемости в группе интактного контроля составила 24 сут, в группе облученного контроля — 73 сут, в опытной группе — 75 сут. У 1 крысы опытной группы зарегистрирована максимальная выживаемость (88 сут), однако, поскольку данный результат является единичным, его следует интерпретировать как проявление индивидуальной вариабельности, а не как высокую эффективность ФЗТ.

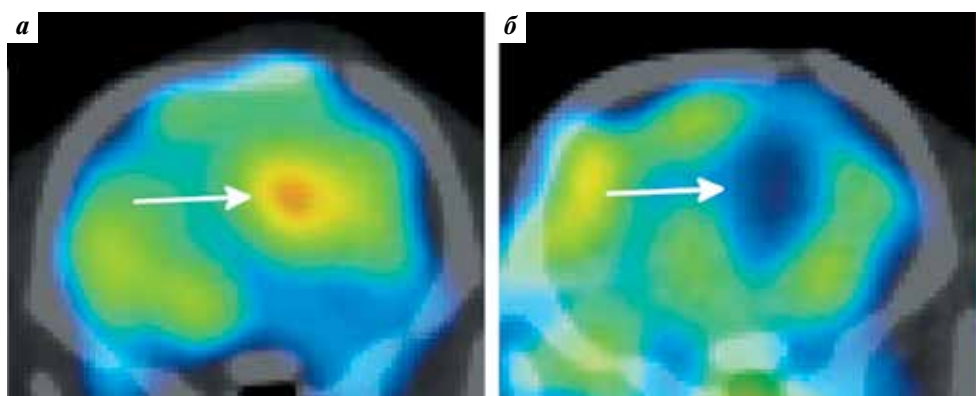


Рис. 3. Позитронная эмиссионная компьютерная томография с ^{18}F -фтордезоксиглюкозой головного мозга крысы, совмещенная с рентгеновской компьютерной томографией: а — до облучения, б — через 16 сут после облучения. Стрелкой указана область опухоли

Fig. 3. ^{18}F -fluorodeoxyglucose positron emission tomography combined with computed tomography of the rat brain: а — before irradiation; б — 16 days after irradiation. The red arrow indicates the tumor site

Таким образом, данные, полученные в ходе исследования, продемонстрировали успешное терапевтическое облучение ортотопической глиомы крыс на экспериментальном рентгеновском аппарате. Предварительное введение наночастиц золота не увеличивало противоопухолевый эффект, несмотря на убедительные данные КТ, свидетельствующие об их избирательном накоплении в опухолевой ткани. Одно из возможных объяснений этому — недостаточная доза золота (1040 мг/кг). Введение данной дозы создало в опухолевом узле концентрацию золота $1,0 \pm 0,3$ мг/см³, в то время как для достижения целевого ФПД = 1,5 необходима локальная концентрация 3,9 мг/см³ [2]. При продолжении работы доза наночастиц золота может быть увеличена до 4000 мг/кг [3], для чего потребуется увеличить концентрацию золота в растворе наночастиц до 80–120 мг/мл (Позднякова Н.В. и соавт. Патент РФ № 2834959 С2

(19.02.2025) «Способ получения стабильного высококонцентрированного коллоидного раствора на основе лазерно-аблированных наночастиц золота диаметром до 10 нм для биомедицинского применения»).

Заключение

Терапевтическое облучение крыс с глиомой 101.8 обеспечило торможение роста опухоли, снижение метаболической активности опухолевой ткани и увеличение продолжительности жизни. Полученные результаты позволяют рассматривать ортотопическую модель глиомы 101.8 как пригодную для исследований в области лучевой терапии. Вместе с тем введенная доза золота (1040 мг/кг) не обеспечила усиление противоопухолевого эффекта рентгеновского облучения, что указывает на необходимость оптимизации схемы введения наночастиц при дальнейших исследованиях ФЗТ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Халанский А.С., Кондакова Л.И. Перевиваемый штамм глиомы крысы 101.8. I. Биологическая характеристика. Клиническая и экспериментальная морфология 2013;(4):63–8. Khalansky A.S., Kondakova L.I. Transplanted rat glioma 101.8. I. Biological characteristics. Klinicheskaya y eksperimentalnaya morfologiya = Clinical and Experimental Morphology 2013;(4):63–8 (In Russ.).
- Финогенова Ю.А., Скрибичский В.А., Липенгольц А.А. и др. Расчетно-экспериментальная оценка поглощенной дозы при фотон-захватной терапии с наночастицами золота на лабораторных животных с опухолевыми моделями. Радиация и риск 2025;34(1):115–27. DOI: 10.21870/0131-3878-2025-34-1-115-127 Finogenova Yu.A., Skribitsky V.A., Lipengolts A.A. et al. Computational and experimental evaluation of absorbed doses in gold nanoparticles mediated contrast enhanced radiotherapy for tumor-bearing laboratory animals. Radiatsiya y risk = Radiation and Risk 2025;34(1):115–27 (In Russ.). DOI: 10.21870/0131-3878-2025-34-1-115-127
- Hainfeld J.F., Smilowitz H.M., O'Connor M.J. et al. Gold nanoparticle imaging and radiotherapy of brain tumors in mice. Nanomedicine 2013;8(10):1601–9. DOI: 10.2217/nmm.12.165

Вклад авторов

В.А. Скрибицкий: разработка дизайна исследования, получение и анализ данных;
 К.Е. Шпакова, А.И. Алексеева, М.А. Абакумов, А.А. Лактионов: получение и анализ данных;
 Ю.А. Финогенова: анализ данных, написание текста статьи;
 А.А. Липенгольц: разработка дизайна исследования;
 А.В. Смирнова: анализ данных, научное редактирование;
 А.А. Постнов, С.М. Климентов: разработка концепции исследования;
 Е.Ю. Григорьева: разработка концепции и дизайна исследования.

Authors' contributions

V.A. Skribitsky: research design development, data acquisition and analysis;
 K.E. Shpakova, A.I. Alekseeva, M.A. Abakumov, A.A. Laktionov: data acquisition and analysis;
 Yu.A. Finogenova: data analysis, writing the text of the article;
 A.A. Lipengolts: research design development;
 A.V. Smirnova: data analysis, scientific editing;
 A.A. Postnov, S.M. Klimentov: development of a research concept;
 E.Yu. Grigorieva: development of the research concept and design.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.А. Скрибицкий / V.A. Skribitsky: <https://orcid.org/0000-0003-2942-7895>
 К.Е. Шпакова / K.E. Shpakova: <https://orcid.org/0000-0003-0246-1794>
 Ю.А. Финогенова / Yu.A. Finogenova: <https://orcid.org/0000-0002-5144-1039>
 А.А. Липенгольц / A.A. Lipengolts: <https://orcid.org/0000-0002-5631-9016>
 А.В. Смирнова / A.V. Smirnova: <https://orcid.org/0000-0003-0386-9732>
 А.И. Алексеева / A.I. Alekseeva: <https://orcid.org/0000-0002-0370-6477>
 А.А. Постнов / A.A. Postnov: <https://orcid.org/0000-0003-2504-2090>
 М.А. Абакумов / M.A. Abakumov: <https://orcid.org/0000-0003-2622-9201>
 С.М. Климентов / S.M. Klimentov: <https://orcid.org/0000-0002-3632-4096>
 А.А. Лактионов / A.A. Laktionov: <https://orcid.org/0009-0009-8140-6988>
 Е.Ю. Григорьева / E.Yu. Grigorieva: <https://orcid.org/0000-0001-7726-7991>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (грант № 25-25-00461; <https://rscf.ru/project/25-25-00461/>).

Funding. The study was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation (grant No. 25-25-00461; <https://rscf.ru/project/25-25-00461/>).

Соблюдение прав пациентов и 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. Исследование одобрено комиссией по биоэтике ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», протокол №05Пб-17.05.2023 от 17.05.2023 г.

Соблюдение правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (протокол № 05Пб-17.05.2023 от 17.05.2023 г.).

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.

Compliance with principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (protocol No. 05Пб-17.05.2023 dated on May 17, 2023).

The study was performed in accordance with ethical principles adopted by the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes.

Статья поступила: 16.03.2026. **Принята в печать:** 11.09.2026. **Опубликована онлайн:** 05.10.2026.

Article submitted: 16.03.2026. **Accepted for publication:** 11.09.2026. **Published online:** 05.10.2026.

