

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



# Российский Биотерапевтический Журнал

Rossijskij bioterapevticeskij zurnal

Российский Биотерапевтический Журнал 2025 • Том 24 • № 1



Russian Journal  
of Biotherapy

1

TOM/VOL. 24  
2025

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

1  
ТОМ 24  
'25

**Учредитель:**

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

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

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

E-mail: [biotherapy\\_rbj@mail.ru](mailto:biotherapy_rbj@mail.ru)  
[rbjournal@ronc.ru](mailto: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](mailto:abv@abvpress.ru)

[www.abvpress.ru](http://www.abvpress.ru)

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

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

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

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

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

Российский биотерапевтический журнал.  
2025. Том 24. № 1. 1–96.

© Оформление, верстка.

ООО «ИД «АБВ-пресс», 2025

Подписной индекс в каталоге агентства  
«Роспечать» – 81679.

Отпечатано в типографии «Лайдер принт».

105082, Москва, Переведеновский пер., 13, стр. 16.

Тираж 1000 экз. Бесплатно.

<http://bioterapevt.elpub.ru>

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

## ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

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

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

## ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

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

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**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., советник вице-президента РАН (Москва, Россия)

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

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

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

#### РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

# Russian Journal of Biotherapy

Peer-reviewed theoretical and SCIENTIFIC AND PRACTICAL JOURNAL

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

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

FOUNDED IN 2002 by Professor A.Yu. Baryshnikov

1  
VOL. 24  
'25

**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](mailto:biotherapy_rbj@mail.ru)  
[rbjournal@ronc.ru](mailto: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](mailto:abv@abvpress.ru)

**[www.abvpress.ru](http://www.abvpress.ru)**

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

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

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

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

Rossijskij bioterapevticeskij zurnal. 2025. Volume 24. No 1. 1–96.

© Design, layout PH "ABV-Press", 2025

Rospechat' catalogue index: 81679.  
Printed at the Leader Print Ltd  
Bld. 16, 13 Perevedenovsky lane,  
Moscow 105082.

1,000 copies. Free distribution

<http://bioterapevt.elpub.ru>

## EDITOR-IN-CHIEF

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

## DEPUTIES EDITOR-IN-CHIEF

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

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

## EXECUTIVE EDITOR

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

## EDITORIAL BOARD

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### EDITORIAL COUNCIL

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

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

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

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

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

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

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

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

## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

- К.А. Рябова, Е.М. Козлов, Д.Р. Трифонова, А.Р. Галашин, А.А. Дубовец, О.А. Белик, А.Р. Левшина, И.В. Евсегнеева, А.В. Караулов*  
**Аллергочипы в молекулярной диагностике: от когортной оценки к персонализированному ведению пациента . . . . . 10**
- Г.М. Волгарева*  
**Папилломавирусузависимый плоскоклеточный рак шейки матки. . . . . 27**
- И.В. Самойленко, В.В. Назарова, Э.Р. Магомедова, П.В. Кононец, И.М. Боровков, Т.Г. Геворкян*  
**Анализ электронных медицинских записей при помощи технологий искусственного интеллекта для определения групп скрининга рака легкого: систематический обзор клинических исследований . . . . . 34**
- Г.А. Оборотов, М.В. Дмитриева, А.П. Колпаксиди, С.Д. Щеглов, И.И. Краснюк*  
**Перспективы создания липосомальной системы доставки гемцитабина . . . . . 46**

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- С.В. Чулкова, Е.Н. Шолохова, И.В. Поддубная, И.С. Стилиди*  
**Корреляция экспрессии рецепторов трансферрина CD71 с экспрессией молекул адгезии ICAM-1 клетками рака молочной железы . . . . . 57**
- С.В. Тишков, В.К. Алексеев, Е.В. Блынская, С.Н. Суслина*  
**Использование трехфакторного дисперсионного анализа для разработки состава растворов для фармацевтической печати пленок, диспергируемых в полости рта, на основе субстанции 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината . . . . . 65**
- П.М. Качалина, П.А. Ковалева, А.И. Черемных, В.А. Львов, Н.Ю. Анисимова*  
**Биологические аспекты применения композиционных материалов на основе полилактида в ортопедии. . . . . 78**
- С.А. Гатина, А.А. Гайсина, В.В. Полякова, В.Р. Аубакирова, Н.Ю. Анисимова, Н.А. Еникеев*  
**Остеокондуктивность и биосовместимость бета-титанового сплава Ti-15Mo с биомиметическим покрытием *in vitro* . . . . . 87**

REVIEW

*Ksenja A. Riabova, Evgenii M. Kozlov, Daria R. Trifonova, Aleksei R. Galashin, Alexandra A. Dubovets, Olga A. Belik, Anna R. Levshina, Irina V. Evsegneeva, Alexander V. Karaulov*  
**Allergen chip in molecular diagnostic: from cohort analysis to personalized patient care. . . . . 10**

*Galina M. Volgareva*  
**Papillomavirus-independent squamous cell cervical cancer. . . . . 27**

*Igor V. Samoylenko, Valeria V. Nazarova, Zakhra R. Magomedova, Pavel V. Kononets, Ivan M. Borovkov, Tigran G. Gevorkyan*  
**Analysis of electronic medical records using artificial intelligence technologies for lung cancer screening group identification: a systematic review of clinical studies . . . . . 34**

*Grigory A. Oborotov, Maria V. Dmitrieva, Alexandr P. Kolpaksidi, Stepan D. Shceglov, Ivan I. Krasniuk*  
**Prospects for the creation of a liposomal gemcitabine delivery system . . . . . 46**

ORIGINAL REPORTS

*Svetlana V. Chulkova, Elena N. Sholokhova, Irina V. Poddubnaya, Ivan S. Styliidi*  
**Correlation of CD71 transferrin receptor expression with ICAM-1 adhesion molecule expression by breast cancer cells . . . . . 57**

*Sergey V. Tishkov, Viktor K. Alekseev, Evgenija V. Blynskaya, Svetlana N. Suslina*  
**The use of three-factor dispersion analysis to develop the composition of solutions for pharmaceutical printing of films dispersed in the oral cavity based on the substance 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate . . . . . 65**

*Polina M. Kachalina, Polina A. Kovaleva, Anna I. Cheremnykh, Vladislav A. Lvov, Natalia Yu. Anisimova*  
**Biological aspects of the polylactide-based composite materials application in orthopedics. . . . . 78**

*Svetlana A. Gatina, Azaliya A. Gaysina, Veronika V. Polyakova, Veta R. Aubakirova, Natalia Yu. Anisimova, Nariman A. Enikeev*  
**Osteoconductivity and biocompatibility of beta-titanium alloy Ti-15Mo with biomimetic coating *in vitro* . . . . . 87**

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-10-26>

# Аллергочипы в молекулярной диагностике: от когортной оценки к персонализированному ведению пациента

К.А. Рябова<sup>1</sup>, Е.М. Козлов<sup>1,2</sup>, Д.Р. Трифонова<sup>1-3</sup>, А.Р. Галашин<sup>1</sup>, А.А. Дубовец<sup>1,2</sup>, О.А. Белик<sup>1</sup>,  
А.Р. Левшина<sup>1</sup>, И.В. Евсегнеева<sup>1</sup>, А.В. Караулов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119048 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

<sup>2</sup>лаборатория иммунологии и инфектологии, научный центр LIFT (Life Improvement by Future Technologies); Россия, 121205 Москва, территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, 30, стр. 1;

<sup>3</sup>Медицинский университет Вены; Австрия, 1090 Вена, Шпитальгассе, 23

**Контакты:** Александр Викторович Караулов [karaulov\\_a\\_v@staff.sechenov.ru](mailto:karaulov_a_v@staff.sechenov.ru)

**Введение.** Распространенность аллергических заболеваний повсеместно растет. Вместе с этим возрастает и необходимость точной диагностики аллергенов, что значительно влияет на дальнейшее ведение пациента и подбор терапии, в том числе аллергенспецифической иммунотерапии. Помимо объективных клинических данных и жалоб пациента, важное значение имеют лабораторные и инструментальные методы подтверждения сенсibilизации. Несмотря на экономические преимущества, такие востребованные методы диагностики, как кожные тесты, характеризуются достаточно большим процентом ложноположительных и, что не менее значимо, ложноотрицательных результатов. Кроме того, спектр аллергенов, которые доступны для определения кожными тестами, ограничен.

**Цель исследования** – сравнительный анализ эффективности и диагностической точности аллергочипов различных производителей, а также оценка их применимости в молекулярной диагностике аллергических заболеваний.

**Результаты.** Более совершенные тесты ImmunoCAP ISAC и Allergy Explorer (ALEX) постепенно занимают свою нишу в молекулярной диагностике аллергических заболеваний. Обе системы имеют свои преимущества и недостатки, а стоимость упомянутых диагностических методов и сложности в поставке зарубежных материалов резко ограничивают широкое применение аллергических панелей в нашей стране, с одной стороны. С другой стороны, современная концепция персонализированной медицины требует от врачей пациентоориентированного подхода, который трудно реализовать с помощью имеющихся диагностических инструментов. Решить эту проблему может создание аллергических профилей различных регионов России. Определение наиболее распространенных клинически значимых молекул в каждом конкретном регионе позволит более точно диагностировать аллергические заболевания и персонализированно подходить к лечению пациентов. Это, в свою очередь, улучшит качество медицинской помощи и повысит эффективность терапии.

**Заключение.** Разработка и внедрение новых диагностических методов, а также создание оптимальных для каждого региона панелей аллергенов являются важными шагами на пути к улучшению диагностики и лечения аллергических заболеваний. Эти меры помогут врачам более точно определять клинически значимые аллергены и разрабатывать индивидуальные схемы лечения для каждого пациента, что в итоге приведет к улучшению здоровья населения и снижению экономических затрат на лечение аллергических патологий.

**Ключевые слова:** аллергочип, аллергия, аллергический компонент, аллергенспецифическая иммунотерапия, панель аллергенов

**Для цитирования:** 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: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-10-26>

## Allergen chip in molecular diagnostic: from cohort analysis to personalized patient care

Ksenja A. Riabova<sup>1</sup>, Evgenii M. Kozlov<sup>1,2</sup>, Daria R. Trifonova<sup>1-3</sup>, Aleksei R. Galashin<sup>1</sup>, Alexandra A. Dubovets<sup>1,2</sup>,  
Olga A. Belik<sup>1</sup>, Anna R. Levshina<sup>1</sup>, Irina V. Evsegneeveva<sup>1</sup>, Alexander V. Karaulov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia; Bld. 8, 2 Trubetskaya St., Moscow 119048, Russia;

<sup>2</sup>Laboratory of Immunology and Infectology, Life Improvement by Future Technologies (LIFT) Center; Bld. 1, 30 Bolshoy Boulevard, the territory of the Skolkovo Innovation Center, Moscow 121205, Russia;

<sup>3</sup>Medical University of Vienna; 23 Spitalgasse, Vienna 1090, Austria

**Contacts:** Alexander Viktorovich Karaulov [karaulov\\_a\\_v@staff.sechenov.ru](mailto:karaulov_a_v@staff.sechenov.ru)

**Background.** The allergic diseases are growing everywhere. The exact diagnosis of allergens becomes more and more critical because it significantly affects the further treatment of the patient, including the question about using the allergen-specific immunotherapy. There are several laboratory and instrumental allergic tests among which the skin tests are the most available. Despite its low cost, this method is characterized by a large percentage of false-positive and, more importantly, false-negative results. In addition, the allergens that can be detected by skin tests are limited.

**Aim.** To conduct a comparative analysis of the effectiveness and diagnostic accuracy of allergen chips from different manufacturers and to evaluate their applicability in the molecular diagnosis of allergic diseases.

**Results.** ImmunoCAP ISAC and Allergy Explorer (ALEX) tests are gradually occupying their niche in the molecular diagnosis of allergic diseases. Both methods have their benefits and disadvantages. The high cost and difficulties in supplying foreign materials sharply limit the widespread use of allergy profiles in Russia. On the other hand, personalized medicine requires doctors to have a patient-centered care, which is completed using existing diagnostic tools. The allergy panels for various regions of Russia can solve this problem. Identifying the most common clinically significant molecules in each region will enable more accurate diagnosis of allergies and personalized patient treatment. This will improve medical care quality and increase therapy effectiveness.

**Conclusion.** Developing and implementing new diagnostic methods and creating allergen panels optimal for each region are important steps towards improving the diagnosis and treatment of allergic diseases. These measures will help clinicians more accurately identify relevant allergens and develop individual treatment plans for each patient, ultimately leading to better public health and lower economic costs for treating allergies.

**Keywords:** allergen chip, allergy, allergen component, allergen-specific immunotherapy, allergy test panel

**For citation:** Riabova K.A., Kozlov E.M., Trifonova D.R. et al. Allergen chip in molecular diagnostic: from cohort analysis to personalized patient care. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2025;24(1):10–26. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-10-26>

## Введение

Аллергические заболевания (АЗ) затрагивают значительную часть населения, приводя к существенной социально-экономической нагрузке. Распространенность аллергической патологии в последние десятилетия растет. В настоящее время в мире насчитывается не менее 300 млн человек с астмой и приблизительно 500 млн человек с аллергическим ринитом [1–3]. Общая частота АЗ составляет от 10 до 40 % как в развитых, так и в развивающихся странах [2, 4]. По данным ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии», в нашей стране заболеваемость АЗ варьирует от 17,5 до 30 % [5, 6]. По сообщениям Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире регистрируют 250 тыс. смертельных исходов от обострения бронхиальной астмы, которые можно было бы предотвратить при правильном подходе к лечению [2]. Высокая распространенность АЗ и связанное с ними снижение качества жизни, а также психосоциальная и экономическая нагрузка делают очевидной необходимость качественной диагностики аллергических патологий и точного определения провоцирующих факторов для назначения оптимальной терапии [7].

Помимо объективных клинических данных и жалоб пациента, важно лабораторно-инструментальное подтверждение сенсibilизации. Один из основных методов диагностики АЗ – определение аллерген-специфических антител (АТ). Современные клинические рекомендации предлагают проводить ряд исследований, среди которых важное место занимают кожные тесты с использованием стандартизированных серийных аллергенов, изготовленных из различного сырья [8]. Существует несколько методов диагностики сенсibilизации: кожный прик-тест, внутрикожный тест, патч-тест, которые врачи-аллергологи активно применяют в рутинной практике [9]. Их широкая распространенность обусловлена доступностью и скоростью получения результатов [10]. Несмотря на точность и всеобщую востребованность, эти методы имеют ряд недостатков и противопоказаний. К последним относится большинство хронических заболеваний, в том числе аутоиммунные и инфекционные заболевания, поражения кожи, тяжелое декомпенсированное течение бронхиальной астмы (объем форсированного выдоха за 1-ю секунду <70 %), заболевания внутренних органов в стадии декомпенсации. На результаты кожных тестов также влияют

многие лекарственные препараты, такие как антигистаминные и седативные средства, нейролептики, глюкокортикостероиды, принимаемые пациентами по поводу других заболеваний [11]. Кроме того, сама процедура дискомфортна, что сильно ограничивает использование кожных тестов для диагностики аллергических заболеваний у детей.

Для проведения кожных проб, как правило, используют выделенные из природных источников экстракты аллергенов. Последние являются смесью различных аллергенных и неаллергенных веществ, которые служат потенциальным триггером как аллергических, так и неспецифических реакций гиперчувствительности даже при отсутствии иммуноглобулин (Ig) E-ассоциированной сенсибилизации [12]. Особую сложность в производстве нативных экстрактов аллергенов представляет их стандартизация, поскольку из-за особенностей выделения и очистки материала состав итоговой смеси может сильно варьировать [12–14]. Этот недостаток повышает вероятность перекрестной реактивности и снижает специфичность данных тестов. Как следствие, очевидно, что основное ограничение кожных проб – использование нативных аллергенов.

Для решения этой проблемы разработаны методы, в которых применяют рекомбинантные аллергены – «чистые» молекулы аллергенов, синтезированные *de novo* при помощи технологий генной инженерии [15]. Процесс начинается с синтеза комплементарной ДНК (кДНК) на матрице молекулярной РНК (мРНК) путем обратной транскрипции, после чего кДНК может быть подвергнута различным модификациям (например, точечным мутациям, созданию химерных или гибридных структур, фрагментации и олигомеризации) с целью получения молекулярной структуры аллергена, максимально приближенной к естественной. Далее кДНК внедряется в векторы экспрессии, такие как *Escherichia coli* или дрожжи *Pichia pastoris*, для экспрессии белка и дальнейшего производства рекомбинантного аллергена. Затем аллерген проходит этапы выделения, очистки, оценки и валидации перед его применением в диагностических системах или для иммунотерапии. К 2015 г. в мире было охарактеризовано свыше 4900 аллергенов, 1500 из которых синтезированы в качестве рекомбинантных белков [2]. В настоящее время для диагностики АЗ *in vitro* доступны более 130 молекул [16]. Сейчас в практику достаточно широко внедрены лабораторные методы диагностики, предполагающие использование рекомбинантных белков: иммуоферментный анализ, иммунохемилюминесценция и ImmunoCAP. Однако и у рекомбинантных аллергенов есть несколько ограничений, включая сохраняющуюся проблему перекрестной реактивности и дороговизны приготовления. Помимо этого,

данные методы требуют большого количества сыворотки (примерно 40 мкл на 1 аллерген), что ограничивает возможность выявления сенсибилизации к большому количеству аллергенов одновременно, особенно при диагностике АЗ у детей [17].

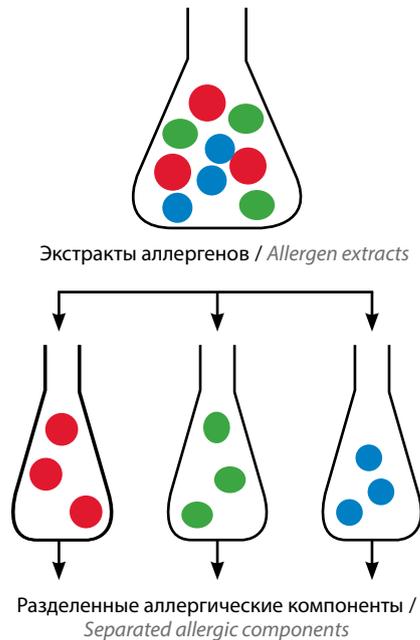
Более совершенными методами для диагностики АЗ являются те, в которых используются аллергические компоненты – искусственно синтезированные отдельные участки молекулы аллергена с известной аминокислотной последовательностью. Их ключевое преимущество – крайне высокая степень стандартизации и возможность полностью избежать кросс-реактивности. Аллергические компоненты используют в одном из новейших типов диагностических систем – алергочипах (АЧ) – за счет чего вероятность недостоверного результата значительно снижена. АЧ характеризуются высокой чувствительностью и специфичностью, что позволяет определить наличие IgE и IgG, специфичных к большому числу различных молекул. Такая точность позволяет сохранить значительные объемы сыворотки крови [18, 19].

**Целью** данного исследования является сравнительный анализ эффективности и диагностической точности АЧ различных производителей, а также оценка их применимости в молекулярной диагностике АЗ. Исследование направлено на выявление преимуществ и ограничений каждой технологии с целью оптимизации персонализированного подхода к ведению пациентов. В обзоре представлена информация о видах АЧ, их особенностях, возможностях применения в практике врача.

### Алергочипы

Работа АЧ в качестве метода выявления причинно значимых аллергенов основывается на определении аллергенспецифических IgE. Точность напрямую зависит от качества экстрактов, в приготовлении которых важную роль занимает строгое разделение белков на аллергические и неаллергические, а также стандартизация панели (рис. 1). Несмотря на то что АЧ относительно недавно стали применяться в области серологической диагностики АЗ, современные достижения в области биотехнологий и молекулярной биологии позволили достичь прогресса в совершенствовании этого метода [20]. Наиболее востребованные тесты – системы ImmunoCAP ISAC (ThermoFisher, США) и Allergy Explorer (ALEX) (Macro Array Diagnostics GmbH, Австрия), которые за последние два десятилетия доказали свою эффективность и удобство в рутинной диагностике АЗ [21].

Первой разработкой была система ImmunoCAP ISAC, в которую включено 112 тщательно отобранных и очищенных аллергенов из 48 различных источников [22]. ISAC был создан по образцу первого радиоаллергосорбентного теста (RAST) для выявления



**Рис. 1.** Разделение белков на аллергенные и неаллергенные, стандартизация их панели при приготовлении экстрактов аллергенов

Fig. 1. Separation of proteins into allergenic and non-allergenic, standardization in the panel for the allergen extracts preparation

аллергенспецифических IgE [23]. Механизм работы ISAC состоит из 3 этапов. АТ IgE сыворотки крови пациента связываются с иммобилизованными компонентами аллергенов, нанесенными на предметное стекло с реактивным полимерным покрытием, и взаимодействуют с твердой поверхностью АЧ. Образовавшиеся иммунные комплексы «аллерген/IgE» затем выявляют с помощью меченных флуорохромом моноклональных АТ против IgE человека. При помощи конфокального лазерного сканера микрочипов и программного обеспечения визуализируют изображение АЧ [24, 25]. Высокая эффективность диагностики АЗ с помощью АЧ ISAC продемонстрирована в различных исследованиях [26, 27]. Впоследствии был разработан более совершенный АЧ MeDALL (Mechanisms of the Development of ALLergy Allergen Chip), который обладает большей чувствительностью, а также расширенным набором иммобилизованных аллергенов (до 170) [19]. В серии экспериментов авторы сравнивали чувствительность расширенной панели MeDALL и принятого за эталон ImmunoCAP, поскольку именно последняя система уже глубоко внедрилась в рутинную практику врачей-аллергологов после хороших результатов по измерению IgE-специфических реакций в когортах новорожденных [19, 28, 29]. Результаты MeDALL оправдали возложенные на АЧ надежды: при минимальных концентрациях IgE в исследуемой плазме – 0,05 нг/мл для АЧ MeDALL и 0,2 нг/мл для ImmunoCAP – коэффициенты вариации случайной величины составили 7,1 и 3,7 % соответственно.

Эти показатели свидетельствуют о высокой эффективности в определении сенсibilизации для широкого спектра аллергенов в различных когортах пациентов.

С 2019 г. также используется новый молекулярно-диагностический тест ALEX, который незначительно, но все же расширил спектр этиологически важных IgE-ассоциированных белков в диагностической панели. АЧ содержит 282 аллергенных реагента (157 аллергенных экстрактов и 125 молекулярных компонентов), при этом представлено подавляющее большинство семейств аэроаллергенов и перекрестно-реактивных пищевых аллергенов [30]. Этот прибор для исследования аллергии является первым мультиплексным тестом на аллергию *in vitro*, позволяющим одновременно измерять общий и специфический IgE ко множеству экстрактов аллергенов и молекулярных аллергенов. Такая комбинация в одном иммуноанализе позволяет определить наличие как истинной сенсibilизации IgE, так и перекрестной реактивности и экономит время и затраты, особенно у полисенсibilизированных пациентов [12, 24, 30].

Отличительная особенность ALEX – наличие ингибиторов CCD (cross-reactive carbohydrate determinants). CCD – это углеводные остатки гликопротеинов, отсутствующие в белках млекопитающих. Считается, что индукция АТ IgE против CCD у людей обусловлена воздействием пыльцы и/или укусами насекомых, таких как перепончатокрылые или клещи домашней пыли [22, 31]. Большинство препаратов натуральных аллергенов, полученных из растений или насекомых, содержат CCD, но они не проявляют свойства аллергенов *in vivo* и клинически незначимы. В то же время ситуация в исследованиях *in vitro* противоположна. Здесь встречаются ложноположительные результаты, причем их частота доходит до 30 % [32–34]. Этот показатель существенно осложняет клиническую интерпретацию результатов лабораторных исследований, которые не соответствуют клиническим проявлениям аллергии у пациента.

Существует 2 решения проблемы, связанных с АТ IgE к ингибиторам CCD. Первый – использование рекомбинантных белков в тесте. Из-за отсутствия посттрансляционного гликозилирования белков рекомбинантные белки, производимые бактерией *E. coli*, не содержат CCD и не подвергаются его распознаванию. Второй метод заключается в связывании АТ против CCD, которые могут присутствовать в тестируемой сыворотке, перед фактической аналитической процедурой или во время первой инкубации теста с использованием ингибитора анти-CCD [25].

Сравнительная оценка молекулярно-диагностических тестов ALEX и ISAC – тема многих исследований, среди которых можно отметить работу А.С.М. Platteel и соавт. В ней совпадение результатов

обеих систем составило 94,3 % [35]. Коэффициенты корреляции для отдельных образцов варьировали от 0,42 до 0,97, при этом в 95 % образцов значение Спирмена превышало 0,7, что может свидетельствовать о высокой степени связи 2 тестов, с одной стороны. С другой стороны, при прямом сравнении технической производительности Allergy Explorer и платформ ImmunoCAP авторы выявили недостаточную чувствительность теста ALEX как для цельных аллергенов, так и для компонентов аллергенов [36]. В дополнение к этому, как показали результаты исследования, динамический диапазон ALEX оказался значительно ниже и не превышал 36 kUA/L для цельных аллергенов и 38 kUA/L – для их компонентов, в то время как аналогичные показатели для ImmunoCAP составили от  $\geq 100$  до 150 kUA/L соответственно. Однако при анализе отрицательных результатов авторы отметили высокую согласованность обеих диагностических систем на специфический IgE: 99,7 % для цельных аллергенов и 98,9 % – для их компонентов соответственно.

В исследовании P. Gattinger и соавт. проведен прямой сравнительный анализ чувствительности АЧ ImmunoCAP ISAC (MeDALL Chip) и ALEX по широкому спектру аллергенов [37]. Поводом послужили несоответствия между результатами исследования R. González-Pérez и соавт., полученными при исследовании специфического IgE к аллергенам домашней пыли Der p 10 и Der p 11 у пациентов с атопическим дерматитом, в сравнении с результатами стандартных тестов на измерение уровня IgE, представленными в других научных публикациях [38].

P. Gattinger и соавт. провели серию экспериментов над измерением концентрации специфического IgE в АЧ ImmunoCAP ISAC и ALEX к следующим аллергенам: Der f 1, Der f 2, Der p 1, Der p 2, Der p 4, Der p 5, Der p 7, Der p 10, Der p 11, Der p 14, Der p 15, Der p 18, Der p 20, Der p 21, Der p 23, Der p 37. Результаты показали, что АЧ ALEX обнаружил Der p 10-специфический IgE только у 1 пациента с очень высокими уровнями IgE к Der p 10, а Der p 11-специфический IgE и вовсе не смог обнаружить. Кроме того, уровни IgE, специфичные для большинства протестированных аллергенов, были ниже при тестировании с помощью ALEX, чем с помощью технологии ImmunoCAP ISAC. Некоторые важные аллергены, такие как Der p 5, Der p 7, реже распознавались с помощью ALEX MacroArray по сравнению с ImmunoCAP ISAC [37]. В качестве причины более низкого уровня специфических IgE-АТ у ALEX авторы исследования называют технические особенности данной технологии.

Безусловно, АЧ ISAC и ALEX совершили решительный прорыв в молекулярной диагностике АЗ. Помимо высокой эффективности результатов тестов, проведение самой процедуры определения клини-

чески значимых аллергенов по комфортности равносильно обычному забору крови и не включает болезненные скарификационные манипуляции. Однако, несмотря на очевидные преимущества АЧ, они имеют ряд ограничений, которые не позволяют этому методу широко применяться в рутинной практике врача. Среди недостатков АЧ можно выделить следующие:

- полуколичественные измерения (значения указаны в стандартизованных единицах – ISU);
- высокая стоимость проведения анализов;
- ограниченный набор аллергенов, доступных на АЧ.

Важно учитывать, что при проведении мультиплексного тестирования могут возникать положительные результаты, которые не имеют клинической значимости в настоящий момент. Тем не менее такие молекулы могут иметь значение для прогнозирования аллергических симптомов в будущем. Данный подход может применяться только в качестве прогнозирования будущих аллергических симптомов и не предполагает непосредственного лечения аллергии в текущий момент. Сравнительная характеристика ImmunoCAP ISAC и Allergy Explorer (ALEX) представлена в табл. 1.

### Географические особенности сенсibilизации к аллергенам

Возникновение и клинические симптомы АЗ в значительной степени зависят от окружающей среды, что делает маловероятным существование одного спектра сенсibilизации для всего населения [39]. Как правило, можно выделить определенный набор аллергенов, который специфичен для конкретного региона и клинически значим для преобладающего числа жителей. Наличие множественной косенсibilизации к широкому набору аллергенов, даже специфических для конкретной местности, создает значительные препятствия для диагностики и подбора терапии АЗ. Патогенез развития АЗ, соответственно, тоже имеет особенности, вследствие чего разные аллергены вызывают широкий спектр клинических проявлений сенсibilизации – от небольшой ринореи до тяжелых приступов бронхиальной астмы.

Зависимость профиля аллергенов от географических особенностей наглядно продемонстрировали исследователи из Китая. Результаты исследования свидетельствуют о том, что на юге и востоке Китая распространена аллергия на домашних пылевых клещей, в то время как жители западных и северных регионов страдают от аллергии на пыльцу, что показывает значимые различия в спектре триггерных и клинически значимых аллергенов в пределах одной страны [40]. В странах, чья территория включает регионы с большим разнообразием погодных,

Таблица 1. Сравнительная характеристика ImmunoCAP ISAC и Allergy Explorer (ALEX)

Table 1. Comparative characteristic of ImmunoCAP ISAC and Allergy Explorer (ALEX)

Характеристика Characteristic	ImmunoCAP ISAC	Allergy Explorer (ALEX)
Количество аллергенов на матрице Number of allergens on the matrix	170	282
Количество молекул аллергена Number of allergen molecules	170	125
Количество экстрактов аллергена Number of allergen extracts	0	157
Чувствительность Sensitivity	Высокая High	Ниже, чем у ImmunoCAP ISAC Lower than ImmunoCAP ISAC
Технология Materials	Твердая матрица (стеклянная, пластиковая или кремниевая пластинка) Solid matrix (glass, plastic or silicon wafer)	Твердофазный иммуноферментный анализ, основанный на технологии использования наночастиц в качестве носителей аллергена Solid-phase ELISA based on using nanoparticles as allergen carriers
Метод определения специфических IgE Method for determining specific IgE	Полуколичественный Semi-quantitative	Количественный Quantitative
Единицы измерений Units of measurement	ISU-E	kU/L
Количество необходимой сыворотки крови Blood serum required	35 µl	100 µl
Блокирование CCD CCD blocking	Нет No	Да Yes
Обнаружение CCD CCD detection	Да Yes	Да Yes

**Примечание.** IgE – иммуноглобулин класса E; CCD (cross-reactive carbohydrate determinants) – перекрестно-реактивные углеводные детерминанты.

*Note.* IgE – immunoglobulin class E; CCD – cross-reactive carbohydrate determinants.

природных и экологических ресурсов, спектры сенсibilизации могут различаться еще сильнее. Так, в Северной и Центральной Европе пыльца березы – наиболее распространенная причина аллергического ринита и астмы, в то время как в Индии основные источники аллергенов – пыльца растений, споры грибов, продукты питания, насекомые и пылевые клещи [41]. В исследовании М. Kiewiet и соавт. продемонстрированы различия в 9 регионах Европы: наблюдалось выраженное расхождение в доминирующих аллергенах даже в близких городах, что важно для подбора точного лечения [42].

В Российской Федерации данная тенденция также сохраняется, при этом спектры сенсibilизации могут различаться даже в близко расположенных регионах. На основании доступных данных сложно интерпретировать характерные паттерны сенсibilизации ввиду различных методов диагностики, временных промежутков исследований, возрастных когорт пациентов, климатических и географических

условий. Возможно приблизительно оценить наиболее важные аллергены для определенных регионов РФ и доказать, насколько разнообразны спектры сенсibilизации на территории страны. Объединив данные из проведенных исследований об АЗ в различных регионах России, мы сравнили профили сенсibilизации пациентов и выявили наиболее значимые региональные аллергены.

В данной работе проанализирована доступная научная литература и обобщены результаты кожных прик-тестов, проводимых в 12 регионах РФ (рис. 2–17, табл. 2), и результаты тестирования с использованием АЧ. Так, в южных регионах (Астрахани, Ростовской области, Республике Дагестан) среди респираторных аллергенов преобладает сенсibilизация к сорным травам, а в ряде регионов средней полосы России (Нижем Новгороде, Перми, Курской и Московской областях) – сенсibilизация к пыльце деревьев. Однако в разных регионах использованы неодинаковые наборы тестируемых аллергенов и, как



Рис. 2. Часть карты России с обозначением регионов, проанализированных с использованием доступной литературы  
Fig. 2. Part of Russia showing regions analyzed using available literature

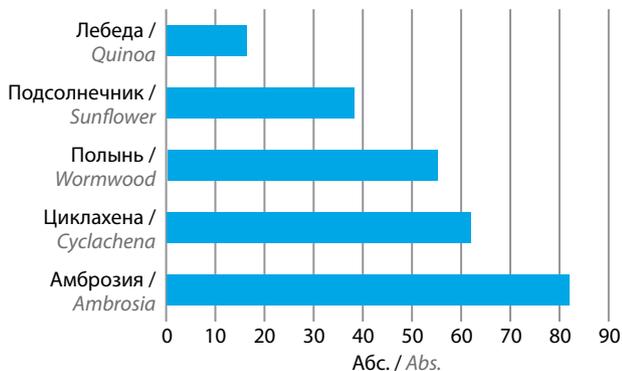


Рис. 3. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Ростовской области  
Fig. 3. Spectrum of the most common allergens for Rostov Oblast

правило, в виде экстрактов, а пищевые и бытовые были представлены только в единичных работах. Именно поэтому имеющиеся в настоящий момент данные не только не позволяют оценить спектр молекулярных аллергических компонентов, но и составить полную картину сенсibilизации на территории страны. Вследствие этого для достижения данной цели необходимо провести ряд дополнительных исследований с использованием аллергокомпонентной диагностики и унифицированной панели аллергенов.

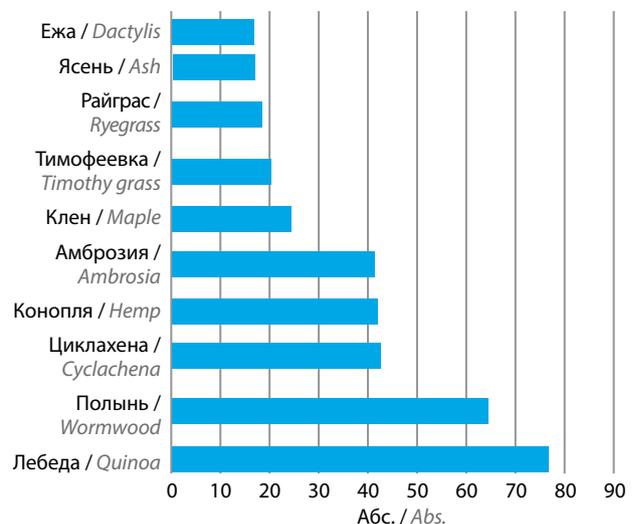


Рис. 4. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Астрахани  
Fig. 4. Spectrum of the most common allergens for Astrakhan

По результатам проведенного анализа литературы были выявлены наиболее распространенные аллергены для каждого региона, информация о которых представлена в виде гистограмм абсолютных чисел (абс.) сенсibilизации пациентов к аллергенам (см. рис. 3–17).

Таблица 2. Регионы и особенности сенсibilизации [43–55]  
Table 2. Regions and peculiarities of sensitization [43–55]

1	2	3	Наблюдаемая сенсibilизация, число сенсibilизированных лиц, % Observed sensitization, number of sensitized, %							10		
			4	5	6	7	8	9				
Ростовская область Rostov Oblast [43, 44]	2015	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Амброзия (82,1) Ambrosia	Лебеда (16,3) Quinoa	Полынь (54,6) Wormwood	Циклахена (65,3) Cyclachena	Подсолнечник (38,2) Sunflower	–	35			
			Акация (13,4) Acacia	Ольха (11,69) Alder	Каштан (16,81) Chestnut	Липа (12,58) Linden	Клен (13,43) Maple	Ясень (2,54) Ash				
	2023	Иммунохемилюминесцентный анализ с использованием анализатора «Иммулайт 2000 ХРi» Chemiluminescence Immunoassay using Immulite 2000 ХРi	Орешник (18,2) Hazel	Дуб (15,91) Oak	Береза (15,08) Birch	Бузина (24,35) Elderberry	Ель (4,24) Spruce	Амброзия (28,47) Ambrosia	118			
			Полынь (8,27) Wormwood	Лебеда (19,28) Quinoa	Подсолнечник (13,42) Sunflower	Конопля (5,85) Hemp	Ромашка аптечная (10,06) Chamomile	Циклахена (9,27) Cyclachena				
			Мяглик (16,78) Bluegrass	Полевика (31,61) Agrostis	Костер (30,21) Bromus	Ежа (16,84) Dactylis	Крапива (5,93) Nettle	Лисохвост (15,98) Alopecurus				
			Пырей (14,21) Wheatgrass	Одуванчик (9,21) Dandelion	Овсяница (22,91) Fescue	Тимофеевка (25,14) Timothy grass	–	–				
			Ясень (17,1) Ash	Клен (24,6) Maple	Тимофеевка (20,6) Timothy grass	Ежа (17,6) Dactylis	Райграс (18,7) Ryegrass	Конопля (42,2) Hemp		374		
			Полынь (64,7) Wormwood	Лебеда (77) Quinoa	Амброзия (41,7) Ambrosia	Циклахена (42,8) Cyclachena	–	–				
			Астрахань Astrakhan [45]	2010	Кожные прик-тесты Skin prick tests	–	–	–		–	–	–

Продолжение табл. 2  
Continuation of table 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Нижний Новгород Nizhny Novgorod [46]	2019	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Аллергены домашней пыли (44,0) House dust allergens	Библиотечная пыль (24,0) Library dust	Клещи домашней пыли (42,0) House dust mite	Аллергены кошки (30,0) Cat allergens	Перо подушки (15,0) Feather pillows	Перхоть лошади (16,0) Horse dander	98
			Перхоть собак (6,0) Dog dander	Пыльца де- ревьев (58,0) Tree pollen	Злаковые (43,0) Cereals	Пыльца сорных трав (39,0) Weed pollen	—	—	
Москва Moscow [47]	2022	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Яйцо (38,0) Egg	Коровье моло- ко (27,8) Cow's milk	Соя (2,5) Soybeans	Пшеница (7,6) Wheat	Рыба (10,1) Fish	Орехи (3,8) Nuts	79
			Пыльца деревь- ев, смесь (66,9) Mix of tree pollen	Пыльца трав, смесь (37,8) Mix of herb pollen	Пыльца сорняков, смесь (27,1) Mix of weed pollen	Клещ домашней пыли (37,8) House dust mite	Кошка (62,1) Cat	Собака (41,7) Dog	
Москов- ская область Moscow Oblast [48]	2021	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Береза (61,3) Birch	Тимофеевка (27,1) Timothy grass	Кипарис (18,4) Cypress	Польна (16,5) Wormwood	Кедр (13,5) Cedar	Амброзия (12,6) Ambrosia	103
			Плесень Alternaria (3,9) Alternaria mold	—	—	—	—	—	
Республи- ка Алтай Republic [49]	2019	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Клещ домашней пыли (42,9) House dust mite	Пыльца березы (34,3) Birch pollen	Эпителий кошки (25,7) Cat epithelium	Пыльца луговых трав (17,8) Meadow grass pollen	Эпителий собак (10,9) Dog epithelium	Пыльца полыни (13,2) Wormwood	128
			Пищевые аллер- гены (21,1) Food allergy	Белок курино- го яйца (10,1) Egg white protein	Коровье молоко (9,3) Cow's milk	—	—		
Республи- ка Коми Komi Republic [50]	2012	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Ольха (46,8) Alder	Береза (54,6) Birch	Тополь (35,2) Poplar	Лещина (24,2) Hazel	Сосна (44,0) Pine	Ель (40,6) Spruce	293

Продолжение табл. 2  
Continuation of table 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Республика Коми Komi Republic [50]	2012	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Сирень (27,0) Lilac	Тимофеевка (48,8) Timothy grass	Ежа (45,1) Dactylis	Овсяница (47,1) Fescue	Костер (35,5) Bromus	Мятлик (43,7) Bluegrass	293
			Лисохвост (38,6) Alopecurus	Рожь (25,9) Rye	Райграс (37,9) Ryegrass	Кукуруза (17,1) Corn	Пырей (12,3) Wheatgrass	Подсолнечник (22,2) Sunflower	
			Полынь (34,5) Wormwood	Крапива (24,9) Nettle	Лебеда (22,9) Quinoa	Подорожник (7,5) Plantain	Одуванчик (12,3) Dandelion	Амброзия (22,2) Ambrosia	
Республика Башкортостан Bashkortostan Republic [50]	2012	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Ольха (30,0) Alder	Береза (34,0) Birch	Лещина (30,0) Hazel	Тимофеевка (40,0) Timothy grass	Ежа (42,0) Dactylis	Овсяница (40,0) Fescue	100
			Костер (38,0) Bromus	Мятлик (27,0) Bluegrass	Лисохвост (25,0) Alopecurus	Рожь (18,0) Rye	Райграс (42,0) Ryegrass	Пырей (38,0) Wheatgrass	
			Подсолнечник (30,0) Sunflower	Полынь (33,0) Wormwood	Лебеда (28,0) Quinoa	Одуванчик (2,0) Dandelion	Амброзия (8,0) Ambrosia	—	
Оренбургская область Orenburg Oblast [50]	2012	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Ольха (17,1) Alder	Береза (16,0) Birch	Лещина (11,9) Hazel	Тимофеевка (14,9) Timothy grass	Ежа (15,7) Dactylis	Овсяница (10,8) Fescue	268
			Костер (14,2) Bromus	Мятлик (9,2) Bluegrass	Лисохвост (4,5) Alopecurus	Рожь (4,1) Rye	Райграс (12,3) Ryegrass	Кукуруза (2,2) Corn	
			Пырей (15,7) Wheatgrass	Подсолнечник (29,1) Sunflower	Полынь (57,5) Wormwood	Лебеда (56,7) Quinoa	Одуванчик (10,8) Dandelion	Амброзия (36,9) Ambrosia	
Республика Дагестан Dagestan Republic [51]	2019	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Ежа (68,1) Dactylis	Овсяница (42,2) Fescue	Костер (38,8) Bromus	Мятлик (31) Bluegrass	Рожь (44,2) Rye	Кукуруза (38,2) Corn	631

Продолжение табл. 2  
Continuation of table 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Республика Дагестан Dagestan Republic [51]	2019	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Подсолнечник (17,3) Sunflower	Полынь (52,8) Wormwood	Амброзия (49,2) Ambrosia	Циклахена (38,8) Cyclachena	Конопля (3,7) Hemp	Орешник (2,8) Hazel	631
			Береза (1,2) Birch	–	–	–	–	–	
Чеченская Республика Chechen Republic [51]	2019	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Злаковые (51,1) Cereals	Клещи домашней пыли (52,5) House dust mite	Грибковые аллергены (8,4) Fungal allergens	Эпидермальные аллергены (8,7) Epidermal allergens	Тараканы (0,71) Cockroaches	Амброзия (26,6) Ambrosia	845
			Полынь (20,7) Wormwood	–	–	–	–	–	
Пермь Perm [52]	2019	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Береза (26,5) Birch	Орешник (20,8) Hazel	Ольха (12,1) Alder	Тополь (8,0) Poplar	Овсяница (6,3) Fescue	–	508
Курская область Kursk Oblast [53]	2010	Кожные скарификационные пробы Skin prick tests	Тимофеевка (28,9) Timothy grass	Ежа (28,9) Dactylis	Полынь (26,5) Wormwood	Овсяница (25,3) Fescue	Лебеда (19,3) Quinoa	Мяглик (19,3) Bluegrass	105
			Райграс (16,9) Ryegrass	Лисохвост (15,7) Alopecurus	Костер (12,0) Bromus	Одуванчик (8,4) Dandelion	Пырей (7,2) Wheatgrass	Амброзия (4,8) Ambrosia	
			Циклахена (3,6) Cyclachena	Рожь (12,0) Rye	Подсолнечник (9,6) Sunflower	Береза (12,0) Birch	Ольха (10,8) Alder	Лещина (9,6) Hazel	
			Дуб (7,2) Oak	Ясень (7,2) Ash	Кукуруза (6,0) Corn	Клен (4,8) Maple	Шерсть кошки (16,9) Cat fur	Шерсть собаки (7,2) Dog fur	
			Перхоть лошади (4,8) Horse dust	Шерсть овцы (1,2) Sheep's wool	–	–	–	–	

Окончание табл. 2  
The end of table 2

1	Республика Саха (Якутия) Sakha Republic (Yakutia) [54]	Магнитогорск (Челябинская область) Magnitogorsk (Chelyabinsk Oblast) [55]
2	2017	2022
3	Кожные прик-тесты Skin prick tests	Кожные прик-тесты Skin prick tests
4	Береза (49,8) Birch	Аллергены кошки (64,78) Cat allergens
5	Полынь (30,1) Wormwood	Аллергены собаки (52,11) Dog allergens
6	Луговые травы (20,1) Meadow grass allergens	Береза (47,82) Birch
7	-	Тимофеевка (20,28) Timothy grass
8	-	Полынь (23,54) Wormwood
9	-	Клещи домашней пыли (4,23) House dust mite
10	100	71

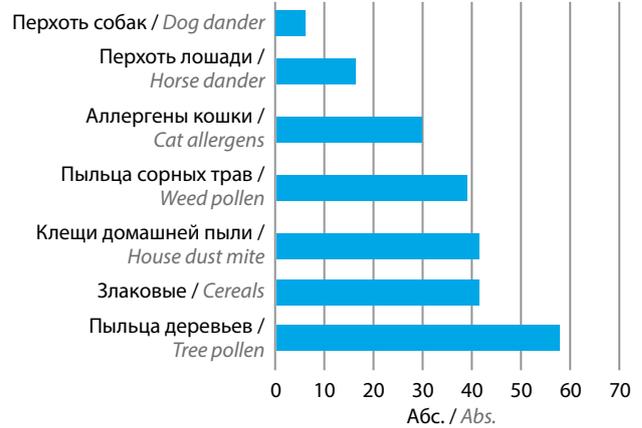


Рис. 5. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Нижнего Новгорода

Fig. 5. Spectrum of the most common allergens for Nizhny Novgorod

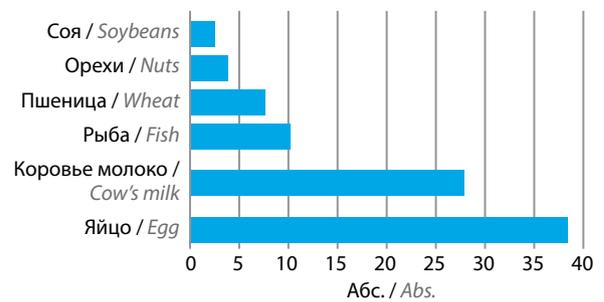


Рис. 6. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Москвы

Fig. 6. Spectrum of the most common allergens for Moscow

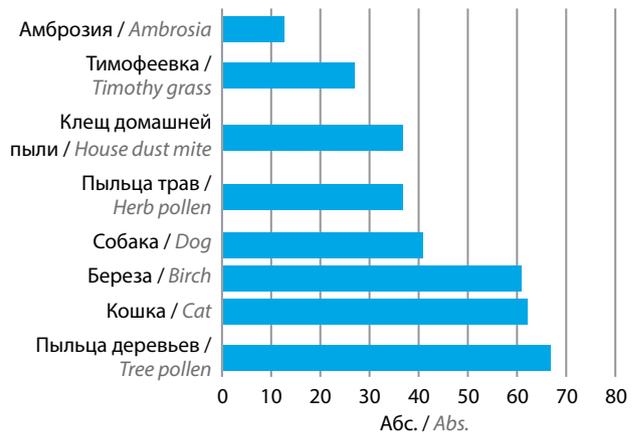


Рис. 7. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Московской области

Fig. 7. Spectrum of the most common allergens for Moscow Oblast

Традиционно клиницисты используют кожные аллергопробы с экстрактами аллергенов и определение уровня sIgE в сыворотке крови в сочетании с данными клинического анамнеза для диагностики сенсибилизации. Однако эти методы не способны достоверно и безопасно определить ко-сенсибилизацию к нескольким аллергенам [56].

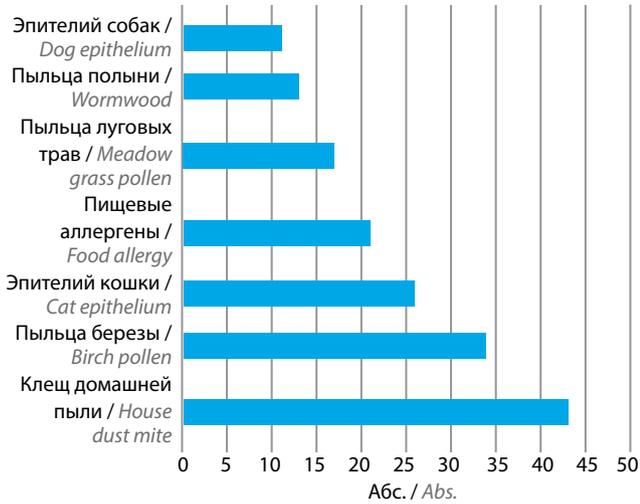


Рис. 8. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Республики Алтай

Fig. 8. Spectrum of the most common allergens for Altai Republic



Рис. 9. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Республики Коми

Fig. 9. Spectrum of the most common allergens for Komi Republic

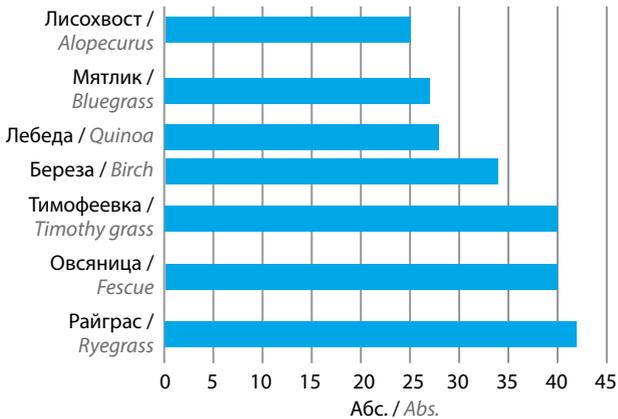


Рис. 10. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Республики Башкортостан

Fig. 10. Spectrum of the most common allergens for Bashkortostan Republic

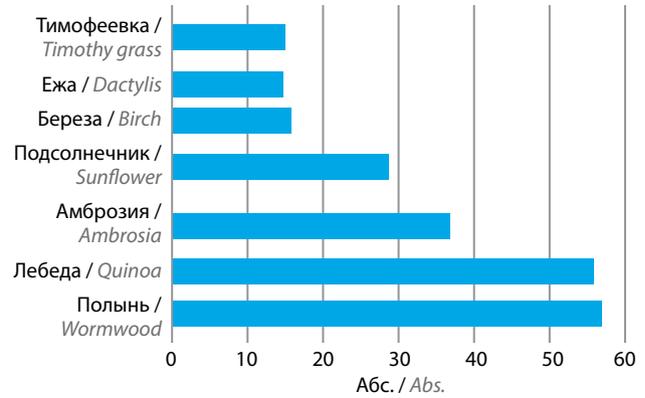


Рис. 11. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Оренбургской области

Fig. 11. Spectrum of the most common allergens for Orenburg Oblast

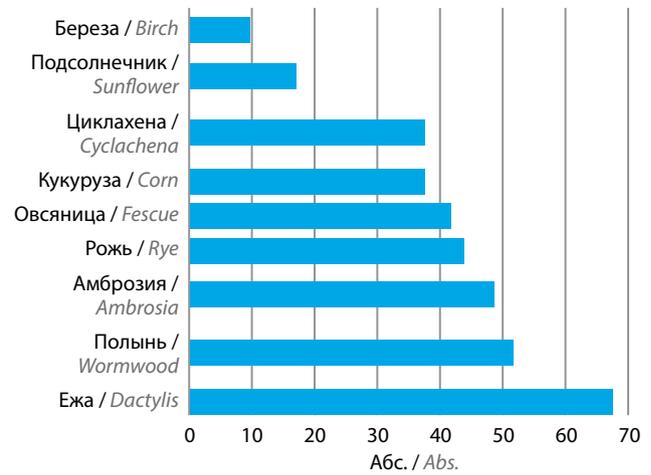


Рис. 12. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Республики Дагестан

Fig. 12. Spectrum of the most common allergens for Dagestan Republic

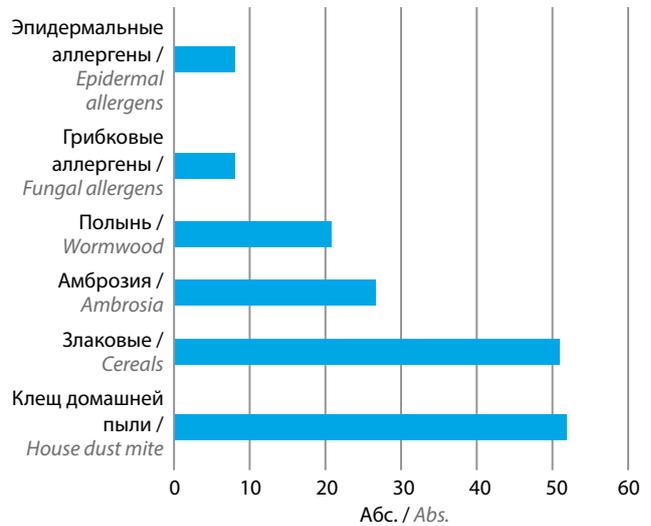


Рис. 13. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Чеченской Республики

Fig. 13. Spectrum of the most common allergens for Chechen Republic

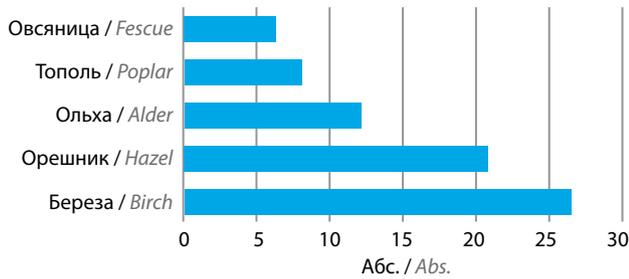


Рис. 14. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Перми  
Fig. 14. Spectrum of the most common allergens for Perm

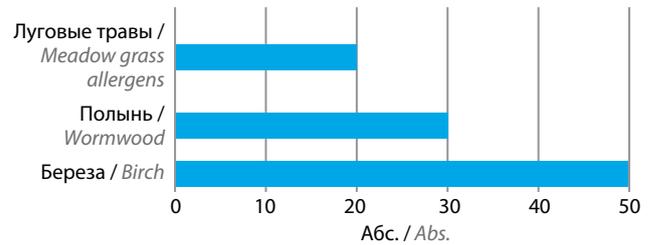


Рис. 16. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Республики Саха (Якутия)  
Fig. 16. Spectrum of the most common allergens for Sakha Republic (Yakutia)

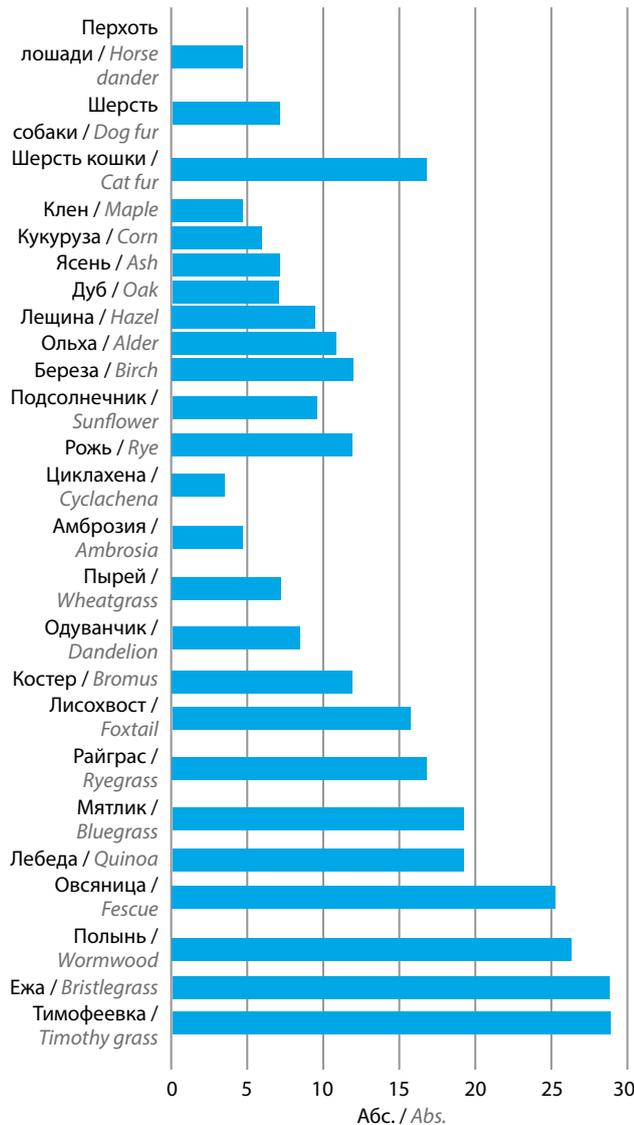


Рис. 15. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Курской области  
Fig. 15. Spectrum of the most common allergens for Kursk Oblast

### Заключение

Высокая распространенность АЗ делает актуальным вопрос не просто симптоматического лечения

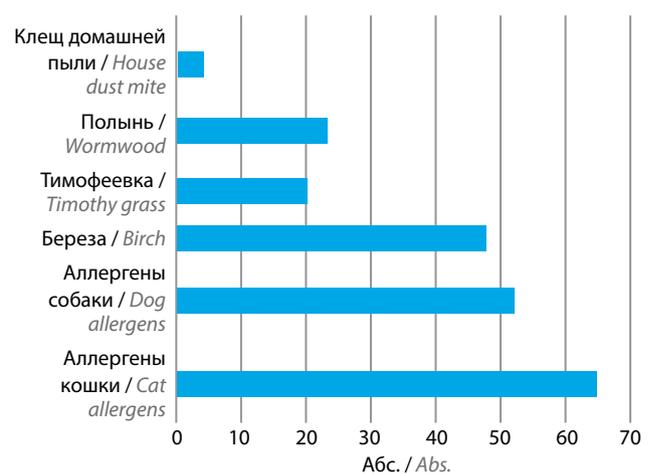


Рис. 17. Спектры наиболее распространенных аллергенов для Магнитогорска  
Fig. 17. Spectrum of the most common allergens for Magnitogorsk

пациентов, но и индивидуального подхода к ведению больных с помощью правильного подбора аллергенспецифической иммунотерапии. Для реализации этой цели важнейшим этапом является точное определение этиологии гиперсенсibilизации, причем с учетом особенностей профиля аллергенов в каждом регионе страны.

Безусловно, даже в случае высокоточных тестов сохраняются различия в оценке связывания IgE с линейными и конформационными эпитопами аллергена, при этом имеющиеся данные свидетельствуют о том, что IgE к линейным эпитомам несет больший риск побочных эффектов. Однако доля нежелательных явлений и ошибочных результатов при диагностике аллергии с помощью АЧ значительно ниже по сравнению с теми способами, которыми мы пользуемся сейчас.

Дальнейшему пониманию конкретных компонентов, связанных с аллергическими реакциями, будет способствовать использование мультиплексных анализов в научных исследованиях. Активно проводится поиск новых материалов для повышения чувствительности. Актуален вопрос высокой стоимости

АЧ, особенно в том случае, если каждый из них будет содержать все возможные аллергены. Для решения этой проблемы возможна разработка аллергопанелей,

чувствительных к профилю аллергенов в каждом отдельном регионе, что существенно снизит экономическую нагрузку на их производство.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гушин И.С. Аллергия – поздний продукт эволюции иммунной системы. *Иммунология* 2019;40(2):43–57. DOI: 10.24411/0206-4952-2019-12007  
Gushchin I.S. Allergy – late product of the immune system evolution. *Immunologiya = Immunology* 2019;40(2):43–57. (In Russ.). DOI: 10.24411/0206-4952-2019-12007.]
2. Ruby P., Holgate S.T., Canonica G.W. et al. WAO white book on allergy. World Allergy Organization, 2013. 242 p.
3. van de Veen W., Akdis M. Mechanisms of immune regulation in allergy. *EAACI Global Atlas of Allergy* 2014:90–1. DOI:10.1111/imr.12555
4. Tulaeva I., Kratzer B., Campana R. et al. Preventive allergen-specific vaccination against allergy: mission possible? *Front Immunol* 2020;11:1368. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01368
5. Тимошенко Д.О., Кофиади И.А., Гудима Г.О. и др. Эпигенетика бронхиальной астмы. *Иммунология* 2021;42(2):93–101. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-2-93-101  
Timoshenko D.O., Kofiadi I.A., Gudima G.O. et al. Epigenetics of bronchial asthma. *Immunologiya = Immunology* 2021;42(2):93–101. (In Russ.). DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-2-93-101
6. Seité S., Taieb C., Lazic Strugar T. et al. Self-reported allergies in Russia and impact on skin. *SAGE Open Med* 2020;8:2050312120957916. DOI: 10.1177/2050312120957916
7. Гушин И.С. Сомнения и надежды в учении об аллергии. *Иммунология* 2023;44(4):471–80. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-4-471-480  
Gushchin I.S. Doubts and hopes of allergology. *Immunologiya = Immunology* 2023;44(4):471–80. (In Russ.). DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-4-471-480
8. Федеральные клинические рекомендации по диагностике аллергических заболеваний. 2015. Российская ассоциация аллергологов и клинических иммунологов (РААКИ). URL: [https://raaci.ru/dat/pdf/klinicheskie\\_rekomendacii\\_po\\_diagnostike\\_az.pdf](https://raaci.ru/dat/pdf/klinicheskie_rekomendacii_po_diagnostike_az.pdf).  
Federal clinical guidelines for the diagnosis of allergic diseases. 2015. Russian Association of Allergists and Clinical Immunologists (RAACI). (In Russ.). URL: [https://raaci.ru/dat/pdf/klinicheskie\\_rekomendacii\\_po\\_diagnostike\\_az.pdf](https://raaci.ru/dat/pdf/klinicheskie_rekomendacii_po_diagnostike_az.pdf).
9. Ansotegui I.J., Melioli G., Canonica G.W. et al. IgE allergy diagnostics and other relevant tests in allergy, a World Allergy Organization position paper. *World Allergy Organ J* 2020;13(2):100080. DOI: 10.1016/j.waojou.2019.100080
10. Khokha R.N. Diagnostics of allergies: realities and prospects. Part 1. *Journal of the Grodno State Medical University* 2020;18(3):329–34. DOI:10.25298/2221-8785-2020-18-3-329-334
11. Балаболкин И.И., Мачарадзе Д.Ш. Кожные пробы: показания и противопоказания. *Вопросы современной педиатрии* 2013;12(3):31–7. DOI: 10.15690/vsp.v12i3.678  
Balabolkin I.I., Macharadze D.Sh. Skin tests: indications and contraindications. *Voprosy sovremennoy pediatrii = Current Pediatrics* 2013;12(3):31–7. (In Russ.). DOI: 10.15690/vsp.v12i3.678
12. Huang H.J., Campana R., Akinfenwa O. et al. Microarray-based allergy diagnosis: quo vadis? *Front Immunol* 2021;11:594978. DOI: 10.3389/fimmu.2020.594978
13. Brunetto B., Tinghino R., Braschi M.C. et al. Characterization and comparison of commercially available mite extracts for *in vivo* diagnosis. *Allergy* 2010;65(2):184–90. DOI: 10.1111/j.1398-9995.2009.02150.x
14. Елисютина О.Г., Шершакова Н.Н., Смирнов В.В. и др. Новые подходы к аллерген-специфической иммунотерапии (АСИТ): разработка рекомбинантной вакцины от аллергии на пыльцу березы. *Иммунология* 2022;43(6):621–31. DOI: 10.33029/0206-4952-2022-42-6-621-631  
Elisyutina O.G., Shershakova N.N., Smirnov V.V. et al. New approaches to allergenspecific immunotherapy (ASIT): development of a recombinant vaccine against birch pollen allergy. *Immunologiya = Immunology* 2022;43(6):621–31. (In Russ.). DOI: 10.33029/0206-4952-2022-42-6-621-631
15. Ковалева Е.В., Рыбалкин С.П., Шангараева В.А. и др. Изучение репродуктивной токсичности рекомбинантной аллерговакцины для лечения аллергии на пыльцу березы и перекрестные аллергены. *Иммунология*. 2023;44(6):721–30. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-6-721-730  
Kovaleva E.V., Rybalkin S.P., Shangaraeva V.A. et al. Study of reproductive toxicity of the recombinant allergy vaccine for the treatment of allergy to birch pollen and cross-related allergens. *Immunologiya = Immunology* 2023;44(6):721–30. (In Russ.). DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-6-721-730
16. Dramburg S., Hilger C., Santos A.F. et al. EAACI molecular allergology user's guide 2.0. *Pediatr Allergy Immunol* 2023;34 Suppl. 28:e13854. DOI: 10.1111/pai.13854
17. Skrindo I., Lupinek C., Valenta R. et al. The use of the MeDALL-chip to assess IgE sensitization: a new diagnostic tool for allergic disease? *Pediatr Allergy Immunol* 2015;26(3):239–46. DOI: 10.1111/pai.12366
18. Hiller R., Laffer S., Harwanegg C. et al. Microarrayed allergen molecules: diagnostic gatekeepers for allergy treatment. *FASEB J* 2002;16(3):414–6. DOI: 10.1096/fj.01-0711fj
19. Lupinek C., Wollmann E., Baar A. et al. Advances in allergen-microarray technology for diagnosis and monitoring of allergy: the MeDALL allergen-chip. *Methods* 2014;66(1):106–19. DOI: 10.1016/j.ymeth.2013.10.008
20. Hamilton R. Microarray technology applied to human allergic disease. *Microarrays (Basel)* 2017;6(1):3. DOI: 10.3390/microarrays6010003
21. Canonica G.W., Ansotegui I.J., Pawankar R. et al. A WAO – ARIA – GA<sup>2</sup>LEN consensus document on molecular-based allergy diagnostics. *World Allergy Organ J* 2013;6(1):17. DOI: 10.1186/1939-4551-6-17
22. Matricardi P.M., Kleine-Tebbe J., Hoffmann H.J. et al. EAACI molecular allergology user's guide. *Pediatr Allergy Immunol* 2016;27(Suppl. 23):1–250. DOI: 10.1111/pai.12563
23. Wide L., Bennich H., Johansson S.G.O. Diagnosis of allergy by an *in-vitro* test for allergen antibodies. *Lancet* 1967;2(7526):1105–7. DOI: 10.1016/s0140-6736(67)90615-0
24. Popescu F.D., Vieru M. Precision medicine allergy immunoassay methods for assessing immunoglobulin E sensitization to aeroallergen molecules. *World J Methodol* 2018;8(3):17–36. DOI: 10.5662/wjm.v8.i3.17
25. Lis K., Bartuzi Z. Selected technical aspects of molecular allergy diagnostics. *Curr Issues Mol Biol* 2023;45(7):5481–93. DOI: 10.3390/cimb45070347
26. Maesa J.M., Dobrzynska A., Baños-Álvarez E. et al. ImmunoCAP ISAC in food allergy diagnosis: a systematic review

- of diagnostic test accuracy. *Clin Exp Allergy* 2021;51(6):778–89. DOI: 10.1111/cea.13871
27. Melioli G., Bonifazi F., Bonini S. et al. The ImmunoCAP ISAC molecular allergology approach in adult multi-sensitized Italian patients with respiratory symptoms. *Clin Biochem* 2011;44(12):1005–11. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2011.05.007
28. Lupinek C., Marth K., Niederberger V. et al. Analysis of serum IgE reactivity profiles with microarrayed allergens indicates absence of *de novo* IgE sensitizations in adults. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130(6):1418–20.e4. DOI: 10.1016/j.jaci.2012.06.028
29. Cabrera-Freitag P., Goikoetxea M.J., Beorlegui C. et al. Can component-based microarray replace fluorescent enzymeimmunoassay in the diagnosis of grass and cypress pollen allergy? *Clin Exp Allergy* 2011;41(10):1440–6. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2011.03818.x
30. Heffler E., Puggioni F., Peveri S. et al. Extended IgE profile based on an allergen macroarray: a novel tool for precision medicine in allergy diagnosis. *World Allergy Organ J.* 2018;11(1):7. DOI: 10.1186/s40413-018-0186-3
31. Kochuyt A.M., Van Hoeyveld E.M., Stevens E.M. Prevalence and clinical relevance of specific immunoglobulin E to pollen caused by sting-induced specific immunoglobulin E to cross-reacting carbohydrate determinants in *Hymenoptera* venoms. *Clin Exp Allergy* 2005;35(4):441–7. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2005.02217.x
32. Malandain H., Giroux F., Cano Y. The influence of carbohydrate structures present in common allergen sources on specific IgE results. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2007;39(7):216–20. PMID: 18236996
33. Mari A. IgE to cross-reactive carbohydrate determinants: analysis of the distribution and appraisal of the *in vivo* and *in vitro* reactivity. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129(4):286–95. DOI: 10.1159/000067591
34. Altmann F. Coping with cross-reactive carbohydrate determinants in allergy diagnosis. *Allergo J Int* 2016;25(4):98–105. DOI: 10.1007/s40629-016-0115-3
35. Platteel A.C.M., van der Pol P., Murk J.L. et al. A comprehensive comparison between ISAC and ALEX2 multiplex test systems. *Clin Chem Lab Med* 2022;60(7):1046–52. DOI: 10.1515/cclm-2022-0191
36. Нерелиус Ш., Андерссон М., Сегаард Л. и др. Сравнительное исследование Allergy Explorer (ALEX) и платформ ImmunoCAP. Российский аллергологический журнал 2020;17(1):66–84. DOI:10.36691/RAJ.2.020.17.1.007
- Nerelius C., Andersson M., Sogaard L. et al. Comparative study of Allergy Explorer (ALEX) versus ImmunoCAP platforms. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Allergy* 2020;17(1):66–84. (In Russ.). DOI:10.36691/RAJ.2.020.17.1.007
37. Gattinger P., Huang H.J., Valenta R., Vrtala S. Response to González-Pérez et al. *J Invest Dermatol* 2022;142(3 Pt A):723–6. DOI: 10.1016/j.jid.2021.09.006
38. González-Pérez R., Poza-Guedes P., Pineda F. et al. Atopic dermatitis and frequency of Der p 11 binding as a major allergen revisited. *J Invest Dermatol* 2022;142(3 Pt A):721–3. DOI: 10.1016/j.jid.2021.05.037
39. Murrison L.B., Brandt E.B., Myers J.B. et al. Environmental exposures and mechanisms in allergy and asthma development. *J Clin Invest* 2019;129(4):1504–15. DOI: 10.1172/JCI124612
40. Luo W., Wang D., Zhang T. et al. Prevalence patterns of allergen sensitization by region, gender, age, and season among patients with allergic symptoms in mainland China: A four-year multicenter study. *Allergy* 2021;76(2):589–93. DOI: 10.1111/all.14597
41. Krishna M.T., Mahesh P.A., Vedanthan P. et al. An appraisal of allergic disorders in India and an urgent call for action. *World Allergy Organ J* 2020;13(7):100446. DOI: 10.1016/j.waojou.2020.100446
42. 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
43. Трофименко С.Л., Ракова К.А. Заболеваемость поллинозом в Ростове-на-Дону. Российская ринология 2015;23(1):36–9. DOI: 10.17116/rosrino201523136-39
- Trofimenko S., Rakova K. Pollen allergy in Rostov-on-Don. *Rossiyskaya rinologiya = Russian Rhinology* 2015;23(1):36–9. (In Russ.). DOI: 10.17116/rosrino201523136-39
44. Лебеденко А.А., Семерник О.Е., Янченко В.В. и др. Спектр пылевой сенсибилизации у детей с аллергическими заболеваниями, проживающими на территории Ростовской области. Медицинский вестник Юга России 2023;14(1):50–5. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-1-50-55
- Lebedenko A.A., Semernik O.E., Yanchenko V.V. et al. The spectrum of pollen sensitization in children with allergic diseases living in the Rostov region. *Meditinskii vestnik yuga Rossii = Medical Herald of the South of Russia* 2023;14(1):50–5. (In Russ.). DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-1-50-55
45. Шамгунова Б.А., Чуйков Д.А., Заклякова Л.В. Клинико-эпидемиологическая характеристика поллинозов у взрослого населения Астраханской области. Астраханский медицинский журнал 2010;4:73–8.
- Shamgunova B., Chuykova D., Zaklyakova L. Clinical and epidemiological characteristics of hay fever in adults of Astrakhan region. *Astrakhanskiy meditsinskiy zhurnal = Astrakhan Medical Journal* 2010;4:73–8. (In Russ.).
46. Нилова М.Ю., Туш Е.В., Елисеева Т.И. и др. Структура сенсибилизации к аэроаллергенам у детей с атопической бронхиальной астмой. Аллергология и иммунология в педиатрии 2019;2(57):17–23. DOI: 10.24411/2500-1175-2019-00008
- Nilova M., Tush E., Eliseeva T. et al. Structure of sensitization to aeroallergens in children with atopic bronchial asthma. *Allergologiya y immunologiya v pediatrii = Allergy and Immunology in Pediatrics* 2019;2(57):17–23. (In Russ.). DOI: 10.24411/2500-1175-2019-00008
47. Смолкин Ю.С., Масальский С.С., Зайцева Г.В. и др. Спектр аллергической сенсибилизации у детей с атопическим дерматитом в первые 2 года жизни по результатам кожных проб. Вопросы питания 2022;91(6):50-60. DOI: 10.33029/0042-8833-2022-91-6-50-60
- Smolkin Yu.S., Masalskiy S.S., Zaytseva G.V., Smolkina O.Yu. Allergic sensitization in children with atopic dermatitis in the first 2 years of life according to the results of skin tests. *Voprosy pitaniia = Problems of Nutrition* 2022;91(6):50–60. DOI: 10.33029/0042-8833-2022-91-6-50-60. (In Russ.).
48. 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
49. Шахова Н.В., Камалтынова Е.М., Лобанов Ю.Ф. и др. Распространенность аллергической и неаллергической бронхиальной астмы и спектр сенсибилизации среди детей дошкольного возраста, проживающих в городских условиях Алтайского края: популяционное одномоментное исследование. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2019;64(1):88–93. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-88-93
- Shakhova N.V., Kamaltynova E.M., Lobanov Yu.F. et al. The prevalence of allergic and non-allergic bronchial asthma and the spectrum of sensitization among children of preschool age living in urban areas of the Altai Territory: a momentary population study. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii = Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics* 2019;64(1):88–93. (In Russ.). DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-1-88-93
50. Вахнина О.А., Зайнуллина К.С. Этиологический спектр пылевых аллергенов у больных поллинозом в Республике Коми. Практическая медицина 2012;6(61):69–72.

- Vahnina O.A., Zainullina K.S. Etiological spectrum of pollen allergens in patients with pollinosis in the Komi Republic. *Prakticheskaya meditsina = Practical Medicine* 2012; 6(61):69–72. (In Russ.).
51. Мачарадзе Д.Ш. Некоторые особенности распространенности респираторной аллергии на юге России. *Российский аллергологический журнал* 2019;18:23–8. DOI: 10.36691/RJA17  
Macharadze D. Some features of the prevalence of respiratory allergy in southern Russia. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Allergy* 2019;18:23–8. (In Russ.). DOI: 10.36691/RJA17
52. Гушин М.О. О сенсибилизации детей школьного возраста к пылевым зернам растений Пермского края. В кн.: Молодая наука – практическому здравоохранению: материалы 92-й итоговой научно-практической конференции студентов, ординаторов, аспирантов, молодых ученых (до 35 лет) ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера, Пермь, 15–16 апреля 2019 года. Пермь: Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, 2019; с. 133–4. Gushchin M.O. On sensitization of school-age children to pollen grains of plants in the Perm region. In: *Young Science in practical healthcare: proceedings of the 92<sup>nd</sup> final Scientific and practical Conference of students, residents, postgraduates, young scientists (under 35 years old) Russian State Medical University named after Academician E.A. Wagner, Perm, April 15–16, 2019. Perm: Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, 2019; p. 133–4. (In Russ.).*
53. Яковлева М.В., Лыкина Т.А. Факторы сенсибилизации при аллергическом рините в Курском регионе. В кн.: Молодежная наука и современность: материалы 75-й Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием, посвященной 75-летию КГМУ. Курск: КГМУ, 2010; с. 46–7. Yakovleva M.V., Lykina T.A. Sensitization factors when rhinitis is included in Kursk region. In: *Materials of the 75<sup>th</sup> All-Russian Scientific Conference of students and young scientists with international participation: Youth science and modernity, dedicated to the 75<sup>th</sup> anniversary of KSMU. Kursk: KSMU, 2010; p. 46–7. (In Russ.).*
54. Иванова О.Н. Анализ показателей заболеваемости аллергическим ринитом среди детей Республики Саха (Якутия). *Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. Серия: Медицинские науки* 2017;3(08):12–6. Ivanova O.N. Analysis of the incidence of allergic rhinitis among children in the Sakha Republic (Yakutia). *Vestnik Severo-Vostochnogo federalnogo universiteta im. M.K. Ammosova. Seria meditsinskie nauki = Bulletin of the Northeastern Federal University named after M.K. Ammosov. Medical Sciences Series* 2017;3(08):12–6. (In Russ.).
55. Андропова Е.В., Лепешкова Т.С. Особенности сенсибилизации у детей раннего возраста с аллергическим ринитом, проживающих в городах Магнитогорск и Белорецк. *Аллергология и иммунология в педиатрии* 2022;4:14–21. DOI: 10.53529/2500-1175-2022-4-14-21  
Andronova E.V., Lepeshkova T.S. Sensitization peculiarities for children with allergic rhinitis living in Magnitogorsk and Beloretsk cities. *Allergologia y immunologiya v pediatrii = Allergology and Immunology in Pediatrics* 2022;4:14–21. (In Russ.). DOI: 10.53529/2500-1175-2022-4-14-21
56. Valenta R., Karaulov A., Niederberger V. et al. Allergen extracts for *in vivo* diagnosis and treatment of allergy: is there a future? *J Allergy Clin Immunol Pract* 2018;6(6):1845–55.e2. DOI: 10.1016/j.jaip.2018.08.032

#### Вклад авторов

К.А. Рябова, А.В. Караулов: разработка концепции исследования, анализ литературы, написание статьи;  
Е.М. Козлов, Д.Р. Трифонова, А.Р. Галашин, А.А. Дубовец, О.А. Белик, А.Р. Левшина, И.В. Евсегнеева: анализ литературы, написание и редактирование статьи.

#### Authors' contribution

K.A. Riabova, A.V. Karaulov: development of the study concept, literature analysis, writing of the article;  
E.M. Kozlov, D.R. Trifonova, A.R. Galashin, A.A. Dubovets, O.A. Belik, A.R. Levshina, I.V. Evsegneeva: literature analysis, writing and editing of the article.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

К.А. Рябова / K.A. Riabova: <https://orcid.org/0000-0003-0520-0936>  
Е.М. Козлов / E.M. Kozlov: <https://orcid.org/0000-0001-6244-1088>  
Д.Р. Трифонова / D.R. Trifonova: <https://orcid.org/0009-0002-4305-0529>  
А.Р. Галашин / A.R. Galashin: <https://orcid.org/0000-0001-9214-5351>  
А.А. Дубовец / A.A. Dubovets: <https://orcid.org/0000-0002-9804-4364>  
О.А. Белик / O.A. Belik: <https://orcid.org/0009-0002-1865-5024>  
А.Р. Левшина / A.R. Levshina: <https://orcid.org/0000-0002-9315-3801>  
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.** Authors declare no conflict of interests.

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда №23-75-30016 «Аллергочип РФ».

**Funding.** The study was supported by the Russian Science Foundation through the grant No.23-75-30016 “Allergochip RF”.

Статья поступила: 20.05.2024. Принята в печать: 25.02.2025. Опубликовано онлайн: 00.00.2025.

Article received: 20.05.2024. Accepted for publication: 25.02.2025. Published online: 00.00.2025.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-27-33>

# Папилломавируснезависимый плоскоклеточный рак шейки матки

Г.М. Волгарева

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

**Контакты:** Галина Михайловна Волгарева [galina.volgareva@ronc.ru](mailto:galina.volgareva@ronc.ru)

В мире ежегодно регистрируется более 500 тыс. новых случаев рака шейки матки (РШМ), более 300 тыс. женщин ежегодно умирают от этого заболевания. Наиболее распространенной формой РШМ является плоскоклеточный рак. Этиологическими агентами РШМ признаны вирусы папилломы человека (ВПЧ) определенных типов. Точка зрения, согласно которой все случаи РШМ являются ВПЧ-положительными, до недавнего времени была очень популярна среди исследователей. Она основывалась прежде всего на методических трудностях выявления «настоящего» ВПЧ-отрицательного РШМ. Ввиду того, что группа вирусов папиллом многочисленна и гетерогенна, тот факт, что в конкретном исследовании обнаруживалось менее 100 % ВПЧ-положительных образцов, представлялось резонным объяснять недостатками системы детекции, иными словами, тем, что имелся ложно-отрицательный результат. По мере совершенствования методов обнаружения ДНК ВПЧ существование ВПЧ-независимого РШМ в 2020 г. было официально признано Всемирной организацией здравоохранения. Эти карциномы весьма редки, они трудно диагностируются, поэтому обнаруживаются на поздних стадиях; имеются отдельные сообщения о более тяжелом клиническом течении таких случаев, чем ВПЧ-положительного РШМ, они часто неоперабельны. Данная форма РШМ, очевидно, не исчезнет после введения программ массовой профилактической вакцинации подростков. Рассмотрению некоторых методических моментов, связанных с обнаружением ВПЧ-отрицательного плоскоклеточного РШМ, а также известных в настоящее время особенностей данной формы рака посвящен настоящий обзор.

**Ключевые слова:** плоскоклеточный рак, шейка матки, папилломавируснезависимый рак шейки матки, особенность

**Для цитирования:** Волгарева Г.М. Папилломавируснезависимый плоскоклеточный рак шейки матки. Российский биотерапевтический журнал 2025;24(1):27–33.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-27-33>

## Papillomavirus-independent squamous cell cervical cancer

*Galina M. Volgareva*

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

**Contacts:** Galina Mikhaylovna Volgareva [galina.volgareva@ronc.ru](mailto:galina.volgareva@ronc.ru)

Over 500,000 new cervical cancer (CC) cases are recorded annually around the world, and more than 300,000 women die from this disease. Squamous cell carcinoma is the most common CC form. Human papilloma viruses (HPV) of certain types are recognized etiological agents of CC. The viewpoint that all CC cases are HPV-positive was very popular among researchers until recently. Chiefly it was based on technical problems with detection of “genuine” HPV-negative CC. Due to multiplicity and heterogeneity of the HPV group it seemed reasonable to explain the fact that less than 100 % of HPV-positive samples were registered in a certain study by detection system inadequacy, in other words that a false-negative result was the case. As HPV DNA detection methods had been improved the existence of HPV-independent CC was officially recognized by the World Health Organization in 2020. These carcinomas are rather rare, difficult to diagnose, thus detected at advanced stages; there are some communications on a more severe clinical course of such cases in comparison with HPV-positive ones, they are frequently inoperable. It seems the given CC form will not disappear with the introduction of programs of mass preventive adolescent vaccinations. The review deals with some technical items of HPV-negative squamous CC detection as well as with the known peculiarities of this cancer type.

**Keywords:** squamous cell cancer, cervix uteri, papillomavirus-independence, peculiarities

**For citation:** Volgareva G.M. Papillomavirus-independent squamous cell cervical cancer. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2025;24(1):27–33. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-27-33>

## Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2020 г. в мире зарегистрировано 604 127 новых случаев рака шейки матки (РШМ), что составило 3,1 % всех случаев злокачественных новообразований различных локализаций; умерла 341 831 женщина (3,4 % всех случаев смерти от рака). В мировых рейтингах заболеваемости и смертности женщин РШМ занимает 4-е место (6,5 и 7,7 % всех локализаций соответственно) [1].

Этиологическими агентами РШМ являются вирусы папилломы человека (ВПЧ) 12 типов – так называемых типов высокого онкогенного риска [2–4].

Локализация развития РШМ – канал шейки матки (ШМ) (цервикальный канал), соединяющий матку и влагалище. Этот канал разделяется на экзо- и эндоцервикс, первый выстлан многослойными плоскими эпителиальными клетками, второй – простым колончатый эпителием. В эндоцервикальном канале эти 2 вида эпителия смыкаются, образуя «зону трансформации». Эта зона – наиболее вероятная область возникновения РШМ, поскольку именно здесь развивается предраковая трансформация клеток на фоне хронической инфекции ВПЧ. Существуют 2 основные гистологические разновидности РШМ – плоскоклеточный рак и аденокарцинома. Плоскоклеточный рак развивается из плоскоклеточного эпителия экзоцервикса, он составляет не менее 75 % случаев РШМ; аденокарцинома – из железистых клеток эндоцервикса, на ее долю приходится до 25 % случаев РШМ [5].

Существование ВПЧ-независимого плоскоклеточного РШМ до недавнего времени подвергалось сомнению. Некоторые причины этого сомнения мы рассмотрим далее. Однако в 2020 г. ВОЗ признала существование редкого ВПЧ-отрицательного плоскоклеточного РШМ [6].

Недостаточность внимания к ВПЧ-независимому РШМ при изучении карцином ШМ (КШМ) отметили в 2022 г. J.-E. Lee и соавт. [7]. При введении ключевых слов “cervical cancer” они получили в PubMed 49 868 ответов начиная с 1983 г.; при введении же 2 поисковых терминов: “HPV negative” и “cervical cancer” – нашлось 729 статей, т.е. 1,46 % всех публикаций о РШМ в PubMed. Ориентируясь на показатели 3–8 % ВПЧ-отрицательных КШМ, сообщаемые разными авторами, J.-E. Lee и соавт. указали, что это менее 1/3 той доли, которую составляет ВПЧ-независимый РШМ среди всех случаев данного заболевания.

Рассмотрению известных на сегодня особенностей этой разновидности плоскоклеточного РШМ посвящен настоящий обзор. Одна из трудностей при решении поставленной задачи обусловлена редкостью данной формы КШМ, вследствие чего оригинальные работы здесь обычно представлены описанием единичных или немногих случаев.

## Частота ВПЧ-отрицательного рака шейки матки

В большинстве образцов РШМ исследователи обнаруживают ДНК ВПЧ, однако часть случаев, как правило, остается ВПЧ-отрицательной. Так, в многоцентровом исследовании, охватившем 22 страны и более 1000 случаев РШМ, с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), позволявшей обнаруживать генетический материал 25 типов ВПЧ, включая все канцерогенные типы, исследователи выявили ДНК ВПЧ в 93 % образцов РШМ; результаты, полученные на материалах из разных стран, по данному показателю существенно не различались [8]. Предположив, что 93 % ВПЧ-положительных случаев для РШМ – заниженный показатель вследствие недостаточного качества изученных образцов и/или отсутствия в некоторых из них фрагмента гена *L1* ВПЧ, утраченного при интеграции генома вируса в хромосомы человека (а именно данный ген являлся мишенью при амплификации в предыдущих тестах), исследователи повторно протестировали ВПЧ-отрицательные материалы. При этом был заново проведен гистологический анализ материалов, в ходе которого из изучаемой выборки исключено несколько образцов, дополнительно были использованы серологический тест, а также 3 варианта ПЦР к разным генам вируса. В итоге уточненный показатель ДНК ВПЧ-положительности составил 99,7 % [9].

О том, что многие так называемые ВПЧ-отрицательные случаи РШМ в действительности являются ложноотрицательными, свидетельствуют результаты исследований нескольких групп, осуществивших повторный анализ таких случаев [10–12]. Первоначально они были охарактеризованы как ВПЧ-отрицательные на основании популярного в клинике метода гибридного захвата – Hybrid Capture 2 (позволяет выявлять 20 типов ВПЧ, включая все канцерогенные). Повторное тестирование проводили в более чувствительном тесте – ПЦР, как правило, с несколькими видами праймеров к рамке *L1*; этому тестированию предшествовал повторный патоморфологический

анализ этих образцов, в ходе которого часть материалов были признаны неадекватными и исключены из исследований. При повторном тестировании многие случаи, первоначально охарактеризованные как вирус-отрицательные, оказывались содержащими ДНК ВПЧ. Было замечено, что в ряде случаев продукт амплификации обнаруживали только на поздних циклах реакции; иногда для этого требовалось перейти к амплификации продукта меньшего размера [12]. О постепенном уменьшении доли ложноотрицательных случаев РШМ по мере совершенствования методов детекции ВПЧ свидетельствуют результаты метаанализа, проведенного N. Li и соавт. [13]. Работа этих авторов, охватившая приблизительно 31 тыс. случаев РШМ (243 оригинальных исследования), позволила выявить постепенное снижение ВПЧ-отрицательных образцов с 14,1 % в 1990–1999 гг. до 7,1 % – в 2006–2010 гг. Это снижение N. Li и соавт. объясняют как увеличением чувствительности тестов, используемых для обнаружения вирусов папилломы, так и возрастанием точности диагностики нецервикального рака.

Точные цифры, отражающие частоту ВПЧ-отрицательного РШМ, до настоящего времени значительно варьируют в сообщениях разных авторов; одной из причин вариабельности, помимо уже упомянутых ранее, является то, что нередко приводится интегральный показатель для разных гистологических типов РШМ, тогда как установлено, что папиллома-вирусы достоверно чаще обнаруживаются в наиболее распространенном плоскоклеточном РШМ, чем в аденогенном. Например, в обзоре H. Yoshida и соавт. находим для плоскоклеточного РШМ значение ВПЧ-положительности в интервале 87–100 %, для эндоцервикальных аденокарцином обычного типа – 82–100 %, а для более редких аденокарцином (серозных, эндометриоидных, светлоклеточных, аденокарцином ШМ желудочного типа) – не более 30 % [14]. В исследовании ракового генома, проведенном с помощью полноэкзомного секвенирования в рамках проекта «Атлас» (The Cancer Genome Atlas, TCGA project), изучены геномы 178 образцов КШМ, в том числе 144 плоскоклеточных, 31 аденокарциномы и 3 аденоплоскоклеточных карцином. В 5 % случаев они оказались ВПЧ-отрицательными [15]. Очевидно, что в практической работе клинической лаборатории использованный в этом исследовании метод обнаружения генома ВПЧ недоступен. В условиях бюджетных ограничений может быть применена мультиплексная ПЦР, которая позволяет обнаруживать ДНК 20 типов ВПЧ, включая все канцерогенные [16].

### Случаи ВПЧ-независимого плоскоклеточного рака шейки матки

Одно из первых известных нам сообщений, авторы которого предприняли целенаправленный

поиск ВПЧ-независимого плоскоклеточного РШМ, принадлежит С. Morrison и соавт. [17]. Свое ретроспективное исследование они провели в крупной медицинской клинике, где среди сотен историй болезни пациенток с РШМ обнаружили 5 случаев, имевших диагноз, не связанный с РШМ, – «лейомиома матки» (1 случай), «влагалищный свищ» (2 случая), «выпадение матки» (2 случая); у этих больных непосредственно на операционном столе в ходе операции по удалению матки были выявлены очень крупные сильно ороговевшие, сохранившие некоторые черты дифференцировки плоского эпителия (обычно отсутствующие в ВПЧ-положительном РШМ) инвазивные КШМ. Возраст этих больных составлял от 47 до 78 лет, средний – 59 лет. Прилегающие к опухолям нормальные ткани этих женщин также были кератинизированы. Все 5 пациенток оказались неоперабельными из-за выраженной инвазии опухоли в окружающие органы, при этом С. Morrison и соавт. не выявили у них ни признаков прорастания опухоли в кровеносные и лимфатические сосуды, ни метастазов. Опухоли характеризовались минимальной атипией клеток. Такие черты биологии опухоли, как выраженная инвазия в соседние органы при отсутствии метастазирования, нетипичны для ВПЧ-положительного РШМ. У всех 5 больных в цервикальном эпителии отсутствовали диспластические изменения, обычно сопутствующие хронической ВПЧ-инфекции; 4 пациентки имели благоприятную предысторию цитологических обследований на РШМ (по тесту Папаниколау), у 1 больной в этом мазке были обнаружены клетки плоского эпителия с атипией неясного значения (atypical squamous cells of undetermined significance). Проведено комплексное молекулярно-биологическое исследование архивных образцов опухолей этих больных с использованием 3 методов: гибридизации *in situ* с зондами к 30 типам ВПЧ, включая все типы высокого канцерогенного риска, ПЦР *in situ* с консенсусными праймерами к рамке *L1* с последующей гибридизацией *in situ*, а также ПЦР с обратной транскрипцией *in situ*, в которой использовали праймеры к 6 канцерогенным типам ВПЧ. Результаты свидетельствовали об отсутствии генетического материала ВПЧ в этих образцах. Параллельно в тех же тестах проанализированы 72 образца умеренно- или низкодифференцированных КШМ; ВПЧ здесь был выявлен в 100 % случаев. В некоторых из этих образцов, послуживших положительным контролем, авторы наблюдали группы ороговевших опухолевых клеток, однако ни в одном случае здесь не имелось массивной кератинизации опухолевой ткани и ороговления смежных с опухолью нормальных тканей. Таким образом, С. Morrison и соавт. описали редкую и крайне трудно диагностируемую цитологически и патоморфологически разновидность плоскоклеточного РШМ.

### Источники ложноотрицательных результатов при детекции вирусов папилломы человека в карциномах шейки матки

Попытку систематизировать возможные причины ложноотрицательных результатов при детекции ВПЧ в РШМ предприняли Н. Yoshida и соавт. [14]. Исследователи называют следующие причины:

1. Утрату того фрагмента генома ВПЧ, амплификация которого осуществляется в ПЦР, в ходе интеграции этого генома в хозяйский геном. Случай, при которых произошла утрата части рамки *L1* в ходе интеграции, окажутся ложноотрицательными, если тесты охватывают только рамку *L1*. Предлагаемый авторами выход: использовать также стандартный метод, охватывающий область *E6/E7* генома вируса.
2. Очень низкую вирусную нагрузку при латентной ВПЧ-инфекции. Так, известно, что у менее чем 0,1 % ВПЧ-отрицательных случаев через 3–5 лет развивается тяжелая дисплазия или РШМ. Авторы рекомендуют использовать иммуногистохимический тест на p16<sup>INK4a</sup> (суррогатный маркер активности онкогена *E7* канцерогенных папилломавирусов) или гибридизацию *in situ* на ВПЧ.
3. Необнаружимый (undetectable) РШМ, вызванный ВПЧ, не относящимися, по современным представлениям, к типам высокого онкогенного риска. Примерно 1–2 % случаев РШМ ассоциированы с ВПЧ, не относящимися к типам высокого риска. Неонкогенные ВПЧ могут присутствовать в исследуемой ткани вследствие смешанной инфекции. Помочь, по мнению этих авторов, может использование комплекса методов при тестировании.
4. Неадекватный забор материала, различные нарушения, предшествующие постановке теста. Ложноотрицательные результаты тестирования нередко получают при плохом качестве изучаемого материала, недостаточном количестве опухолевых клеток, плохой фиксации материала. Выход: проводить тщательный контроль соответствующих этапов работы, не допускать деградации ДНК.

Помимо собственно ложноотрицательных результатов при попытках обнаружения ВПЧ в РШМ, данные могут быть отрицательными также вследствие ошибочной диагностики КШМ. Н. Yoshida и соавт. отмечают 2 такие возможности:

1. Карцинома эндометрия с плоскоклеточной дифференцировкой может быть ошибочно интерпретирована как РШМ. Выход: использовать панель антител в иммуногистохимическом тесте, включая p16<sup>INK4a</sup>, в сложных случаях – гибридизацию *in situ* на ВПЧ.
2. Метастазы в ШМ. Карцинома фаллопиевых труб, а также мелкоклеточный рак легкого и некото-

рые другие карциномы иногда метастазируют в ШМ. Метастазирование в ШМ – редкое явление. Немногие описанные в литературе случаи часто не содержат четких описаний, на основании которых можно однозначно заключить, что речь идет именно о метастазе, а не о непрерывном распространении на ШМ карциномы, поразившей один из соседних органов.

N.R. Lemoine и P.A. Hall провели в Лондонском госпитале повторный анализ гистологических материалов и документации по поводу вторичных опухолей в ШМ за 65 лет начиная с 1919 г. После исключения всех сомнительных и спорных случаев им удалось выявить 33 случая метастазирования в ШМ: 12 карцином яичников, 10 опухолей толстой кишки, 5 карцином желудка, 4 опухоли молочной железы, 1 почечно-клеточную карциному, 1 переходно-клеточную карциному почечной лоханки [18]. Во избежание таких диагностических ошибок Н. Yoshida и соавт. настаивают на необходимости внимательного анализа клинических и радиологических данных, результатов иммуногистохимического теста и/или гибридизации *in situ* на ВПЧ [14].

### Предраковые изменения эпителия, предшествующие или сопутствующие папилломавируснезависимому раку шейки матки

Признание ВОЗ ВПЧ-отрицательного плоскоклеточного РШМ как самостоятельной формы онкологического заболевания женщин, однако, не сопровождалось таковым сопутствующих этой карциноме ВПЧ-отрицательных предраковых нарушений, подобных дисплазиям, известным для ВПЧ-положительных карцином [6]. Отсутствие таких нарушений до недавнего времени считали отличительной особенностью ВПЧ-независимого РШМ, затрудняющей диагностику данной формы рака. Это мнение подвергли важному уточнению австрийские морфологи, описавшие ВПЧ-независимые предраковые неоплазии, предшествующие и/или сопутствующие ВПЧ-отрицательному плоскоклеточному РШМ [19, 20]. Соответствующие новообразования, всего 6 случаев, они обнаружили ретроспективно, после того, как был поставлен диагноз ВПЧ-независимого плоскоклеточного РШМ. Авторы убедительно продемонстрировали отсутствие генетического материала ВПЧ в раковых и диспластических клетках с помощью 3 методов:

- 1) ПЦР с использованием коммерческого набора, позволявшего обнаруживать ДНК папилломавирусов 32 типов, включая все канцерогенные;
- 2) детекции мРНК онкогенов *E6/E7* 14 типов ВПЧ, включая все канцерогенные, с помощью коммерческого набора;
- 3) полногеномного секвенирования.

Эти предраковые нарушения представляли собою обширные недифференцированные базалоидные или высокодифференцированные ороговевающие интраэпителиальные разрастания толщиной от 3 до 20 клеточных слоев. Авторы пришли к заключению о том, что предраковые нарушения при ВПЧ-независимом РШМ существуют, и предложили выделять среди них 2 разновидности:

- 1) ВПЧ-отрицательные мутантные по *TP53* высокодифференцированные нарушения (для них ими было предложено обозначение d-CIN);
- 2) ВПЧ-отрицательные содержащие p53 дикого типа верруциформные (бородавчатые) нарушения.

### Патоморфологические и клинические особенности папилломавируснезависимого плоскоклеточного рака шейки матки

ВПЧ-независимый плоскоклеточный РШМ определен в классификации ВОЗ от 2020 г. как ВПЧ-независимая плоскоклеточная опухоль со стромальной и/или экзофитной инвазией [6]. Несмотря на то что эта форма рака встречается значительно реже, чем ВПЧ-положительный РШМ, внимание к ней со стороны врачей обусловлено более тяжелым клиническим течением данного заболевания по сравнению со случаями ВПЧ-положительной карциномы [21–24]. В подтверждение этого тезиса в табл. 1 приводим данные, полученные I. Nicolas и соавт. [23].

Эта работа была выполнена на обработанных формалином и парафином опухолевых тканях, которые получали при биопсии или хирургической операции. ВПЧ-статус образцов проверяли в ПЦР с праймерами SPF10 к рамке *L1* с помощью коммерческого набора, позволявшего обнаруживать ВПЧ 32 типов, включая все канцерогенные; некоторые материалы, оказавшиеся ВПЧ-отрицательными в 1-м тесте, проверили также в мультиплексной ПЦР с праймерами к онкогенам *E6/E7* ВПЧ 14 типов, в том числе всех канцерогенных. Итоговая выборка оказалась состоящей из 156 ВПЧ-положительных и 12 ВПЧ-отрицательных плоскоклеточных КШМ. Все ВПЧ-отрицательные опухоли обнаружены у пациенток на основании клинических симптомов (кровотечения, боль в животе), при этом аномалий в цитологическом исследовании (мазке по Папаниколау) ни в одном из этих случаев не было зафиксировано. На момент обнаружения ВПЧ-отрицательные опухоли имели достоверно большие размеры, чем ВПЧ-положительные; они, как правило, соответствовали более поздним стадиям по FIGO ( $p = 0,04$ ), и достоверно реже давали положительный результат в иммуногистохимическом тесте на p16<sup>INK4a</sup>. Безрецидивная выживаемость больных с ВПЧ-отрицатель-

ными плоскоклеточными КШМ была достоверно ниже аналогичного показателя для пациенток с ВПЧ-положительными опухолями: в среднем 47,6 мес по сравнению с 130,7 мес ( $p < 0,01$ ). Общая выживаемость также была значимо ниже у больных из 1-й группы: 70,0 мес по сравнению с 150,0 мес у пациентов 2-й группы ( $p = 0,04$ ). При многомерном анализе с худшим прогнозом оказались достоверно связаны поздняя стадия по FIGO и метастазы в лимфатические узлы.

### Особенности молекулярного профиля папилломавируснезависимого рака шейки матки

До настоящего времени химиотерапевтическое лечение назначается больным РШМ независимо от ВПЧ-статуса опухоли. Результаты нескольких работ, преследовавших цель установить молекулярно-генетические особенности ВПЧ-независимого РШМ, открывают перспективу для перехода к таргетному лечению КШМ [15, 24]. Так, анализ геномных и транскриптомных профилей РШМ, проведенный F. Ruiz и соавт., показал, что в ВПЧ-отрицательном РШМ, в отличие от ВПЧ-положительного, значимые мутации (significantly mutated genes) обнаруживаются в генах *TP53*, *ARID1A*, *PTEN*, *ARID5B*, *CTNNB1*, *CTCF* и *CCND1* [24]. Выборка образцов РШМ, на которой были получены эти результаты, на 80 % состояла из плоскоклеточных карцином. Все перечисленные гены ответственны за контроль продвижения клетки из одной стадии клеточного цикла в другую. В опытах *in vitro* эти авторы показали, что палбоциклиб, препарат из группы ингибиторов протеинкиназ, может явиться перспективным средством для лечения ВПЧ-независимого РШМ.

### Заключение

Существование ВПЧ-независимого плоскоклеточного РШМ – факт, признанный ВОЗ. Несмотря на редкость встречаемости данной формы РШМ, внимание медицинского сообщества к ней необходимо. ВПЧ-отрицательный плоскоклеточный РШМ диагностируется, как правило, значительно труднее, чем ВПЧ-положительный; больные нередко оказываются неоперабельными. Они характеризуются меньшей, чем при ВПЧ-положительном плоскоклеточном РШМ, безрецидивной и общей выживаемостью. Имеются ограниченные данные о том, что для ВПЧ-независимого плоскоклеточного РШМ характерны предраковые дисплазии. Появляются сообщения об особенностях молекулярного профиля ВПЧ-отрицательного плоскоклеточного РШМ, что открывает перспективу для его таргетного лечения.

**Таблица 1.** Клинические и гистологические характеристики больных плоскоклеточным раком шейки матки в зависимости от ВПЧ-статуса опухоли [23]

**Table 1.** Clinical and histological characteristics of the patients with squamous cell cervical cancer in relation to the HPV-status of the tumor [23]

Параметр* Parameter*	Пациенты Patients		p				
	ВПЧ-отрицательные (n = 12) HPV-negative (n = 12)	ВПЧ-положительные (n = 156) HPV-positive (n = 156)					
Возраст, лет Age, years	61 (15)	52 (15)	0,65				
Клиническое проявление Clinical presentation			<0,01				
				клинические симптомы clinical symptoms	12 (100,0)	98 (63,0)	–
				аномальный мазок по Папаниколау abnormal Papanicolaou test	0 (0,0)	58 (37,0)	–
Иммуногистохимия p16 <sup>INK4a</sup> Immunohistochemistry of p16 <sup>INK4a</sup>			<0,01				
				положительные positive	7 (58,0)	151 (97,0)	–
				отрицательные negative	5 (42,0)	5 (3,0)	–
Размер опухоли, мм Tumor size, mm	54,8 (25,3)	38,2 (21,1)	0,01				
Стадия FIGO FIGO stage			0,04				
				ранняя (IA–IB1) early (IA–IB1)	1 (8,0)	59 (38,0)	–
				поздняя (IB2–IV) advanced (IB2–IV)	11 (92,0)	97 (62,0)	–
Рецидив Relapse	5 (42,0)	32 (21,0)	0,08				
Метастазы в лимфатические узлы Lymph node metastases	8 (67,0)	62 (40,0)	0,06				

\*Показатели представлены в абсолютных значениях и процентах (в скобках), для возраста и размера опухоли – в средних арифметических величинах и их стандартном отклонении (в скобках).

**Примечание.** FIGO (International Federation of Gynecologists and Obstetricians) – Международная федерация гинекологов и акушеров.

\*Indicators are presented in absolute values and percentages (in parentheses), for age and tumor size in arithmetic mean values and standard deviation (in parentheses).

Note. FIGO – International Federation of Gynecologists and Obstetricians.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71(3):209–49. DOI: 10.3322/caac.21660
- Durst M., Gissmann L., Ikenberg H., zur Hausen H. A papillomavirus DNA from a cervical carcinoma and its prevalence in cancer biopsy samples from different geographic regions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983;80(12):3812–5. DOI: 10.1073/pnas.80.12.3812
- Zur Hausen H. Papillomaviruses – to vaccination and beyond. *Biochemistry (Mosc)* 2008;73(5):498–503. DOI: 10.1134/s0006297908050027
- IARC (International Agency for Research on Cancer, World Health Organization) Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 90. Human Papillomaviruses. Lyon, 2007; 672 p.
- Small W. Jr, Bacon M.A., Bajaj A. et al. Cervical cancer: A global health crisis. *Cancer* 2017;123(13):2404–12. DOI: 10.1002/cncr.30667

6. WHO classification of tumours. Female genitalial tumours. Vol. 4. WHO classification of tumours. 5<sup>th</sup> ed. Geneva: International Agency for Research on Cancer, 2020; 632 p.
7. Lee J.-E., Chung Y., Rhee S., Kim T.-H. Untold story of human cervical cancers: HPV-negative cervical cancer. *BMB Rep* 2022;55(9):429–38. DOI: 10.5483/BMBRep.2022.55.9.042
8. Bosch F.X., Manos M.M., Munoz N. et al. Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International biological study on cervical cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995;87(11):796–802. DOI: 10.1093/jnci/87.11.796
9. Walboomers J.M., Jacobs M.V., Manos M.M. et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999;189(1):12–9. DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(199909)189:1<12::AID-PATH431>3.0.CO;2-F
10. Petry K.U., Liebrich C., Luyten A. et al. Surgical staging identified false HPV-negative cases in a large series of invasive cervical cancers. *Papillomavirus Res* 2017;4:85–9. DOI: 10.1016/j.pvr.2017.10.003
11. Tao X., Zheng B., Yin F. et al. Polymerase chain reaction human papillomavirus (HPV) detection and HPV genotyping in invasive cervical cancers with prior negative HC2 test results. *Am J Clin Pathol* 2017;147(5):477–83. DOI: 10.1093/ajcp/aqx027
12. Kaliff M., Karlsson M.G., Sorbe B. et al. HPV-negative tumors in a Swedish cohort of cervical cancer. *Int J Gynecol Pathol* 2020;39(3):279–88. DOI: 10.1097/PGP.0000000000000612
13. Li N., Franceschi S., Howell-Jones R. et al. Human papillomavirus type distribution in 30,848 invasive cervical cancers worldwide: variation by geographical region, histological type and year of publication. *Int J Cancer* 2011;128(4):927–35. DOI: 10.1002/ijc.25396
14. Yoshida H., Shiraishi K., Kato T. Molecular pathology of human papilloma virus-negative cervical cancers. *Cancers (Basel)* 2021;13(24):6351. DOI: 10.3390/cancers13246351
15. Cancer Genome Atlas Research Network, Albert Einstein College of Medicine, Analytical Biological Services, et al. Integrated genomic and molecular characterization of cervical cancer. *Nature* 2017;543(7645):378–84. DOI: 10.1038/nature21386
16. Romero-Pastrana F. Detection and typing of human papilloma virus by multiplex PCR with type-specific primers. *ISRN Microbiol* 2012;2012:186915. DOI: 10.5402/2012/186915
17. Morrison C., Catania F., Wakely P. Jr, Nuovo G.J. Highly differentiated keratinizing squamous cell cancer of the cervix. A rare, locally aggressive tumor not associated with human papillomavirus or squamous intraepithelial lesions. *Am J Surg Pathol* 2001;25(10):1310–5. DOI: 10.1097/00000478-200110000-00013
18. Lemoine N.R., Hall P.A. Epithelial tumors metastatic to the uterine cervix. A study of 33 cases and review of the literature. *Cancer* 1986;57(10):2002–5. DOI: 10.1002/1097-0142(19860515)57:10<2002::aid-cncr2820571021>3.0.co;2-l
19. Regauer S., Reich O., Kashofer K. HPV-negative squamous cell carcinomas of the cervix with special focus on intraepithelial precursor lesions. *Am J Surg Path* 2022;46(2):147–58. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001778
20. Regauer S., Reich O. The histologic and molecular spectrum of highly differentiated HPV-independent cervical intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Path* 2023;47(8):942–9. DOI: 10.1097/PAS.0000000000002067
21. Rodriguez-Carunchio L., Soveral I., Steenbergen R.D.M. et al. HPV-negative carcinoma of the uterine cervix: a distinct type of cervical cancer with poor prognosis. *BJOG* 2015;122(1):119–27. DOI: 10.1111/1471-0528.13071
22. Li P., Tan Y., Zhu L.X. et al. Prognostic value of HPV DNA status in cervical cancer before treatment: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2017;8(38):66352–9. DOI: 10.18632/oncotarget.18558
23. Nicolas I., Marimon L., Barnadas E. et al. HPV-negative tumors of the uterine cervix. *Mod Pathol* 2019;32(8):1189–96. DOI: 10.1038/s41379-019-0249-1
24. Ruiz F.J., Sundaresan A., Zhang J. et al. Genomic characterization and therapeutic targeting of HPV undetected cervical carcinomas. *Cancers (Basel)* 2021;13(18):4551. DOI: 10.3390/cancers13184551

**ORCID автора / ORCID of the author**

Г.М. Волгарева / G.M. Volgareva: <https://orcid.org/0000-0002-6817-2103>

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.  
**Conflict of interest.** The author declares no conflict of interest.

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

Статья поступила: 13.01.2025. Принята в печать: 05.02.2025. Опубликовано онлайн: \*\*.\*\*.2025.  
Article received: 13.01.2025. Accepted for publication: 05.02.2025. Published online: \*\*.\*\*.2025.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-34-45>

# Анализ электронных медицинских записей при помощи технологий искусственного интеллекта для определения групп скрининга рака легкого: систематический обзор клинических исследований

И.В. Самойленко<sup>1</sup>, В.В. Назарова<sup>1</sup>, З.Р. Магомедова<sup>1</sup>, П.В. Кононец<sup>1,2</sup>, И.М. Боровков<sup>1</sup>, Т.Г. Геворкян<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России; Россия, 127006 Москва, ул. Долгоруковская, 4

**Контакты:** Игорь Вячеславович Самойленко [i.samoylenko@ronc.ru](mailto:i.samoylenko@ronc.ru)

**Введение.** Рак легкого (РЛ) занимает 1-е место в структуре онкологической заболеваемости и смертности в мире, а доля впервые выявленных локализованных стадий не превышает 20 % общего числа заболевших. Ранняя диагностика и скрининг могут значительно улучшить результаты лечения, однако современные подходы требуют новых решений для более эффективного отбора пациентов.

**Цель.** Провести систематический обзор исследований по применению искусственного интеллекта (ИИ) для анализа социально-демографических данных и рутинных лабораторных тестов для отбора пациентов на скрининг.

**Материалы и методы.** Проведен поиск публикаций (2014–2024 гг.) в базах PubMed, ResearchGate, Scopus и др. Включены исследования, анализирующие использование ИИ для прогнозирования риска РЛ на основе социально-демографических данных и медицинских записей.

**Результаты.** Анализ позволил идентифицировать 5 исследований моделей на основе ИИ, которые были применены для отбора кандидатов на скрининг РЛ. Наиболее часто используемыми факторами в моделях ИИ являлись возраст, стаж курения, хронические заболевания легких и индекс массы тела, а сами модели демонстрировали высокую чувствительность (до 92,7 %) и площадь под кривой рабочей характеристики приемника (до 0,9).

**Заключение.** Применение ИИ может улучшить точность отбора пациентов для скрининга по сравнению с традиционными методами. Использование ИИ для прогнозирования риска развития РЛ имеет значительный потенциал, дополнительно раскрывающийся при сочетании анализа социально-демографических данных и медицинских записей. Необходимы дальнейшие исследования для улучшения моделей и оценки их влияния на клиническую практику.

**Ключевые слова:** рак легкого, искусственный интеллект, ранняя диагностика, скрининг, медицинская запись

**Для цитирования:** Самойленко И.В., Назарова В.В., Магомедова З.Р. и др. Анализ электронных медицинских записей при помощи технологий искусственного интеллекта для определения групп скрининга рака легкого: систематический обзор клинических исследований. Российский биотерапевтический журнал 2025;24(1):34–45. DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-34-45>

## Analysis of electronic medical records using artificial intelligence technologies for lung cancer screening group identification: a systematic review of clinical studies

Igor V. Samoylenko<sup>1</sup>, Valeria V. Nazarova<sup>1</sup>, Zakhra R. Magomedova<sup>1</sup>, Pavel V. Kononets<sup>1,2</sup>, Ivan M. Borovkov<sup>1</sup>, Tigran G. Gevorkyan<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Russian University of Medicine, Ministry of Health of Russia; 4 Dolgorukovskaya St., Moscow 127006, Russia

**Contacts:** Igor Vyacheslavovich Samoylenko *i.samoylenko@ronc.ru*

**Background.** Lung cancer remains one of the leading causes of mortality, with early detection significantly improving prognosis. Modern approaches require new solutions for more effective screening patient selection.

**Aim.** To conduct a systematic review of studies applying artificial intelligence (AI) for analyzing socio-demographic data and routine laboratory tests to optimize patient selection for screening and pathology classification.

**Materials and methods.** A literature search (2014–2024) was conducted in databases including PubMed, ResearchGate, and Scopus. Included studies analyzed the use of AI for lung cancer risk prediction based on socio-demographic data and medical records.

**Results.** The analysis identified 5 studies of AI-based models that were applied to select candidates for lung cancer screening. Age, smoking, chronic lung disease, and BMI were the most frequently used factors in the AI models. The models demonstrated high sensitivity (up to 92.7 %) and area under the receiver operating characteristic (up to 0.90). The results confirmed that AI can improve the accuracy of patient selection for screening compared to traditional methods.

**Conclusion.** AI application for lung cancer risk prediction shows substantial potential, especially with combined use of socio-demographic and medical record data. Further studies are needed to improve models and evaluate their clinical impact.

**Keywords:** lung cancer, artificial intelligence, early diagnosis, screening, medical records

**For citation:** Samoylenko I.V., Nazarova V.V., Magomedova Z.R. et al. Analysis of electronic medical records using artificial intelligence technologies for lung cancer screening group identification: a systematic review of clinical studies. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2025;24(1):34–45. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-34-45>

## Введение

Рак легкого (РЛ) остается одной из ведущих причин смерти от злокачественных новообразований (ЗНО) в Российской Федерации, США, Европе и Азии [1]. Несмотря на активную разработку методов профилактики, ранней диагностики и лечения РЛ, прогноз заболевания по-прежнему остается неудовлетворительным, а доля пациентов с I–II стадией заболевания не превышает 20 % [2, 3]. Ранняя диагностика РЛ может стать ключом к успешному лечению, так как повышает шансы на увеличение безрецидивной и общей выживаемости.

Попытки структуризации факторов риска и разработки новых методов первичной профилактики и скрининга РЛ активно предпринимались на протяжении второй половины XX в. При этом в большинстве стран данные подходы основаны преимущественно на проведении компьютерной томографии (КТ) или рентгенографии органов грудной клетки [4]. Организация массового и регулярного скрининга связана с рядом неизбежных сложностей, вынуждающих медицинское сообщество искать новые пути оптимизации диагностического процесса и сужать группы риска путем включения в прогностические модели большего числа легкодоступных параметров из рутинных медицинских записей или анализов. Вместе с тем, несмотря на указанные сложности, революционные достижения в области технологий искусственного интеллекта (ИИ) и появление новых способов обработки большого количества мультимодальных данных сделали подобную работу решаемой задачей [5].

Применение ИИ в медицине показывает в последние годы значительный потенциал по улучшению диагностических и прогностических алгоритмов. Однако его интеграция для раннего выявления рака требует учета социально-демографических и медицинских данных, что является сложной и недостаточно изученной задачей. Многочисленные исследования подтверждают, что применение ИИ и анализ больших данных могут выявлять скрытые закономерности и делать точные прогнозы, недоступные при традиционных методах исследования. В контексте онкологии, где время – критический фактор, ИИ может стать важным инструментом раннего выявления рисков и предотвращения прогрессирования заболевания. Программное обеспечение, созданное на базе ИИ, может стать ключевым инструментом в прогнозировании рисков и ранней диагностике, как уже демонстрируют примеры “IBM Watson for Oncology”, “Google DeepMind” и “PathAI”. Эти технологии показывают, что ИИ способен повысить точность диагностики, оптимизировать медицинские процессы и улучшить результаты лечения. Ожидается, что персонализированные планы скрининга, учитывающие индивидуальные факторы риска (возраст, пол, генетику, образ жизни и т.д.), помогут улучшить скрининг за счет оптимизации ресурсов для пациентов с высоким риском, сокращения ненужных процедур и затрат, повышения точности диагностики путем автоматизированного анализа данных, поддержки принятия решений врачами, улучшения доступности скрининговых программ и других параметров, что способствует раннему выявлению заболеваний,

снижению смертности и более рациональному использованию ресурсов [5].

Сегодня обширный пласт работ направлен на решение проблемы анализа изображений при помощи технологий ИИ (так называемых систем автоматизированного проектирования – computer-aided design), позволяющих значительно упростить дифференциацию рентгенологических изменений на высоко- и низкорисковые в отношении раннего РЛ [6–8]. В то же время настоящее исследование акцентирует внимание в большей мере на работах, изучающих несколько другой процесс: формирование групп риска развития РЛ. Действительно ли технологии ИИ помогут уточнить имеющиеся предиктивные модели?

В рамках данного обзора проведено детальное изучение работ, посвященных анализу социально-демографических данных и рутинных лабораторных тестов. Анализ таких исследований необходим для создания современных моделей, способных эффективно идентифицировать пациентов с высоким онкологическим риском и своевременно направлять их на скрининг. Подобное сочетание подходов помогает оптимизировать процессы диагностики, минимизировать ненужные обследования и увеличить эффективность раннего выявления РЛ.

**Цель исследования** – провести систематический обзор актуальных исследований, посвященных применению моделей ИИ, использующих социально-демографические данные, структурированные электронные медицинские записи и результаты рутинных лабораторных тестов, для улучшения ранней диагностики и скрининга РЛ.

## Материалы и методы

### Критерии включения/невключения исследований в анализ

В настоящий обзор включены исследования, посвященные использованию моделей ИИ для анализа медицинских изображений (таких как компьютерные томограммы и рентгенограммы) различной патологии легких. Будут также рассмотрены работы, применяющие ИИ для анализа социально-демографических данных и записей медицинских карт, включая сведения о ранее установленных диагнозах, симптомах и описаниях врачебных осмотров. Включению подлежат исследования, использующие данные о потенциальных факторах риска, таких как результаты анкетирования о стаже курения, а также рутинные лабораторные тесты для отбора пациентов на скрининг РЛ. Особое внимание будет уделено работам, которые объединяют анализ изображений или их описание и классификацию человеком, например, по системе LUNG-RADS, с социально-демографическими и медицинскими данными, а также сведениями о потенциальных факторах риска.

В обзор включены исследования, опубликованные в период с 2014 по 2024 г., представленные на любом языке и доступные в полном тексте.

### Стратегия поиска литературы

С 01.05.2024 по 01.09.2024 проведен комплексный поиск публикаций в нескольких электронных базах данных, включая PubMed, ResearchGate, Scopus, Web of Science и IEEE Xplore. Целью поиска было выявление исследований, посвященных применению ИИ для ранней диагностики и скрининга РЛ. Поиск запросы содержали следующие ключевые слова: “application of artificial intelligence for lung cancer screening based on database information”, “artificial intelligence and medical records data and lung cancer and screening”, “artificial intelligence-based lung cancer risk prediction using electronic health records”, “selection criteria for lung cancer screening” (“big data” or “machine learning” or “deep learning” or “artificial intelligence” or “AI” or “radiomics”) and (“cancer screening” or “tumor screening” or “neoplasm screening” or “oncology screening” or “early diagnosis”) and (“risk stratification” or “population stratification” or “targeted screening”), “AI-based early detection of lung cancer”, “machine learning in lung cancer screening”, “predictive analytics for lung cancer”.

Производили также фильтрацию по годам (с 2014 по 2024 г.) и типу публикаций (только рецензируемые статьи). Первичный отбор проводили по заголовкам и аннотациям, после чего выполняли более детальный анализ полнотекстовых статей. Для повышения полноты обзора вручную просмотрены списки литературы в релевантных исследованиях, рекомендациях и обзорах. Этот этап проводили систематически для выявления дополнительных источников. Кроме того, включали публикации, в которых обсуждалось прогнозирование риска развития РЛ на основе данных электронных медицинских карт, социально-демографических и рутинных лабораторных данных и использование методов ИИ для их обработки. Работы, которые включали только анализ изображений (компьютерных томограмм, рентгенограмм) и классификацию изменений в легких, не включали в анализ. На этапе предварительного анализа все найденные публикации проверены на дублирование и оценены по установленным критериям качества (Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses – «Предпочтительные элементы отчетности для систематических обзоров и метаанализов»). Оценку качества включаемых публикаций и соответствие критериям проводили два независимых исследователя (ВВН и ЗРМ). Дублирующиеся публикации исключали из дальнейшего анализа.

### Извлечение данных

Разработана стандартная форма для извлечения данных из публикаций для оценки эффективности

технологий ИИ в ранней диагностике или оптимизации скрининга РЛ:

- Автор/год: краткая библиографическая ссылка.
- Анализируемые данные: описание данных, которые используются в исследовании (например, КТ-сканы, медицинские записи, социально-демографические данные).
- Потенциальная доступность данных в российских когортах пациентов: оценка возможности использования аналогичных данных в исследуемых когортах в Российской Федерации.
- Тип ИИ: категория ИИ, использованного в исследовании (например, машинное обучение, глубокое обучение).
- Название ИИ-алгоритма: конкретное наименование алгоритма ИИ (например, CNN, Random Forest).
- Дизайн: дизайн исследования (например, ретроспективное, проспективное, рандомизированное, нерандомизированное).
- Особенности популяции: краткое описание характеристик исследуемой группы (например, возраст, пол, факторы риска).
- Число ЗНО в исследуемой группе: число случаев ЗНО в выборке.
- Число обследованных в группе: общее число участников исследования.
- Чувствительность: показатель чувствительности изучаемого алгоритма (в сравнении с показателем для «золотого стандарта», если таковой приводится).
- Специфичность: показатель специфичности изучаемого алгоритма (в сравнении с показателем для «золотого стандарта», если таковой приводится).
- AUC: площадь под кривой рабочей характеристики приемника «чувствительность—специфичность» для изучаемого алгоритма (в сравнении с показателем для «золотого стандарта», если таковой приводится).
- NPV (negative predictive value): отрицательная прогностическая ценность изучаемого алгоритма (в сравнении с показателем для «золотого стандарта», если таковой приводится).
- PPV (positive predictive value): положительная прогностическая ценность изучаемого алгоритма (в сравнении с показателем для «золотого стандарта», если таковой приводится).
- Комментарий: дополнительные примечания, важные для понимания результатов исследования. Вывод авторов о вкладе технологии ИИ по сравнению с группой контроля.
- Веб-ссылка: ссылка на исследование для быстрой проверки данных.
- Страна: страна, в которой было проведено исследование.

### Анализ данных

Качественный анализ использовали для описательного анализа извлеченных данных. Он включает сравнение различных подходов и методов применения ИИ в анализе изображений (например, КТ-сканов и рентгенограмм) и данных, таких как социально-демографическая информация и результаты рутинных лабораторных тестов. Качественный анализ позволит выявить основные тенденции, сильные и слабые стороны каждого подхода, а также определить факторы, влияющие на успешность применения ИИ в скрининге и диагностике РЛ. Для структурирования данных будет использована тематическая классификация, позволяющая группировать подходы по общим признакам:

#### 1. Тип данных для анализа:

- социально-демографические данные: исследования, использующие данные о возрасте, поле, семейной истории заболеваний, образе жизни и других социальных факторах для прогнозирования риска;
- лабораторные тесты: исследования, анализирующие результаты рутинных лабораторных тестов (например, биохимические показатели крови, маркеры воспаления) для предсказания риска;
- комбинированные данные: исследования, использующие сочетание визуальных данных и социально-демографических или лабораторных показателей для повышения точности прогнозирования.

#### 2. Метод ИИ:

- машинное обучение: использование традиционных методов машинного обучения, таких как Random Forest, SVM (support vector machines);
- глубокое обучение: применение нейронных сетей, таких как CNN (convolutional neural networks), RNN (recurrent neural networks);
- гибридные подходы: сочетание методов машинного и глубокого обучения для достижения более точных результатов.

#### 3. Цель исследования:

- прогнозирование риска и отбор пациентов для проведения скрининга: исследования, направленные на определение вероятности развития РЛ у пациентов;
- классификация патологий легкого: исследования, занимающиеся различением доброкачественных образований и ЗНО.

#### 4. Дизайн исследования:

- ретроспективные: анализ данных, собранных в прошлом;
- проспективные: исследования, в которых данные собираются в процессе исследования;
- рандомизированные и нерандомизированные: с учетом особенностей отбора участников.

## Результаты

### Поиск литературы

При использовании ключевых слов были получены следующие результаты:

- “application of artificial intelligence for lung cancer screening based on database information” – найдено 14 публикаций;
- “artificial intelligence and medical records data and lung cancer and screening” – 9 публикаций;
- “artificial intelligence-based lung cancer risk prediction using electronic health records” – 7 публикаций;
- “selection criteria for lung cancer screening” – 6 публикаций;
- (“‘big data’ or ‘machine learning’ or ‘deep learning’ or ‘artificial intelligence’ or ‘AI’ or ‘radiomics’) and (‘cancer screening’ or ‘tumor screening’ or ‘neoplasm screening’ or ‘oncology screening’ or ‘early diagnosis’) and (‘risk stratification’ or ‘population stratification’ or ‘targeted screening’)” – 4 публикации.

По результатам поиска, идентификации и отбора исследований для обзора найдено 40 записей. Из них 5 записей удалены как дубликаты на этапе предварительного просмотра, после чего 35 записей прошли проверку. Из проверенных записей 18 были исключены на стадии скрининга. В результате для извлечения данных осталось 17 отчетов. Последние оценены на предмет приемлемости, и 12 из них были исключены по различным причинам – 5 систематических обзоров, не оценивающих точность диагностики, 4 отчета низкого методологического качества, 3 отчета с описанием моделей, не включавших технологию ИИ, и 3 дубликата. В итоге в систематический обзор включено 5 исследований (рис. 1). Следует отметить, что поиск в дополнительных к PubMed базах данных литературных источников не добавил новых публикаций к уже выявленным, потому результаты поисков по остальным базам данных не приводятся.

Включенные в обзор исследования были проведены в США, Норвегии, Тайване и Израиле, и их

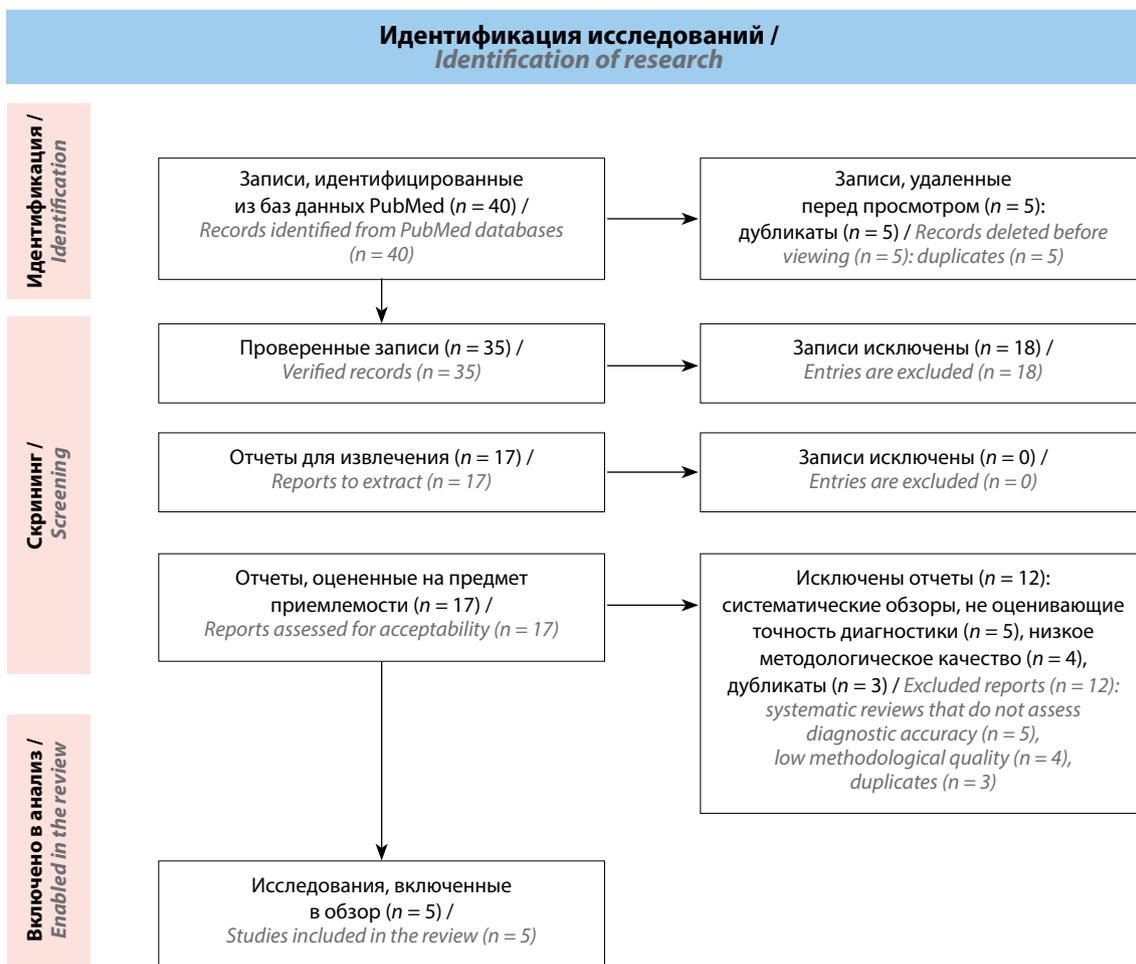


Рис. 1. Методология поиска научных публикаций

Fig. 1. Scientific publications survey methodology

результаты опубликованы на английском языке. Оценку точности применения ИИ для скрининга проводили по следующим показателям: чувствительность, специфичность, PPV, NPV и AUC. Показатель NPV отсутствовал во всех клинических исследованиях, поэтому его не включили в дальнейшее рассмотрение.

#### Математические модели расчета индивидуального риска развития рака легкого, доступные онлайн для самостоятельной оценки риска

В настоящее время по данным хорошо спланированных когортных исследований разработано достаточное количество калькуляторов риска, валидированных на большой популяции пациентов (табл. 1) [9–14]. Такие калькуляторы доступны для самостоятельного заполнения любым пользователям (в том числе без медицинского образования) и активно используются как для демонстрации расчетной вероятности развития РЛ, так и для разработки потенциальных мер по модификации подобного риска. В большинстве уже разработанных моделей на основе многофакторного анализа принимаются во внимание очень похожие ключевые факторы риска, которые также включаются и в модели с ИИ.

В исследовании P.V. Bach и соавт. использована многофакторная модель оценки риска, основанная на данных из исследования CARET [9]. Были включены 18 172 участника, преимущественно курильщики с разным уровнем риска в зависимости от стажа курения, возраста и воздействия асбеста. Исследова-

ние носило ретроспективный характер с внутренней валидацией, сравнивающей прогнозируемые и фактические случаи РЛ. Модель показала хорошую калибровку, а риск развития РЛ в популяции «тяжелых» и «бывших легких» курильщиков составил 15 и 0,8 % соответственно в течение 10 лет наблюдений [9].

В исследовании M.C. Tammemägi и соавт. [10] в 2013 г. модифицированная модель PLCO [15] для оценки риска развития РЛ адаптирована для данных исследования National Lung Screening Trial (NLST) [16] с участием 80 375 человек, куривших когда-либо. Проспективное исследование сравнивало модель PLCO(M2012) с критериями NLST, достигая AUC 0,803 в обучающей выборке и 0,797 – при валидации. Чувствительность составила 83 %, а положительная прогностическая ценность – 4 %, что на 41,3 % снизило число пропущенных случаев РЛ по сравнению с критериями NLST, демонстрируя преимущества модели PLCO(M2012) [10]. Указанная исследовательская группа позднее провела проспективное исследование в Канаде с участием 2537 курильщиков в возрасте 50–75 лет без предшествующего РЛ. Участники были отобраны на основе модели PanCan с 2 % риска развития рака за 6 лет. Хотя показатель AUC и не был детализирован, но доля раннего выявления была значительной (77 % на стадиях I–II). Частота выявленных случаев была выше, чем в NLST, что подчеркивает эффективность применяемой модели [17].

В 2016 г. H.A. Katki и соавт. провели собственную работу с использованием риск-адаптированных моделей на данных PLCO и NHIS [18] с участием активных

**Таблица 1.** Математические модели расчета индивидуального риска развития рака легкого, доступные онлайн для самостоятельной оценки риска

Table 1. Mathematical models for calculating individual risk of developing lung cancer, available online for self-assessment

Библиографическая ссылка Reference bibliographic	Веб-ссылка на онлайн калькулятор Web link to online calculator
P.V. Bach et al. (2003) [9]	<a href="https://www.evidencio.com/models/show/990">https://www.evidencio.com/models/show/990</a>
M.C. Tammemägi et al. (2013) [10]	<a href="https://shouldiscreen.com/English/lung-cancer-risk-calculator">https://shouldiscreen.com/English/lung-cancer-risk-calculator</a> <a href="https://www.msmanuals.com/professional/multimedia/clinical-calculator/lung-cancer-risk-estimation-in-current-and-past-smokers-6-year">https://www.msmanuals.com/professional/multimedia/clinical-calculator/lung-cancer-risk-estimation-in-current-and-past-smokers-6-year</a>
H.A. Katki et al. (2016) [11], L.C. Cheung et al. (2019) [12]	<a href="https://screenlc.com/dpp-vue/index.html">https://screenlc.com/dpp-vue/index.html</a>
M. Markaki et al. (2018) [13]	<a href="https://www.omnicalculator.com/health/lung-cancer-risk-calculator-for-smokers">https://www.omnicalculator.com/health/lung-cancer-risk-calculator-for-smokers</a>
J.K. Field et al. (2021) [14]	<a href="https://liverpoollungproject.org.uk/MLRV3/MLRCalculation.html">https://liverpoollungproject.org.uk/MLRV3/MLRCalculation.html</a>
Не приводится Not cited	<a href="https://www.mycanceriq.ca/Assessment/LUN#section3">https://www.mycanceriq.ca/Assessment/LUN#section3</a>

курильщиков 50–80 лет [11]. Исследование было ретроспективным с внешней валидацией на данных NHIS. AUC для модели оценки риска смерти составил 0,78. Риск-адаптированный подход снизил число пациентов, которых нужно было просканировать для предотвращения одной смерти, на 17 % по сравнению с рекомендациями USPSTF [19], поддерживая целесообразность целевого скрининга КТ [11].

В 2019 г. L.C. Cheung и соавт. исследовали когорту с участием 130 964 человек из NHIS, который включает данные 60 млн курильщиков в США. Используя калиброванную и валидированную модели смертности среди постоянно курящих людей в США в возрасте от 40 до 84 лет и выбрав 8,3 млн постоянно курящих людей, чтобы соответствовать числу, выбранному по критериям USPSTF в 2013–2015 гг., авторам удалось показать, что отбор пациентов на скрининг на основе представлений о приобретенных годах жизни увеличит общую ожидаемую продолжительность жизни при выполнении КТ (633 400 против 607 800 лет), но предотвратит меньше смертей от РЛ (52 600 против 55 000) по сравнению с отбором на основе риска смерти. Таким образом, отбор пациентов для прохождения скрининга на основе модели о приобретенных годах жизни может максимизировать преимущества скрининга РЛ среди населения США за счет включения постоянно курящих людей, которые имеют как высокий риск РЛ, так и большую ожидаемую продолжительность жизни [12].

М. Markaki и соавт. в 2018 г. выполнили проспективное исследование в Норвегии с участием 65 237 человек старше 20 лет, со средним периодом наблюдения 15,2 года. Модель была протестирована на внешней выборке из 45 341 человека и показала AUC 0,87. Было выявлено, что 81,85 % случаев РЛ можно обнаружить, скринируя только 22 % курильщиков. Модель продемонстрировала высокую точность и практичность для долгосрочного прогнозирования [13].

В 2021 г. J.K. Field и соавт. опубликовали результаты тестирования модели LLPv3. Данная модель разработана на основе результатов исследования «случай–контроль» в Ливерпуле и протестирована на выборке из 75 958 человек с 5-летним периодом наблюдения. Сравнение версий LLPv2 и LLPv3 показало улучшенную калибровку последней с пропорциональной разницей в 22 %. Обе версии достигли показателя AUC 0,81. Модель LLPv3 обеспечила более точное прогнозирование абсолютного риска РЛ, что полезно для запуска программ скрининга в Великобритании [14]. При этом подобные модели включали такие факторы повышенного риска, как возраст, стаж курения, пол, наличие хронических заболеваний легких, индекс массы тела, социально-экономический статус, уровень образования, расу и этническую принадлежность. Некоторые модели включали симптомы,

такие как кашель, боль в груди и одышка, лабораторные данные, в том числе уровень С-реактивного белка. Данные из медицинских записей, содержащие информацию о предыдущих диагнозах, результатах обследований и приеме лекарств, также были важными компонентами изучаемых моделей.

#### **Извлечение данных**

#### **Основные показатели эффективности технологий искусственного интеллекта для ранней диагностики или скрининга рака легкого по данным структурированных электронных медицинских записей**

Мы извлекли данные из полных текстов опубликованных работ (табл. 2) и сделали их краткую характеристику. К сожалению, ни в одном из исследований не оценивали влияние изучаемых технологий на такие показатели, как снижение смертности и экономическое влияние на систему здравоохранения. В большинстве исследований приводятся данные аналитической точности новых методов, такие как чувствительность, специфичность и показатели AUC чувствительность/специфичность. Не все исследования имели непосредственную проспективную группу сравнения.

В исследовании X. Wang и соавт., опубликованном в 2019 г., модель на основе алгоритма XGBoost использовала данные из электронных медицинских карт и достигла показателя AUC 0,881. Согласно полученным результатам, модель продемонстрировала наибольший онкологический риск у активных курильщиков и пациентов с выраженной сопутствующей патологией. Таким образом, ИИ показал высокую точность в прогнозировании риска развития РЛ и был особенно полезен для оценки риска у пациентов со множественными хроническими заболеваниями [20].

В исследовании M.C. Yeh и соавт., опубликованном в 2021 г., построена прогностическая модель скрининга РЛ на основе нейронных сетей с использованием данных медицинских карт пациентов за последние 3 года. Были достигнуты показатели AUC 0,9 для общей популяции и 0,87 – для пациентов старше 55 лет, что свидетельствует о высокой точности рассматриваемой модели. Положительное прогностическое значение (PPV) достигло 14,3 % по отношению к пациентам с сопутствующими заболеваниями легких. Это свидетельствует о высокой предиктивной точности ИИ, особенно в группах с высоким риском, и подчеркивает эффективность его добавления к традиционным методам скрининга [21].

U. Chandran и соавт. в 2023 г. исследовали модель машинного обучения для прогнозирования риска развития РЛ на основе данных из электронных медицинских записей. Модель продемонстрировала значение AUC 0,76, что указывает на удовлетворительную точность. В качестве наиболее важных

Таблица 2. Извлеченные данные об эффективности технологий искусственного интеллекта (ИИ) для скрининга или ранней диагностики по данным электронных медицинских записей (ЭМЗ)  
Table 2. Extracted data on the effectiveness of artificial intelligence (AI) technologies for screening or early diagnosis based on electronic medical records (EMR)

Автор/год/ссылка Author/year/reference	Источники данных Data sources	Тип ИИ Type of AI	Название ИИ алгоритма Name of AI algorithm	Дизайн Design features	Особенности популяции Features of the population	Чувствительность Sensitivity	Специфичность Specificity	Площадь под кривой рабочей характеристики приемника Area under the receiver operating characteristic	Отрицательная прогностическая ценность Negative predictive value	Положительная прогностическая ценность Positive predictive value	Комментарий Comment	Страна Country
X. Wang et al. (2019) [20]	Структурированные ЭМЗ Structured EMR	Машинное обучение Machine learning	XGBoost	Проспективное исследование Prospective study	873 598 ретроспективно, 836 659 проспективно retrospectively, 836 659 prospectively	Не указано Not specified	Не указано Not specified	0,881	Не указано Not specified	Не указано Not specified	Риск был выше у людей с хроническими заболеваниями и курящими The risk was higher in people with chronic diseases and smokers	Китай China
M.C. Yeh et al. (2021) [21]	Структурированные ЭМЗ Structured EMR	Глубокое обучение Deep learning	Convolutional Neural Networks	Проспективное исследование Prospective study	11 617 пациентов с РЛ, 1 423 154 контрольных 11 617 lung cancer patients, 1 423 154 controls	Не указано Not specified	Не указано Not specified	0,9 (0,87 для возраста 55 лет и старше) 0,9 (0,87 for ages 55 years and older)	Не указано Not specified	14,3 %	Высокая точность, лучшая для пациентов старше 55 лет High accuracy, best for patients over 55 years of age	Тайвань Taiwan
U. Chandran et al. (2023) [22]	Структурированные ЭМЗ Structured EMR	Машинное обучение Machine learning	LASSO regression	Ретроспективное исследование отобранных когорт Retrospective study of selected cohorts	4,7 млн человек, возраст 45–65 лет 4,7 million people, age 45–65 years	Не указано Not specified	Не указано Not specified	0,76	Не указано Not specified	Не указано Not specified	Модель продемонстрировала удовлетворительную точность The model showed satisfactory accuracy	США USA
M. Levi et al. (2024) [23]	Структурированные ЭМЗ Structured EMR	Машинное обучение Machine learning	Tree-based Pipeline Optimization Tool (Random Forest и XGBoost)	Ретроспективное исследование отобранных когорт Retrospective study of selected cohorts	4,076 обследуемых, возраст 35 лет и старше 4,076 subjects, age 35 years and older	69 %	Не указано Not specified	Не указано Not specified	Не указано Not specified	74 %	Модель показала высокую точность для курящих и некурящих The model showed high accuracy for smokers and non-smokers	Израиль Israel
S. Zhang et al. (2024) [24]	Структурированные ЭМЗ Structured EMR	Машинное обучение Machine learning	XGBoost, логистическая регрессия, наивный Байес, случайный лес XGBoost, logistic regression, naive bayes, random forest	Проспективное исследование Prospective study	467 888 — у 4299 из них развился РЛ 467,888 — 4299 of whom ultimately developed LC	Не указано Not specified	Не указано Not specified	0,998	Не указано Not specified	Не указано Not specified	Высокая точность, тест на нейротизм — один из важнейших факторов в модели. Выявлено большее влияние окружения белки, чем индекса массы тела High accuracy, Neuroticism Score is one of the most important factors in the model. A greater influence of hip circumference than body mass index was found	Китай China (Великобритания, UK)

неблагоприятных факторов ИИ выделил стаж курения и возраст пациентов. В то же время было выявлено снижение эффективности методики при анализе данных в азиатской и латиноамериканской популяциях, в связи с чем можно сделать вывод о точности ИИ в прогнозировании риска развития РЛ в общей популяции и наличии необходимости доработки алгоритма ИИ для обеспечения универсальности среди различных этнических групп [22].

M. Levi и соавт. в 2024 г. описали собственную модель ИИ, разработанную на основе машинного обучения с использованием TROT – Tree-based Pipeline Optimization Tool (Random Forest и XGBoost). ИИ оценивал факторы риска с помощью данных из электронных медицинских карт. Модель продемонстрировала точность 71,2 % и PPV 74 % для всей популяции. Результаты показали, что наиболее важными предикторами были наличие хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), эмфиземы и хронического бронхита. Авторы пришли к выводу о том, что ИИ может служить полезным инструментом для идентификации пациентов с высоким риском развития РЛ (среди курящих и некурящих) и является перспективным направлением для дальнейшего изучения [23].

S. Zhang и соавт. в 2024 г. провели анализ данных UK Biobank (биобанка Соединенного Королевства Великобритании), большой биомедицинской базы данных, созданной в 2006 г., где были собраны образцы крови, мочи и слюны более 500 тыс. участников по всей стране, а также полная демографическая, социально-экономическая информация, информация об образе жизни и состоянии здоровья участников. Авторы использовали модели на основе XGBoost, логистической регрессии и naïve Bayes, random forest. Модель на основе XGBoost продемонстрировала наилучшие результаты (AUC = 0,998). Показана значимость таких факторов, как обхват бедра, Neuroticism score (стандартизированный психологический тест, включающий вопросы, касающиеся эмоциональных реакций, поведения в стрессовых ситуациях и общего психологического состояния), обхват талии, количество выкуриваемых сигарет и MET (метаболический эквивалент – metabolic equivalent of task) [24].

Таким образом, во всех исследованиях применение ИИ продемонстрировало значительное улучшение в прогнозировании риска РЛ по сравнению с традиционными методами оценки. Особенно это касается чувствительности и способности идентифицировать пациентов с высоким риском на ранних стадиях развития заболевания. Однако некоторые модели требуют доработки для обеспечения одинаково высокой точности среди всех популяций и этнических групп. Сведения о потенциальном вкладе данных технологий в снижение смертности от РЛ не представлены.

### **Основные показатели эффективности технологий искусственного интеллекта для ранней диагностики или скрининга рака легкого по данным структурированных электронных медицинских записей**

Мы также проанализировали опубликованный состав атрибутов, включенных в модели ИИ (табл. 3), и опишем некоторые из них подробнее.

**Возраст.** Возраст был включен во все 5 анализируемых моделей. Этот фактор не только часто используется, но и в некоторых моделях рассматривается с дополнительными деталями, например, возрастными порогами (от 50 до 75 лет или старше 55 лет), которые значительно влияют на риск возникновения заболевания. В исследованиях отмечается, что риск РЛ увеличивается с возрастом, что делает этот фактор основным в моделях предсказания заболеваемости.

**Курение.** Стаж курения – ключевой фактор, включаемый в большинство моделей. В частности, учитываются следующие аспекты: статус курильщика (активный курильщик, бывший курильщик, никогда не куривший), длительность курения (количество лет), количество выкуриваемых сигарет и расчет пачко-лет (один из наиболее используемых показателей, определяющих кумулятивное воздействие курения). В ряде работ также оценивали влияние времени, прошедшего с момента отказа от курения, на риск развития РЛ. Эти параметры позволяют моделям более точно оценивать экологический риск для различных групп пациентов с учетом их анамнеза курения.

**Хронические заболевания легких.** Наличие хронических заболеваний легких, таких как ХОБЛ, хронический бронхит и эмфизема, включают в большинство моделей. Исследования показали, что наличие этих состояний существенно увеличивает риск развития РЛ независимо от статуса курения. У пациентов с такими заболеваниями модели ИИ часто показывают высокую точность предсказаний.

**Индекс массы тела.** Влияние данного индекса на риск развития РЛ неоднозначно, однако в нескольких моделях была выявлена прямая корреляция между его низким значением и повышенным риском развития РЛ, что может быть связано с кахексией и повышенной иммунологической толерантностью организма. Высокий индекс массы тела, напротив, ассоциировался со сниженным онкологическим риском. В исследовании S. Zhang и соавт. большее влияние продемонстрировали другие антропометрические факторы – обхват бедер и талии [24].

**Пол и раса / этническая принадлежность.** Эти факторы учитывают в нескольких моделях, подчеркивая их значимость в контексте предиктивной способности моделей. Например, некоторые исследования показали различия в рисках между мужчинами и

**Таблица 3.** Состав характеристик, включенных в модели искусственного интеллекта для прогнозирования риска развития рака легких по данным электронных медицинских записей, рутинных анализов крови и специализированных анкет

**Table 3.** Composition of attributes included in artificial intelligence models for predicting the risk of developing lung cancer based on electronic medical records, routine blood tests and specialized questionnaires

Автор/год/ссылка Author/year/reference	Оцениваемые показатели Estimated attributes
X. Wang et al. (2019) [20]	<p>Возраст, пол, курение, онкологический анамнез (любое злокачественное новообразование), заболевания легких в анамнезе (хроническая обструктивная болезнь легких – ХОБЛ, хронический бронхит, эмфизема и пневмония), другие хронические заболевания в анамнезе (сахарный диабет, хроническая болезнь почек (расчет скорости клубочковой фильтрации на основании уровня креатинина, веса, роста, возраста и пола), заболевания периферических сосудов, аритмия, аневризма брюшной аорты), симптомы (кровохарканье, кашель, боль в груди, одышка, периферические сосуды, аномальная потеря веса) и аномальные результаты лабораторных анализов (С-реактивный белок, фибриноген, глюкоза, гемоглобин, уровень лейкоцитов, тромбоцитов)</p> <p>Age, gender, smoking, oncological history (any malignant neoplasm), a history of lung diseases (chronic obstructive pulmonary disease – COPD, chronic bronchitis, emphysema and pneumonia), other chronic diseases in the anamnesis: coronary heart disease, peripheral vascular disease, arrhythmia, abdominal aortic aneurysm), symptoms (hemoptysis, cough, chest pain, shortness of breath, pleural effusion, abnormal weight loss) and abnormal laboratory test results (C-reactive protein, fibrinogen, glucose, hemoglobin, leukocyte, platelet levels)</p>
M.C. Yeh et al. (2021) [21]	<p>Возраст (от 20 до 90 лет, возраст старше 55 лет оказывает влияние), пол, история болезни обследуемых за 3 года (с/без предшествующими заболеваниями легких: асбестоз, бронхоэктазы, хронический бронхит, ХОБЛ, эмфизема, фиброз, пневмония, саркоидоз, силикоз, туберкулез и история приема лекарственных препаратов: противоядия, метронидазол, буфломедил, инсулин и др.)</p> <p>Age (from 20 to 90 years old, age over 55 years has an impact), gender, medical history of the subjects for 3 years (with/ without previous lung diseases: asbestos, bronchiectasis, chronic bronchitis, COPD, emphysema, fibrosis, pneumonia, sarcoidosis, silicosis, tuberculosis and history of taking medications: antidotes, metronidazole, buflomedil, insulin, etc.)</p>
U. Chandran et al. (2023) [22]	<p>Возраст, пол, раса (белая, черная, азиатская, неизвестная), этническая принадлежность (латиноамериканская, нелатиноамериканская, неизвестная), курение (нынешний курильщик, бывший курильщик, никогда не куривший) и установленный диагноз ХОБЛ за 365 дней до включения в исследование</p> <p>Age, gender, race (white, black, Asian, unknown), ethnicity (Hispanic, non-Hispanic, unknown), smoking (current smoker, former smoker, never smoked) and a diagnosis of COPD 365 days before inclusion in the study</p>
M. Levi et al. (2024) [23]	<p>Возраст, пол, индекс массы тела (риск больше с увеличением индекса массы тела на каждый 1 кг/м<sup>2</sup>), история курения, социально-экономический статус, наличие в анамнезе ХОБЛ, эмфиземы, хронического бронхита, интерстициального заболевания легких, фиброза легких и наличие в семейном анамнезе рака легкого.</p> <p>Age, gender, body mass index (the risk is higher with an increase in body mass index for every 1 kg/m<sup>2</sup>), smoking history, socio-economic status, a history of COPD, emphysema, chronic bronchitis, interstitial lung disease, pulmonary fibrosis and a family history of lung cancer</p>
S. Zhang et al. (2024) [24]	<p>Демографические характеристики (например, пол, возраст, образование), образ жизни и информация о здоровье (курение, бессонница, продолжительность сна, общего состояния здоровья, заболеваний легких, за исключением рака легкого), лабораторные и инструментальные данные (С-реактивный белок, объем форсированного выдоха за 1-ю секунду), профессиональные вредности (рабочее место, полное химические или других паров) и антропометрия (индекс массы тела, окружность талии, окружность бедер)</p> <p>Demographic characteristics (e.g., gender, age, education), lifestyle and health information (e.g., smoking, sleeplessness, sleep duration, overall health, lung diseases excluding lung cancer), laboratory data (e.g., c-reactive protein, forced expiratory volume in 1st second), work environment (e.g., workplace full of chemical or other fumes), and anthropometry (e.g., body mass index, waist circumference, hip circumference)</p>

женщинами, а также между представителями разных расовых и этнических групп. Это важно для разработки моделей, которые можно адаптировать для специфических популяций.

*Социально-экономический статус и уровень образования.* Социально-экономический статус и уровень образования влияют на доступ к медицинской помощи, а также на образ жизни, включая большую распространенность активного табакокурения. Включение этих показателей в модели позволяет учесть влияние факторов среды и поведения на риск развития РЛ.

*Симптомы и сопутствующие хронические заболевания.* Некоторые модели включают такие симптомы, как кашель, боль в груди и одышку, что помогает эффективно идентифицировать пациентов с высоким риском за счет своевременного выявления усиления клинической симптоматики. Сопутствующая патология (в частности, сердечно-сосудистые заболевания и сахарный диабет) также может быть включена в модели для повышения их прогностической точности.

Таким образом, факторы возраста, стажа курения и наличия хронических заболеваний легких являются основой для построения эффективных моделей ИИ, демонстрирующих высокую чувствительность и специфичность, а также способных стать полезным дополнением к традиционным методам скрининга. Однако в ряде случаев, например при учете расы и этнической принадлежности, модели требуют дополнительных адаптаций для увеличения точности в различных популяциях. Использование расширенных данных, таких как социально-экономический статус и подробный анамнез хронических заболеваний, также позволяет повысить эффективность прогнозирования развития РЛ.

## Заключение

Несмотря на принимаемые в разных странах меры первичной профилактики, очевидно способствующие снижению заболеваемости и смертности, РЛ остается среди лидирующих причин смертности от ЗНО в большинстве стран Европы, Северной Америки и Азии, включая Российскую Федерацию. Вместе с тем, если судить по ранее проведенным исследованиям, скрининг РЛ в группах риска может снижать опухолеспецифическую и общую смертность в популяциях, которые были подвергнуты скринингу. Основным методом для раннего выявления злокачественных опухолей легкого остается низкодозная мультиспиральная КТ, и впечатляющее количество современных работ посвящено вопросам правильной интерпретации и классификации непосредственно изображений (компьютерных томограмм или рентгенограмм) легких для разделения пациентов на группы высокого и низкого риска заболеваемости РЛ. Некоторые работы при этом также учитывают данные других модальностей (например, социально-демографические данные, стаж курения и т.д.), что повышает точность классификации изображений.

Безусловно, разрабатываемые модели на основе ИИ обладают рядом важных преимуществ, способствуют улучшению показателей предиктивной точности программ скрининга и обеспечивают дополнительный анализ данных. Подобный подход позволяет выявлять наличие закономерности даже при оценке факторов, динамически изменяющихся с течением времени или не обладающих, на первый взгляд, четкой патогенетической связью с развитием заболевания. В то же время прямое сравнение различных моделей ИИ сегодня отсутствует, что подчеркивает необходимость проведения дальнейших проспективных исследований и актуализирует направление нашей научной деятельности.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ferlay J., Ervik M., Lam F. et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2024. URL: <https://gco.iarc.who.int/today>.
2. 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. State of oncological care for the population of Russia in 2023. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Shakhzadova A.O., eds. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2024. 262 p. (In Russ.).
3. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна и др. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. 276 с. Malignant neoplasms in Russia in 2023 (incidence and mortality). Kaprin A.D. et al., eds. Moscow: MNIOI im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMITS radiologii” Minzdrava Rossii, 2024. 276 p. (In Russ.).
4. Toumazis I., Bastani M., Han S.S. et al. Risk-based lung cancer screening: a systematic review. *Lung Cancer* 2020;147:154–86. DOI: 10.1016/j.lungcan.2020.07.007
5. Koski E., Murphy J. AI in healthcare. *Stud Health Technol Inform* 2021;284:295–9. DOI: 10.3233/SHTI210619
6. Thong L.T., Chou H.S., Chew H.S.J. et al. Diagnostic test accuracy of artificial intelligence-based imaging for lung cancer screening: a systematic review and meta-analysis. *Lung Cancer* 2023;176:4–13. DOI: 10.1016/j.lungcan.2022.12.002
7. Hsu Y.C., Tsai Y.H., Weng H.H. et al. Artificial neural networks improve LDCT lung cancer screening: a comparative validation study. *BMC Cancer* 2020;20(1):1023. DOI: 10.1186/s12885-020-07465-1
8. Chauvie S., De Maggi A., Baralis I. et al. Artificial intelligence and radiomics enhance the positive predictive value of digital chest tomosynthesis for lung cancer detection within SOS clinical

- trial. *Eur Radiol* 2020;30(7):4134–40. DOI: 10.1007/s00330-020-06783-z
9. Bach P.B., Kattan M.W., Thornquist M.D. et al. Variations in lung cancer risk among smokers. *J Natl Cancer Inst* 2003;95(6):470–8. DOI: 10.1093/jnci/95.6.470
  10. Tammemägi M.C., Katki H.A., Hocking W.G. et al. Selection criteria for lung-cancer screening. *N Engl J Med* 2013;368(8):728–36. DOI:10.1056/NEJMoa1211776
  11. Katki H.A., Kovalchik S.A., Berg C.D. et al. Development and validation of risk models to select ever-smokers for CT lung cancer screening. *JAMA* 2016;315(21):2300–11. DOI:10.1001/jama.2016.6255
  12. Cheung L.C., Berg C.D., Castle P.E. et al. Life-gained-based versus risk-based selection of smokers for lung cancer screening. *Ann Intern Med* 2019;171(9):623–32. DOI:10.7326/M19-1263
  13. Markaki M., Tsamardinos I., Langhammer A. et al. A validated clinical risk prediction model for lung cancer in smokers of all ages and exposure types: a HUNT study. *EBioMedicine* 2018;31:36–46. DOI: 10.1016/j.ebiom.2022.104187
  14. Field J.K., Vulkan D., Davies M.P.A. et al. Liverpool Lung Project lung cancer risk stratification model: calibration and prospective validation. *Thorax* 2021;76(2):161–8. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2020-215158
  15. PLCO Lung dataset(s). In: Book PLCO Lung dataset(s). Ed. NIH NCI, 2024. URL: <https://cdas.cancer.gov/datasets/plco/21/>
  16. NLST dataset(s). In: Book NLST dataset(s). Ed. NIH NCI, 2024. URL: <https://cdas.cancer.gov/datasets/nlst/>
  17. Tammemägi M.C., Schmidt H., Martel S. et al. Participant selection for lung cancer screening by risk modelling (the Pan-Canadian Early Detection of Lung Cancer [PanCan] study): a single-arm, prospective study. *Lancet Oncol* 2017;18(11):1523–31. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30597-1
  18. NHIS Data, Questionnaires and Related Documentation. In: Book NHIS Data, Questionnaires and Related Documentation. Ed. CDC, 2024.
  19. Marshall R.C., Tiglaio S.M., Thiel D. Updated USPSTF screening guidelines may reduce lung cancer deaths. *J Fam Pract* 2021;70(7):347–9. DOI: 10.12788/jfp.0257
  20. Wang X., Zhang Y., Hao S. et al. Prediction of the 1-year risk of incident lung cancer: prospective study using electronic health records from the State of Maine. *J Med Internet Res* 2019;21(5):e13260. DOI: 10.2196/23586
  21. Yeh M.C., Wang Y.H., Yang H.C. et al. Artificial intelligence-based prediction of lung cancer risk using nonimaging electronic medical records: deep learning approach. *J Med Internet Res* 2021;23(8):e26256. DOI: 10.2196/33519
  22. Chandran U., Reys J., Yang R. et al. Machine learning and real-world data to predict lung cancer risk in routine care. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2023;32(3):337–43. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-22-0873
  23. Levi M., Lazebnik T., Kushnir S. et al. Machine learning computational model to predict lung cancer using electronic medical records. *Cancer Epidemiol* 2024;92:102631. DOI: 10.1016/j.canep.2024.102649
  24. Zhang S., Yang L., Xu W. et al. Predicting the risk of lung cancer using machine learning: A large study based on UK Biobank. *Medicine (Baltimore)* 2024;103(16):e37879. DOI: 10.1097/MD.00000000000037879

#### Вклад авторов

И.В. Самойленко: научное руководство, обоснование концепции исследования, создание модели исследования;  
 В.В. Назарова: аккумуляция исследовательских данных, написание текста рукописи;  
 З.Р. Магомедова: обзор публикаций по теме статьи, анализ и систематизация полученных данных, написание текста рукописи;  
 П.В. Кононец: редактирование рукописи, формулировка выводов;  
 И.М. Боровков: редактирование рукописи, оформление рукописи;  
 Т.Г. Геворкян: разработка дизайна исследования, редактирование рукописи.

#### Authors' contribution

I.V. Samoylenko: scientific guidance, validation of the research concept, creation of a research model;  
 V.V. Nazarova: accumulation of research data, writing of the manuscript text;  
 Z.R. Magomedova: review of publications on the topic of the article, analysis and systematization of the data obtained, writing the text of the manuscript;  
 P.V. Kononets: manuscript editing, wording of conclusions;  
 I.M. Borovkov: manuscript editing, designing the manuscript;  
 T.G. Gevorkyan: research design development, manuscript editing.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

И.В. Самойленко / I.V. Samoylenko: <https://orcid.org/0000-0001-7150-5071>  
 В.В. Назарова / V.V. Nazarova: <https://orcid.org/0000-0003-0532-6061>  
 З.Р. Магомедова / Z.R. Magomedova: <https://orcid.org/0009-0006-9145-0905>  
 П.В. Кононец / P.V. Kononets: <https://orcid.org/0000-0003-4744-6141>  
 И.М. Боровков / I.M. Borovkov: <https://orcid.org/0000-0002-2017-8047>  
 Т.Г. Геворкян / T.G. Gevorkyan: <https://orcid.org/0009-0008-3486-302X>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests.** Authors declare no conflict of interests.

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке НИР 124052700085-6 «Разработка предиктивных моделей на основе искусственного интеллекта для раннего выявления онкологических заболеваний по мультимодальным медицинским и социально-демографическим данным с формированием предложений по последующей оптимизации национальных программ скрининга» (АНО «Аналитический центр при Правительстве Российской Федерации»).

**Funding.** The work was supported by research fund 124052700085-6 “Development of predictive models based on artificial intelligence for early detection of oncological diseases based on multimodal medical and socio-demographic data with the formation of proposals for subsequent optimization of national screening programs” (Autonomous Non-commercial Organization “Analytical Center under the Government of the Russian Federation”).

**Статья поступила:** 18.11.2024. **Принята в печать:** 25.02.2025. **Опубликована онлайн:** 00.00.2025.

**Article received:** 18.11.2024. **Accepted for publication:** 25.02.2025. **Published online:** 00.00.2025.

# Перспективы создания липосомальной системы доставки гемцитабина

Г.А. Оборотов<sup>1,2</sup>, М.В. Дмитриева<sup>1</sup>, А.П. Колпаксиди<sup>1</sup>, С.Д. Щеглов<sup>1,2</sup>, И.И. Краснюк<sup>2</sup>

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

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

**Контакты:** Григорий Александрович Оборотов [oborot-off@ya.ru](mailto:oborot-off@ya.ru)

**Введение.** Химиотерапия остается основным методом лекарственного лечения злокачественных новообразований, но ее эффективность часто ограничена развитием лекарственной резистентности, низкой селективностью и токсичностью применяемых препаратов. Терапия гемцитабином, одним из наиболее часто используемых химиотерапевтических препаратов, имеет множество ограничений, таких как короткий период полувыведения и быстрая деградация лекарственного средства в организме. Для повышения терапевтической эффективности гемцитабина были предложены две основные стратегии – химическая модификация соединения и создание систем доставки на основе различных наноносителей, в частности липосом.

**Цель исследования** – систематизировать и обобщить данные литературы о перспективах разработки липосомальной системы доставки гемцитабина.

**Материалы и методы.** Поиск материалов по исследуемой тематике проводили с использованием информационных и библиотечных баз данных PubMed, CyberLeninka, e-Library, ResearchGate за период с 1997 по 2025 г. по ключевым словам/словосочетаниям: «липосомы» (liposomes), «инкапсуляция в липосомы» (liposome encapsulation), «липосомальный гемцитабин» (liposomal gemcitabine), «фармакокинетика липосомального гемцитабина» (liposomal gemcitabine pharmacokinetics) и др.

**Результаты.** К настоящему моменту разработаны многочисленные модели липосомальных форм гемцитабина, находящиеся на стадии доклинической разработки, и только одна из них, FF-10832, достигла I фазы клинических исследований. Согласно представленным в анализируемых публикациях результатам сравнительного изучения традиционной и наноструктурированной форм гемцитабина, в экспериментах *in vivo* липосомальный гемцитабин демонстрирует более высокий терапевтический эффект за счет увеличения биодоступности и целенаправленной доставки в опухолевые клетки. Однако основной проблемой создания оптимальной липосомальной композиции гемцитабина остается низкий уровень инкапсуляции лекарственного средства в везикулы, которая может быть преодолена подбором липидной композиции или разработкой рационального способа загрузки.

**Заключение.** Систематизированы и обобщены данные литературы о применении гемцитабина в лечении злокачественных новообразований и перспективах разработки его липосомальной системы доставки. Показано, что включение гемцитабина в липосомы позволяет устранить проблемы, связанные с противоопухолевой терапией этим лекарственным средством.

**Ключевые слова:** гемцитабин, липосома, химиотерапия, система доставки, злокачественное новообразование

**Для цитирования:** Оборотов Г.А., Дмитриева М.В., Колпаксиди А.П. и др. Перспективы создания липосомальной системы доставки гемцитабина. Российский биотерапевтический журнал 2025;24(1):46–56.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-46-56>

## Prospects for the creation of a liposomal gemcitabine delivery system

Grigory A. Oborotov<sup>1,2</sup>, Maria V. Dmitrieva<sup>1</sup>, Alexandr P. Kolpaksidi<sup>1</sup>, Stepan D. Sheglov<sup>1,2</sup>, Ivan I. Krasniuk<sup>2</sup>

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

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

**Contacts:** Grigory Alexandrovich Oborotov [oborot-off@ya.ru](mailto:oborot-off@ya.ru)

**Background.** Chemotherapy remains the mainstay of drug treatment for malignant neoplasms, but its effectiveness is often limited by the development of drug resistance, low selectivity, and toxicity of the drugs used. Gemcitabine therapy, one of the most commonly used chemotherapeutic drugs, has many limitations, such as a short half-life and rapid degradation of the drug in the body. To improve the therapeutic efficacy of gemcitabine, two main strategies have been proposed – chemical modification of the compound and the creation of delivery systems based on various nanocarriers, in particular liposomes.

**Aim.** To systematize and summarize the literature data on the prospects of developing a liposomal gemcitabine delivery system.

**Materials and methods.** The search for materials on the topic under study was carried out using the search and information and library databases PubMed, CyberLeninka, e-Library, ResearchGate. The search for publications was carried out for the period from 1997 to 2025 using keywords / phrases: “liposomes”, “liposome encapsulation”, “liposomal gemcitabine”, “liposomal gemcitabine pharmacokinetics”, etc.

**Results.** To date, numerous models of liposomal forms of gemcitabine have been developed and are at the preclinical development stage, and only one of them, FF-10832, has reached phase I of clinical trials. According to the results of a comparative study of the traditional and nanostructured forms of gemcitabine presented in the analyzed publications, liposomal gemcitabine demonstrates a higher therapeutic effect in *in vivo* experiments due to increased bioavailability and targeted delivery to tumor cells. However, the main problem in creating an optimal liposomal composition of gemcitabine remains the low level of drug encapsulation in vesicles, which can be overcome by selecting a lipid composition or developing a rational loading method.

**Conclusion.** The literature data on the use of gemcitabine in the treatment of malignant neoplasms and the prospects for developing its liposomal delivery system have been systematized and summarized. It has been shown that the inclusion of gemcitabine in liposomes allows eliminating the problems associated with antitumor therapy with this drug.

**Keywords:** gemcitabine, liposomes, chemotherapy, delivery system, malignant neoplasm

**For citation:** Oborotov G.A., Dmitrieva M.V., Kolpaksidi A.P. et al. Prospects for the creation of a liposomal gemcitabine delivery system. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2025;24(1):46–56. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-46-56>

## Введение

Несмотря на значительное развитие новых подходов к терапии онкологических заболеваний, в частности таргетной и иммунотерапии, химиотерапия по-прежнему остается основным методом лекарственного лечения различных типов рака. Однако применение химиотерапевтических препаратов сопровождается рядом проблем, существенно влияющих на эффективность и безопасность лечения, среди которых можно выделить низкую растворимость в воде и плохую биодоступность лекарственных средств (ЛС), их быструю деградацию, недостаточную селективность действия и, как следствие, серьезные побочные эффекты, которые негативно сказываются на состоянии пациента [1–4]. Кроме того, как отмечают К. Bukowski и соавт. [5], более 90 % смертельных исходов онкологических больных, получающих лекарственную терапию, связаны со множественной лекарственной устойчивостью.

Многообещающей стратегией для преодоления недостатков химиотерапевтических ЛС является их инкапсуляция в липосомальные системы доставки. Исследования в области нанотехнологий привели к созданию тысяч публикаций и появлению нескольких одобренных для клинического применения лекарственных препаратов (ЛП) для лечения солидных

и гематологических злокачественных новообразований [6]. Липосомы, представляющие собой фосфолипидные везикулы, являются наиболее широко изученными и коммерчески успешными наноносителями ЛС. В настоящее время для применения в онкологии одобрены липосомальные формы доxorубина гидрохлорида (Doxil<sup>®</sup> и Myocet<sup>®</sup>), даунорубина (DaunoXome<sup>®</sup>), цитарабина (DepoCyt<sup>®</sup>), мифамуртида (Mepact<sup>®</sup>), винкристина (Marqibo<sup>®</sup>), иринотекана (Onivyde<sup>®</sup>) и комбинации даунорубина и цитарабина (Vuxeos<sup>®</sup>) [7]. Конкурентоспособность липосом среди других носителей ЛС обусловлена наличием у них множества функциональных возможностей. Липосомы позволяют повысить биодоступность и стабильность противоопухолевых ЛП, минимизируя побочные эффекты, обеспечивают адресную доставку ЛС в опухолевые ткани, преодолевая множественную лекарственную устойчивость. Благодаря универсальности структуры в липосомы можно инкапсулировать как гидрофильные, так и гидрофобные вещества, способствуя получению их водорастворимых форм. Парентеральная доставка ЛС посредством их включения в липосомальные носители дает преимущества в обходе метаболизма первого прохождения, низкой желудочно-кишечной проницаемости и побочных эффектов (проблема, обшая для пероральной доставки ЛС) [8, 9].

Гемцитабин (Гемзар®) является одним из наиболее известных противоопухолевых ЛС из группы анти-метаболитов, который применяется в качестве ЛП 1-й и 2-й линий для лечения рака поджелудочной железы (РПЖЖ) [10, 11], печени [12], молочной железы (РМЖ) [13], яичников [14], мочевого пузыря [15], легких [16] и др. [17]. Однако его терапевтическая эффективность ограничена коротким периодом полувыведения, метаболической инактивацией и низкой избирательностью действия, обуславливающей высокую токсичность ЛП. Для устранения данных ограничений исследуются различные подходы, главным образом получение липофильных производных гемцитабина и разработка систем доставки на основе различных носителей, в частности липосом [18–20].

**Цель** представленного исследования – систематизировать и обобщить литературные данные о перспективах разработки липосомальной системы доставки гемцитабина.

### Материалы и методы

Поиск материалов по исследуемой тематике проводили с использованием информационных и библиотечных баз данных PubMed, CyberLeninka, e-Library, ResearchGate. Поиск публикаций осуществляли за период с 1997 по 2025 г. по ключевым словам / словосочетаниям на русском и английском языках: «липосомы» (liposomes), «инкапсуляция в липосомы» (liposome encapsulation), «липосомальный гемцитабин» (liposomal gemcitabine), «фармакокинетика липосомального гемцитабина» (liposomal gemcitabine pharmacokinetics) и др.

### Лекарственные препараты на основе гемцитабина

Гемцитабин (2',2'-дифтор-2'-деоксидецитидин), структурная формула которого приведена на рис. 1,

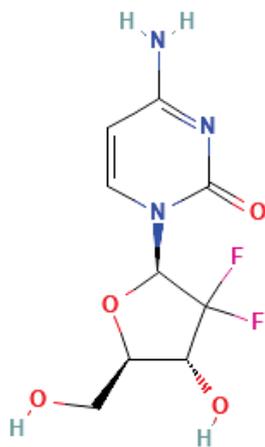


Рис. 1. Структурная формула гемцитабина [26]

Fig. 1. Structural formula of gemcitabine [26]

является синтетическим фторированным аналогом нуклеозида цитидина, применяемым в качестве химиотерапевтического средства уже почти 30 лет. Как пролекарство гемцитабин метаболизируется в активную трифосфатную форму – гемцитабинтрифосфат, которая включается в растущую цепочку ДНК, вызывая специфическую для S-фазы остановку клеточного цикла и запрограммированную гибель клетки. Кроме того, гемцитабиндифосфат ингибирует рибонуклеотидредуктазу, фермент в нуклеотидном пути, критически важный для раковой клетки [21]. Клеточное поглощение гемцитабина опосредуется семейством интегральных мембранных белков, называемых переносчиками нуклеозидов человека, которые обеспечивают прохождение через мембрану клетки путем диффузии, таким образом легко преодолевая мембрану клетки данным способом. Клетки, лишённые нуклеозидов человека, обладают высокой резистентностью к гемцитабину. Большая часть гемцитабина инактивируется посредством дезаминирования цитидиндезаминазой и дезоксицитидилатдезаминазой или дефосфорилированием монофосфатной формы 5'-нуклеотидазами. Более 90 % дозы гемцитабина под действием цитидиндезаминазы превращается в 2',2'-дифтор-2'-деоксиуридин. При стандартной 30-минутной инфузии концентрации гемцитабина в плазме обычно достигают плато через 15–30 мин, а период полувыведения составляет от 2 до 40 мин в зависимости от вводимой дозы [22–25].

Поскольку гемцитабин ограниченно растворим в воде (15,3 г/л), для приготовления инъекционных растворов его используют в виде гидрохлорида. Гемцитабин выпускают в форме концентрата для приготовления раствора для инфузий 40 мг/мл и лиофилизата для приготовления раствора для инфузий во флаконе со следующими дозировками: 200, 1000, 1400 или 1500 мг [26, 27]. Данные лекарственные формы гемцитабина обладают высокой токсичностью. Быстрый метаболизм и клиренс гемцитабина, обусловленный небольшой молекулярной массой и гидрофильностью вещества, требует частых или длительных введений. Это, в свою очередь, может привести к серьезным осложнениям, включая миелосупрессию, анемию, тромбоцитопению и лейкопению, поражение легких, в редких случаях – к кардиомиопатии [28–34].

Для устранения недостатков терапии гемцитабином в последние годы активно разрабатываются подходы к его доставке на основе наночастиц, липосом и гидрогелей. Разработка новых форм гемцитабина направлена на целенаправленное высвобождение ЛС, что позволит значительно снизить негативное воздействие на здоровые ткани [35–37].

### Липосомальные формы гемцитабина

Гемцитабин относится к гидрофильным ЛС, которые трудно инкапсулируются в липосомы. Будучи

слабым основанием, гемцитабин может образовывать комплекс с аммония сульфатом, но не включается в липосомы так же эффективно, как доксорубин. В отличие от доксорубина, показатель кислотности которого составляет 8,68, гемцитабин с низким значением показателя кислотности 3,6 не ионизируется в кислом водном ядре липосом и, следовательно, не проникает через мембрану посредством pH-градиента [38]. При этом максимальная загрузочная способность гемцитабина, которая может быть достигнута за счет создания pH-градиента, не превышает 1 мас.%. Это создает ряд проблем: во-первых, большая потеря ЛС в процессе производства неэкономична, во-вторых, неэффективная загрузка ЛС требует использования большого количества полярных липидов, которые могут вызывать осложнения, не связанные с гемцитабином. Более того, повышение общей дозы ЛП из-за низкой нагрузки ЛС увеличивает объем инъекции и/или концентрацию липосом, что повышает риск развития токсичных эффектов препарата [39, 40]. Однако, учитывая преимущества применения липосомального гемцитабина, продолжают активные исследования по поиску оптимальной композиции и рациональных технологических подходов к эффективной загрузке ЛС в липидный наноноситель.

Липидный состав липосом играет критическую роль в эффективности инкапсуляции ЛС. Важнейшими компонентами липосомальной мембраны являются фосфолипиды, холестерин и пегелированные липиды. Тип фосфолипидов оказывает влияние на стабильность и структуру мембраны липосомы. Для инкапсуляции гемцитабина чаще всего используют такие фосфолипиды, как дипальмитоилфосфатидилхолин (DPPC), дистероилфосфатидилхолин (DSPC), диолеилфосфатидилэтанолламин (DOPE) и природные фосфатидилхолины, которые способствуют формированию биосовместимых и стабильных липосом с высоким уровнем загрузки ЛС. Холестерин и его производные в составе липосом помогают улучшить их стабильность в кровотоке, предотвращая разрушение мембраны и утечку ЛП. Пегелированные липосомы, содержащие фосфолипидные производные полиэтиленгликоля, увеличивают продолжительность циркуляции липосом в кровотоке, препятствуя их захвату системой мононуклеарных фагоцитов, что важно для достижения более высокой концентрации гемцитабина в опухоли [41–46].

Для эффективной инкапсуляции гемцитабина в липосомы применяют различные методы, каждый из которых имеет особенности и используется в зависимости от свойств ЛП и желаемого эффекта. Прежде всего, гидрофильные ЛС могут пассивно загружаться в везикулы в процессе их формирования при гидратации липидной пленки при растворении

вещества в гидратирующей среде или смешивании органического раствора липидов и водного раствора ЛС с последующим выпариванием органического растворителя. Затем сформированные липосомы для достижения требуемых размеров обычно измельчают методами экструзии или гомогенизации.

**Метод пассивной загрузки** использован при получении большинства моделей липосомального гемцитабина, например липосом с модифицированным RGD-геном [47], стимулочувствительных липосом [41, 45, 46, 48, 49], липосом в форме лиофилизированного порошка для ингаляций [50] и др.

S. T. Tucci и соавт. разработали технологию получения активируемых ультразвуковой гипертермией липосом с высоким содержанием гемцитабина (TSL-Gem), солюбилизируемого и стабилизированного глюконатом меди [41]. Взаимодействие меди с гемцитабином имеет решающее значение для получения высокой концентрации гемцитабина в загрузочных буферах, что привело к пассивной загрузке гемцитабина в концентрациях, в 3 раза превышающих ранее отмечаемые в литературе [51, 52] значения ( $\leq 4$  мас.%). При этом уровень включения гемцитабина увеличивался пропорционально повышению концентрации гемцитабина в исходном буфере: при содержании ЛС 15, 60, 100 и 150 мг/мл загрузка составила 2, 6, 10 и 12 мас.% соответственно. Увеличение массы загруженного гемцитабина приводило к его более быстрому высвобождению, вероятно, из-за более высокого внутреннего осмотического давления. Через 5 мин при температуре 42 °C (температура фазового перехода основного фосфолипида DPPC) TSL-Gem-2 мас.% высвобождали ~60 % ЛС, TSL-Gem-6 мас.% – ~90 %, TSL-Gem-10 мас.% – ~80 мас.%, а TSL-Gem-12 мас.% – 100 % препарата. Более низкая скорость высвобождения гемцитабина, наблюдаемая для TSL-Gem-10 мас.%, вероятно, связана с пониженным внутренним осмотическим давлением, вызванным образованием комплекса «медь – ЛП» в мольном соотношении 1:4. Включение гемцитабина в термочувствительные липосомы способствовало увеличению периода полувыведения ЛП из кровообращения до 2 ч (по сравнению с зарегистрированным периодом циркуляции 16 мин для свободного гемцитабина у мышей), а свободное ЛС не обнаружено в плазме. Полученные термочувствительные липосомы *in vitro* подавляли рост опухоли в мышечных моделях РМЖ и снижали жизнеспособность клеток РПЖЖ с минимальной системной токсичностью. Установлено, что клеточная линия mT4, полученная из генетически модифицированной мышечной модели РПЖЖ (KPC-модель: Kras<sup>LSL-G12D/+</sup>; Trp53<sup>LSL-R172H/+</sup>; Pdx-Cre), демонстрирует сильную чувствительность к гемцитабину с концентрацией полумаксимального ингибирования (IC<sub>50</sub>) 9,4 ± 0,4 нМ. Цитотоксичность гемцитабина также оценивали в сингенной ортотопической мышечной

модели эпителиальной аденокарциномы молочной железы, клеточной линии с делецией экзона *neu* (NDL), в этом случае значение  $IC_{50}$  составило  $20 \pm 1$  нМ. Клетки KPC и NDL показали почти идентичный ответ на липосомальный и свободный гемцитабин. Нагревание до  $42^\circ\text{C}$  в течение 20 мин для имитации условий *in vivo* ультразвуковой гипертермии с последующей непрерывной 48-часовой инкубацией с гемцитабином или его липосомальной формой не дало дополнительной цитотоксичности. Три повторных курса лечения активированными липосомами гемцитабина подавляли рост опухоли в модели делеции *neu* РМЖ у мышей. В условиях ультразвуковой гипертермии липосомальный гемцитабин в дозе 5 мг/кг снижал рост опухоли до уровня, эквивалентного 20-кратной дозе свободного гемцитабина (100 мг/кг). Кроме того, в более агрессивной модели РПЖЖ у мышей липосомальный гемцитабин вызывал гибель раковых клеток и появление участков апоптоза и некроза.

Для целевой доставки гемцитабина получены покрытые фукоиданом рН-чувствительные липосомы, предназначенные для терапии РПЖЖ; рН-чувствительные липосомы, состоящие из DOPE и холестерина гемисукцината (CHEMS), которые обладают способностью к высокому уровню загрузки гидрофильных ЛС и эффективностью доставки. При этом эффективность инкапсуляции гемцитабина в рН-чувствительные липосомы составила 74 %, а загрузка — более 21 %. Для введения в липосому сульфатированного гетерополисахарида фукоидана, обладающего сильным сродством к Р-селектину, который экспрессируется на мембранах опухолевых клеток, в рецептуру добавлен катионный поверхностно-активный агент DOTAP (1,2-диолеил-3-триметиламмоний пропан). Разработанная система доставки способствует накоплению гемцитабина в опухолевых клетках, усиливает его терапевтический эффект и снижает токсичность ЛП [48].

Для повышения терапевтической эффективности гемцитабина при лечении рака желчных протоков D.H. Kim и соавт. разработана уникальная фоточувствительная липосомальная композиция, содержащая фотосенсибилизатор феофорбид А, конъюгированный амидной связью с пегилированным фосфолипидом [46]. Синергический противоопухолевый эффект фоточувствительных липосом достигается за счет 3 механизмов: химиотерапии, активируемой светом, фотодинамической терапии и иммунотерапии. Феофорбид А дестабилизирует липосому с гемцитабином посредством перекисного окисления липидов в липидных углеводородных цепях, что приводит к фотоиндуцированной утечке ЛС из поврежденных везикул. Противоопухолевый эффект, опосредованный фотодинамической терапией, заклю-

чается в следующем: как только фотосенсибилизатор накапливается в целевых областях и подвергается лазерному облучению, генерируются активные формы кислорода, а синглетный кислород или свободные радикалы быстро реагируют с клеточными компонентами и вызывают повреждение клеток, что приводит к их гибели. В свою очередь, гибель клеток способствует возникновению сильной и острой воспалительной реакции, приводящей к инфильтрации нейтрофилов, созреванию дендритных клеток и продукции провоспалительных цитокинов в обработанных фотодинамической терапией участках, атакующих опухолевые клетки, вызывая противоопухолевый иммунный ответ.

Введение препарата путем вдыхания с использованием аэрозольного или порошкового ингалятора позволяет доставлять ЛС непосредственно в легкие в более низкой дозе по сравнению с пероральным приемом или внутривенным введением и, следовательно, с меньшим риском развития побочных эффектов [53, 54]. Этот подход привел к созданию липосомальной системы доставки гемцитабина в форме лиофилизированного порошка, используемого для приготовления раствора для ингаляций при лечении рака легких [50]. В данном исследовании для получения многослойных везикул использовали метод эмульгирования-испарения растворителя с пассивной загрузкой гемцитабина, которые затем были лиофилизированы. Многослойные липосомы с гемцитабином состоят из фосфолипидов (DSPG, 1,2-дистеарил-*sn*-глицеро-3-фосфоглицерин), эндогенных для легких в качестве собственных поверхностно-активных веществ, поэтому клиренс минимизирован по сравнению с другими рецептурами. При инкапсуляции гемцитабина в липосомальную систему для местного применения можно также избежать инактивации гемцитабина ферментами в его менее активные или неактивные метаболиты. Обнаружено, что показатель площади под кривой ошибок для липосомальной формы гемцитабина в 10 раз превышает таковой показатель раствора ЛС. Период полувыведения ЛС *in vivo* составил для липосом  $5,68 \pm 0,53$  ч, для раствора —  $1,07 \pm 0,21$  ч. При введении липосом в дозах 4, 6 и 8 мг/кг сохранялась целостность альвеолярных капилляров с незначительной инфильтрацией воспалительных клеток вокруг бронхиол. Кроме того, не отмечалось признаков отека вокруг бронхиол. В то же время увеличение дозы гемцитабина с 4 до 6 мг/кг в форме раствора приводило к жесткости бронхиол и альвеолярной деструкции, а дальнейшее увеличение дозы (8 мг/кг) — к полной деструкции бронхиол вместе с развитием отека и кровотечения.

**Метод активной загрузки** позволяет инкапсулировать ЛП с применением различных химических соединений, которые помогают преодолеть мембранный

потенциал липосомы. Этот метод использует не только рН-градиент, но и ионные и электростатические силы, что позволяет эффективно захватывать как гидрофильные, так и амфифильные препараты с высоким коэффициентом загрузки [55].

Для разработки внешне активируемой системы для лечения рака яичников гемцитабин был включен в соночувствительные липосомы, модифицированные фолатом с использованием рН-градиента. Липидную пленку смывали фосфатно-цитратным буфером с рН 2,2 при температуре 55 °С. Затем рН повышали динатрия гидрофосфатом до значения 7,2. Полученные липосомы экстрадировали и далее инкубировали с раствором гемцитабина при температуре 65 °С в течение 4 ч. Эффективность включения гемцитабина в липосомы составила 82,8–86,3 %, а загрузочная емкость – 3,45–3,73 %. Исследования показали, что модифицированные фолатом соночувствительные липосомы являются перспективной системой доставки противоопухолевых ЛС. По сравнению с простыми липосомами клеточное поглощение соночувствительных модифицированных фолатом липосом гемцитабина увеличилось в 6,51 раза, а при их обработке ультразвуком отмечалось стремительное высвобождение ЛС –  $93,6 \pm 3,9$  % в течение 25 ч. Концентрация гемцитабина в опухоли, доставленного посредством липосом, была в 2,89 раза больше, чем при введении раствора ЛС. Эти эффекты, в свою очередь, способствовали значительному ингибированию роста опухоли: отношение объема яичника в конце эксперимента к объему яичника в начале эксперимента при терапии стимулочувствительными модифицированными липосомами гемцитабина составило 1,21 (контроль – 3,46) [56].

Другой подход к улучшению липосомальной инкапсуляции гемцитабина включает инкубацию предварительно сформированных липосом в небольшом объеме насыщенного раствора ЛС, что создает максимальный градиент концентрации через липосомальную мембрану. При использовании **метода загрузки малым объемом** загрузочная способность гемцитабина увеличилась до 3,8 мас.%. Меньшие результаты (до 2,4 мас.%) демонстрирует **метод гипертонической загрузки**. Этот метод основан на использовании высокого осмотического давления, создаваемого обычно гипертоническим раствором натрия хлорида в ядре липосомы, что вызывает за счет разницы в ионных силах приток внешней водной фазы, содержащей неионизированный гемцитабин. Сочетание активной загрузки и загрузки малым объемом или гипертонической загрузкой еще больше повышает инкапсуляцию гемцитабина в липосомальные носители – до 9,4 и 10,3 мас.%, соответственно [39].

При создании липосомальной двойной системы доставки гидрофобного паклитаксела и гидрофиль-

ного гемцитабина для синергического противоопухолевого эффекта химиотерапевтических препаратов предложена комбинация методов активной загрузки с использованием сульфата аммония и загрузки малым объемом с фосфатно-солевым буфером (PBS), позволившая увеличить инкапсуляцию гемцитабина до 4,2 %. Однако паклитаксел, встроенный в липосомальную мембрану, ускоряет высвобождение гемцитабина: 66,1 % общего количества ЛС было высвобождено за 48 ч, с одной стороны. С другой стороны, из липосом, не содержащих паклитаксел, за тот же период высвобождается 37,9 % гемцитабина от его общего количества в везикулах. Это исследование показывает, что совместное инкапсулирование двух ЛС в одном носителе не всегда желательно для доставки лекарственных комбинаций, когда активность зависит от последовательности дозирования [51]. В то же время J. Liu и соавт. сконструировали липосомы, модифицированные фолиевой кислотой, для одновременной доставки плазмиды интерлейкина-15 и гемцитабина, которые продемонстрировали желаемое проникновение и накопление в опухолевой ткани [56]. Сочетание интерлейкина-15 и химиотерапевтического препарата синергически стимулирует и мобилизует иммунную систему для перепрограммирования иммуносупрессивного микроокружения опухоли путем одновременной активации как натуральных киллеров, так и CD8<sup>+</sup>-Т-клеток и запуска противоопухолевого иммунного ответа, что подтверждает его потенциал для применения в иммунотерапии.

В настоящее время I фаза клинических исследований достигнута в отношении единственной липосомальной формы гемцитабина – FF-10832 (NCT03440450) для лечения распространенных солидных опухолей, включая рак желчных путей [57]. FF-10832 представляет собой дисперсию однослойных липосом гемцитабина размером 80 нм. Гемцитабин включают в липосому методом пассивной загрузки, а затем неинкапсулированное ЛС удаляют диалфильтрацией. Оптимизированный липидный состав позволяет эффективно инкапсулировать ЛС более чем 97,5 % по отношению к общему количеству (0,5 мг/мл) гемцитабина. Инкапсуляция гемцитабина в липосомы обеспечивает долгосрочную стабильность в плазме (до 48 ч) и нацеливание гемцитабина на опухоль [58, 59]. Согласно предварительным результатам клинических исследований, FF-10832 хорошо переносился пациентами. Основными нежелательными явлениями были сыпь (22 %), тошнота (22 %) и лихорадка (21 %). Целлюлит/кожные язвы отмечались при двукратном введении за цикл в дозе  $\geq 23$  мг/м<sup>2</sup>, тромбоцитопения и пневмонит – при дозе, равной 55 мг/м<sup>2</sup>. Установлено также, что максимально переносимая доза при 21-дневном цикле

Таблица 1. Липосомальные композиции гемцитабина  
Table 1. Liposomal formulations of gemcitabine

№	Тип липосом Type of liposomes	Липидная композиция Lipid composition	Эффективность включения*, % Incorporation efficiency, * %	Загрузочная способность**, % Loading capacity**, % by weight	Метод загрузки гемцитабина Gemcitabine loading method	Ссылка Reference
1	Пегелированные Pegylated	HSPC:холестерин:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 15:4:1 (v/v) HSPC:cholesterol:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 15:4:1 (v/v)	97,5	—	Пассивная Passive	[58, 59]
2	Пегелированные Pegylated	HSPC:DSPG:холестерин:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 5:2:0,8 (v/v) HSPC:DSPG:cholesterol:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 5:2:0,8 (v/v)	84,27	—	Пассивная Passive	[50]
3	RGD-модифицированные пегелированные RGD-modified pegylated	PC:холестерин:DSPE-PEG <sub>3500</sub> -RGD 125:55:2 (m/m) PC:cholesterol:DSPE-PEG <sub>3500</sub> -RGD 125:55:2 (m/m)	79,6	6,1	Пассивная Passive	[47]
4	Термочувствительные Thermosensitive	DPPC:DSPC:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 80:15:5 (v/v)	16,9	—	Пассивная: раствор гемцитабина на гидрохлориде с pH 2,8 Passive: gemcitabine hydrochloride solution with pH 2.8	[45]
5			—	12	Пассивная: солиubilизация глюконатом меди Passive: solubilization with copper gluconate	[41]
6	pH-чувствительные pH sensitive	DOPE, SNEWS, DOTAP mPEG <sub>2000</sub> -DSPE	74,05	21,27	Пассивная Passive	[48]
7	Фоточувствительные Photosensitive	DPPC:DOPE:холестерин:СНЕМС:DPP 5:5:1,3:1,6:5,5 (m/m) DPPC:DOPE:cholesterol:СНЕМС:DPP 5:5:1,3:1,6:5,5 (m/m)	37,38	5,23	Пассивная Passive	[46]
8	Иммунолипосомы Immunoliposomes	DPPC:DMPC:DSPC:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE: PDP-mPEG2000-DSPE 4:1:0,1:0,06 (v/v)	54,6	—	Пассивная Passive	[60]
9	Эстрогенрецепторнаправленные пегелированные Estrogen receptor-targeted pegylated	SPC:холестерин:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 4:1:0,25 (v/v) SPC:cholesterol:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 4:1:0,25 (v/v)	56,35	—	Активная: pH-градиент с сульфатом аммония Active: pH gradient with ammonium sulfate	[61]
10	Пегелированные Pegylated	DPPC:холестерин:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 8:3:1 (v/v) DPPC:cholesterol:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 8:3:1 (v/v)	90	—		[62]

Окончание табл. 1  
End of table 1

№	Тип липосом Type of liposomes	Липидная композиция Lipid composition	Эффектив- ность включе- ния*, % Incorporation efficiency, %	Загрузочная способность**, мас. % Loading capacity**, % by weight	Метод загрузки гемитабина Gemcitabine loading method	Ссылка Reference
11	Пегилированные Pegylated	DPPC:холестерин:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 6:3:1 (m/m) DPPC:cholesterol:mPEG <sub>2000</sub> -DSPE 6:3:1 (m/m)	—	3,8	Активная: загрузка малым объемом Low Volume Loading	[39]
12			—	2,4	Активная: гипертоническая загрузка Hypertonic Loading	
13	Фолатмодифицированные соночувствительные Folate-modified sonosensitive	PC:холестерин 5:5:4:5 (v/v) PC:cholesterol 5:5:4:5 (v/v)	86,3	3,73	Активная: pH-градиент с системой буферов Active: pH gradient with buffer system	[55]

\*Эффективность включения — отношение включенного в липосомы лекарственного средства к общему количеству вводимого вещества, выраженное в процентах;  
\*\*загрузочная способность — отношение массы включенного в липосомы лекарственного средства к массе фосфолипидов, выраженное в процентах.

**Примечание.** v/v — молярное соотношение; m/m — массовое соотношение; RGD (arginine-glycine-aspartic acid) — аргинилглицилспарагиновая кислота; CHEMS — холестерин гемисукцинат; DMPC — 1,2-димиристиоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; DOPE — 1,2-диолеил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин; DOTAP — 1,2-диолеил-3-триметиламмоний пропан; DPPC — 1,2-дипальмитоил-sn-глицеро-3-фосфохолин; DPPC — 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфоэтанолламин-N-метокси-полиэтилэнол-2000-фосфорбид А; DSPC — 1,2-дистеароил-sn-глицеро-3-фосфохолин; mPEG<sub>2000</sub>-DSPE — 1,2-дистеароил-3-фосфоэтанолламин-N-метокси-полиэтилэнол-2000; DSPE-PEG<sub>500</sub>-RGD — 1,2-дистеароил-3-фосфоэтанолламин-N-метокси-полиэтилэнол-500-фосфорбид А; HSPC — гидрогенизированный соевый фосфатидилхолин; PC — фосфатидилхолин; PDP-mPEG<sub>2000</sub>-DSPE — 1,2-дистеароил-3-фосфоэтанолламин-N-метокси-полиэтилэнол-2000-N-3-(2-(pyridylidithio)propionate); SPC — соевый фосфатидилхолин.

\*Inclusion efficiency is the ratio of drug incorporated into liposomes to the total amount of drug administered, expressed as a percentage; \*\*loading capacity is the ratio of the mass of drug incorporated into liposomes to the mass of phospholipides, expressed as a percentage.

Note, v/v — molar ratio; m/m — mass ratio; RGD — arginine-glycine-aspartic acid; CHEMS — cholesterol hemisuccinate; DMPC — 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine; DOPE — 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine; DOTAP — 1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium propane; DPPC — 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine; DPPC — 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-methoxy-polyethylene glycol-2000-phosphor-bide A; DSPC — 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine; mPEG<sub>2000</sub>-DSPE — 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-methoxy-polyethylene glycol-2000; DSPE-PEG<sub>500</sub>-RGD — 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-methoxy-polyethylene glycol-500-RGD; DSPC — 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine; PDP-mPEG<sub>2000</sub>-DSPE — 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-methoxy-polyethylene glycol-2000-N-3-(2-(pyridylidithio)propionate); SPC — soy phosphatidylcholine.

терапии составляет 40 мг/м<sup>2</sup>, при 28-дневном цикле – 48 мг/м<sup>2</sup>. Частичный ответ на терапию получен у 3 из 35 пациентов. У больного раком желчного пузыря объем опухоли уменьшился на 50 % к 13-му циклу при режиме введения 40 мг/м<sup>2</sup> каждые 28 дней. У 2 пациентов с РПЖЖ отмечалась регрессия опухоли на 30 %: у 1 больного аденокарциномой после 2 циклов (цикл равен 28 дням) при вводимой дозе 4,8 мг/м<sup>2</sup> на 1-й и 15-й день цикла и у другого больного ацинарно-клеточной карциномой – спустя 7 циклов при дозе 40 мг/м<sup>2</sup> каждые 28 дней. Стабилизация процесса наблюдалась у 16 пациентов [63]. Кроме того, в исследовании безопасности и эффективности фазы IIa у пациентов с солидными опухолями продемонстрированы переносимость и предварительная эффективность FF-10832 в комбинации с антителом PD-1 (programmed cell death protein 1) пембролизумабом (NCT05318573) [64].

В табл. 1 представлены некоторые липосомальные композиции гемцитабина.

## Заключение

Таким образом, липосомы представляют собой перспективную систему доставки гемцитабина, которая позволяет преодолевать различные проблемы традиционных лекарственных форм. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* липосомальные композиции гемцитабина продемонстрировали ряд преимуществ в сравнении со свободным препаратом. С учетом потенциала создания липосомальных систем доставки гемцитабина можно выделить два направления будущих исследований, в свою очередь, требующих решения актуальных проблем: во-первых, разработка эффективных методов загрузки трудноинкапсулируемого в липосомы гемцитабина; во-вторых, повышение эффективности таргетирования липосом гемцитабина к опухоли с помощью антител или специфичных пептидов. Кроме того, требуется оптимизация контроля высвобождения гемцитабина из липосомального носителя, что может быть достигнуто созданием липосом, активируемых внешними факторами.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wu H.L., Zhou H.X., Chen L.M., Wang S.S. Metronomic chemotherapy in cancer treatment: new wine in an old bottle. *Theranostics* 2024;14(9):3548–64. DOI:10.7150/thno.95619
2. Gao Y., Huang Y., Ren C. et al. Construction of cisplatin-18-crown-6 complexes through supramolecular chemistry to improve solubility, stability, and antitumor activity. *Int J Mol Sci* 2024;25(24):13411. DOI:10.3390/ijms252413411
3. Yousfan A., Moursel N., Hanano A. Encapsulation of paclitaxel into date palm lipid droplets for enhanced brain cancer therapy. *Sci Rep* 2024;14(1):32057. DOI:10.1038/s41598-024-83715-7
4. Oun R., Moussa Y.E., Wheate N.J. The side effects of platinum-based chemotherapy drugs: a review for chemists. *Dalton Trans* 2018;47(19):6645–53. DOI: 10.1039/c8dt00838h
5. Bukowski K., Kciuk M., Kontek R. Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy. *Int J Mol Sci* 2020;21(9):3233. DOI:10.3390/ijms21093233
6. Shi Y., van der Meel R., Chen X., Lammers T. The EPR effect and beyond: strategies to improve tumor targeting and cancer nanomedicine treatment efficacy. *Theranostics* 2020;10(17):7921–4. DOI:10.7150/thno.49577
7. Бурдаев Н.И., Николаева Л.Л., Косенко В.В. и др. Липосомы как носители лекарственных средств: классификация, методы получения и применение. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств* 2023;13(2–1):316–32. DOI: 10.30895/1991-2919-2023-508
8. Burdaev N.I., Nikolaeva L.L., Kosenko V.V. et al. Liposomes as drug carriers: classification, preparation methods, and medicinal use. *Vedomosti Nauchnogo centra jekspertizy sredstv medicinskogo primeneniya. Reguljatornye issledovanija i jekspertiza lekarstvennyh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation* 2023;13(2–1):316–32. (In Russ.). DOI:10.30895/1991-2919-2023-508
9. Lu W., Yao J., Zhu X., Qi Y. Nanomedicines: redefining traditional medicine. *Biomed Pharmacother* 2021;134:111103. DOI:10.1016/j.biopha.2020.111103
10. Покатаев И.А., Лядова М.А., Федянин М.Ю. и др. Токсичность и эффективность комбинации гемцитабина и паб-паклитаксела (паклитаксел + альбумин) в Российской популяции больных раком поджелудочной железы: результаты многоцентрового ретроспективного исследования. *Злокачественные опухоли* 2019;9(3):20–30. DOI:10.18027/2224-5057-2019-9-3-20-30
11. Pokataev I.A., Lyadova M.A., Fedyanin M.Yu. et al. Toxicity and efficacy of gemcitabine plus nabpaclitaxel (paclitaxel + albumin) in a Russian patient population: results of a multicenter retrospective study. *Zlokachestvennye opuholi = Malignant Tumours* 2019;9(3):20–30. DOI:10.18027/2224-5057-2019-9-3-20-30
12. Beutel A.K., Halbrook C.J. Barriers and opportunities for gemcitabine in pancreatic cancer therapy. *Am J Physiol Cell Physiol* 2023;324(2):540–52. DOI: 10.1152/ajpcell.00331.2022
13. Коваленко Ю.А., Кукеев И.А., Жариков Ю.О., Пайчадзе А.А. Роль адьювантной лекарственной терапии в комбинированном лечении холангиоцеллюлярного рака. *Вопросы онкологии* 2018;(2):171–6. Kovalenko Yu.A., Kukeev I.A., Zharikov Yu.O., Paichadze A.A. Role of adjuvant drug therapy in combined treatment for cholangiocellular carcinoma. *Voprosy onkologii = Problems in Oncology* 2018;(2):171–6.
14. Heinemann V. Role of gemcitabine in the treatment of advanced and metastatic breast cancer. *Oncology* 2003;64(3):191–206. DOI: 10.1159/000069315
15. Berg T., Nøttrup T.J., Roed H. Gemcitabine for recurrent ovarian cancer – a systematic review and meta-analysis. *Gynecol Oncol* 2019;155(3):530–7. DOI:10.1016/j.ygyno.2019.09.026
16. Mirzaee E., Novin K., Fadavi P. et al. Intravesical gemcitabine for non-muscle invasive bladder cancer after bacillus calmette-guerin treatment failure: a prospective study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2024;25(9):3173–7. DOI:10.31557/APJCP.2024.25.9.3173

16. Sandler A., Ettinger D.S. Gemcitabine: single-agent and combination therapy in non-small cell lung cancer. *Oncologist* 1999;4(3):241–51. PMID: 10394591
17. Переводчикова Н.И. Гемцитабин (Гемзар) и его место в современной противоопухолевой химиотерапии. *PMЖ* 2007;25:1884.  
Perevodchikova N.I. Gemcitabine (Gemzar) and its place in modern antitumor chemotherapy. *Russkij medicinskij zhurnal = Russian Medical Journal* 2007;25:1884.
18. Li P.W., Luo S., Xiao L.Y. et al. A novel gemcitabine derivative-loaded liposome with great pancreas-targeting ability. *Acta Pharmacol Sin* 2019;40(11):1448–56.  
DOI:10.1038/s41401-019-0227-7
19. Mini E., Nobili S., Caciagli B. et al. Cellular pharmacology of gemcitabine. *Ann Oncol* 2006;17(Suppl. 5):v7–12.  
DOI:10.1093/annonc/mdj941
20. Lansakara-P D.S., Rodriguez B.L., Cui Z. Synthesis and *in vitro* evaluation of novel lipophilic monophosphorylated gemcitabine derivatives and their nanoparticles. *Int J Pharm* 2012;429(1-2): 123–34. DOI:10.1016/j.ijpharm.2012.03.014
21. Ciccolini J., Serdjebi C., Peters G.J., Giovannetti E. Pharmacokinetics and pharmacogenetics of Gemcitabine as a mainstay in adult and pediatric oncology: an EORTC-PAMM perspective. *Cancer Chemother Pharmacol* 2016;78(1):1–12.  
DOI:10.1007/s00280-016-3003-0
22. de Sousa Cavalcante L., Monteiro G. Gemcitabine: metabolism and molecular mechanisms of action, sensitivity and chemoresistance in pancreatic cancer. *Eur J Pharmacol* 2014;741:8–16.  
DOI:10.1016/j.ejphar.2014.07.041
23. Mackey J.R., Mani R.S., Selner M. et al. Functional nucleoside transporters are required for gemcitabine influx and manifestation of toxicity in cancer cell lines. *Cancer Res* 1998;58(19):4349–57. PMID:9766663
24. Derissen E.J.B., Beijnen J.H. Intracellular pharmacokinetics of pyrimidine analogues used in oncology and the correlation with drug action. *Clin Pharmacokinet* 2020;59(12):1521–50.  
DOI:10.1007/s40262-020-00934-7
25. Peters G.J., Clavel M., Noordhuis P. et al. Clinical phase I and pharmacology study of gemcitabine (2',2'-difluorodeoxycytidine) administered in a two-weekly schedule. *J Chemother* 2007;19(2): 212–21. DOI:10.1179/joc.2007.19.2.212
26. Gemcitabine. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gemcitabine>.
27. Государственный реестр лекарственных средств. URL: <https://grls.minzdrav.gov.ru/default.aspx>.  
State Register of Medicines. URL: <https://grls.minzdrav.gov.ru/default.aspx>.
28. Burris H.A. 3<sup>rd</sup>, Moore M.J., Andersen J. et al. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 1997;15(6):2403–13.  
DOI:10.1200/JCO.1997.15.6.2403
29. Wei M.Y., Zhuang Y.F., Wang W.M. Gemcitabine for the treatment of patients with osteosarcoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15(17):7159–62.  
DOI:10.7314/apjcp.2014.15.17.7159
30. Sabat C., Ginestet C., Chassagnon G. Gemcitabine and nab-paclitaxel induced interstitial pneumonia. *Diagn Interv Imaging* 2021;102(12):763–4. DOI:10.1016/j.diii.2021.09.005
31. Khan M.F., Gottesman S., Boyella R., Juneman E. Gemcitabine-induced cardiomyopathy: a case report and review of the literature. *J Med Case Rep* 2014;8:220. DOI:10.1186/1752-1947-8-220
32. Moysan E., Bastiat G., Benoit J.P. Gemcitabine versus modified gemcitabine: a review of several promising chemical modifications. *Mol Pharm* 2013;10(2):430–44.  
DOI:10.1021/mp300370t
33. Zheng H., Yang F. Gemcitabine in treating patients with refractory or relapsed multiple myeloma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15(21):9291–3. DOI:10.7314/apjcp.2014.15.21.9291
34. Björn N., Jakobsen I., Udagawa C. et al. The association of four genetic variants with myelosuppression in gemcitabine-treated Japanese is not evident in gemcitabine/carboplatin-treated Swedes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2022;130(4):513–21.  
DOI:10.1111/bcpt.13712
35. Dora C.P., Kushwah V., Yadav V. et al. Gemcitabine-phospholipid complex loaded lipid nanoparticles for improving drug loading, stability, and efficacy against pancreatic cancer. *Mol Pharm* 2024;21(6):2699–712.  
DOI:10.1021/acs.molpharmaceut.3c00983
36. Wang M., Cai R., Zhang Z. et al. NIR-responsive CN-Pt-GEM hydrogel induces necroptosis and immunotherapeutic responses prevent postoperative recurrence and wound infection in lung carcinoma. *J Nanobiotechnology* 2024;22(1):355.  
DOI:10.1186/s12951-024-02568-4
37. Kim B., Park H., Liu H. et al. Hybrid nanoparticles of extracellular vesicles and gemcitabine prodrug-loaded liposomes with enhanced targeting ability for effective pdac treatment. *ACS Appl Bio Mater* 2024;7(9):6025–33.  
DOI: 10.1021/acsabm.4c00658
38. Xu H., Paxton J., Lim J. et al. Development of high-content gemcitabine PEGylated liposomes and their cytotoxicity on drug-resistant pancreatic tumour cells. *Pharm Res* 2014;31(10):2583–92.  
DOI: 10.1007/s11095-014-1353-z
39. Tamam H., Park J., Gadalla H.H. et al. Development of liposomal gemcitabine with high drug loading capacity. *Mol Pharm* 2019;16(7):2858–71. DOI:10.1021/acs.molpharmaceut.8b01284
40. Levine M., Skolnik A.B., Ruha A.M. et al. Complications following antidotal use of intravenous lipid emulsion therapy. *J Med Toxicol* 2014;10(1):10–4. DOI:10.1007/s13181-013-0356-1
41. Tucci S.T., Kheirloomoom A., Ingham E.S. et al. Tumor-specific delivery of gemcitabine with activatable liposomes. *J Control Release* 2019;309:277–88. DOI:10.1016/j.jconrel.2019.07.014
42. Zhang X.J., Jiang X.Y., Ma Y.L. et al. Encapsulating taurine into liposomes: A promising therapeutic for liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2024;30(41):4509–13.  
DOI:10.3748/wjg.v30.i41.4509
43. Large D.E., Abdelmessih R.G., Fink E.A., Auguste D.T. Liposome composition in drug delivery design, synthesis, characterization, and clinical application. *Adv Drug Deliv Rev* 2021;176:113851. DOI:10.1016/j.addr.2021.113851
44. Tang M., Yarragudi S.B., Pan P. et al. Effect of size and pH-sensitivity of liposomes on cellular uptake pathways and pharmacokinetics of encapsulated gemcitabine. *J Liposome Res* 2025;35(1):44–54.  
DOI:10.1080/08982104.2024.2389969
45. Aparicio-Lopez C.B., Timmerman S., Lorino G. et al. Thermosensitive liposomes for gemcitabine delivery to pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancers (Basel)* 2024;16(17):3048.  
DOI:10.3390/cancers16173048
46. Kim D.H., Im B.N., Hwang H.S., Na K. Gemcitabine-loaded DSPE-PEG-PheoA liposome as a photomediated immune modulator for cholangiocarcinoma treatment. *Biomaterials* 2018;183:139–50. DOI:10.1016/j.biomaterials.2018.08.052
47. Tang Z., Feng W., Yang Y., Wang Q. Gemcitabine-loaded RGD modified liposome for ovarian cancer: preparation, characterization and pharmacodynamic studies. *Drug Des Devel Ther* 2019;13:3281–90. DOI:10.2147/DDDT.S211168
48. Zheng Z., Li M., Yang J. et al. Growth inhibition of pancreatic cancer by targeted delivery of gemcitabine via fucoidan-coated pH-sensitive liposomes. *Int J Biol Macromol* 2024;277(Pt 3):134517.  
DOI:10.1016/j.ijbiomac.2024.134517
49. Affram K., Udofot O., Singh M. et al. Smart thermosensitive liposomes for effective solid tumor therapy and *in vivo* imaging. *PLoS One* 2017;12(9):e0185116.  
DOI:10.1371/journal.pone.0185116
50. Gandhi M., Pandya T., Gandhi R. et al. Inhalable liposomal dry powder of gemcitabine-HCl: Formulation, *in vitro* characterization and *in vivo* studies. *Int J Pharm* 2015;496(2):886–95. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2015.10.020

51. Liu Y., Tamam H., Yeo Y. Mixed liposome approach for ratiometric and sequential delivery of paclitaxel and gemcitabine. *AAPS PharmSciTech* 2018;19(2):693–9. DOI: 10.1208/s12249-017-0877-z
52. Ингаляционная терапия. Под ред. С.Н. Авдеева, В.В. Архипова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022; 318 с. Inhalation therapy. Ed. by S.N. Avdeev, V.V. Archipov. Moscow: GEOTAR-Media, 2022; 318 p.
53. Игнатова Г.Л., Белевский А.С. Современные способы ингаляционной доставки лекарств при лечении бронхообструктивных заболеваний. *Астма и аллергия* 2018;2:21–8. Ignatova GL, Belevsky AS. Modern methods of inhaled drug delivery in the treatment of bronchobstructive diseases. *Astma i allergija = Asthma & Allergy* 2018;2:21–8.
54. Zucker D., Marcus D., Barenholz Y., Goldblum A. Liposome drugs' loading efficiency: a working model based on loading conditions and drug's physicochemical properties. *J Control Release* 2009;139(1):73–80. DOI:10.1016/j.jconrel.2009.05.036
55. Omar M.M., Hasan O.A., Zaki R.M., Eleraky N.E. Externally triggered novel rapid-release sonosensitive folate-modified liposomes for gemcitabine: development and characteristics. *Int J Nanomedicine* 2021;16:683–700. DOI:10.2147/IJN.S266676
56. Liu J., Han Y., Zhao M. et al. Unlocking the power of immunotherapy: Combinatorial delivery of plasmid IL-15 and gemcitabine to synergistically remodeling the tumor microenvironment. *Int J Pharm* 2024;655:124027. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2024.124027
57. A phase I dose-escalation study of FF-10832 for treatment of solid tumors including biliary tract cancer. URL: <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03440450?term=liposomal%20gemcitabine&page=9&rank=87>.
58. Higuchi T., Yokobori T., Takahashi R. et al. FF-10832 enables long survival via effective gemcitabine accumulation in a lethal murine peritoneal dissemination model. *Cancer Sci* 2019;110(9):2933–40. DOI: 10.1111/cas.14123
59. Matsumoto T., Komori T., Yoshino Y. et al. A liposomal gemcitabine, FF-10832, improves plasma stability, tumor targeting, and antitumor efficacy of gemcitabine in pancreatic cancer xenograft models. *Pharm Res* 2021;38(6):1093–106. DOI:10.1007/s11095-021-03045-5
60. Shin D.H., Koo M.J., Kim J.S. Herceptin-conjugated temperature-sensitive immunoliposomes encapsulating gemcitabine for breast cancer. *Arch Pharm Res* 2016;39(3):350–8. DOI:10.1007/s12272-016-0707-y
61. Tang H., Zhang Z., Zhu M. et al. Efficient delivery of gemcitabine by estrogen receptor-targeted pegylated liposome and its anti-lung cancer activity *in vivo* and *in vitro*. *Pharmaceutics* 2023;15(3):988. DOI:10.3390/pharmaceutics15030988
62. Celano M., Calvagno M.G., Bulotta S. et al. Cytotoxic effects of gemcitabine-loaded liposomes in human anaplastic thyroid carcinoma cells. *BMC Cancer* 2004;4:63. DOI:10.1186/1471-2407-4-63
63. Borazanci E.H., Janku F., Hamilton E.P. et al. A phase 1, first-in-human, dose-escalation and biomarker trial of liposomal gemcitabine (FF-10832) in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2022;40(16):3097. DOI:10.1200/JCO.2022.40.16\_suppl.3097
64. Langer C.J., Curti B.D., Farber C.M. et al. A phase 2a safety run-in and preliminary efficacy study of liposomal gemcitabine (FF-10832) in combination with pembrolizumab in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2024;42(Suppl. 16): 2615. DOI:10.1200/JCO.2024.42.16\_suppl.2615

#### Вклад авторов

Г.А. Оборотов: планирование обзора, поиск материалов, написание, редактирование и оформление обзора;  
 М.В. Дмитриева: планирование и редактирование обзора, критический анализ материала, подготовка финальной версии;  
 А.П. Колпаксиди, С.Д. Щеглов: поиск материалов, перевод, редактирование обзора;  
 И.И. Краснюк: планирование и дизайн обзора, редактирование и утверждение конечной версии.

#### Author's contributions

G.A. Oborotov: planning the review, searching for materials, writing, editing and formatting the review;  
 M.V. Dmitrieva: planning and editing the review, critical analysis of the material, preparation of the final version;  
 A.P. Kolpaksidi, S.D. Shceglov: searching for materials, translation, review editing;  
 I.I. Krasniuk: review planning and design, editing and approval of the final version.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

Г.А. Оборотов / G.A. Oborotov: <https://orcid.org/0009-0001-5671-1923>  
 М.В. Дмитриева / M.V. Dmitrieva: <https://orcid.org/0000-0001-6740-5692>  
 А.П. Колпаксиди / A.P. Kolpaksidi: <https://orcid.org/0000-0001-9388-1019>  
 С.Д. Щеглов / S.D. Shceglov: <https://orcid.org/0009-0002-0777-0422>  
 И.И. Краснюк / I.I. Krasniuk: <https://orcid.org/0000-0002-7242-2988>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

**Финансирование.** Данное исследование не имело какой-либо поддержки от сторонних организаций.

**Funding.** This study did not have any support from outside organizations.

Статья поступила: 14.01.2025. Принята в печать: 03.03.2025. Опубликовано онлайн: 00.00.2025.

Article received: 14.01.2025. Accepted for publication: 03.03.2025. Published online: 00.00.2025.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-57-64>

# Корреляция экспрессии рецепторов трансферрина CD71 с экспрессией молекул адгезии ICAM-1 клетками рака молочной железы

С. В. Чулкова<sup>1,2</sup>, Е. Н. Шолохова<sup>1</sup>, И. В. Поддубная<sup>3</sup>, И. С. Стилиди<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Российский национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1а;

<sup>3</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Россия, 125993 Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

**Контакты:** Светлана Васильевна Чулкова [chulkova@mail.ru](mailto:chulkova@mail.ru)

**Введение.** Рецептор трансферрина 1 (CD71) играет жизненно важную роль в регулировании импорта клеточного железа. Клетки рака абберантно экспрессируют рецепторы трансферрина 1 (CD71). Экспрессия рецепторов CD71 влияет на многие аспекты онкогенеза. Изучение экспрессии CD71 клетками рака молочной железы (РМЖ) может помочь раскрыть особенности биологии опухоли с целью выбора приоритетного вида лекарственного лечения.

**Цель исследования** – изучить CD71-фенотип клеток РМЖ и оценить его взаимосвязь с молекулами адгезии.

**Материалы и методы.** Изучены образцы опухоли, полученные от больных РМЖ, которые получили лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина». На криостатных срезах опухоли методом иммунофлуоресценции оценивали CD71-фенотип (рецепторы трансферрина), CD54-фенотип (молекула межклеточной адгезии ICAM-1), CD29-фенотип (общая  $\beta$ -субъединица антигенов VLA). Использовали люминесцентный микроскоп ZEISS (AXIOSKOP, Германия). Оценка выполнена полуколичественным методом: выделяли 2 типа позитивной реакции по Hammerling (мозаичную и мономорфную). С помощью таблиц сопряженности признаков (точный критерий Фишера или тест  $\chi^2$  по Пирсону) изучена корреляция экспрессии молекул трансферриновых рецепторов и молекул адгезии.

**Результаты.** Фенотип РМЖ соответствовал CD71 мономорфному, что отмечено в 64,4 % образцов ( $n = 61$ ). Молекулы адгезии экспрессированы в большинстве образцов.  $\beta$ 1-интегрины CD29 представлены мономорфно в 51,6 %. Экспрессирующие молекулы адгезии опухоли ICAM-1 в 37 случаях демонстрировали мономорфный тип экспрессии рецептора, а в 17 случаях – мозаичный. Экспрессия молекул CD71 была достоверно связана с экспрессией рецепторов адгезии CD54. Это заключалось в том, что CD71-позитивные опухоли чаще демонстрировали экспрессию рецептора CD54, и это выражалось в мономорфном типе реакции, что составляло 33 % против 10,5 % (0,293,  $p = 0,008$ ). При мозаичном CD71-фенотипе доля опухолей, мозаично экспрессирующих молекулы  $\beta$ 1-интегринов CD29, составила 80,0 %, тогда как при мономорфном CD71-фенотипе – 33,3 %, в большинстве случаев (52,4 %) наблюдались опухоли с мономорфной экспрессией CD29 (против 20,0 % при мозаичном фенотипе).

**Заключение.** Клетки РМЖ характеризуются гиперэкспрессирующим фенотипом CD71, который находится во взаимосвязи с экспрессией молекул адгезии CD54 (ICAM-1). Мономорфная экспрессия молекул  $\beta$ 1-интегринов, которая имеется в CD71-позитивных опухолях (с мономорфным типом реакции), указывает на то, что эти клетки обладают более высоким метастатическим потенциалом.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, трансферриновый рецептор 1 (CD71), молекулы адгезии, иммунофлуоресценция

**Для цитирования:** Чулкова С. В., Шолохова Е. Н., Поддубная И. В., Стилиди И. С. Корреляция экспрессии рецепторов трансферрина CD71 с экспрессией молекул адгезии ICAM-1 клетками рака молочной железы. Российский биотерапевтический журнал 2025;24(1):57–64.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-57-64>

## Correlation of CD71 transferrin receptor expression with ICAM-1 adhesion molecule expression by breast cancer cells

Svetlana V. Chulkova<sup>1,2</sup>, Elena N. Sholokhova<sup>1</sup>, Irina V. Poddubnaya<sup>3</sup>, Ivan S. Stilidi<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115522, Russia;

<sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1a Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia;

<sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Ministry of Health of Russia; Bld. 1, 2/1 BARRIKADNAYA St., 125993 Moscow, Russia

**Contacts:** Svetlana Vasilievna Chulkova [chulkova@mail.ru](mailto:chulkova@mail.ru)

**Background.** Transferrin receptor 1 (CD71) plays a vital role in regulating cellular iron import. Cancer cells aberrantly express transferrin receptor 1 (CD71). Expression of CD71 receptors influences many aspects of tumorigenesis. Studying the expression of CD71 in breast cancer cells may reveal the peculiarities of tumor biology in order to select a priority type of drug treatment.

**Aim.** Study the CD71 phenotype of breast cancer cells and evaluate its relationship with adhesion molecules.

**Materials and methods.** We studied tumor samples obtained from breast cancer patients who were treated at the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology. On cryostat sections of the tumor, the CD71 phenotype (transferrin receptors), CD54 phenotype (intercellular adhesion molecule ICAM-1), and CD29 phenotype (common  $\beta$ -subunit of VLA antigens) were assessed using immunofluorescence. A ZEISS luminescent microscope (AXIOSKOP, Germany) was used. The assessment was performed using a semi-quantitative method: two types of positive reaction were identified according to Hammerling (mosaic and monomorphic). Using contingency tables (Fisher's exact test or Pearson's  $\chi^2$  test), the correlation between the expression of transferrin receptor molecules and adhesion molecules was studied.

**Results.** The phenotype of breast cancer corresponded to CD71 monomorphic, which was noted in 64.4 % of samples ( $n = 61$ ). Adhesion molecules were expressed in the majority of samples.  $\beta$ -1 CD29 integrins are presented monomorphically in 51.6 %. Expressing tumor adhesion molecules ICAM-1 in 37 cases showed a monomorphic type of receptor expression, and in 17 cases – mosaic. The expression of CD71 molecules was significantly associated with the expression of CD54 adhesion receptors. This was that CD71 positive tumors more often demonstrated expression of the CD54 receptor and this was expressed in a monomorphic type of reaction, which was 33 % versus 10.5 % (0.293,  $p = 0.008$ ). With the mosaic CD71 phenotype, the proportion of tumors mosaically expressing CD29  $\beta$ 1-integrin molecules was 80.0 %, while with the CD71 monomorphic phenotype it was 33.3 %, in most cases (52.4 %) tumors with monomorphic expression of CD29 were observed (versus 20.0 % for mosaic phenotype).

**Conclusion.** Breast cancer cells are characterized by an overexpression phenotype of CD71, which is correlated with the expression of CD54 adhesion molecule (ICAM-1). The monomorphic expression of  $\beta$ 1-integrin molecules, which occurs in CD71 positive tumors (with a monomorphic type of reaction), indicates that these cells have a higher metastatic potential.

**Keywords:** breast cancer, transferrin receptor 1 (CD71), adhesion molecules, immunofluorescence

**For citation:** Chulkova S.V., Sholokhova E.N., Poddubnaya I.V., Stilidi I.S. Correlation of CD71 transferrin receptor expression with ICAM-1 adhesion molecule expression by breast cancer cells. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2025;24(1):57–64. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-57-64>

### Введение

Среди злокачественных новообразований рак молочной железы (РМЖ) является ведущей причиной смертности и имеет самый высокий уровень заболеваемости среди женщин во всем мире [1]. Совершенствование методов лечения позволило значительно улучшить выживаемость больных РМЖ [2, 3]. Однако достаточно большое число пациенток погибает в результате развития метастазов и резистентности опухоли к химиолучевой терапии [2–4]. Именно поэтому крайне важно исследовать механизмы, которые приводят к возникновению метастазов опухоли, определяя предиктивные и прогностические марке-

ры [5–7]. Многие из таких исследований посвящены изучению молекулярных и иммунологических маркеров РМЖ [8, 9].

Железо – важнейший микроэлемент, незаменимый для многих биологических процессов, таких как репликация ДНК, эритропоэз, клеточный цикл, окислительный метаболизм, митохондриальные респираторные и клеточные иммунные реакции [10, 11]. Большинству клеток рака необходима высокая концентрация клеточного железа для обеспечения их быстрой пролиферации и роста [11, 12]. Системный и внутриклеточный гомеостаз железа строго поддерживается в сложной системе и опосредован поглощением,

хранением, использованием и экспортом железа [10–13].

Основным белком, необходимым для усвоения железа, является рецептор трансферрина 1 (CD71), который встречается преимущественно в виде гомодимера [14]. CD71 представляет собой трансмембранный гликопротеин, который эндоцитозуется из клеточной мембраны после связывания железа с трансферрином, сывороточным белком – переносчиком железа [14]. Напротив, трансферриновый рецептор 2 экспрессируется в определенных тканях, таких как печень и двенадцатиперстная кишка, а также в эритроцитах и играет незначительную роль в поглощении железа. Учитывая важную роль CD71, нарушение его регуляции может быть связано с постоянной стимуляцией железом, а также с развитием и прогрессированием рака [15]. При нескольких типах злокачественных новообразований (рак легкого, рак печени, рак толстой кишки) выявлена aberrантная экспрессия CD71 [13, 15]. Кроме того, обнаружено, что экспрессия CD71 влияет на многие аспекты онкогенеза, такие как пролиферация, миграция, инвазия, апоптоз и метастазирование опухолевых клеток [13].

Для межклеточных взаимодействий необходимо сцепление клеток между собой, что обеспечивается посредством специальных лигандо-рецепторных связей такими молекулами, как CD54, CD29 [16]. Эти молекулы относятся к семейству гетеродимерных трансмембранных гликопротеинов. CD29 – общая  $\beta$ -субъединица белкового семейства очень поздних антигенов (VLA) или  $\beta$ 1-интегринов, молекула межклеточной адгезии ICAM-1 (CD54) входит в состав суперсемейства гена иммуноглобулинов.

Экспрессия этих молекул изменяется в результате некоторых генетических неврологических расстройств, повреждений, онкогенной трансформации. Молекулы CD29 участвуют не только в межклеточной адгезии, но и в прикреплении клетки к базальной мембране и компонентам межклеточного матрикса [17]. Экспрессия  $\beta$ 1-субъединицы интегрин в норме наблюдается в ткани покровного эпителия яичников, гранулезных клеток, маточных труб, эндометрия и цервикального канала. В частности, наличие этого маркера установлено в участках прикрепления эпителиальных клеток к базальной мембране и межклеточных соединений. Клетки рака могут характеризоваться как сниженной частотой экспрессии CD29, так и повышенной. При некоторых видах рака показано, что опухолевые клетки с повышенной экспрессией  $\beta$ 1-субъединицы интегрин резистентны к препаратам платины, анти-Her2-neu и анти-PI3K препаратам [17–19].

Молекула ICAM-1 играет важную роль в клеточной адгезии, передаче сигналов клетками и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов к местам воспале-

ния [20]. ICAM-1 может способствовать перемещению (или удержанию) клеток через внеклеточный матрикс. ICAM-1 конститутивно экспрессируется на низких уровнях на эндотелиальных клетках и некоторых лимфоцитах и моноцитах. Сообщается, что экспрессия ICAM-1 повышена при различных видах злокачественных опухолей (почечно-клеточный рак, рак поджелудочной железы, рак легкого) [21–23]. Для некоторых видов опухолей с высоким уровнем экспрессии ICAM-1 отмечена корреляция с метастазами и плохим прогнозом [24]. Ингибирование нуклеарного фактора каппа-би подавляет экспрессию ICAM-1, что приводит к уменьшению инвазии клеток рака легкого [23].

Изучение фенотипических признаков первичной опухоли при РМЖ и разработка информативной комбинации маркеров является актуальной проблемой в современной онкологии. Цель данного исследования – изучить экспрессию CD71 в ткани РМЖ, оценить связь экспрессии молекул CD71 с молекулами адгезии.

### Материалы и методы

Образцы опухолевой ткани молочной железы собраны и изучены в лаборатории иммунологии гемопоза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». Исследование выполнено согласно принципам добровольности и конфиденциальности в соответствии с Основами законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан. Все пациентки подписали информированное согласие на участие в исследовании. Образцы опухолевой ткани молочной железы получены после гистологической верификации диагноза, выполненной до начала любого вида лечения. В исследование включены 82 образца опухолевой ткани молочной железы, полученные от больных РМЖ, средний возраст которых составил  $54 \pm 10,1$  года. По морфологическим данным в 55 (67 %) образцах опухоли были представлены инвазивной протоковой аденокарциномой, а в 18 (22 %) – дольковой аденокарциномой, редкие формы встречались в 9 (11 %) случаях. Степень дифференцировки соответствовала высокой в 2 (2,6 %) случаях, умеренной – в 52 (76,5 %) и низкой – в 14 (20,6 %) наблюдениях.

Опухоли классифицированы согласно критериям TNM (tumor, nodus, metastasis) Международного противоракового союза (Union for International Cancer Control's – UICC). В соответствии с классификацией TNM установлено следующее: T1 – 2 (2,4 %), T2 – 59 (72 %), T3 – 3 (3,6 %), T4 – 18 (22 %), N1 – 54 (65,9 %), N2 – 17 (20,7 %), в остальных – N3.

Выполнено иммуногистохимическое исследование для оценки рецепторного статуса. Экспрессия рецепторов эстрогенов отмечена в 28 (34 %) опухолях, рецепторов прогестерона – в 29 (35 %).

После получения образцов опухоли в лаборатории на криостате готовили срезы опухолевой ткани толщиной 3–5 мм, размещали на предметных стеклах, проводили фиксацию ацетоном при 4 °С. После отмывания ацетона на срезы раскапывали антитела, инкубировали 30 мин во влажной камере. На II этапе наносили ФИТЦ-меченные F(ab) 2-фрагменты антисыворотки, инкубировали, отмывали и фиксировали глицерином 50 %. Антитела, применяемые в работе, представлены в табл. 1.

Готовые препараты изучали с помощью люминесцентной микроскопии (ZEISS (AXIOSKOP, Германия)). Реакцию учитывали после подтверждения положительного связывания с антителом KL-1. Оценку экспрессии трансферриновых рецепторов CD71, рецептора адгезии ICAM-1 (CD54),  $\beta$ 1-интегринов CD29 выполняли следующим образом. При наличии мембранного или цитоплазматического свечения: более чем в 80 % опухолевых клеток – считали, что экспрессия была мономорфного типа, более чем в 10–80 % опухолевых клеток – экспрессия мозаичного типа. В остальных случаях результат трактовали как отсутствие экспрессии на клетках изучаемого антигена.

Для статистической обработки полученных данных применяли пакет IBM-SPSS Statistics v.21. Статистический анализ проводили с использованием точного критерия Фишера,  $\chi^2$  по Пирсону. Для сопоставления уровня экспрессии и анализируемых признаков проводили корреляционный анализ с определением коэффициента Спирмена ( $R$ ), различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

В результате оценки экспрессии CD71-клетками РМЖ установлено, что опухоли в 61 случае были антигенпозитивными, что составило 64,4 %. Среди

антигенпозитивных опухолей отмечены 2 типа экспрессии CD71: мономорфный и мозаичный. Чаще клетки РМЖ демонстрировали мономорфный тип реакции, и это наблюдалось в 48 (58,5 %) образцах (табл. 2). В остальных CD71-позитивных случаях нами установлена мозаичная реакция.

Оценка экспрессии молекулы  $\beta$ 1-интегринов CD29-клетками РМЖ показала, что большинство опухолей носило антигенпозитивный характер. При этом отмечены и мономорфная, и мозаичная экспрессия молекулы  $\beta$ 1-интегринов CD29 в ткани опухоли. Мозаичную CD29 реакцию наблюдали в 33,3 % случаев, а мономорфную – в 52,4 % образцов.

В отношении рецептора адгезии ICAM-1 получены несколько иные данные. Клетки РМЖ в 1/2 случаев характеризовались отсутствием ICAM-1 на клеточной поверхности, то есть были CD54-антигеннегативными. Экспрессирующие молекулы адгезии опухоли в 37 случаях демонстрировали разный фенотип: мономорфный тип экспрессии рецептора ICAM-1 в 22, а в 17 случаях реакция выглядела мозаичной.

Таким образом, на I этапе было установлено, что клетки РМЖ в большинстве своем являются CD71- и CD29-позитивными, при этом зачастую тип экспрессии трансферриновых рецепторов и молекул  $\beta$ 1-интегринов – мономорфный. Напротив, экспрессию рецептора адгезии ICAM-1 клетками РМЖ наблюдали реже, и 1/2 случаев характеризовалась отсутствием ICAM-1 на клеточной поверхности. Мономорфную CD54 реакцию наблюдали менее чем в 33,3 %.

Экспрессия рецепторов трансферрина вовлечена во многие процессы онкогенеза (пролиферацию, миграцию, инвазию и метастазирование опухолевых клеток), поэтому полученные результаты могут свидетельствовать о пуле опухолевых клеток с высокой пролиферативной, инвазивной способностью.

Таблица 1. Антитела для иммунофенотипирования опухоли

Table 1. Antibodies for tumor immunophenotyping

№	Антитело Antibody	Клон Clone	Предназначение Purpose
1	KL-1	–	Набор к цитокератинам Panel for cytokeratins
2	CD71	Mouse BALB/c IgG2a	Рецептор трансферрина 1 Transferrin receptor 1
3	CD29	MAR4	$\beta$ 1-субъединица интегринов $\beta$ 1 integrin subunit
4	CD54	HA58	Молекула межклеточной адгезии 1 Intercellular adhesion molecule 1
5	F(ab) 2-фрагменты F(ab) 2-fragments	M1-14D12	ФИТЦ-меченные фрагменты антивидовых антител IgG1 FITC-labeled fragments of anti-species IgG1 antibodies

Таблица 2. Фенотип клеток рака молочной железы

Table 2. Phenotype of breast cancer cells

Рецепторы Receptors	Фенотип опухоли, абс. (%) Tumor phenotype, abs. (%)			Всего Total
	негативный negative	мозаичный mosaic	мономорфный monomorphic	
TfR1 (CD71)	19 (35,6)	13 (15,9)	48 (58,5)	80 (100)
ICAM-1 (CD54)	43 (53,7)	15 (18,8)	22 (27,5)	80 (100)
$\beta$ 1-интегрины (CD29) $\beta$ 1-integrin (CD29)	3 (14,3)	12 (33,3)	15 (52,4)	30 (100)

Таблица 3. Взаимосвязь CD71 фенотипа клеток рака молочной железы с экспрессией молекул адгезии ICAM-1 и  $\beta$ 1-интегриновTable 3. Relationship between the CD71 phenotype of breast cancer cells and the expression of adhesion molecules ICAM-1 and  $\beta$ 1-integrins

Параметр Parameter	CD 71-фенотип опухоли, абс. (%) CD71 Tumor phenotype, abs. (%)		
	Негативный Negative	Мозаичный Mosaic	Мономорфный Monomorphic
CD54-фенотип, $p = 0,027$ CD54 phenotype, $p = 0.027$			
Негативный Negative	15 (78,9)		27 (45,0)
Мозаичный Mosaic	2 (10,5) *		13 (21,7) *
Мономорфный Monomorphic	2 (10,5) *		20 (33,3) *
Параметр Parameter	CD 71-фенотип опухоли CD71 Tumor phenotype		
CD29-фенотип, $p = 0,213$ CD29 phenotype, $p = 0.213$	Негативный Negative	Мозаичный Mosaic	Мономорфный Monomorphic
Негативный Negative	0,0	0,0	3 (14,3)
Мозаичный Mosaic	1 (25,0)	4 (80,0)	7 (33,3)
Мономорфный Monomorphic	3 (75,0)	1 (20,0)	11 (52,4)

\*Различия достоверны,  $p < 0,05$ .\*Differences are significant,  $p < 0.05$ .

Это вполне согласуется с клиническими и морфологическими характеристиками опухолей, среди которых преобладают умеренно дифференцированные карциномы стадии T2–4N<sup>+</sup>.

Мономорфная экспрессия молекул  $\beta$ 1-интегринов, которая имеется в CD71-позитивных опухолях, а именно с мономорфным типом реакции, указывает на то, что эти клетки обладают более высоким метастатическим потенциалом. Известно, что эпителиально-мезенхимальный переход сопровождается увеличением экспрессии молекул  $\beta$ 1-интегринов, и это способствует диссеминации опухолей. Именно

поэтому опухоли с мономорфным CD29-фенотипом РМЖ, по всей вероятности, чаще метастазируют. Действительно, по данным литературы, при раке наблюдается повышенная экспрессия молекул  $\beta$ 1-интегринов CD29, что сопровождается более агрессивным поведением опухоли [19]. Клетки рака с экспрессией молекул  $\beta$ 1-интегринов резистентны к препаратам платины, а также к анти-HER<sup>2</sup>-neu и анти-PI3K препаратам [18].

Экспрессия в большинстве случаев рецептора ICAM-1 дополнительно подчеркивает правомочность приведенных ранее рассуждений, поскольку известно,

что присутствие ICAM-1 на клетках опухоли коррелирует с метастазированием [24].

На II этапе выполнено изучение взаимосвязи между экспрессией трансферриновых рецепторов CD71-клетками РМЖ и молекул адгезии ICAM-1, а также молекул  $\beta$ 1-интегринов. По результатам анализа установлено, что экспрессия молекул CD71 достоверно связана с экспрессией рецепторов адгезии CD54. Это заключалось в том, что CD71-позитивные опухоли чаще демонстрировали экспрессию рецептора CD54, и это выражалось в мономорфном типе реакции, что составляло 33 % против 10,5 % в CD71-негативных опухолях ( $p = 0,027$ ; табл. 3).

Полученные результаты демонстрируют, что отсутствие трансферриновых рецепторов на клетках рака (CD71-негативные опухоли) часто сопровождалось CD54-негативным фенотипом. При более подробном анализе обращало внимание, что частота экспрессии молекул ICAM-1 в пределах CD71-позитивных опухолей значительно варьировала от мономорфного типа реакции до ее полного отсутствия (рис. 1). При этом следует отметить, что опухоли с мозаичным CD71-фенотипом чаще были CD54-негативными, чем с мономорфным CD71-фенотипом (46,2 % против 23,4 %). Интересно, что мономорфно CD71-экспрессирующие опухоли характеризовались нарастанием доли мозаичного ICAM-1-фенотипа, что совокупно увеличивало процент ICAM-1-позитивного большинства с 15,4 до 44,7 % ( $R = 0,293$ ,  $p = 0,008$ ).

Оценка взаимосвязи фенотипа CD71 с экспрессией молекулы  $\beta$ 1-интегринов CD29 показала, что частота опухолей с мономорфным CD29-фенотипом

нарастала при увеличении частоты экспрессии CD71. При мозаичном CD71-фенотипе доля опухолей, мозаично экспрессирующих молекулы  $\beta$ 1-интегринов CD29, составила 80,0 %, тогда как при мономорфном CD71-фенотипе – 33,3 %. В большинстве случаев мономорфного CD71-фенотипа (52,4 %) наблюдались опухоли с мономорфной экспрессией CD29 (против 20,0 % при мозаичном фенотипе). Однако не наблюдалось статистической значимости, что, по всей вероятности, связано с небольшой выборкой. Тем не менее, учитывая сведения в отношении трансферриновых рецепторов и молекул  $\beta$ 1-интегринов при раке, полученные данные позволяют предположить, что пул клеток РМЖ с мономорфным CD71 и CD29-фенотипом является менее дифференцированным, с более выраженным метастатическим потенциалом. Сообщается, что мономорфная экспрессия молекулы  $\beta$ 1-интегринов CD29-клетками РМЖ коррелировала с резистентностью опухоли к лекарственной терапии [22]. Таким образом, эти результаты в совокупности с нашими данными указывают на то, что опухоли с мономорфным CD71- и CD29-фенотипом, по-видимому, будут отличаться неблагоприятным прогнозом. Вследствие этого целесообразны исследования в большей когорте больных с детальным изучением CD71- и CD29-фенотипов в зависимости от морфологических, молекулярно-биологических параметров опухоли, включая суррогатные подтипы РМЖ и анализ отдаленных результатов лечения. В дальнейшем, принимая во внимание данные литературы, оценка влияния изученных фенотипов на прогноз заболевания может быть полезна с целью выбора

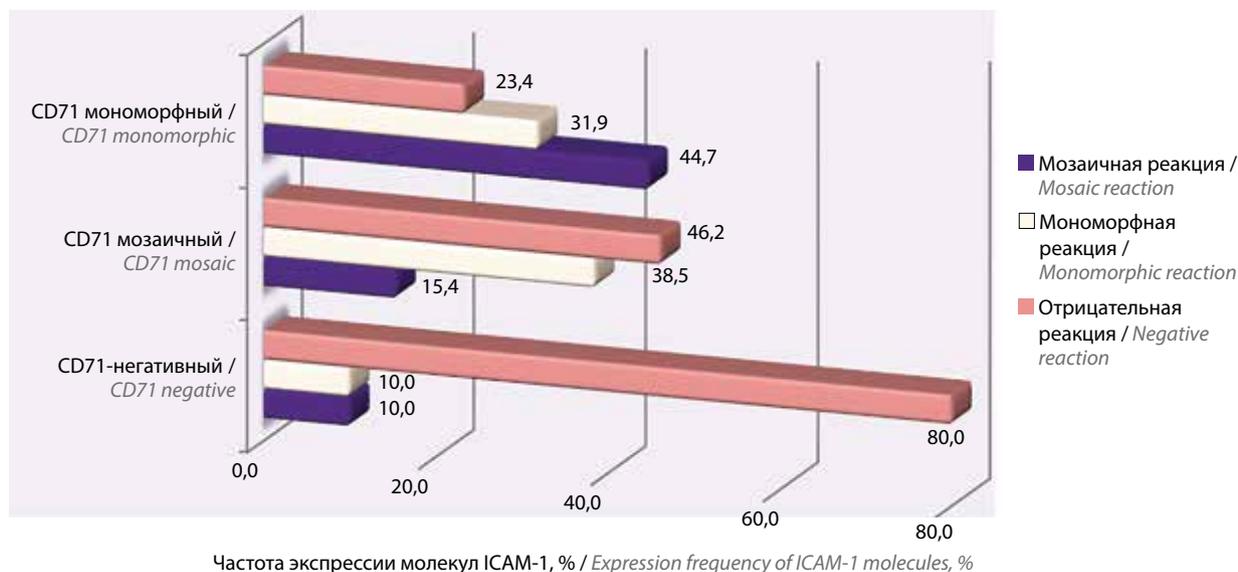


Рис. 1. Экспрессия молекул ICAM-1 (CD54) в зависимости от CD71-фенотипа клеток рака молочной железы  
Fig. 1. Expression of ICAM-1 (CD54) molecules depending on the CD71 phenotype of breast cancer cells

существующего и разработки нового приоритетного вида лекарственной терапии РМЖ.

### Заключение

Результаты изучения фенотипа опухолевых клеток при РМЖ демонстрируют, что данный вид рака характеризуется гиперэкспрессией рецепторов трансферрина I, при этом тип экспрессии преимущественно мономорфный, что отражает высокую пролиферативную активность пула опухолевых клеток. Мономорфный CD71-фенотип в 1/2 случаев сочетается с мономорфным типом экспрессии молекул  $\beta$ 1-интегринов, что указывает на более высокий ме-

тастатический потенциал данной популяции клеток. Мономорфно CD71-экспрессирующие опухоли дополнительно характеризовались нарастанием доли мозаичного ICAM-1-фенотипа, что совокупно увеличивало процент ICAM-1-позитивного большинства.

Более масштабные исследования фенотипов CD71 и CD29 в зависимости от молекулярно-биологических параметров РМЖ, включая суррогатные подтипы, а также анализ влияния фенотипа на прогноз заболевания, могут обеспечить новую платформу для разработки приоритетного вида лекарственного лечения РМЖ на основе фенотипа первичной опухоли.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Bray F, Ferlay J., Soerjomataram I. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68:394–424. DOI: 10.3322/caac.21492
- Sung H., Ferlay J., Siegel RL. et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71:209–49. DOI: 10.3322/caac.21660
- Esteva F.J., Hubbard-Lucey V.M., Tang J. et al. Immunotherapy and targeted therapy combinations in metastatic breast cancer. *Lancet Oncol* 2019;20:e175–86. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30026-9
- Liu B., Fan Y., Song Z. et al. Identification of DRP1 as a prognostic factor correlated with immune infiltration in breast cancer. *Int Immunopharmacol* 2020;89:107078. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.107078
- Рябчиков Д.А., Абдуллаева Э.И., Дудина И.А. и др. Роль микро-РНК в канцерогенезе и прогнозе злокачественных новообразований молочной железы. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии* 2018;18(2):5. Ryabchikov D.A., Abdullaeva E.I., Dudina I.A. et al. The role of microRNA in carcinogenesis and prognosis of malignant neoplasms of the mammary gland. *Vestnik Rossiiskogo nauchnogo tsentra rentgenoradiologii = Bulletin of the Russian Scientific Center of Roentgenology and Radiology* 2018;18(2):5. (In Russ.).
- Sinn B.V., Weber K.E., Schmitt W.D. et al. Human leucocyte antigen class I in hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer: association with response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2019;21:142. DOI: 10.1186/s13058-019-1231-z
- Рябчиков Д.А., Безнос О.А., Дудина И.А. и др. Диссеминированные опухолевые клетки у пациентов с люминальным раком молочной железы. *Российский биотерапевтический журнал* 2018;17(1):53–7. DOI:10.17650/1726-9784-2018-17-1-53-57 Ryabchikov D.A., Beznos O.A., Dudina I.A. et al. Disseminated tumor cells in patients with luminal breast cancer. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2018;17(1):53–7. (In Russ.). DOI:10.17650/1726-9784-2018-17-1-53-57
- Титов К.С., Казаков А.М., Барышникова М.А. и др. Некоторые молекулярные и иммунологические факторы прогноза трижды негативного рака молочной железы. *Онкогинекология* 2019;32(4):26–34. DOI: 10.52313/22278710\_2019\_4\_26 Titov K.S., Kazakov A.M., Baryshnikova M.A. et al. Some molecular and immunological prognostic factors in triple-negative breast cancer. *Onkoginekologiya = Oncogynecology* 2019;32(4):26–34. (In Russ.). DOI:10.52313/22278710\_2019\_4\_26
- Талипов О.А., Рябчиков Д.А., Чулкова С.В. и др. Метилирование генов супрессорных микроРНК при раке молочной железы. *Онкогинекология* 2020;34(2):14–22. DOI:10.52313/22278710\_2020\_2\_14 Talipov O.A., Ryabchikov D.A., Chulkova S.V. et al. Methylation of suppressor microRNA genes in breast cancer. *Onkoginekologiya = Oncogynecology* 2020;34(2):14–22. (In Russ.). DOI:10.52313/22278710\_2020\_2\_14
- Hentze M.W., Muckenthaler M.U., Galy B. et al. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell* 2010;142:24–38. DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.028
- Wang Y., Yu L., Ding J., Chen Y. Iron metabolism in cancer. *Int J Mol Sci* 2018;20(1):95. DOI: 10.3390/ijms20010095
- Marques O., Porto G., Réma A. et al. Local iron homeostasis in the breast ductal carcinoma microenvironment. *BMC Cancer* 2016;16:187. DOI: 10.1186/s12885-016-2228-y
- Daniels T.R., Delgado T., Rodriguez J.A. et al. The transferrin receptor part I: biology and targeting with cytotoxic antibodies for the treatment of cancer. *Clin Immunol* 2006;121(2):144–58. DOI: 10.1016/j.clim.2006.06.010
- Kawabata H. Transferrin and transferrin receptors update. *Free Radic Biol Med* 2019;133:46–54. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.06.037
- Shen Y., Li X., Dong D. et al. Transferrin receptor 1 in cancer: a new sight for cancer therapy. *Am J Cancer Res* 2018;8(6):916. PMID: 30034931
- Stevens A.J., Harris A.R., Gerdt J. Programming multicellular assembly with synthetic cell adhesion molecules. *Nature* 2023;614(7946):144–152. DOI: 10.1038/s41586-022-05622-z
- Hanker A.B., Estrada M.V., Bianchini G. et al. Extracellular matrix/integrin signaling promotes resistance to combined inhibition of Her2 and Pi3k in Her2(+) breast cancer. *Cancer Res* 2017;77(12):3280–92. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2808
- Huang C., Park C.C., Hilsenbeck S.G. et al. Beta1 integrin mediates an alternative survival pathway in breast cancer cells resistant to lapatinib. *Breast Cancer Res* 2011;13(4):R844. DOI: 10.1186/bcr2936

19. Dötzer K., Schlüter F., Koch F. et al. Integrin  $\alpha 2 \beta 1$  represents a prognostic and predictive biomarker in primary ovarian cancer. *Biomedicines* 2021;9(3):289. DOI: 10.3390/biomedicines9030289
20. Yang L., Froio R.M., Sciuto T.E. et al. ICAM-1 regulates neutrophil adhesion and transcellular migration of TNF- $\alpha$ -activated vascular endothelium under flow. *Blood* 2005;106(2):584–92. DOI: 10.1182/blood-2004-12-4942
21. Hemmerlein B., Scherbening J., Kugler J.S.A., Radzun H.J. Expression of VCAM-1, ICAM-1, E- and P-selectin and tumour-associated macrophages in renal cell carcinoma. *Histopathology* 2000;37(1):78–83. DOI:10.1046/j.1365-2559.2000.00933.x
22. Tempia-Caliera A.A., Horvath L.Z., Zimmermann A. et al. Adhesion molecules in human pancreatic cancer. *J Surg Oncol* 2002;79(2):93–100. DOI:10.1002/jso.10053
23. Lin Y.C., Shun C.T., Wu M.S., Chen C.C. A novel anticancer effect of thalidomide: inhibition of intercellular adhesion molecule-1-mediated cell invasion and metastasis through suppression of nuclear factor- $\kappa$ B. *Clin Cancer Res* 2006;12(23):7165–73. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-06-1393
24. Huang C., Li N., Li Z. et al. Tumour-derived Interleukin 35 promotes pancreatic ductal adenocarcinoma cell extravasation and metastasis by inducing ICAM1 expression. *Nat Commun* 2017;8:14035. DOI: 10.1038/ncomms14035

**Вклад авторов**

С.В. Чулкова: написание текста рукописи, анализ данных, перевод, оформление рукописи;  
Е.Н. Шолохова: получение и анализ данных; анализ рукописи;  
И.В. Поддубная, И.С. Стилиди: анализ и редактирование рукописи.

**Author's contributions**

S.V. Chulkova: writing the manuscript text, data analysis, translation, manuscript design;  
E.N. Sholokhova: data acquisition and analysis; manuscript analysis;  
I.V. Poddubnaya, I.S. Stilidi: manuscript analysis and editing.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

С.В. Чулкова / S.V. Chulkova: <https://orcid.org/0000-0003-4412-5019>  
Е.Н. Шолохова / E.N. Sholokhova: <http://orcid.org/0000-0002-1456-1904>  
И.В. Поддубная / I.V. Poddubnaya: <https://orcid.org/0000-0002-0995-1801>  
И.С. Стилиди / I.S. Stilidi: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>

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

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

**Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики.** Все пациенты дали письменное информированное согласие на использование образцов крови в исследовательских целях.  
**Compliance with patient rights and principles of bioethics.** All patients gave written informed consent to the use of their blood samples for research purposes.

Статья поступила: 05.01.2025. Принята в печать: 25.02.2025. Опубликовано онлайн: \*\*.\*\*.2025.  
Article received: 05.01.2025. Accepted for publication: 25.02.2025. Published online: \*\*.\*\*.2025.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-65-77>

# Использование трехфакторного дисперсионного анализа для разработки состава растворов для фармацевтической печати пленок, диспергируемых в полости рта, на основе субстанции 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината

С. В. Тишков<sup>1,2</sup>, В. К. Алексеев<sup>1,2</sup>, Е. В. Блынская<sup>1,2</sup>, С. Н. Суслина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»; Россия, 125315 Москва, ул. Балтийская, 8;

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

**Контакты:** Сергей Валерьевич Тишков [sergey-tishkov@ya.ru](mailto:sergey-tishkov@ya.ru)

**Введение.** Одним из основных развивающихся направлений медицины и фармации является персонафикация фармакологической терапии. С целью персонафикации разрабатываются лекарственные формы с возможностью изменения дозы при производстве, позволяющие осуществлять проведение индивидуальной терапии для каждого пациента. В настоящее время существует два основных направления в разработке лекарственных форм для индивидуализированной терапии: методы двумерной (2D) и трехмерной (3D) печати, позволяющие получить лекарственный препарат, обладающий свойствами гибкого изменения размера, формы и дозы. Двумерная печать дополнительно характеризуется большей простотой приготовления лекарственных средств и позволяет получать пленки, диспергируемые в полости рта.

**Цель исследования** – разработка состава растворов («чернил»), содержащих активную фармацевтическую субстанцию (АФС) 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината, используемую в технологии струйной печати для получения пленок, диспергируемых в полости рта. Данная АФС обладает антиоксидантным, антигипоксантным и мембранопротекторным действием и применяется во многих областях медицины, в частности кардиологии, неврологии, наркологии, психиатрии.

**Материалы и методы.** Измерение вязкости (Фармакопея ЕАЭС 2.1.2.9. 201020009–2019) – ВПЖ-4 1.12 (Yancheng Jingwei Int'l Group Co., Ltd., КНР), измерение поверхностного натяжения – пузырьковый тензиометр (Sensadyne PC 900, M&N Technologies Inc., Флагстафф, США), определение относительной плотности (Фармакопея ЕвразЭС 2.1.2.5. 201020005–2019) – пикнометр; термоструйный принтер Canon PIXMA TS5040 (Canon Inc, Tokyo, Japan), оснащенный печатающей головкой QY6-0089-000000. Кроме того, использовали методы расчета чисел Онезорге и Z, а для математического анализа полученных данных применяли полнофакторный трехуровневый дисперсионный анализ.

**Результаты.** Разработку проводили с применением метода дисперсионного анализа для изучения влияния факторов состава на исследуемые фармацевтико-технологические характеристики растворов. В качестве факторов состава использовали тип модификаторов вязкости и поверхностного натяжения, количественное соотношение вспомогательных веществ и воды очищенной, а также введение дополнительного поверхностно-активного вещества. Признаки, воздействие факторов на которые изучалось в данном исследовании, представлены характеристиками вязкости, истинной плотности растворов, поверхностным натяжением, числа Онезорге и растворимости АФС.

**Заключение.** При анализе полученных данных выявлено влияние каждого фактора и их взаимодействий, продемонстрированы их степени воздействия на фармацевтико-технологические характеристики растворов для печати. Получены средние значения характеристик по частным факторам состава растворов для определения наиболее оптимальных вспомогательных веществ для достижения целевых значений числа Z и наибольшего количественного содержания АФС в составе.

**Ключевые слова:** 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат, пленки, диспергируемые в полости рта, двумерная печать, дисперсионный анализ, струйная печать, число Онезорге

**Для цитирования:** Тишков С.В., Алексеев В.К., Блынская Е.В., Суслина С.Н. Использование трехфакторного дисперсионного анализа для разработки состава растворов для фармацевтической печати пленок, диспергируемых в полости рта, на основе субстанции 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината. Российский биотерапевтический журнал 2025;24(1):65–77.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-65-77>

## The use of three-factor dispersion analysis to develop the composition of solutions for pharmaceutical printing of films dispersed in the oral cavity based on the substance 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate

Sergey V. Tishkov<sup>1,2</sup>, Viktor K. Alekseev<sup>1,2</sup>, Evgenija V. Blynskaya<sup>1,2</sup>, Svetlana N. Suslina<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies; 8 Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russia;

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

**Contacts:** Sergey Valerievich Tishkov [sergey-tishkov@ya.ru](mailto:sergey-tishkov@ya.ru)

**Background.** One of the main developing areas of medicine and pharmacy is the personification of pharmacological therapy. For the purpose of personification, dosage forms are being developed with the possibility of changing the dose during production, allowing for individual therapy for each patient. Currently, there are two main directions in the development of LF for individualized therapy: two-dimensional (2D) and three-dimensional (3D) printing methods that allow to obtain medicinal products of arbitrary size, shape and dose. Two-dimensional printing is additionally characterized by greater simplicity in the preparation of medicines (drugs) and allows you to obtain films dispersed in the oral cavity.

**Aim.** In this study, the composition of solutions ("ink") containing the active pharmaceutical ingredient (API) 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate used in inkjet printing technology to produce films dispersed in the oral cavity is being developed. This API has antioxidant, antihypoxant and membrane protective effects and is used in many fields of medicine, in particular, cardiology, neurology, narcology, psychiatry.

**Materials and methods.** Viscosity measurement (EAC Pharmacopoeia 2.1.2.9. 201020009–2019) – VPJ-4 1.12 (Yancheng Jingwei Int'l Group Co., Ltd., China), Surface tension measurement – bubble Tensiometer (Sensadyne PC 900, M&H Technologies Inc., Flagstaff, USA), Relative density determination (EAEU Pharmacopoeia 2.1.2.5. 201020005–2019) – pycnometer; Canon PIXMA TS5040 thermal jet printer (Canon Inc, Tokyo, Japan) equipped with a QY6-0089-000000 printhead. In addition, methods for calculating the Onesorge number and the Z number were used, and full-factor three-level analysis of variance was used for the mathematical analysis of the data obtained.

**Results.** The development was carried out using the method of dispersion analysis to study the influence of composition factors on the studied pharmaceutical and technological characteristics of solutions. The type of viscosity and surface tension modifiers, the quantitative ratio of excipients and purified water, as well as the introduction of an additional surfactant are used as composition factors. Among the studied pharmaceutical and technological characteristics are viscosity, true density of solutions, surface tension, Onesorge number and solubility of API.

**Conclusion.** The analysis of the obtained data revealed the influence of each factor and their interactions, demonstrated their degree of exposure to pharmaceutical and technological characteristics of printing solutions, and also obtained average values of characteristics for particular factors of the composition of solutions to determine the most optimal excipients to achieve the target values of the Z number and the highest quantitative content of API in the composition.

**Keywords:** 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate, films dispersible in the oral cavity, two-dimensional printing, dispersion analysis, inkjet printing, Ohnesorge number

**For citation:** Tishkov S.V., Alekseev V.K., Blynskaya E.V., Suslina S.N. The use of three-factor dispersion analysis to develop the composition of solutions for pharmaceutical printing of films dispersed in the oral cavity based on the substance 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2025;24(1):65–77. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-65-77>

## Введение

Персонализация лекарственных препаратов (ЛП) представляет собой направление, развивающееся последние несколько десятилетий, для которого, помимо изготовления генетически модифицированных высокотехнологичных лекарственных средств (ЛС), требуется применение подходов, обеспечивающих индивидуализацию терапии [1, 2]. В качестве таких подходов могут выступать лекарственные формы (ЛФ), которые позволяют обеспечить индивидуальное дозирование таблеток, пленок, капсул и т. д. Двумя основными подходами, используемыми принцип индивидуализации при создании ЛП, являются методы струйной/двумерной (2D) и аддитивной, или трехмерной (3D), печати [3, 4], позволяющие получить ЛФ заданного размера, формы и дозы. Двумерная печать дополнительно имеет преимущества, заключающиеся в простоте приготовления ЛС, и позволяет получать пленки, диспергируемые в полости рта [5]. Данная ЛФ подходит для создания ЛС на основе активных фармацевтических субстанций (АФС), характеризующихся большой шириотой фармакологических эффектов и возможностью применения в различных сферах медицины, со своими схемами лечения и соответственно эффективными терапевтическими дозами. В настоящей работе применяется АФС 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат (ЭГПС), поскольку за счет широты ее фармакологических эффектов и применения в терапии хронической ишемической болезни сердца, в комплексной терапии депрессивных расстройств, при эндокринологических нарушениях и других для адекватной терапии необходимы различные лекарственные формы со своими дозировками. Заменить разработку большого количества ЛФ может создание пленок, диспергируемых в полости рта, с возможностью персонализации, для чего необходимо разработать составы растворов для печати. Наиболее часто используемыми вспомогательными веществами (ВВ) для получения растворов для струйной печати являются модификаторы вязкости и поверхностного натяжения полимерной природы, растворимые в водной среде, и поверхностно-активные вещества. Данные ВВ необходимы для стабильного формирования капель определенного диаметра и предотвращения образования капель-сателлитов, поскольку любые неравномерности в работе печатающих головок приводят к нарушению однородности дозирования индивидуально формируемой ЛФ [6, 7].

**Цель исследования** – разработка состава растворов («чернил»), содержащих АФС 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат, используемую в технологии струйной печати для получения пленок, диспергируемых в полости рта.

## Материалы и методы

**Используемые материалы:** АФС 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинат (ЭГПС; ООО «Бион», Россия) (рис. 1).

**Вспомогательные вещества.** Полипропиленгликоль (ПГ – 1,2 Propylene glycol USP, BASF, Germany), глицерин (NeoFroxx GmbH, Germany), сорбитол/сорбит (Neosorb®, Roquette, Франция), мальтодекстрин (Maldex® Maltodextrin 1925 QS, Tereos Syral, Франция), полиэтиленгликоль 400 (ПЭГ-400 – PEG-400, Sigma-Aldrich, USA), Твин 80 (Полисорбат 80, EM-PROVE® ESSENTIAL, Sigma-Aldrich, USA).

**Используемое оборудование и методики.** Измерение вязкости (Фармакопея ЕАЭС 2.1.2.9. 201020009–2019) – ВПЖ-4 1.12 (Yancheng Jingwei Int'l Group Co., Ltd., КНР), измерение поверхностного натяжения – пузырьковый тензиометр (Sensadyne PC 900, M&N Technologies Inc., Флагстафф, США), определение относительной плотности (Фармакопея ЕАЭС 2.1.2.5. 201020005–2019) – пикнометр; термоструйный принтер Canon PIXMA TS5040 (Canon Inc, Tokyo, Japan), оснащенный печатающей головкой QY6-0089-000000.

**Расчет чисел Онезорге и Z.** Пригодность к печати модельных растворов можно предсказать на основе Z-значения, которое обратно числу Онезорге (уравнение 1), и оба коэффициента, выступая как гидродинамические коэффициенты, показывают отношение сил поверхностного натяжения к инерциальным силам (с учетом вязких сил), число Z может быть вычислено по уравнению 2. Данные значения основаны на показателях вязкости, поверхностного натяжения и плотности растворов для печати, а также диаметра сопла [8].

Число Онезорге ( $Oh$ ) и число Z рассчитывали по следующим формулам:

$$Oh = \frac{\eta}{\sqrt{d\rho\gamma}}, \quad (1)$$

$$Oh = \frac{\sqrt{d\rho\gamma}}{\eta}, \quad (2),$$

где  $d$  – диаметр отверстия, из которого формируется капля;  $\rho$  – истинная плотность жидкости;  $\gamma$  – поверхностное натяжение жидкости; и  $\eta$  – вязкость жидкости.

Число Z характеризует возможность применения физико-химических свойств растворов для печати,

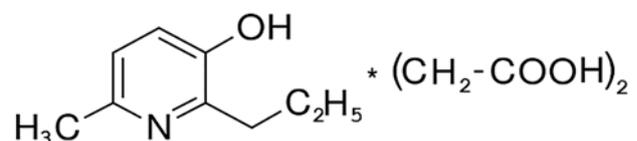


Рис. 1. Структурная формула 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината

Fig. 1. The structural formula of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate

в частности неудовлетворительные значения числа  $Z$  говорят об образовании капель с длинными хвостами или капель-сателлитов, движущихся рядом с реальной каплей [9]. Существует несколько общепринятых допустимых интервалов числа  $Z$ , например, J. Fromm определил значение больше 2 для достижения однородных капель [9, 10], N. Reis и соавт. – диапазон от 1 до 10 [11]. Несколько лет спустя D. Jang и соавт. провели исследование, в результате которого диапазон значений  $Z$  расширился от 4 до 14 [12]. D. Kuscer и соавт. сузили диапазон до 5–9 для оптимального образования капель [13]. Тем не менее в представленных источниках дополнительно описаны случаи применения растворов для печати как с более низкими, так и с более высокими значениями числа  $Z$  [9–13].

**Дисперсионный анализ.** Трехфакторный дисперсионный анализ (ANOVA – analysis of variance) [14–16] использовали для определения факторов, оказывающих преимущественное влияние на свойства пленок ЭГПС, диспергируемых в полости рта, а также взаимодействия факторов (т. е. взаимосвязи между переменными, в которой влияние одной переменной оказывает воздействие на другую).

В качестве факторов (независимых переменных) применяли: А – тип модификатора вязкости; Б – отношение модификатора вязкости и воды; В – наличие соразтворителя. Зависимыми переменными, используемыми в данной математической модели, служили динамическая вязкость ( $\text{Па} \times \text{с}$ ), плотность ( $\text{г}/\text{см}^3$ ), поверхностное натяжение ( $\text{Н}/\text{м}$ ), растворимость АФС ( $\text{г}/\text{мл}$ ), число Онезорге/число  $Z$ . Рассматривали влияние только на одно число Онезорге и соответственно число  $Z$ , поскольку значения числа  $Z$  для 2 типов принтеров являются зависимыми. Статистическая оценка результатов выполнена с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) и использования коммерчески доступного пакета статистического программного обеспечения (Minitab 17, США). Кроме того, рассчитывали стандартное отклонение и соответствие результатов нормальному распределению.

### Результаты и обсуждение

Подбор оптимального состава и технологии осуществляли, исходя из ранее изученных свойств АФС (табл. 1), в частности из значений растворимости в воде очищенной и удовлетворительного уровня pH раствора (от 4 до 7) для применения в ротовой полости.

Для разработки модельных составов растворов для фармацевтической печати использовали модификаторы вязкости и поверхностного натяжения, указанные в разделе «Материалы и методы». В табл. 2 представлены модельные составы с различным соотношением ВВ, в растворы которых вводили АФС

в концентрациях, индивидуально подбиравшихся в результате исследований растворимости.

**Таблица 1.** Физико-химические свойства 2-этил-6-метил-3-гидроксиридина сукцината

**Table 1.** Physico-chemical properties of the 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate

Показатель Indicator	Единицы измерения Units of measure	Результат Result
Молекулярная масса Molecular weight	Г/моль G/mol	255,55
pH 1 % раствора в воде pH 1 % solution in water	–	4,59 ± 0,5
Растворимость в воде Solubility in water	–	1:5
Растворимость в этиловом спирте Solubility in ethyl alcohol	–	1:5
Температура плавления Melting point	°C	109–115

Данные составы исследовали по таким характеристикам, как динамическая вязкость, плотность, поверхностное натяжение, растворимость АФС, числом Онезорге и  $Z$ . Эти показатели продемонстрированы в табл. 3.

Исходя из полученных свойств отбирали факторы, оказывающие наибольшее влияние на фармацевтико-технологические характеристики растворов для печати, с помощью дисперсионного анализа и критерия Фишера для создания на следующих этапах исследований оптимальной регрессионной математической модели и дальнейшей оптимизации состава с учетом важности каждой независимой переменной и взаимодействий факторов.

Полученные данные о фармацевтико-технологических свойствах модельных составов анализировали с помощью дисперсионного анализа. Изучали следующие факторы технологического процесса, влияющие на технологические характеристики растворов для струйной печати:

А – тип модификатора вязкости, А1 – пропиленгликоль, А2 – глицерин, А3 – полиэтиленгликоль-400, А4 – сорбит;

Б – соотношение модификатора вязкости и воды, Б1 – 1:9, Б2 – 2:8, Б3 – 3:7;

В – наличие соразтворителя: В1 – отсутствие твин 80, В2 – 1 % твин 80 (табл. 4).

Изучали влияние перечисленных факторов на критерии оптимизации (фармацевтико-технологические свойства) растворов для печати: динамическая вязкость, плотность, поверхностное натяжение,

Таблица 2. Составы модельных растворов для изучения растворимости активной фармацевтической субстанции и струйной печати  
 Table 2. Compositions of model solutions for studying the solubility of active pharmaceutical ingredient and inkjet printing

№	Полипропиленгликоль, г Propylene glycol, g	Глицерин, г Glycerol, g	Сорбит, г Sorbitol, g	Полиэтиленгликоль 400, г Polyethylene glycol 400, g	Твин 80, г Tween 80, g	Вода очищенная, г Purified water, g
1	10	—	—	—	—	90
2	20	—	—	—	—	80
3	30	—	—	—	—	70
4	10	—	—	—	1	89
5	20	—	—	—	1	79
6	30	—	—	—	1	69
7	—	10	—	—	—	90
8	—	20	—	—	—	80
9	—	30	—	—	—	70
10	—	10	—	—	1	89
11	—	20	—	—	1	79
12	—	30	—	—	1	69
13	—	—	10	—	—	90
14	—	—	20	—	—	80
15	—	—	30	—	—	70
16	—	—	10	—	1	89
17	—	—	20	—	1	79
18	—	—	30	—	1	69
19	—	—	—	10	—	90
20	—	—	—	20	—	80
21	—	—	—	30	—	70
22	—	—	—	10	1	89
23	—	—	—	20	1	79
24	—	—	—	30	1	69

растворимость АФС, число Онезорге. Воздействие факторов на число  $Z$  не изучали, поскольку данный параметр является производным от числа Онезорге.

Получали средние значения зависимых переменных от факторов (табл. 5) и, исходя из среднеквадратичных отклонений от них, рассчитывали основные параметры дисперсионного анализа, в частности  $F$ -критерий Фишера для каждого члена в модели.

Экспериментальный  $F$ -критерий Фишера ( $F_{\text{exp}}$ ) сравнивали с его табличным значением ( $F_{\text{tab}}$ ) при уровне значимости  $\alpha = 0,05$  и соответствующих степенях свободы, что позволило выявить статистиче-

скую значимость влияния факторов и их взаимодействий на технологические характеристики модельных таблеточных смесей ( $\alpha = 0,05$ ;  $F_{\text{exp}} > F_{\text{tab}}$ ), а также относительную степень влияния каждого фактора на результаты (табл. 6–10). Относительную степень влияния факторов и их взаимодействий рассчитывали, исходя из процентной доли сумм квадратов ( $SS$ ) факторов в суммарном значении квадратов дисперсий всех факторов ( $SS_T$ ) и взаимодействий различных порядков, отраженной в последней строчке.

При анализе средних значений числа Онезорге (см. табл. 5) для каждого уровня факторов, отраженных в табл. 4,  $F_{\text{exp}}$  (см. табл. 6) были существенно

Таблица 3. Результаты испытания модельных растворов для струйной печати

Table 3. Results of testing model solutions for inkjet printing

№	Динамическая вязкость, $\times 10^3$ Па $\times$ с Dynamic viscosity, $\times 10^3$ Pa $\times$ s	Плотность, г/см <sup>3</sup> Density, g/cm <sup>3</sup>	Поверхностное натяжение, Н/м Surface tension, N/m	Число Онезорге Ohnesorge number (Oh)	Z = 1/Oh	Растворимость активной фармацевтической субстанции, г/100 мл Active pharmaceutical ingredient solubility, g/100 ml
1	2,665 ± 0,08	1,031 ± 0,031	0,075 ± 0,002	0,100 ± 0,003	9,925 ± 0,298	20,000 ± 0,600
2	4,495 ± 0,135	1,073 ± 0,032	0,066 ± 0,002	0,180 ± 0,005	5,616 ± 0,168	20,000 ± 0,600
3	6,510 ± 0,195	1,069 ± 0,032	0,062 ± 0,002	0,270 ± 0,008	3,750 ± 0,113	20,000 ± 0,600
4	2,676 ± 0,08	1,052 ± 0,032	0,070 ± 0,002	0,100 ± 0,003	9,611 ± 0,288	17,700 ± 0,531
5	3,843 ± 0,115	1,064 ± 0,032	0,064 ± 0,002	0,160 ± 0,005	6,421 ± 0,193	21,100 ± 0,633
6	5,343 ± 0,16	1,067 ± 0,032	0,059 ± 0,002	0,220 ± 0,007	4,466 ± 0,134	23,600 ± 0,708
7	2,24 ± 0,067	1,064 ± 0,032	0,09 ± 0,003	0,080 ± 0,002	13,109 ± 0,393	17,600 ± 0,528
8	2,515 ± 0,075	1,081 ± 0,032	0,081 ± 0,002	0,090 ± 0,003	11,134 ± 0,334	14,000 ± 0,42
9	3,716 ± 0,111	1,094 ± 0,033	0,086 ± 0,003	0,130 ± 0,004	7,810 ± 0,234	11,800 ± 0,354
10	1,713 ± 0,051	1,041 ± 0,031	0,071 ± 0,002	0,070 ± 0,002	15,070 ± 0,452	24,400 ± 0,732
11	2,263 ± 0,068	1,093 ± 0,033	0,076 ± 0,002	0,080 ± 0,002	12,091 ± 0,363	23,000 ± 0,690
12	3,285 ± 0,099	1,098 ± 0,033	0,067 ± 0,002	0,130 ± 0,004	7,855 ± 0,236	22,100 ± 0,663
13	2,819 ± 0,085	1,064 ± 0,032	0,077 ± 0,002	0,100 ± 0,003	9,660 ± 0,29	21,200 ± 0,636
14	3,828 ± 0,115	1,070 ± 0,032	0,085 ± 0,003	0,130 ± 0,004	7,490 ± 0,225	18,100 ± 0,543
15	4,999 ± 0,15	1,075 ± 0,032	0,082 ± 0,002	0,180 ± 0,005	5,626 ± 0,169	12,700 ± 0,381
16	2,848 ± 0,085	1,053 ± 0,032	0,065 ± 0,002	0,110 ± 0,003	8,732 ± 0,262	18,700 ± 0,561
17	3,831 ± 0,115	1,065 ± 0,032	0,066 ± 0,002	0,150 ± 0,005	6,561 ± 0,197	14,000 ± 0,420
18	5,391 ± 0,162	1,074 ± 0,032	0,063 ± 0,002	0,220 ± 0,007	4,577 ± 0,137	12,500 ± 0,375
19	2,017 ± 0,061	1,076 ± 0,032	0,087 ± 0,003	0,070 ± 0,002	14,422 ± 0,433	14,000 ± 0,420
20	3,098 ± 0,093	1,100 ± 0,033	0,084 ± 0,003	0,110 ± 0,003	9,288 ± 0,279	13,500 ± 0,405
21	3,930 ± 0,118	1,129 ± 0,034	0,079 ± 0,002	0,140 ± 0,004	7,195 ± 0,216	10,300 ± 0,309
22	2,431 ± 0,073	1,071 ± 0,032	0,069 ± 0,002	0,090 ± 0,003	10,581 ± 0,317	16,400 ± 0,492
23	3,510 ± 0,105	1,102 ± 0,033	0,070 ± 0,002	0,130 ± 0,004	7,522 ± 0,226	14,900 ± 0,447
24	4,539 ± 0,136	1,134 ± 0,034	0,066 ± 0,002	0,180 ± 0,005	5,704 ± 0,171	11,300 ± 0,339

выше  $F_{\text{tab}}$  для фактора Б, А и взаимодействия факторов А и Б, которые, соответственно, оказывали наибольшее влияние на данный показатель. Кроме того, все факторы и взаимодействия факторов воздействовали на число Онезорге. Наиболее существенное влияние оказывало количественное соотношение модификатора вязкости и воды и вид модификатора вязкости. Значимость влияния факторов А и Б имеет сопоставимое значение, которое отражается во вкладе в общую сумму квадратов, однако следует отметить

взаимодействие факторов А и Б, что слегка искажает определение ведущей роли соотношений растворителя и основных ВВ. Практически отсутствующий вклад фактора В (0,34 %) во влияние на число Онезорге растворов можно объяснить относительно низким содержанием соразтворителя и его влиянием только на некоторые значения, определяющие данный показатель, что будет продемонстрировано при дисперсионном анализе других зависимых переменных. Распределение средних значений по группам

Таблица 4. Характеристика переменных факторов, влияющих на показатели растворов для фармацевтической печати

Table 4. Characteristics of variable factors influencing the performance of solutions for pharmaceutical printing

Уровень Level	Фактор Factor		
	А	Б	В
	тип модификатора вязкости viscosity modifier type	соотношение модификатора вязкости и воды viscosity modifier to water ratio	наличие 1 % соразстворителя presence of 1 % co-solvent
1	Полипропиленгликоль Polypropylene glycol	1:9	Отсутствует Absent
2	Глицерин Glycerol	2:8	В наличии Available
3	Полиэтиленгликоль 400 Polyethylene glycol 400	3:7	—
4	Сорбит Sorbitol	—	—

Таблица 5. Средние значения зависимых переменных, полученные для исследуемых групп независимых переменных

Table 5. The mean values of the dependent variables obtained for the studied groups of independent variables

Фактор Factor	N	Плотность, г/см <sup>3</sup> Density, g/cm <sup>3</sup>	Растворимость активной фар- мацевтической субстанции, г/100 мл Active pharmaceutical ingredient solubility, g/100 ml	Поверхностное натяжение, Н/м Surface tension, N/m	N	Динамическая вязкость, × 10 <sup>3</sup> Па × с Dynamic viscosity, × 10 <sup>3</sup> Pa × s	Число Онезорге Ohnesorge number
<b>Фактор А</b> Factor A							
Фактор А1 Factor A1	18	1,059	20,400	0,063	42	4,254	0,171
Фактор А2 Factor A2	18	1,078	18,816	0,075	42	2,671	0,096
Фактор А3 Factor A3	18	1,066	16,200	0,070	42	3,951	0,149
Фактор А4 Factor A4	18	1,102	13,400	0,072	42	3,242	0,119
<b>Фактор Б</b> Factor B							
Фактор Б1 Factor B1	24	1,056	18,750	0,072	56	2,426	0,091
Фактор Б2 Factor B2	24	1,080	17,325	0,071	56	3,450	0,130
Фактор Б3 Factor B3	24	1,092	15,537	0,067	56	4,712	0,181
<b>Фактор В</b> Factor B							
Фактор В1 Factor B1	36	1,077	16,100	0,077	84	3,587	0,131
Фактор В2 Factor B2	36	1,076	18,308	0,063	84	3,472	0,137

Таблица 6. Дисперсионный анализ числа Онезорге растворов для струйной фармацевтической печати

Table 6. Dispersion analysis of the Ohnesorge number of solutions for inkjet pharmaceutical printing

Источник дисперсии (фактор) Source of variance (factor)	Число степеней свободы Degrees of freedom	Сумма квадратов Sum of squares (SS)	Средний квадрат Middle square	F экспериментальное F experimental	F табличное F tabular	SSF/SST, %
А	3	0,136650	0,045550	53791,94	8,55	32,12
Б	2	0,232397	0,116198	137223,44	19,5	54,63
В	1	0,001426	0,001426	1683,76	253	0,34
А × Б	6	0,029489	0,004915	5804,10	3,70	6,93
А × В	3	0,019123	0,006374	7527,86	8,55	4,50
Б × В	2	0,000374	0,000187	221,10	19,5	0,09
А × Б × В	6	0,005790	0,000965	1139,71	3,70	1,36
Остаток Error	144	0,000122	0,000001	—	—	0,03
Сумма Total	167	0,425371	—	—	—	100,00

факторов для числа Онезорге продемонстрировано на рис. 2.

При рассмотрении уровней факторов можно выделить увеличение значений числа Онезорге при соответствующем увеличении количества модификатора вязкости в растворе (см. рис. 2). Данный эффект можно объяснить решающим вкладом увеличения вязкости и поверхностного натяжения при увеличении доли полимеров. Наибольшие значения числа Онезорге наблюдаются при применении ПГ и ПЭГ-400, наименьшие – при использовании глицерина и сорбита. Разница между средними значениями

составов с твином 80 и без него незначительна, что также подтверждает низкие значения относительной важности фактора.

Средние значения истинной плотности модельных растворов и расчет основных показателей и  $F$ -критерия (см. табл. 7) демонстрируют статистически значимое влияние факторов А и Б на данный показатель. Относительная степень влияния вида и количества модификатора вязкости и поверхностного натяжения показывает наибольшее значение (44,53 %), сравнимое с относительной степенью влияния количества данного компонента (38,12 %). Однако, учитывая статистически значимое взаимодействие представленных факторов, нельзя однозначно судить о степени влияния факторов А и Б, поскольку существует взаимное влияние одного фактора на другой. Практически отсутствующее воздействие на зависимую переменную добавления твина 80 можно объяснить его низким содержанием в растворе.

Наименьшие значения плотности для фактора Б ожидаемо наблюдаются при меньшем количестве ВВ, при этом такие эффекты, как отклонение от линейной зависимости, объясняются влиянием растворимости и содержания АФС (рис. 3). Значения плотности растворов с различными типами модификаторов вязкости коррелируют с теоретическими значениями плотности данных ВВ. Добавление твина 80 незначительно повышает плотность растворов, что подтверждает низкое влияние данного фактора на уровне среднеквадратичного отклонения.

На концентрацию АФС, находящейся в растворе, достоверно оказывали влияние все факторы дисперсионного анализа и преимущественно вид модификатора

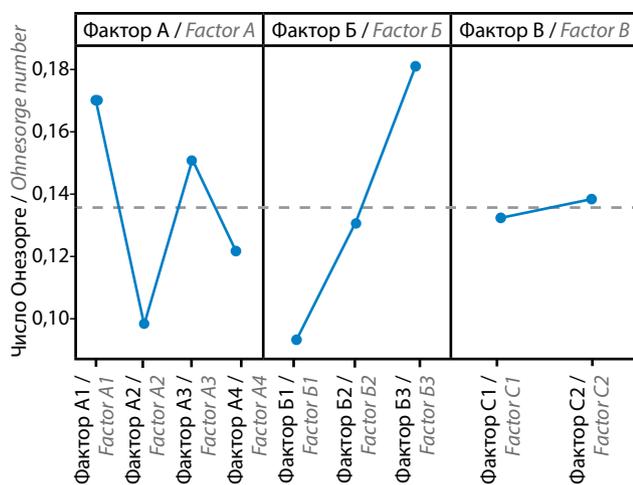


Рис. 2. Средние значения числа Онезорге растворов для струйной фармацевтической печати, отражающие влияние различных уровней факторов

Fig. 2. Average values of the Ohnesorge number of solutions for inkjet pharmaceutical printing, reflecting the influence of levels factors

Таблица 7. Дисперсионный анализ значений истинной плотности растворов для фармацевтической печати, г/см<sup>3</sup>

Table 7. Analysis of variance for density values g/cm<sup>3</sup>

Фактор Factor	Число степеней свободы Degrees of freedom	Сумма квадратов Sum of squares (SS)	Средний квадрат Middle square	F экспериментальное F experimental	F табличное F tabular	SS <sub>F</sub> /SS <sub>T</sub> %
А	3	0,018799	0,006266	230,66	8,59	44,53
Б	2	0,016090	0,008045	296,13	19,50	38,12
В	1	0,000012	0,000012	0,42	251,00	0,03
А × Б	6	0,003809	0,000635	23,37	3,77	9,02
А × В	3	0,000214	0,000071	2,62	8,59	0,51
Б × В	2	0,000123	0,000062	2,27	19,50	0,29
А × Б × В	6	0,001863	0,000310	11,43	3,77	4,41
Остаток Error	48	0,001304	0,000027	—	—	3,09
Сумма Total	71	0,042213	—	—	—	100,00

вязкости (40,96 %), далее среди факторов следует выделить взаимодействие факторов А и В (23,35 %); А и Б (14,33 %), а также количественное содержание ВВ (10 %) и наличие соразтворителя (7,06 %) (см. табл. 8). Ввиду статистической значимости взаимодействий факторов нельзя достоверно утверждать, что основной вклад в изменение растворимости АФС в растворах вносит фактор А. Однако основное влияние на растворимость данного фактора объясняется наибольшим диапазоном варируемости средних значений уровней факторов (рис. 4).

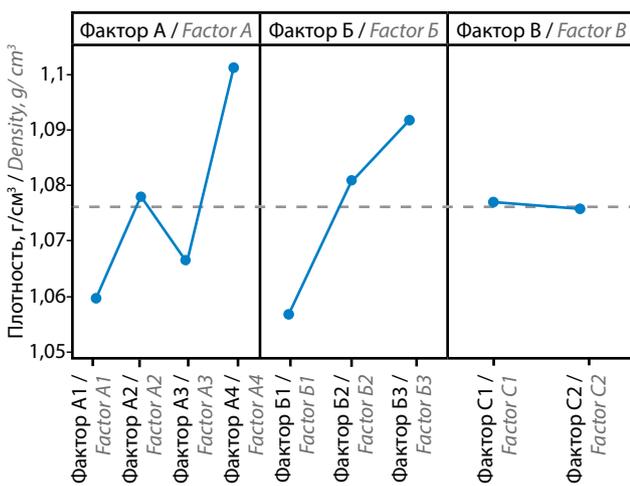


Рис. 3. Средние значения истинной плотности растворов различных уровней факторов

Fig. 3. Average values of the true density of solutions of various levels of factors

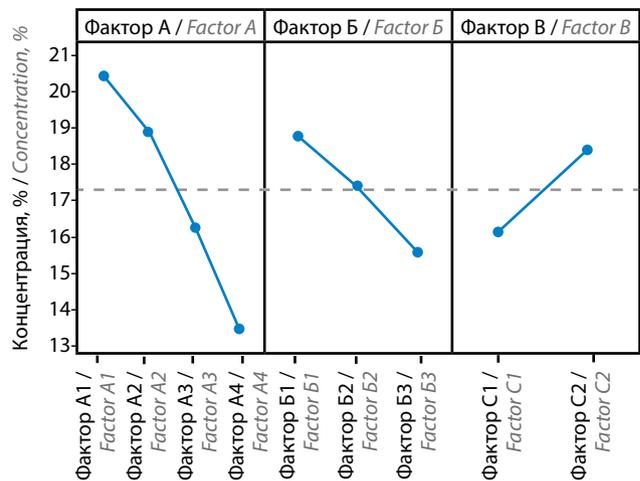


Рис. 4. Средние значения количественного содержания активной фармацевтической субстанции в растворах для фармацевтической печати, распределенные по различным уровням факторов

Fig. 4. Average values of the quantitative content of active pharmaceutical ingredient in solutions for pharmaceutical printing, distributed by various levels of factors

Исходя из продемонстрированных средних значений (см. рис. 4) можно сделать вывод о том, что в целом при увеличении доли модификаторов вязкости растворимость АФС падает. Однако из анализа результатов табл. 3 можно сделать заключение о том, что данная закономерность не характерна для составов с ПГ. Кроме того, составы с ПГ показали наилучшую среднюю растворимость (20,4 г/100 мл) по сравнению с глицерином (18,8 г/100 мл), с ПЭГ-400 (16,2 г/100 мл),

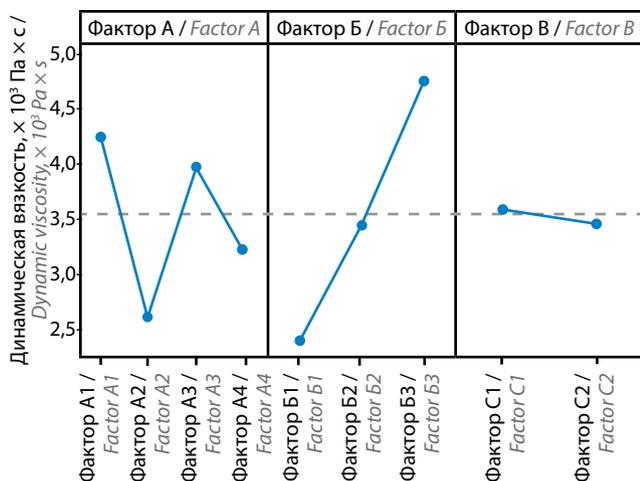


Рис. 5. Средние значения динамической вязкости растворов для фармацевтической печати, распределенные по различным уровням факторов

Fig. 5. Average values of dynamic viscosity of solutions for pharmaceutical printing, distributed over various levels of factors

а наихудшую – растворы с сорбитолом (13,4 г/100 мл). Добавление 1 % твина 80 увеличивает возможную концентрацию АФС в растворе с содержания 16,1 г/100 мл до 18,3 г/100 мл. Данные результаты позволяют сделать вывод о возможном сочетании подобранного модификатора вязкости и твина 80 для обеспечения наилучшего результата, что подтверждают данные табл. 8.

На значения динамической вязкости основное влияние оказали факторы Б, А и взаимодействие 2 факторов при сравнительно низком воздействии 1 % солюбилизатора (см. табл. 9), что объясняется его

низким содержанием в растворах и относительно низкой вязкостью. Кроме того, анализ динамической вязкости демонстрирует наибольшую корреляцию ее значений с количественным соотношением ВВ (62,58 %), что обеспечивается относительно широким вариационным рядом и схожими функциональными характеристиками отобранных ВВ.

При рассмотрении средних значений динамической вязкости по уровням факторов отмечены наименьшие значения для составов с глицерином ( $2,67 \times 10^3 \text{ Па} \times \text{с}$ ) и соотношением смеси раствора с модификатором вязкости – 1:9 ( $2,42 \times 10^3 \text{ Па} \times \text{с}$ ). ПЭГ-400 и сорбит показали близкие средние значения вязкости: соответственно 3,95 и  $3,24 \times 10^3 \times \text{Па} \times \text{с}$ , а наиболее высокое значение – ПГ ( $4,25 \times 10^3 \text{ Па} \times \text{с}$ ) (рис. 5). Кроме того, средние значения составов без твина 80 ( $3,58 \times 10^3 \text{ Па} \times \text{с}$ ) не имели особенно значимых отличий средних значений от составов с твином 80 ( $3,47 \times 10^3 \text{ Па} \times \text{с}$ ).

Интерпретация результатов анализа поверхностного натяжения растворов для фармацевтической печати (см. табл. 10) показывает, что поверхностное натяжение в полученных составах определяется в соответствии с функциональным назначением солюбилизатора, в меньшей степени видом модификатора вязкости и сочетанием факторов Б и В. Еще менее значительно (4,51 %) на данную характеристику оказывает влияние фактор Б (количественное содержание модификатора вязкости). Несмотря на большее количественное содержание модификаторов вязкости при их схожей функциональной характеристике, основное воздействие оказывает фактор В, что наблюдается при сравнении средних значений поверхностного

Таблица 8. Дисперсионный анализ количественного содержания (концентрации) активных фармацевтических субстанций в растворах для фармацевтической печати, г/100 мл

Table 8. Dispersion analysis of the quantitative content of active pharmaceutical ingredient in solutions for pharmaceutical printing, g/100 ml

Фактор Factor	Число степеней свободы Degrees of freedom	Сумма квадратов Sum of squares (SS)	Средний квадрат Middle square	F экспериментальное F experimental	F табличное F tabular	SS <sub>F</sub> /SS <sub>T</sub> %
А	3	509,28	169,761	1715,70	8,55	40,96
Б	2	124,37	62,184	628,46	19,5	10,0
В	1	87,78	87,781	887,16	253,0	7,06
А × Б	6	178,16	29,694	300,10	3,7	14,33
А × В	3	290,34	96,781	978,12	8,55	23,35
Б × В	2	21,05	10,524	106,36	19,5	1,69
А × Б × В	6	27,74	4,624	46,73	3,7	2,23
Остаток Error	144	4,75	0,099	–	–	0,38
Сумма Total	167	1243,48	–	–	–	100,0

Таблица 9. Дисперсионный анализ динамической вязкости растворов для фармацевтической печати,  $\times 10^3 \text{ Па} \times \text{с}$ Table 9. Dispersion analysis of dynamic viscosity of solutions for pharmaceutical printing,  $\times 10^3 \text{ Pa} \times \text{s}$ 

Фактор Factor	Число степеней свободы Degrees of freedom	Сумма квадратов Sum of squares (SS)	Средний квадрат Middle square	F экспериментальное F experimental	F табличное F tabular	SS <sub>F</sub> /SS <sub>T</sub> , %
А	3	63,921	21,307	38555,59	8,55	27,26
Б	2	146,777	73,3887	132798,73	19,5	62,58
В	1	0,556	0,5555	1005,22	253,0	0,24
А × Б	6	11,532	1,9219	3477,80	3,7	4,92
А × В	3	8,78	2,9266	5295,75	8,55	3,74
Б × В	2	0,197	0,0987	178,59	19,5	0,08
А × Б × В	6	2,682	0,447	808,93	3,7	1,14
Остаток Error	144	0,08	0,0006	—	—	0,03
Сумма Total	167	234,525	—	—	—	100,0

Таблица 10. Дисперсионный анализ поверхностного натяжения растворов для фармацевтической печати, Н/м

Table 10. Dispersion analysis of surface tension of solutions for pharmaceutical printing, N/m

Фактор Factor	Число степеней свободы Degrees of freedom	Сумма квадратов Sum of squares (SS)	Средний ква- драт Middle square	F эксперимен- тальное F experimental	F табличное F tabular	SS <sub>F</sub> /SS <sub>T</sub> , %
А	3	0,001542	0,000514	237,79	8,59	20,38
Б	2	0,000341	0,000171	78,99	19,5	4,51
В	1	0,003639	0,003639	1684,17	251	48,08
А × Б	6	0,000333	0,000055	25,67	3,77	4,40
А × В	3	0,00048	0,00016	74,05	8,59	6,34
Б × В	2	0,000895	0,000448	207,19	19,5	11,83
А × Б × В	6	0,000234	0,000039	18,01	3,77	3,09
Остаток Error	48	0,000104	0,000002	—	—	1,37
Сумма Total	71	0,007568	—	—	—	100,0

натяжения для групп, разделенных на уровни факторов. Кроме того, высокий уровень влияния взаимодействия факторов Б и В может свидетельствовать о синергетическом эффекте, вызываемом увеличением доли модификатора вязкости и добавления со-растворителя.

Фактор Б показывает линейную зависимость уменьшения поверхностного натяжения с 0,0727900 до 0,0675625 Н/м в зависимости от соотношения ВВ и воды очищенной (рис. 6) при увеличении количе-

ства модификаторов вязкости. Кроме того, добавление 1 % твина 80 вызывало снижение среднего значения поверхностного натяжения с 0,0776 до 0,0634 Н/м. Для фактора А наименьшее поверхностное натяжение наблюдали для составов с пропиленгликолем (0,0631 Н/м), а наибольшее — для составов с глицерином (0,0756 Н/м).

В табл. 11 продемонстрированы значения коэффициентов детерминации ( $R^2$ ), скорректированных коэффициентов детерминации ( $R^2_{\text{corr}}$ ), характеризующие

Таблица 11. Стандартные отклонения ( $S$ ) и коэффициенты детерминации ( $R^2$  и  $R^2_{\text{corr}}$ , %) переменных показателей моделиTable 11. Standard deviations ( $S$ ) and coefficients of determination ( $R^2$  и  $R^2_{\text{corr}}$ , %) of model indicator variables

Исследуемая характеристика Characteristic investigated	$S$	$R^2$	$R^2_{\text{corr}}$
Число Онезорге Ohnesorge number	0,0009202	99,97	99,97
Истинная плотность, г/см <sup>3</sup> Density, g/cm <sup>3</sup>	0,0052122	96,91	95,43
Концентрация АФС, г/100 мл Active pharmaceutical ingredient concentration, g/100 ml	0,314557	99,62	99,44
Динамическая вязкость, Па × с Dynamic viscosity, Pa × s	0,0235081	99,97	99,96
Поверхностное натяжение, Н/м Surface tension, N/m	0,00147	98,63	97,97

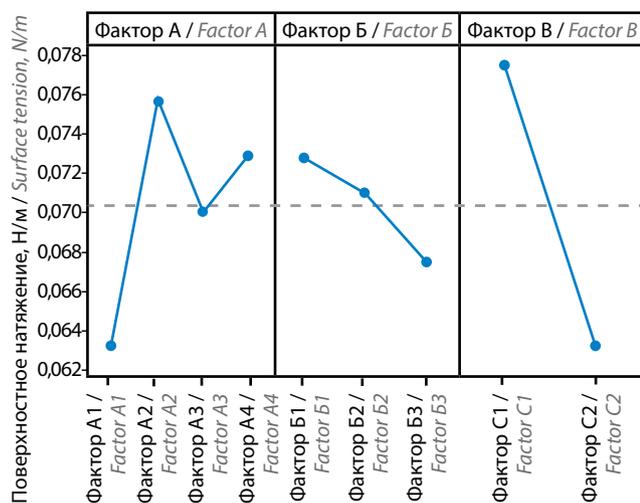


Рис. 6. Средние значения поверхностного натяжения различных уровней факторов дисперсионного анализа

Fig. 6. Average values of surface tension of various levels of dispersion analysis factors

соответствие разработанной модели, включающей факторы и взаимодействия факторов, экспериментальным данным.

Все изученные фармацевтико-технологические характеристики растворов ЭГПС для фармацевтической печати показали высокие значения  $R^2$  от 96,91 до 99,97 % и  $R^2_{\text{corr}}$  от 95,43 до 99,97 %, что говорит о высокой согласованности математической модели дисперсионного анализа и экспериментальных данных и сильной степени влияния всех изучаемых

факторов и взаимодействий факторов. Наиболее низкими значениями  $R^2$  обладали значения истинной плотности, что можно объяснить влиянием на данный показатель случайных факторов, например температуры окружающей среды.

### Заключение

При анализе полученных данных методом полнофакторного дисперсионного анализа для выявления влияния каждого фактора, а также их взаимодействий показано преимущественное воздействие факторов количественного соотношения модификатора вязкости и воды и вида модификатора вязкости на число Онезорге и, соответственно, значение  $Z$ . С уменьшением соотношения модификатора вязкости с водой очищенной в среднем также уменьшается число  $Z$ . Выявлено относительно низкое влияние введения 1 % твина 80 в раствор на большинство зависимых переменных, несмотря на существенное снижение поверхностного натяжения. Кроме того, зафиксировано существенное увеличение растворимости АФС при добавлении 1 % твина 80. При сравнении средних значений зависимых переменных по уровням факторов дисперсионного анализа можно выявить независимые переменные, обеспечивающие наилучшую растворимость АФС в водном растворе и находящиеся в оптимальном диапазоне числа  $Z$ . Данное сочетание представляет собой факторы с уровнями: А3, Б3, В2, т.е. раствор, содержащий 23 % ЭГПС, 1 % твин 80 и полипропиленгликоль с водой очищенной в соотношении 3:7.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Дедов И.И. Персонализированная медицина. Вестник Российской академии медицинских наук. 2019;74(1):61–70. DOI: 10.15690/vramn1108  
Dedov I.I. Personalized medicine. Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences 2019;74(1):61–70. DOI: 10.15690/vramn1108
2. Tran D.T., Dahlin A. Pharmacometabolomics: general applications of metabolomics in drug development and personalized medicine. In: metabolomics: recent advances and future applications. Cham: Springer International Publishing, 2023: p. 127–64. DOI: 10.1007/978-3-031-39094-4\_5
3. Arshad M.S., Shahzad A., Abbas N. et al. Preparation and characterization of indomethacin loaded films by piezoelectric inkjet printing: a personalized medication approach. Pharmaceutical Development and Technology 2020;25(2): 197–205. DOI: 10.1080/10837450.2019.1684520
4. Enke M., Kühne K., Seyferth S. et al. 3D screen printing enables application of integrated QR codes on pharmaceutical dosage forms in mass production – a game changer. Biomed J Sci Tech Res 2022;41(3):32889–95. DOI: 10.26717/BJSTR.2022.41.006630
5. Carou-Senra P., Rodríguez-Pombo L., Awad A. et al. Inkjet printing of pharmaceuticals. Adv Mater 2024;36(11):2309164:1–28. DOI: 10.1002/adma.202309164
6. Алексеев К.В., Блынская Е.В., Тишков С.В. и др. Особенности двумерной печати лекарственных форм в фармацевтической технологии. Вопросы обеспечения качества лекарственных средств 2020;2:28–39. DOI: 10.34907/JPQAI.2020.48.31.005  
Alekseev K.V., Blynskaja E.V., Tishkov S.V. et al. Features of two-dimensional printing of dosage forms in pharmaceutical technology. Voprosy obespechenija kachestva lekarstvennykh sredstv = Issues of Quality Assurance of Medicines 2020;2:28–39. DOI: 10.34907/JPQAI.2020.48.31.005. (In Russ.).
7. Алексеев К.В., Блынская Е.В., Тишков С.В. и др. Технология двумерной печати лекарственных форм в системе персонализированной медицины. Биофармацевтический журнал 2020;12(3):14–21. DOI: 10.30906/2073-8099-2020-12-3-14-21  
Alekseev K.V., Blynskaja E.V., Tishkov S.V. et al. The technology of two-dimensional printing of dosage forms in the personalized medicine system. Biofarmaceuticheskij zhurnal = Biopharmaceutical Journal 2020;12(3):14–21. (In Russ.). DOI: 10.30906/2073-8099-2020-12-3-14-21
8. Castrejón-Pita A.A., Betton E.S., Campbell N. et al. Formulation, quality, cleaning, and other advances in inkjet printing. Atomiz Spr 2021;31(4):57–79. DOI: 10.1615/AtomizSpr.2020034559
9. Fromm J. E. Numerical calculation of the fluid dynamics of drop-on-demand jets. IBM J Res Devel 1984;28(3):322–33. DOI: 10.1147/rd.283.0322
10. Azizi Macheqposhti S., Movahed S., Narayan R.J. Physicochemical parameters that underlie inkjet printing for medical applications. Biophys Rev (Melville) 2020;1(1):1–33. DOI: 10.1063/5.0011924
11. Reis N., Ainsley C., Derby B. Ink-jet delivery of particle suspensions by piezoelectric droplet ejectors. J Appl Physics 2005;97(9). DOI: 10.1063/1.1888026
12. Jang D., Kim D., Moon J. Influence of fluid physical properties on ink-jet printability. Langmuir 2009;25(5):2629–35. DOI: 10.1021/la900059m
13. Kuscer D., Stavber G., Trefalt G. et al. Formulation of an aqueous titania suspension and its patterning with ink-jet printing technology. J Am Ceramic Soc 2012; 95 (2): 487–93. DOI: 10.1111/j.1551-2916.2011.04876.x
14. Breitsohl H. Beyond ANOVA: An introduction to structural equation models for experimental designs. Organizat Res Meth 2019;22(3):649–77. DOI: 10.1177/1094428118754988
15. Chen W.H., Uribe M.C., Kwon E.E. et al. A comprehensive review of thermoelectric generation optimization by statistical approach: Taguchi method, analysis of variance (ANOVA), and response surface methodology (RSM). Renewable and Sustainable Energy Rev 2022;169(112917):1–17. DOI: 10.1016/j.rser.2022.112917
16. Блынская Е.В., Тишков С.В., Алексеев К.В. и др. Применение дисперсионного анализа с целью подбора вспомогательных веществ для получения лиофилизированных таблеток ГК-2. Вестник ВГУ. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2019; 1:117–126. DOI: 10.31838/ijpr/2020.SP1.142  
Blynskaya E.V., Tishkov S.V., Alekseev K.V. et al. Use of analysis of variance to select excipients for lyophilized tablets GK2. Vestnik VGU. Ser. Khimiya. Biologiya. Farmatsiya = Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy 2019;1:117–26. DOI: 10.31838/ijpr/2020.SP1.142

**Вклад авторов**

С.В. Тишков: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи;  
В.К. Алексеев: получение материала исследования, написание текста рукописи, анализ полученных данных;  
Е.В. Блынская: разработка дизайна исследования, обобщение материала исследования;  
С.Н. Суслина: обзор публикаций по теме, анализ материала.

**Authors' contribution**

S.V. Tishkov: development of research design, analysis of the data obtained, writing the text of the manuscript;  
V.K. Alekseev: obtaining research material, writing the text of the manuscript, analysis of the data obtained;  
E.V. Blynskaya: development of research design, generalization of research material;  
S.N. Suslina: review of publications on the topic, analysis of the material.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

С.В. Тишков / S.V. Tishkov: <https://orcid.org/0000-0002-8321-6952>  
В.К. Алексеев / V.K. Alekseev: <https://orcid.org/0000-0003-3542-0024>  
Е.В. Блынская / E.V. Blynskaya: <https://orcid.org/0000-0002-9494-1332>  
С.Н. Суслина / S.N. Suslina: <https://orcid.org/0000-0002-7333-2263>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Funding. The study was performed without external funding.

Статья поступила: 08.06.2024. Принята в печать: 06.03.2025. Опубликована онлайн: \*\*.\*\*.2025.

Article received: 08.06.2024. Accepted for publication: 06.03.2025. Published online: \*\*.\*\*.2025.

# Биологические аспекты применения композиционных материалов на основе полилактида в ортопедии

П.М. Качалина<sup>1</sup>, П.А. Ковалева<sup>1</sup>, А.И. Черемных<sup>1</sup>, В.А. Львов<sup>1</sup>, Н.Ю. Анисимова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС»; Россия, 119049 Москва, Ленинский пр-кт, 4;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Полина Михайловна Качалина [m1905504@edu.misis.ru](mailto:m1905504@edu.misis.ru)

**Введение.** Пациентам со злокачественными опухолями костей и суставов часто требуется проведение реконструктивных операций для остеосинтеза или артродеза. Дизайн конструкции может быть реализован за счет 3D-печати с использованием биodeградируемых материалов с эффектом памяти формы, что позволит облегчить оперативный доступ и снизить риск проведения повторной операции.

**Цель исследования** – оценка механических свойств, биосовместимости и биологической активности полимеров из полилактида (ПЛА) с добавлением гидроксиапатита (ГА) и диоксида кремния (SiO<sub>2</sub>), произведенных методом экструзии и 3D-печати, для выявления перспектив разработки на их основе имплантатов для остеореконструктивных операций.

**Материалы и методы.** Материалы на основе ПЛА с добавлением 10, 15 и 20 % ГА и SiO<sub>2</sub> были получены методом экструзии. Из данных материалов методом 3D-печати получили образцы, прошедшие исследование на сжатие. Исследовали также экстракты образцов, полученные после инкубации образцов в фетальной телячьей сыворотке в течение 30 сут. Биосовместимость оценивали по уровню гемолиза и цитотоксичности экстрактов из материалов, а также стимуляции оксидативного стресса. Отдельно изучали влияние экстрактов на клеточную адгезию и интенсивность колонизации мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками поверхности как интактных, так и подвергнутых биodeградации образцов.

**Результаты.** Установлено, что добавление к ПЛА ГА и SiO<sub>2</sub> не приводило к достоверному нарастанию гемолиза и цитотоксичности в сравнении с чистым ПЛА. Однако инкубация с экстрактами образцов, содержащих 20 % примеси, стимулировала нарастание оксидативного стресса в лейкоцитах и угнетала клеточную адгезию. Образцы на основе смеси ПЛА с 10 и 15 % ГА максимально эффективно стимулировали колонизацию клетками поверхности образцов.

**Заключение.** Материалы на основе ПЛА, дополненного 10 и 15 % ГА, сочетают высокую прочность, биосовместимость, способность к биodeградации и эффективную osteoкондуктивность, что делает их перспективными кандидатами для изготовления имплантатов для остеореконструкции и артродеза пациентов с проблемами опорно-двигательной системы, и в частности онкологических больных.

**Ключевые слова:** имплантат, полилактид, эффект памяти формы, артродез, остеопластика

**Для цитирования:** Качалина П.М., Ковалева П.А., Черемных А.И. и др. Биологические аспекты применения композиционных материалов на основе полилактида в ортопедии. Российский биотерапевтический журнал 2025;24(1):78–86.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-78-86>

## Biological aspects of the polylactide-based composite materials application in orthopedics

Polina M. Kachalina<sup>1</sup>, Polina A. Kovaleva<sup>1</sup>, Anna I. Cheremnykh<sup>1</sup>, Vladislav A. Lvov<sup>1</sup>, Natalia Yu. Anisimova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>National University of Science and Technology «MISIS»; 4 Leninskiy Pr., Moscow 119049, Russia;

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

**Contacts:** Polina Mikhailovna Kachalina [m1905504@edu.misis.ru](mailto:m1905504@edu.misis.ru)

**Background.** Patients with malignant bone and joint tumors often require reconstructive surgery for osteosynthesis or arthrodesis. The design of the implant can be realized by 3D printing using biodegradable materials with shape memory effect, which will facilitate operative access and reduce the risk of reoperation.

**Aim.** The study aimed to evaluate the mechanical properties, biocompatibility and biological activity of polylactide (PLA) with hydroxyapatite (HA) and silicon dioxide (SiO<sub>2</sub>) produced by extrusion and 3D printing to identify prospects for the development of implants based on them for osteoreconstructive surgeries.

**Materials and methods.** Materials based on PLA with the addition of 10, 15 and 20 % HA and SiO<sub>2</sub> were obtained by extrusion. These materials were 3D-printed to produce samples that underwent a compression test. Their extracts obtained after incubation of the samples in fetal calf serum for 30 days were examined. Biocompatibility was assessed by the level of hemolysis and cytotoxicity of the extracts, as well as stimulation of oxidative stress. The effects of the extracts on cell adhesion and intensity of multipotent mesenchymal stromal cells colonization on the surface of both intact and biodegraded samples were studied separately.

**Results.** The addition of HA and SiO<sub>2</sub> to PLA did not significantly increase hemolysis and cytotoxicity compared to pure PLA. However, incubation with extracts of samples containing 20 % stimulated an increase in oxidative stress in leukocytes, and inhibited cell adhesion. Samples with 10 and 15 % HA maximally stimulated cell colonization on the sample surface.

**Conclusion.** Materials based on PLA with 10 and 15 % HA combine high strength, biocompatibility, biodegradability and effective osteoconductivity, which makes them promising candidates for implants for osteoreconstruction and arthrodesis.

**Keywords:** implant, polylactide, shape memory effect, arthrodesis, osteoplasty

**For citation:** Kachalina P.M., Kovaleva P.A., Cheremnykh A.I. et al. Biological aspects of the polylactide-based composite materials application in orthopedics. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2025;24(1):78–86. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-78-86>

## Введение

Необходимость проведения реконструкции костей и суставов возникает вследствие целого ряда причин, к которым относят травмы, хроническую деформацию, врожденное недоразвитие или разрушение кости опухолью [1]. Наиболее частыми онкологическими заболеваниями, приводящими к разрушению костной ткани, являются остеосаркома [2, 3], саркома Юинга, хондросаркома, рецидивы или развитие метастазов иных видов злокачественных опухолей. Хирургическое лечение злокачественных опухолей костей включает резекцию образования и проведение реконструктивных операций [4]. Несмотря на широкое распространение в клинической практике имплантатов на основе нержавеющей стали или титановых сплавов, они не обеспечивают все возникающие потребности, особенно в тех случаях, когда требуется применение биodeградируемого имплантата [5].

К материалам, разрабатываемым для этих целей, предъявляется целый спектр требований. Например, проведение артродеза за счет использования достаточно жестких конструкций призвано обеспечить бездвиживание суставного сочленения, а оказываемая ими компрессия должна препятствовать сдвигу или изгибанию [6], обеспечивать плотное прилегание частей бывшего сустава, позволяя осуществлять опороспособность конечности без вовлечения патологического

сустава. Именно поэтому имплантируемая конструкция для артродеза, наряду с биосовместимостью и прочностью, должна по своей конфигурации быть конгруэнтной фиксируемому суставу или его фрагментам. Сложный дизайн конструкции может быть реализован за счет использования современных методов прототипирования, таких как 3D- и 4D-принтинг, позволяющих получать как стандартизированные, так и индивидуализированные изделия, разработанные по снимкам компьютерной/магнитно-резонансной томографии конкретного пациента [7, 8]. В последние годы разрабатывается новое направление получения таких конструкций за счет использования материалов с эффектом памяти формы. Данный подход позволяет упростить хирургический доступ для вводимой конструкции, которая может менять свою форму или размеры после введения в область дефекта под влиянием внешнего стимула (температуры, магнитного поля, pH и т.д.) [8–11].

В настоящее время исследователи в качестве оптимального кандидата для разработки изделий подобного рода используют полилактид (ПЛА), поскольку он широко применяется для 3D-печати, чувствителен к тепловому программированию, используется для тканевой инженерии, сердечно-сосудистой хирургии и ортопедии [12–14]. Как известно, ПЛА относится к биodeградируемым материалам, что перспективно для разработки на его основе погружных

изделий для артродеза и остеопластики. Объем изделия будет постепенно замещаться собственными тканями пациента, стимулируя остео- и хондрогенез. Для улучшения свойств медицинских изделий на основе ПЛА предложено использовать композиты с дисперсными наполнителями, что призвано увеличить чувствительность к термическому программированию, а также улучшить степень восстановления формы. Однако число работ, описывающих исследования по данной тематике, невелико, и пока нет доказательств успешного внедрения в рутинную клиническую практику биодеградируемых имплантатов с эффектом памяти формы для ортопедии и артродеза [13, 15].

В течение ряда лет на базе ФГАОУ ВО НИТУ «МИСиС» идут работы по разработке инновационных полимерных материалов для замещения костных и хрящевых дефектов, а также получению на их основе изделий со специфической активностью, перспективных для применения в ортопедии и онкологии [16, 17]. На данный момент получены и исследованы различные материалы на основе ПЛА для создания инновационных медицинских изделий [18, 19]. Перспективным направлением представляется разработка материалов с эффектом памяти формы на основе ПЛА с гидроксипапатитом (ГА) и диоксидом кремния ( $\text{SiO}_2$ ), однако еще не сформировалось единого мнения об их составе, обеспечивающем оптимальное сочетание прочностных характеристик, биосовместимости и биологической активности.

**Цель исследования** – оценка механических свойств, биосовместимости и биологической активности полимеров из ПЛА с добавлением ГА и  $\text{SiO}_2$ , произведенных методом экструзии и 3D-печати, для выявления перспектив разработки на их основе имплантатов для остеореконструктивных операций.

### Материалы и методы

Для проведения исследований использовали материалы на основе ПЛА с молекулярной массой 209 000 г/моль, наполненные 10, 15 и 20 % массовой доли примесей. ГА в виде частиц 5–50 нм (ПЛА/10 % ГА, ПЛА/15 % ГА и ПЛА/20 % ГА соответственно) и  $\text{SiO}_2$  в виде частиц 6–9 мкм (ПЛА/10 %  $\text{SiO}_2$ , ПЛА/15 %  $\text{SiO}_2$  и ПЛА/20 %  $\text{SiO}_2$  соответственно). Материалы получены методом экструзии при температуре 180 °С, после чего методом 3D-печати получены экспериментальные образцы.

Механические испытания на сжатие проводили на образцах ПЛА и композитов (по 4 образца каждого состава) согласно ГОСТ 4651–2014 «Пластмассы. Метод испытания на сжатие» на универсальной испытательной машине Zwick/Roell Z200 (Zwick GmbH & Co. KG, Германия). Испытание прекращали при достижении образцом деформации 50 % или при разрушении.

Для исследования биологической активности использовали образцы материалов размером  $40 \times 5 \times 2$  мм, предварительно обработанные в 70-процентном растворе этилового спирта под действием ультразвука в течение 10 мин, высушенные при температуре 40 °С и подвергнутые ультрафиолетовому облучению в течение 2 ч. Исследовали также содержащие продукты биодеградации образцов экстракты. Для получения экстрактов образцы материалов инкубировали в фетальной телячьей сыворотке (HyClone, Thermo Fisher, Великобритания) при температуре 37 °С в атмосфере с 5 %  $\text{CO}_2$  в течение 30 сут. Смену среды инкубации проводили каждые 3 дня. Затем собирали супернатант, полученный после центрифугирования последних порций сыворотки при 5000 об/мин в течение 5 мин.

Для оценки биосовместимости производили оценку способности материалов на основе ПЛА индуцировать гемолиз и цитотоксичность. Исследования проводили с использованием эритроцитов и мононуклеарных лейкоцитов, выделенных из крови мышей линии C57Bl/6 и суспендированных в растворе Хенкса в концентрации  $6,2 \times 10^9$  кл/мл и в питательной среде на основе Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) с добавлением 4 мМ L-глутамин, 1 % пенициллина/стрептомицина («ПанЭко», Россия) и 10 % фетальной бычьей сыворотки (Hy Clone, Thermo Fisher, Великобритания) в концентрации  $6 \times 10^6$  кл/мл соответственно. Клетки инкубировали с экстрактами при соотношении объемов 9:1. В качестве контроля использовали клетки, инкубированные при соблюдении указанных условий в среде, дополненной фетальной бычьей сывороткой при соотношении объемов 9:1 без добавления экстрактов. Гемолиз оценивали через 2 ч инкубации, измеряя в триплетах оптическую плотность супернатантов при длине волны 540 нм с помощью планшетного ридера Spark (Tecan, Швейцария), с последующим расчетом уровня гемолиза, выраженного в процентах, как описано ранее [20]. Цитотоксичность определяли в триплетах через 1 сут инкубации по изменению уровня активности лактатдегидрогеназы клеток с использованием набора Pierce LDH Cytotoxicity Assay Kit (Thermo Scientific, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Оптическую плотность измеряли при длине волны 492 нм с референсом при 620 нм с использованием планшетного ридера. Цитотоксичность рассчитывали как процент активности лактатдегидрогеназы клеток, совместно инкубированных с экстрактами образцов, по отношению к среднему значению в контроле.

Для изучения уровня оксидативного стресса лейкоциты мыши инкубировали с экстрактами, а затем анализировали концентрацию клеток с активными формами кислорода с помощью Muse® Oxidative Stress Kit (EMD Millipore, США) и клеточного анализатора Muse Cell Analyser (Millipore, Германия).

Адгезию клеток изучали в процессе инкубации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) мышей (коллекция ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина») в полной питательной среде в концентрации  $5,8 \times 10^5$  кл/мл, содержащей экстракты композитов при соотношении объемов 9:1, с использованием системы анализа клеток в реальном времени Agilent (RTCA xCELLing, ACEA Biosciences, США). В контроле клетки инкубировали в среде без экстракта. Результаты оценивали в дуплетах, анализируя динамику изменения в течение 24-часовой инкубации клеточного индекса, рассчитанного с использованием программного обеспечения прибора. Документирование клеточной адгезии осуществляли через 2 ч инкубации. С этой целью клетки промывали свежей порцией среды, окрашивали красителем Calcein AM (Sigma-Aldrich, USA) в соответствии с инструкцией производителя и фиксировали наличие на дне лунок распластанных живых флуоресцирующих клеток с использованием микроскопа LionHeart FX (Perkin Elmer, USA).

Для изучения способности материалов стимулировать колонизацию клетками поверхности использовали ММСК. 20 мкл ММСК, суспендированных в питательной среде ( $6 \times 10^5$  кл/мл), высевали на поверхность образцов до начала и после 30 сут биodeградации в условиях, описанных выше. Через 5 сут инкубации образцы промывали, окрашивали и изучали клетки на их поверхности после окраски Calcein AM.

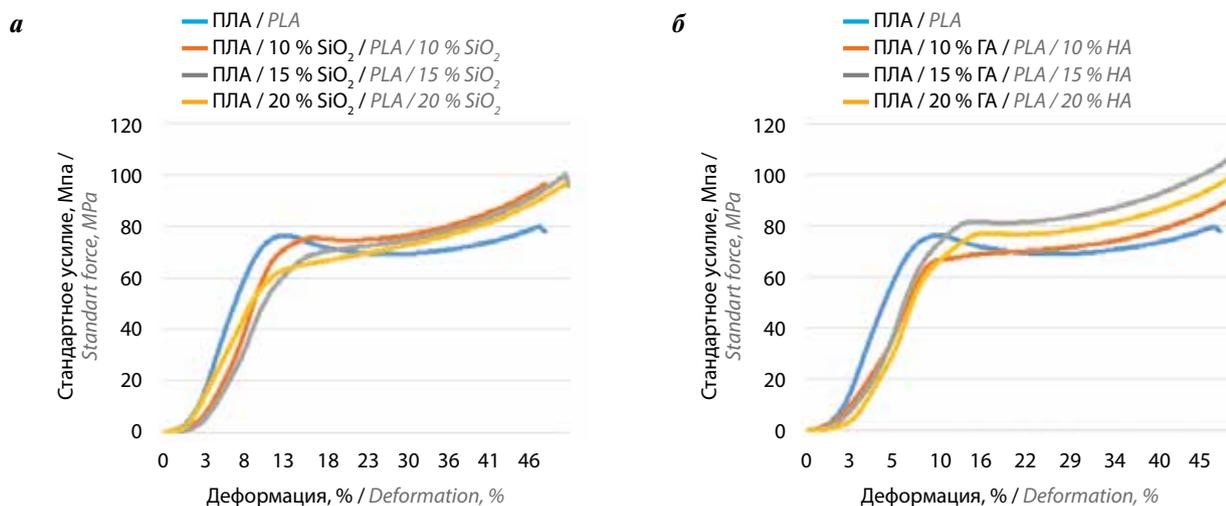
Измерения представлены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение. Однофакторный дисперсионный анализ и *t*-критерий Стьюдента использованы для расчета значений *p*. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Результаты механических испытаний на сжатие образцов ПЛА, а также ПЛА/SiO<sub>2</sub> и ПЛА/ГАП 10, 15 и 20 % массовой доли примесей наполнителя представлены на рис. 1. Из графиков видно, что добавление SiO<sub>2</sub> приводит к снижению нагрузки, которую образец способен выдержать упруго, в то время как добавление ГА приводит к возрастанию данного значения. Кроме того, при концентрации 15 % массовой доли примесей наблюдается наибольшее значение нагрузки, которую способен выдержать образец. Данное значение составляет ~100 МПа, что на 25 МПа больше, чем для чистого ПЛА.

Данные модуля Юнга исследованных материалов, полученные из графиков испытаний на сжатие, представлены в табл. 1. Можно заметить, что добавление наполнителя вызывает возрастание значений упругости. Для образцов ПЛА/SiO<sub>2</sub> данное значение достигает максимума при концентрации наполнителя 10 % массовой доли примесей, после чего оно постепенно снижается. Для ПЛА/ГА наблюдается плавный рост модуля Юнга, а максимум достигается при ГА 15 % массовой доли примесей. Исходя из полученных данных можно сделать вывод о том, что максимальная оптимизация свойств композитов наблюдается для ПЛА/ГА 15 % массовой доли примесей.

Для изучения биосовместимости разработанных материалов проведены исследования индуцированного гемолиза и цитотоксичности. Выполненный анализ показал, что после инкубации клеток крови со всеми образцами на основе ПЛА не отмечали достоверной разницы этих показателей в сравнении с контролями ( $p > 0,05$ ). Показано, что в сравнении с ПЛА активность образцов, содержащих различные



**Рис. 1.** Графики зависимости стандартных усилий от деформации при сжатии образцов из полилактида (ПЛА), а также композитов с 10, 15 и 20 % массовой доли примесей диоксида кремния (SiO<sub>2</sub>) (а) и гидроксиапатита (ГА) (б)

**Fig. 1.** Graphs of dependence of standard forces on strain during compression of polylactide (PLA) samples and composites with 10, 15 and 20 % mass fraction of impurities, of silicon dioxide (SiO<sub>2</sub>) (a) and hydroxyapatite (HA) (б)

**Таблица 1.** Значения модуля Юнга для полилактида (ПЛА) и композитов с 10, 15 и 20 % массовой доли примесей диоксида кремния ( $\text{SiO}_2$ ) и гидроксиапатита (ГА)

**Table 1.** Young's modulus for polylactide (PLA) and composites with 10, 15 and 20 % mass fraction of impurities of silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ) and hydroxyapatite (HA)

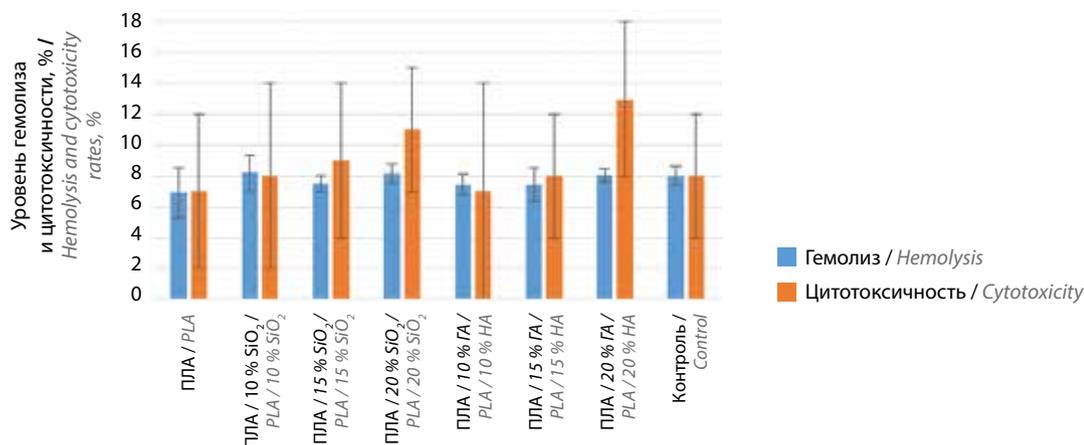
Материал Material	Модуль Юнга, МПа Young's modulus, MPa	Материал Material	Модуль Юнга, МПа Young's modulus, MPa
ПЛА PLA	870,66	ПЛА PLA	870,66
ПЛА/10 % $\text{SiO}_2$ PLA/10 % $\text{SiO}_2$	1154,46	ПЛА/10 % ГА PLA/10 % HA	961,66
ПЛА/15 % $\text{SiO}_2$ PLA/15 % $\text{SiO}_2$	1016,88	ПЛА/15 % ГА PLA/15 % HA	1124,73
ПЛА/20 % $\text{SiO}_2$ PLA/20 % $\text{SiO}_2$	1041,98	ПЛА/20 % ГА PLA/20 % HA	1123,46

концентрации  $\text{SiO}_2$  и ГА, достоверно не нарастала (рис. 2). Однако можно заметить тенденцию нарастания цитотоксичности и гемолиза под воздействием продуктов биодеградации материалов, содержащих максимальную концентрацию  $\text{SiO}_2$  и ГА, соответствующую 20 % массовой доли примесей, хотя это и не было подтверждено результатами сравнительного статистического анализа ( $p > 0,05$ ).

Для углубленного исследования характера оказываемого на клетки потенциального негативного воздействия было изучено развитие оксидативного стресса в культуре клеток под влиянием экстрактов указанных материалов. Полученные данные показали, что под воздействием продуктов биодеградации образцов на основе ПЛА, содержащих 20 % массовой

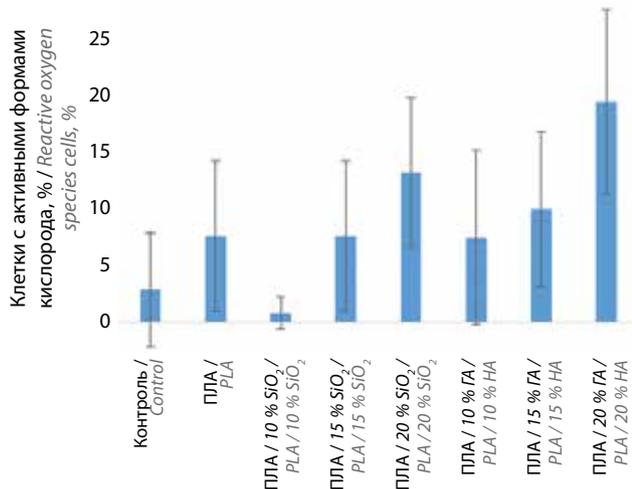
доли примесей  $\text{SiO}_2$  или ГА, наблюдали значимое (в 3–4 раза) увеличение содержания клеток с признаками индукции оксидативного стресса в сравнении с контролем ( $p = 0,048$  и  $p = 0,020$  соответственно) (рис. 3). Статистически достоверно этот эффект был доказан только относительно экстракта ПЛА/20 %  $\text{SiO}_2$  ( $p = 0,044$ ). Как известно, накопление в клетках избыточных количеств активных форм кислорода вызывает повреждение белков, нуклеиновых кислот, липидов мембран и органелл, инициируя активацию апоптоза, опосредующего оставленную во времени гибель клеток [21].

Поскольку под влиянием продуктов биодеградации исследованных образцов не обнаружено статистически достоверного повышения уровня гемолиза



**Рис. 2.** Индукция гемолиза и цитотоксичности под влиянием продуктов биодеградации материалов на основе чистого полилактида (ПЛА), а также композитов на его основе, содержащих диоксид кремния ( $\text{SiO}_2$ ) и гидроксиапатит (ГА) в концентрации 10, 15 и 20 % массовой доли примесей в сравнении с контролем

**Fig. 2.** Induction of hemolysis and cytotoxicity under the influence of biodegradation products of polylactide (PLA) based materials, as well as composites, containing silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ) and hydroxyapatite (HA) at concentrations of 10, 15 and 20 % mass fraction of impurities in comparison with the control



**Рис. 3.** Стимуляция оксидативного стресса в культуре мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток под влиянием экстрактов материалов на основе чистого полилактида (ПЛА), а также его смеси с диоксидом кремния ( $\text{SiO}_2$ ) и гидроксиапатитом (ГА) в различной концентрации. \* $p < 0,05$

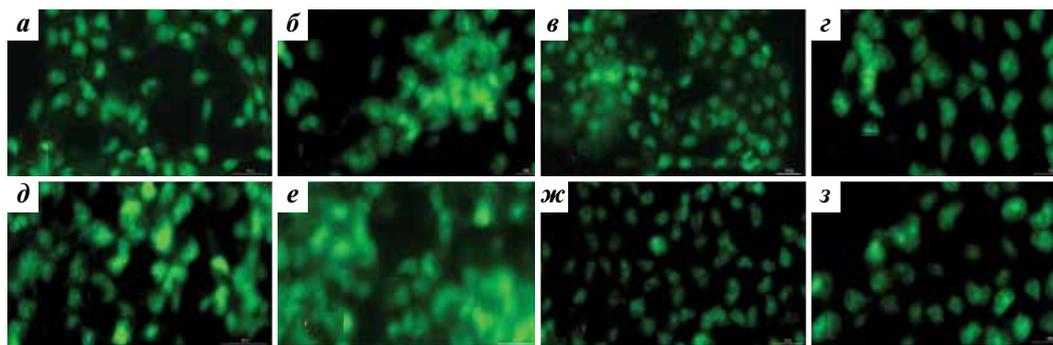
**Fig. 3.** Stimulation of oxidative stress in multipotent mesenchymal stromal cells culture under the influence of extracts of polylactide (PLA) based materials, as well as composites with silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ) and hydroxyapatite (HA) at different concentrations. \* $p < 0.05$

и цитотоксичности в сравнении со спонтанным уровнем в контроле, то можно сделать вывод о биосовместимости всех материалов на основе ПЛА. Тем не менее следует учитывать возможность реализации последствий токсического воздействия на клетки продуктов деградации образцов, содержащих 20 % массовой доли примесей, при удлинении времени совместной инкубации без промежуточной смены среды.

Стимуляция клеточной адгезии является одним из наиболее изучаемых параметров, характеризующих биосовместимость и перспективы применения разрабатываемых для остеопластики материалов, поскольку

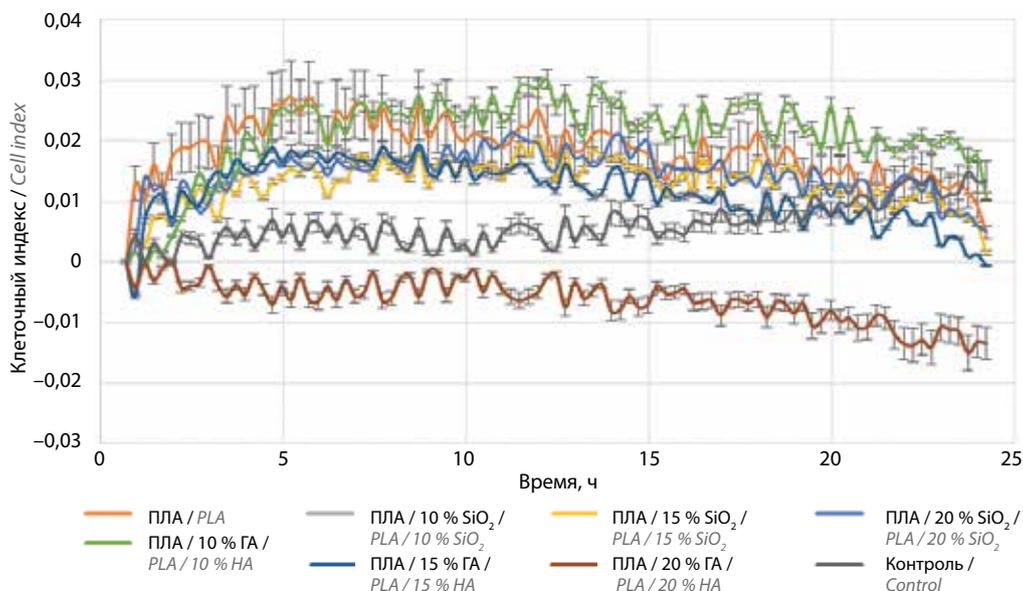
опосредует их колонизацию аутологичными клетками и возможность последующей интеграции имплантата в ткани. Изучение клеточной адгезии под влиянием экстрактов материалов, проведенное посредством флуоресцентной микроскопии распластанных клеток, позволило удостовериться в том, что через 2 ч коинкубации слабее всего клеточную активность стимулировали образцы ПЛА/20 %  $\text{SiO}_2$ , а ПЛА/10 % ГА и ПЛА/15 % ГА проявляли наиболее выраженную активность (рис. 4). Эффект остальных образцов был незначителен относительно контроля.

Более подробно кинетику адгезии клеток под воздействием продуктов биодеградации различных образцов на основе ПЛА можно проследить на графике, отображающем изменение клеточной реактивности относительно базового уровня в ходе 24-часовой коинкубации (рис. 5). Можно видеть, что почти сразу после внесения в среду инкубации экстракта ПЛА/20 %  $\text{SiO}_2$  начало проследиваться снижение уровня клеточного индекса, прямо коррелирующего с количеством адгезивных клеток и степенью их распластывания на дне лунки, характеризовавшееся интенсивным уменьшением показателя после 15 ч инкубации. Кинетика этого процесса может указывать на постепенное накопление негативного для клеточной активности эффекта воздействия данного экстракта, реализующегося либо за счет индукции апоптоза, либо за счет цитопатогенного воздействия, опосредованного реакцией поверхностных рецепторов, ведущего к ошариванию и откреплению клеток от подложки. В контроле наблюдали достаточно равномерное повышение клеточного индекса в ходе инкубации, что, вероятно, обусловлено нарастанием конфлюэнтности вследствие реализации пролиферативного клеточного потенциала. Остальные экстракты стимулировали достаточно быстрое нарастание



**Рис. 4.** Влияние экстрактов образцов полилактида (а), а также смеси полилактида с диоксидом кремния в концентрации 10 % (б), 15 % (в), 20 % (г) и гидроксиапатитом в концентрации 10 % (д), 15 % (е), 20 % (ж) на адгезию мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток через 2 ч после начала инкубации в сравнении с контролем (з)

**Fig. 4.** Effect of extracts of pure polylactide samples (a), as well as polylactide and silicon dioxide mixture at concentrations of 10 % (б), 15 % (в), 20 % (г) and hydroxyapatite at concentrations of 10 % (д), 15 % (е), 20 % (ж) on adhesion of multipotent mesenchymal stromal cells 2 h after the beginning of incubation compared to control (з)

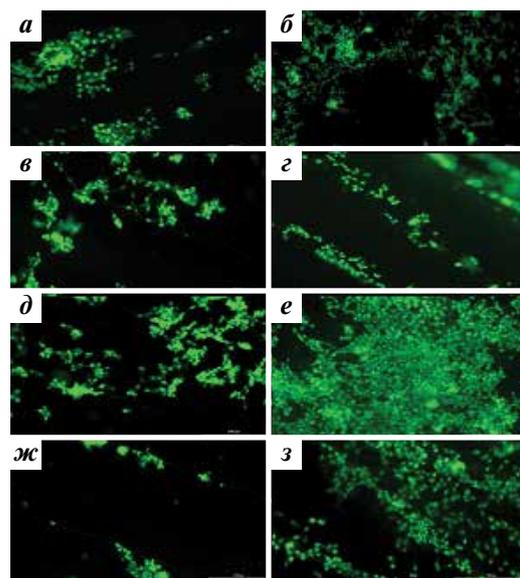


**Рис. 5.** Динамика клеточного индекса в процессе инкубации мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в питательной среде, содержащей экстракты образцов чистого полилактида (ПЛА), а также смеси ПЛА с диоксидом кремния ( $\text{SiO}_2$ ) и гидроксиапатитом (ГА) в концентрации 10, 15 и 20 % массовой доли примесей в сравнении с контролем

**Fig. 5.** Cell index dynamics in the process of multipotent mesenchymal stromal cells incubation in nutrient medium containing extracts of pure polylactide (PLA) samples, as well as a mixture of PLA with silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ) and hydroxyapatite (HA) at concentrations of 10, 15 and 20 % mass fraction of impurities in comparison with control

клеточного индекса уже в первые 20 мин после начала эксперимента с поддержанием заданного уровня в течение 13–15 ч с последующим плавным ослаблением реактивности ММСК. Учитывая остеогенный потенциал ММСК [22], можно констатировать, что полученные результаты указывают на наличие у всех материалов, кроме ПЛА/20 %  $\text{SiO}_2$ , остеокондуктивных свойств, проявляющихся в способности стимулировать адгезию остеогенных клеток. Такое свойство разрабатываемых материалов на основе ПЛА, дополненных ГА и  $\text{SiO}_2$ , позволяет надеяться на то, что изготовленные из них имплантаты с эффектом памяти формы будут активно стимулировать ускоренную фиксацию в области дефекта, а также его репарацию за счет неоостеогенеза.

Успешная колонизация клетками поверхности имплантата, с одной стороны, обусловлена активацией клеточной адгезии за счет экспрессии на поверхности мембраны рецепторов, опосредующих прикрепление к скаффолду. К таковым относят рецепторы интегринов, фибронектина, витронектина, ламинина [23]. С другой стороны, этот результат зависит от развитости рельефа имплантата, облегчающего сцепление с клеткой, а также обеспечивающего оптимальные условия для пролиферации [24]. Ожидается, что биodeградация ведет к модификации поверхности имплантата и образованию рельефа, однако конечный эффект стимуляции колонизации зависит от характера биodeградации материала его



**Рис. 6.** Результаты клеточной адгезии на поверхностях образцов после прохождения ими процесса биodeградации: а – полилактид (ПЛА); б – контроль; в – ПЛА с добавлением 10 % диоксида кремния ( $\text{SiO}_2$ ); г – ПЛА с добавлением 10 % гидроксиапатита (ГА); д – ПЛА с добавлением 15 %  $\text{SiO}_2$ ; е – ПЛА с добавлением 15 % ГА; ж – ПЛА с добавлением 20 %  $\text{SiO}_2$ ; з – ПЛА с добавлением 20 % ГА

**Fig. 6.** Results of cell adhesion on the surfaces of the samples after they undergo biodegradation process: а – polylactide (PLA); б – control; в – PLA with addition of 10 % silicon dioxide ( $\text{SiO}_2$ ); г – PLA with addition of 10 % hydroxyapatite (HA); д – PLA with addition of 15 %  $\text{SiO}_2$ ; е – PLA with addition of 15 % HA; ж – PLA with addition of 20 %  $\text{SiO}_2$ ; з – PLA with addition of 20 % HA

основы. Очевидно, что если биодеградация поверхности имплантата протекает слишком бурно, то клетки будут элиминированы с поверхности вместе с частями разрушающейся основы. В нашем исследовании было проведено сравнительное изучение эффекта стимуляции колонизации ММСК поверхности интактных образцов до начала биодеградации и образцов после 30 сут биодеградации в фетальной телячьей сыворотке. Полученные данные, представленные на рис. 6, показали нарастание интенсивности клеточной колонизации на поверхности образцов, предварительно подвергнутых деградации в биоактивной среде. В сравнении с чистым ПЛА образцы, содержащие 10 и 15 % массовой доли примесей наполнителей, показали более выраженный эффект. Наименьшее количество клеток детектировали на поверхности образцов ПЛА/20 % ГА и ПЛА/20 % SiO<sub>2</sub>, а наибольшее – на образцах ПЛА/10 % ГА и ПЛА/15 % ГА как интактных, так и подвергнутых предварительной деградации в биоактивной среде.

### Заключение

По результатам проведенных экспериментов можно сделать вывод о том, что введение в ПЛА наполнителя в виде 20 % ГА и SiO<sub>2</sub> способствовало нарастанию токсичности образцов, вероятно, за счет накопления в среде продуктов биодеградации, что опосредовало нарастание уровня окислительного стресса, потенцирующего инициацию апоптоза.

Образцы имплантатов с поверхностью, измененной вследствие предварительной биодеградации

в сыворотке крови, более активно стимулировали колонизацию ММСК на поверхности. В ходе последующих исследований предполагается изучение эффективности предварительной инкубации имплантатов в биоактивной среде для усложнения рельефа подложки с целью стимуляции остеокондуктивности *in vivo*. Быстрая фиксация клеток на ложе имплантата в ранний постоперационный период способствует стабильности остеосинтеза и артродеза, ускоренной фиксации имплантата в конструкции и окружающих тканях и даже может снизить риск развития местных инфекционных осложнений, поскольку будет препятствовать развитию бактериальной пленки на поверхности имплантата [25].

Поскольку оптимальное сочетание прочностных свойств и биосовместимости наряду с эффективной остеокондуктивностью обеспечивает введение в ПЛА 10 и 15 % ГА, эти материалы можно рекомендовать для изготовления имплантатов для проведения остеосинтеза и артродеза с последующим изучением свойств изделий *in vivo*. Описанные медицинские изделия представляют интерес для использования при лечении широкого контингента пациентов с проблемами опорно-двигательной системы в целом и онкологических больных в частности. В дальнейшем ценность этой разработки для лечения пациентов со злокачественными опухолями, поражающими кости и суставы, может быть еще более усилена за счет модификации имплантатов противоопухолевыми препаратами с целью достижения местного циторедуктивного эффекта и предотвращения рецидива заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гуди С.М., Епишин В.В., Пахомов И.А. и др. Проксимальный межфаланговый артродез в комплексе лечения пациентов с молоткообразной деформацией малых пальцев стопы. Современные проблемы науки и образования 2018;6. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28341>. Godi S.M., Epishin V.V., Pakhomov I.A. et al. Proximal interphalangeal arthrodesis in the complex treatment of patients with hammer-shaped deformity of the small toes. *Sovremennye problemy nauki y obrazovaniya* = Modern Problems of Science and Education 2018; 6. (In Russ.). URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=28341>.
2. Bielack S., Carrle D., Casali P.G. et al. Osteosarcoma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2009;20(Suppl. 4):137–9. DOI: 10.1093/annonc/mdn102
3. Allison D.C., Carney S.C., Ahlmann E.R. et al. A meta-analysis of osteosarcoma outcomes in the modern medical era. *Sarcoma* 2012;2012(4):704872. DOI: 10.1155/2012/704872
4. Li Y., Yang Y., Huang Z. et al. Bone defect reconstruction with autologous bone inactivated with liquid nitrogen after resection of primary limb malignant tumors: An observational study. *Medicine* 2020;99(24):20442. DOI: 10.1097/MD.0000000000020442
5. Tapscott D.C., Wottowa C. Orthopedic Implant Materials. 2023. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024.
6. Benjamin B., Ryan P., Chechel'nitskaya Y. et al. Intraosseous device for arthrodesis in foot and ankle surgery: review of the literature and biomechanical properties. *World J Orthop* 2021;12(12):1036–44. DOI: 10.5312/wjo.v12.i12.1036
7. Ngo T.D., Kashani A., Imbalzano G. et al. Additive manufacturing (3D printing): a review of materials, methods, applications and challenges. *Compos B Eng* 2018;143:172–96. DOI: 10.1016/j.compositesb.2018.02.012
8. Gisario A., Kazarian M., Martina F. et al. Metal additive manufacturing in the commercial aviation industry: a review. *J Manuf Syst* 2019;53:124–49. DOI: 10.1016/j.jmsy.2019.08.005
9. Khoo Z.X., Teoh J.E.M., Liu Y. et al. 3D printing of smart materials: a review on recent progresses in 4D printing. *Virtual Phys Prototyp* 2015;10(3):103–22. DOI: 10.1080/17452759.2015.1097054
10. Huang W.M., Zhao Y., Wang C. et al. Thermo/chemo-responsive shape memory effect in polymers: a sketch of working mechanisms, fundamentals and optimization. *J Polym Res* 2012;19(9):9952. DOI: 10.1007/s10965-012-9952-z

11. Mehrpouya M., Vahabi H., Janbaz Sh. et al. 4D printing of shape memory polylactic acid (PLA). *Polymer* 2021;230:124080. DOI: 10.1016/j.polymer.2021.124080
12. Sun L., Wang T.X., Chen H. et al. A brief review of the shape memory phenomena in polymers and their typical sensor applications. *Polymers* 2019;11(6):1049. DOI: 10.3390/polym11061049
13. Radjabian M., Kish M., Mohammadi N. Structure–property relationship for poly (lactic acid)(PLA) filaments: physical, thermomechanical and shape memory characterization. *J Polym Res* 2012;19(6):9870. DOI:10.1007/s10965-012-9870-0
14. DeStefano V., Khan S., Tabada A. Reapplications of PLA in modern medicine. *Engineered Regeneration* 2020;1:76–87. DOI:10.1016/j.engreg.2020.08.002
15. Zhang Q., Yan D., Zhang K.T. et al. Pattern transformation of heat-shrinkable polymer by three-dimensional (3D) printing technique. *Sci Rep* 2015;5:8936. DOI: 10.1038/srep08936
16. Zalepugin D.Y., Maksimkin A.V., Kiselevsky M.V. et al. Impregnation of ultrahigh-molecular-weight polyethylene with amoxicillin in subcritical freon R22 media. *Russ J Phys Chem B* 2017;11:1215–22. DOI: 10.1134/S1990793117080152
17. Сенатов Ф.С., Баранов А.А., Максимкин А.В. и др. Перспективный нанокompозитный материал на основе сверхвысокомолекулярного полиэтилена для замещения дефектов хрящевой ткани. *Российский биотерапевтический журнал* 2012;11(2):47. Senatov F.S., Baranov A.A., Maksimkin A.V. et al. A promising nanocomposite material based on ultrahigh molecular weight polyethylene for the replacement of cartilage tissue defects. *Rossiiskij bioterapevticeskij jurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2012;11(2):47.
18. Zimina A., Senatov F., Choudhary R. et al. Biocompatibility and physico-chemical properties of highly porous PLA/HA scaffolds for bone reconstruction. *Polymers* 2020;12:2938. DOI: 10.3390/polym12122938
19. Senatov F.S., Zadorozhnyy M.Yu., Niaza K.V. et al. Shape memory effect in 3D-printed scaffolds for self-fitting implants. *Europ Polym J* 2017;93:222–31. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2017.06.011
20. Rybalchenko O.V., Anisimova N.Yu., Kiselevsky M.V. et al. Effect of equal-channel angular pressing on structure and properties of Fe–Mn–C alloys for biomedical applications. *Mater Today Commun* 2022;30:103048. DOI: 10.1016/j.mtcomm. 2021.103048
21. Redza-Dutordoir M., Averill-Bates D.A. Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochim Biophys Acta* 2016;1863(12):2977–92. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2016.09.012
22. Анисимова Н.Ю., Копылов А.Н., Сенатов Ф.С. и др. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки для создания биоимплантов. *Российский биотерапевтический журнал* 2012;11(2):5. Anisimova N.Yu., Kopylov A.N., Senatov F.S. et al. Multipotent mesenchymal stromal cells for creating bioimplants. *Rossiiskij bioterapevticeskij jurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2012;11(2):5.
23. Wang F., Cai X., Shen Y., Meng L. Cell-scaffold interactions in tissue engineering for oral and craniofacial reconstruction. *Bioact Mater* 2022;8(23):16–44. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.10.029
24. Tudoreanu R., Handrea-Dragan I.M., Boca S., Botiz I. Insight and recent advances into the role of topography on the cell differentiation and proliferation on biopolymeric surfaces. *Int J Mol Sci* 2022;23(14):7731. DOI: 10.3390/ijms23147731
25. Fritsche A., Luethen F., Nebe B. et al. Bone cell adhesion: an important aspect of cell biomechanics in the development of surface modifications for orthopaedic implants. In: *Biomechanics: Principles, Trends and Applications*. Ed. J.H. Levy. 2011:305–13.

#### Вклад авторов

П.М. Качалина: получение данных для анализа, написание текста рукописи;  
 П.А. Ковалева, А.И. Черемных: анализ данных, написание текста рукописи;  
 В.А. Львов: получение данных для анализа, редактирование текста рукописи;  
 Н.Ю. Анисимова: разработка дизайна исследования, редактирование текста рукописи.

#### Author's contributions

P.M. Kachalina: data acquisition for analysis, manuscript writing;  
 P.A. Kovaleva, A.I. Cheremnykh: data analysis, manuscript writing;  
 V.A. Lvov: data acquisition for analysis, manuscript editing;  
 N.Yu. Anisimova: research design development, manuscript editing.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

П.М. Качалина / P.M. Kachalina: <http://orcid.org/0009-0008-4344-7757>  
 П.А. Ковалева / P.A. Kovaleva: <http://orcid.org/0000-0002-7046-173X>  
 А.И. Черемных / A.I. Cheremnykh: <http://orcid.org/0000-0001-8980-3755>  
 В.А. Львов / V.A. Lvov: <http://orcid.org/0000-0001-5626-3932>  
 Н.Ю. Анисимова / N.Yu. Anisimova: <http://orcid.org/0000-0002-4370-6578>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

**Финансирование.** Исследование было выполнено при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-23-00442).

**Funding.** The work was supported by the Russian Science Foundation (grant No. 24-23-00442).

Статья поступила: 14.09.2024. Принята в печать: 13.11.2024. Опубликовано онлайн: 00.00.2025.

Article received: 14.09.2024. Accepted for publication: 13.11.2024. Published online: 00.00.2025.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-87-96>

# Остеокондуктивность и биосовместимость бета-титанового сплава Ti-15Mo с биомиметическим покрытием *in vitro*

С.А. Гатина<sup>1</sup>, А.А. Гайсина<sup>1</sup>, В.В. Полякова<sup>1</sup>, В.Р. Дубакирова<sup>1</sup>, Н.Ю. Анисимова<sup>2</sup>, Н.А. Еникеев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»; Россия, 450076 Уфа, ул. З. Валиди, 32;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Светлана Азатовна Гатина [lane\\_gatina@mail.ru](mailto:lane_gatina@mail.ru)

**Введение.** Одной из важнейших задач для современной ортопедии является разработка материалов для постоянных (неудаляемых) имплантатов, обладающих высокими механическими свойствами, с одной стороны, и высокой биосовместимостью и биоактивностью – с другой. В настоящей работе предлагается подход к решению данной задачи, заключающийся в формировании ультрамелкозернистой (УМЗ) структуры в низко модульном псевдо-β-титановом сплаве Ti-15Mo и модификации его поверхности плазменно-электролитическим оксидированием (ПЭО).

**Цель исследования** – оценить влияние структуры и режимов ПЭО на особенности формирования пористого покрытия сплава Ti-15Mo, его биосовместимость и адгезионную активность мезенхимальных мультипотентных клеток.

**Материалы и методы.** Материалом исследования являлся УМЗ псевдо-β-титановый сплав Ti-15Mo с модифицированной методом ПЭО поверхностью. Для исследования биосовместимости образцов без покрытия и с ПЭО-покрытием проводили сравнительное изучение их гемолитической активности и цитотоксичности *in vitro*. Для оценки остеокондуктивности изучали стимуляцию образцами сплавов клеточной адгезии.

**Результаты.** Модификация поверхности сплава Ti-15Mo методом ПЭО привела к формированию покрытий с развитой системой пор. Такая топография покрытий близка к топографии костной ткани, что увеличивает площадь контакта «имплантат/кость», положительно влияет на остеоинтеграцию клеток-остеобластов и сокращает сроки приживаемости имплантата. Показано, что образцы из УМЗ-сплава с ПЭО-покрытиями не оказывают токсического эффекта на клетки крови и способствуют адгезии мезенхимальных мультипотентных клеток – предшественников остеобластов, что может быть расценено как показатель остеокондуктивности модифицированной поверхности сплава титана.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют о перспективности данной разработки создания биоимплантатов для травматологии, ортопедии и онкологии.

**Ключевые слова:** остеокондуктивность, биосовместимость, титановый сплав, биомиметическое покрытие, ультрамелкозернистая структура

**Для цитирования:** Гатина С.А., Гайсина А.А., Полякова В.В. и др. Остеокондуктивность и биосовместимость бета-титанового сплава Ti-15Mo с биомиметическим покрытием *in vitro*. Российский биотерапевтический журнал 2025;24(1):87–96.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-87-96>

## Osteoconductivity and biocompatibility of beta-titanium alloy Ti-15Mo with biomimetic coating *in vitro*

Svetlana A. Gatina<sup>1</sup>, Azaliya A. Gaysina<sup>1</sup>, Veronika V. Polyakova<sup>1</sup>, Veta R. Aubakirova<sup>1</sup>, Natalia Yu. Anisimova<sup>2</sup>, Nariman A. Enikeev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ufa University of Science and Technology; 32 Z. Validi St., Ufa 450076, Russia;

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

**Contacts:** Svetlana Azatovna Gatina [lane\\_gatina@mail.ru](mailto:lane_gatina@mail.ru)

**Background.** One of the most important tasks for modern orthopedics is the development of materials for permanent (non-removable) implants with high mechanical properties on the one hand, and high biocompatibility and bioactivity on the other hand. In the present work we propose an approach to solving this problem consisting in the formation of ultrafine-grained (UFG) structure in low-modulus pseudo- $\beta$ -titanium alloy Ti-15Mo and modification of its surface by plasma electrolytic oxidation (PEO).

**Aim.** To evaluate the influence of structure and PEO modes on the peculiarities of Ti-15Mo alloy porous coating formation, its biocompatibility and adhesion activity of mesenchymal multipotent cells.

**Materials and methods.** The material of the study was UFG pseudo  $\beta$ -titanium alloy Ti-15Mo with modified surface by PEO method. To investigate the biocompatibility of uncoated and PEO-coated samples, a comparative study of their hemolytic activity and cytotoxicity *in vitro* was carried out. To evaluate the osteoconductivity, the stimulation of cell adhesion by the alloy samples was studied.

**Results.** Surface modification of Ti-15Mo alloy by PEO method resulted in the formation of coatings with developed pore system. Such topography of the coatings is close to the topography of the bone tissue that increases the area of the implant/bone contact, positively influences the osteointegration of the cells – osteoblasts and reduces the terms of the implant engraftment. It is shown that the samples from UFG alloy with PEO coatings have no toxic effect on blood cells and promote adhesion of mesenchymal multipotent cells – osteoblast precursors, which can be considered as an indicator of osteoconductivity of the modified titanium alloy surface.

**Conclusion.** The obtained results testify to the prospects of this development of bioimplants creation for the purposes of traumatology, orthopedics and oncology.

**Keywords:** osteoconductivity, biocompatibility, titanium alloy, biomimetic coating, ultrafine-grained structure

**For citation:** Gatina S.A., Gaysina A.A., Polyakova V.V. et al. Osteoconductivity and biocompatibility of beta-titanium alloy Ti-15Mo with biomimetic coating *in vitro*. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2025;24(1):87–96. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-1-87-96>

## Введение

В настоящее время во всем мире наблюдается тенденция к росту хирургических операций с установкой временных или постоянных имплантатов для остеосинтеза и эндопротезирования, в том числе для онкоортопедии [1, 2]. Основными требованиями, предъявляемыми к материалам постоянных имплантатов, являются высокая удельная прочность, биосовместимость, сопротивление коррозии, низкий модуль упругости, биоактивность поверхностного слоя для ускорения остеогенеза [3].

Долгое время наиболее популярным металлическим материалом для изготовления имплантатов являлся титановый сплав Ti-6Al-4V, прочность которого превышает таковую чистого титана в 2–3 раза [4]. Однако современные исследования выявили цитотоксический эффект, который оказывают ванадий (V) и его оксиды на организм человека, а большое количество алюминия (Al) может спровоцировать нейрокогнитивные расстройства [2, 3]. Кроме того, данный сплав обладает модулем упругости, значительно превышающим модуль упругости костной ткани (110–120 и 20–40 ГПа соответственно) [5, 6]. Такая большая разница может привести к неправильному распределению нагрузки и вследствие этого – к резорбции участка кости, контактирующего с имплантатом [7], поэтому в последние годы ведется активная работа по разработке материалов для имплантатов нового поколения, имеющих пониженный

модуль упругости и не содержащих токсичные элементы. К таким материалам относятся метастабильные  $\beta$ -титановые сплавы, основными легирующими элементами которых являются Mo, Nb, Ta, Zr, а модуль упругости лежит в пределах 40–90 ГПа [7].

Другая не менее актуальная задача – уменьшение сроков приживаемости имплантата и исключение его отторжения. При имплантации металлических материалов в организм важна реакция клеток на имплантат, которая определяется состоянием поверхности. Несмотря на биосовместимость, титан не способен индуцировать образование костной ткани (остеоиндукцию). Именно поэтому в недавних исследованиях основное внимание уделяется улучшению обработки поверхности для ускорения остеointegrации и сокращения времени лечения [8, 9]. Биомиметические агенты, наносимые на поверхности имплантатов, должны обладать биосовместимостью и способствовать адгезии и остеогенной дифференцировке клеток-предшественников для формирования новой кости [10, 11]. Исходя из этих предпосылок, разработка и исследование биомиметических методов обработки поверхности имплантатов должны быть сосредоточены на выборе рельефа поверхности, оптимального для адгезии и пролиферации клеток, участвующих в остеогенезе, и установления соответствующих параметров нанесения биомиметических покрытий. Одним из наиболее перспективных методов модификации поверхности титановых сплавов

является плазменное электролитическое оксидирование (ПЭО). Данный процесс позволяет получать покрытия с хорошей адгезией, обладающие развитой системой пор, способствующих адгезии клеток — предшественников остеобластов, и обогащать матрицу покрытий ионами из раствора электролита, например фосфора или кальция, которые стимулируют первичное остеообразование [12]. Помимо того, развитая система пор может быть использована для заполнения их лекарственными препаратами с целью местной терапии поврежденных тканей.

В настоящей работе материалом исследования является метастабильный  $\beta$ -титановый сплав Ti-15Mo, который в однофазном состоянии характеризуется невысокой прочностью (предел текучести:  $\sigma_{0,2} < 650$  МПа, предел прочности:  $\sigma_b < 800$  МПа) при относительно низком модуле упругости (87 ГПа), а также отличным сопротивлением коррозии ASTM F2066.

**Цель настоящего исследования** — оценить влияние структуры и режимов ПЭО на особенности формирования пористого покрытия сплава Ti-15Mo, его биосовместимость и адгезионную активность мезенхимальных мультипотентных клеток.

### Материалы и методы

Псевдо- $\beta$ -титановый сплав Ti-15Mo использовали в крупнозернистом (КЗ) и УМЗ-состояниях. Для формирования УМЗ-структуры применяли равнональное угловое прессование сплава по ранее разработанным режимам (температура:  $T = 250$  °С, деформация:  $\varepsilon = 2,8$ ) [13, 14]. Химический состав сплава представлен в табл. 1.

**Таблица 1.** Химический состав сплава Ti-15Mo, доля, %  
Table 1. Chemical composition of the Ti-15Mo alloy, fraction, %

Ti	Mo	O	Fe	C	N
Основа Balance	15,2	0,16	0,02	0,008	0,1

Модификацию поверхности проводили методом ПЭО на автоматизированной установке (ФГБОУ ВО «Уфимский государственный авиационный технический университет», Россия) в водном растворе фосфата натрия (20 г/л  $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) в биполярном импульсном режиме с частотой импульсов 1000 Гц при напряжении отрицательных импульсов 40 В и напряжениях положительных импульсов 385, 450 и 480 В. Данный диапазон напряжений выбран с учетом того, что ниже 380 В формируются тонкие покрытия с размерами пор менее 1 мкм, выше 485 В — толстые неоднородные покрытия со слабой адгезией к основному материалу.

Микроструктурные исследования сплава и покрытий проводили с помощью сканирующего элект-

ронного микроскопа (СЭМ) Jeol JSM-6390 (Jeol, Япония) и просвечивающего электронного микроскопа Jeol 2100 (Jeol, Япония). Механические испытания на растяжения выполняли на машине Instron 1114 (Instron, Великобритания) при комнатной температуре со скоростью перемещения траверсы  $1 \text{ с}^{-1}$ . Испытывали по три цилиндрических образца диаметром 3 мм на каждое состояние. Фазовый анализ выполняли на дифрактометре Bruker (Bruker, Германия), съемку вели в медном  $\text{K}\alpha$ -излучении. Расчеты проводили методом Ритвельда с помощью программного пакета Expert High Score Plus. Размер пор и пористость покрытия (доля поверхности, занимаемой порами) рассчитывали по СЭМ-изображениям в программе ImageJ в соответствии с ASTM E112–10. Шероховатость покрытия определяли с помощью профилометра TR220 (TimeGroup, Китай), толщину — с помощью вихретокового толщиномера Defelsko Positector 6000 (Defelsko, США) и по СЭМ-изображениям поперечного сечения образцов. Анализировали минимум 10 изображений каждого состояния. Среднеквадратичное отклонение измеряемых величин (пористость, толщина покрытия, шероховатость) рассчитывали как квадратный корень из дисперсии (среднего арифметического квадратов отклонений значений параметров покрытия).

Оценку биосовместимости и стимуляцию клеточной адгезии проводили на клетках крови здоровых доноров. Перед началом каждого эксперимента образцы промывали в ультразвуковой ванне при температуре 60 °С в воде, очищенной в течение 40 мин, стерилизовали погружением в 70-процентный этанол на 4 ч, а затем высушивали в стерильной атмосфере при комнатной температуре. Для каждого эксперимента использовали не менее 3 образцов одного типа.

Для исследования биосовместимости образцов без покрытия и с ПЭО-покрытием проводили сравнительное изучение их гемолитической активности и цитотоксичности *in vitro* в соответствии с методикой, изложенной ранее [15]. Для проведения исследований использовали клетки крови здоровых доноров. Уровень гемолиза оценивали после 4 ч инкубации образцов сплавов в суспензии эритроцитов, а цитотоксичности — измеряя активность лактатдегидрогеназы мононуклеарных клеток после 24 ч инкубации при температуре 37 °С в атмосфере, содержащей 5 % углекислого газа. В контроле клетки инкубировали без образцов сплава в таких же условиях.

Для оценки остеокондуктивности изучали стимуляцию образцами сплавов клеточной адгезии. В качестве модели использовали мезенхимальные мультипотентные стромальные клетки (ММСК), генерированные из костного мозга человека (коллекция клеток ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина»). Суспензию, содержащую 6 тыс. клеток в объеме

20 мкл, инкубировали на поверхности образцов сплавов в течение 1 ч при температуре 37 °С в атмосфере, содержащей 5 % углекислого газа. Затем поверхность образцов сплавов промывали слабой струей раствора Хенкса («ПанЭко», Россия) и оценивали активность лактатдегидрогеназы клеток, адгезированных на поверхности, с использованием набора реактивов Pierce LDH Cytotoxicity Assay Kit (Thermo Scientific, Waltham, США) в соответствии с методикой производителя. В качестве контроля использовали 20 мкл клеток исходной суспензии, которые инкубировали на дне лунки планшета в сходных условиях. Для оценки уровня клеточной адгезии рассчитывали отношение активности лактатдегидрогеназы клеток на поверхности образца сплава к данному показателю в контроле, выраженное в процентах.

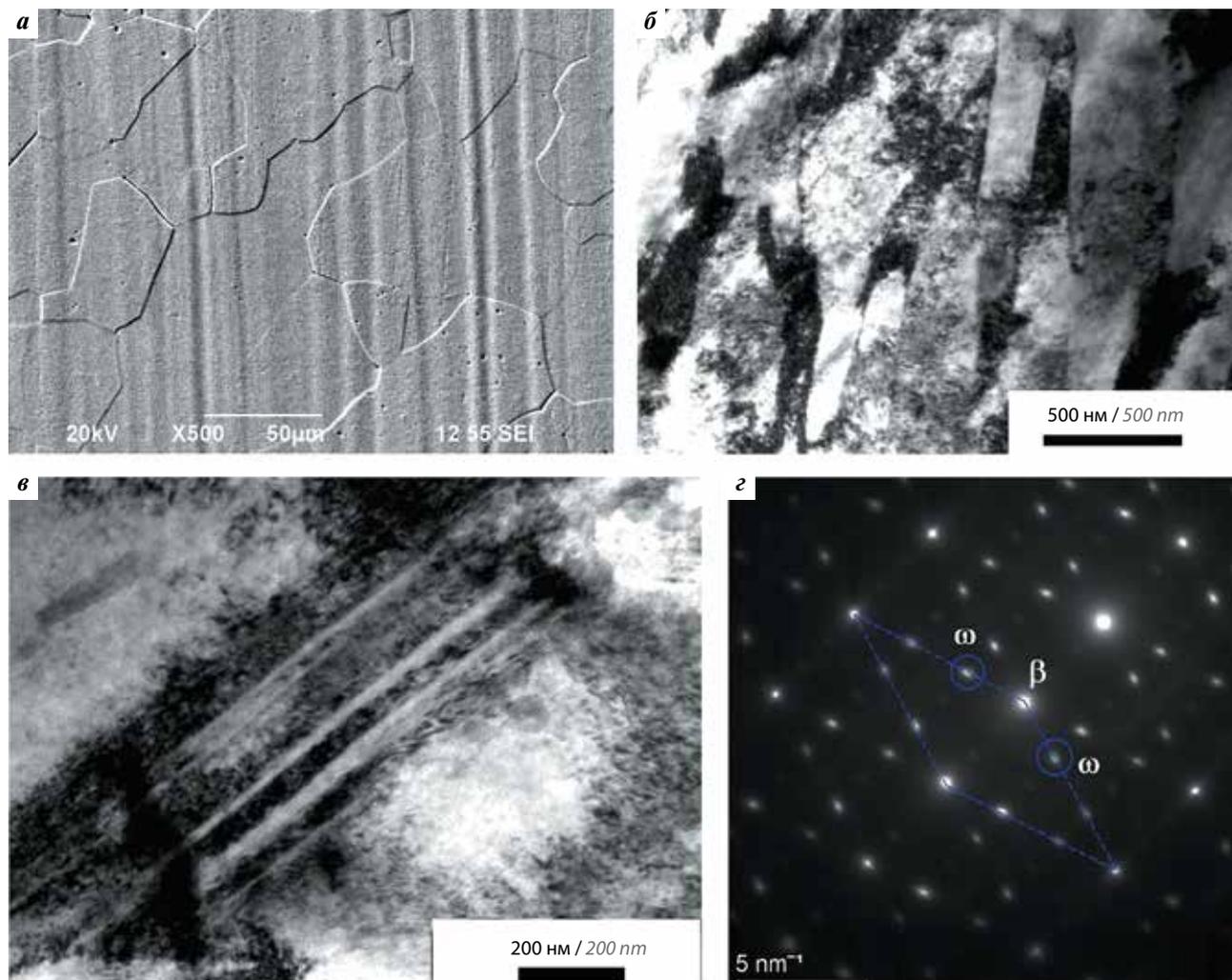
Статистический анализ производили, рассчитывая медиану и размах квартилей (25–75 %). Досто-

верность различий значений показателей, активности образцов и значений в контроле рассчитывали с использованием критерия Данна. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## Результаты

### Микроструктура и механические свойства сплава

На рис. 1 приведены изображения структуры сплавов до деформации и после нее. В КЗ-состоянии структура сплава Ti-15Mo представлена равноосными  $\beta$ -зернами со средним размером  $50 \pm 5$  мкм (рис. 1, а). Структура после деформации состоит из ориентированных вдоль направления течения материала элементов со средним размером 250 нм (рис. 1, б), сложный неоднородный контраст изображений просвечивающей электронной микроскопии свидетельствует о высокой плотности дислокаций. В микроструктуре УМЗ-сплава также обнаружены тонкие двойники



**Рис. 1.** Структура сплава: а – в крупнозернистом состоянии; б – в ультрамелкозернистом состоянии; в – изображение микродвойников; г – картина микродифракции ультрамелкозернистого сплава

**Fig. 1.** Structure of the alloy: а – in the coarse-grained condition; б – in the ultrafine-grained condition; в – image of microtwins; г – microdiffraction pattern of the ultrafine-grained alloy

деформационного происхождения (рис. 1, в). На электронограммах присутствуют рефлексы  $\omega$ -фазы (рис. 1, г), вероятно, выделившейся в процессе интенсивной пластической деформации при температуре 250 °С.

В табл. 2 приведены результаты механических испытаний на растяжение сплава. Видно, что формирование УМЗ-структуры приводит к значительному повышению прочности при уменьшении пластичности до 10 %. При этом обнаружено существенное уменьшение равномерного удлинения сплава.

### Покрытие сплава методом

#### плазменно-электролитического оксидирования

На рис. 2 представлены СЭМ-изображения покрытий (вид сверху), полученные при различных напряжениях, совмещенные с изображениями поперечных шлифов образцов. Покрытия имеют пористую поверхность, поры однородно распределены по всей площади. Видно, что с повышением напряжения возрастает размер пор и толщина покрытия как в КЗ-состоянии, так и в УМЗ-состоянии. Однако в УМЗ-образцах толщина покрытий более однородна, в то время как на КЗ-образцах можно заметить большие перепады по толщине покрытия. При напряжениях 450 и 480 В происходит слияние некоторых пор в обоих структурных состояниях сплава. Визуально покрытия, полученные при одном и том же напряжении, на КЗ- и УМЗ-образцах не имеют существенных отличий.

Однако статистический анализ изображений показал, что размеры пор, образующиеся при покрытии КЗ-сплава, больше, чем в УМЗ-сплаве (рис. 3, а). При этом пористость в УМЗ-образце больше, чем в сравниваемом (рис. 3, б). Шероховатость покрытия в обоих состояниях сплава при одинаковых напряжениях различается в пределах ошибки (рис. 3, в). С возрастанием напряжения увеличивается толщина покрытий (рис. 3, г).

Рентгеноструктурный анализ образцов показал, что все покрытия содержат оксидные фазы рутила и анатаза (табл. 3), при этом покрытия УМЗ-образцов содержат большее количество анатаза.

Таблица 2. Механические свойства сплава Ti-15Mo в крупно- и ультрамелкозернистом состояниях

Table 2. Mechanical properties of Ti-15Mo alloy in coarse- and ultrafine-grained states

Состояние Condition	Предел текучести, МПа Yield tensile stress, MPa	Предел прочности, МПа Ultimate tensile stress, MPa	Равномерное удлинение, % Uniform elongation, %	Удлинение до разрушения Failure elongation, %
Крупнозернистое Coarse-grained	650 ± 10	800 ± 10	23,0 ± 2,0	38,0 ± 0,2
Ультрамелкозернистое Ultrafine-grained	1390 ± 10	1400 ± 15	2,0 ± 0,5	10,3 ± 0,1

Таблица 3. Фазовый состав (%) покрытий методом плазменно-электролитического оксидирования

Table 3. Phase composition (%) of coatings plasma electrolytic oxidation method

Напря- жение, В Voltage, V	Покрытие Coating			
	крупнозернистое coarse-grained		ультрамелкозернистое ultrafine grained	
	рутил rutile	анатаз anatase	рутил rutile	анатаз anatase
385	51,0 ± 3,5	49,0 ± 3,5	32,0 ± 1,0	68,0 ± 1,0
450	25,0 ± 1,7	75,0 ± 1,7	13,0 ± 1,5	87,0 ± 1,5
480	15,0 ± 2,0	85,0 ± 2,0	11,0 ± 0,6	89,0 ± 0,6

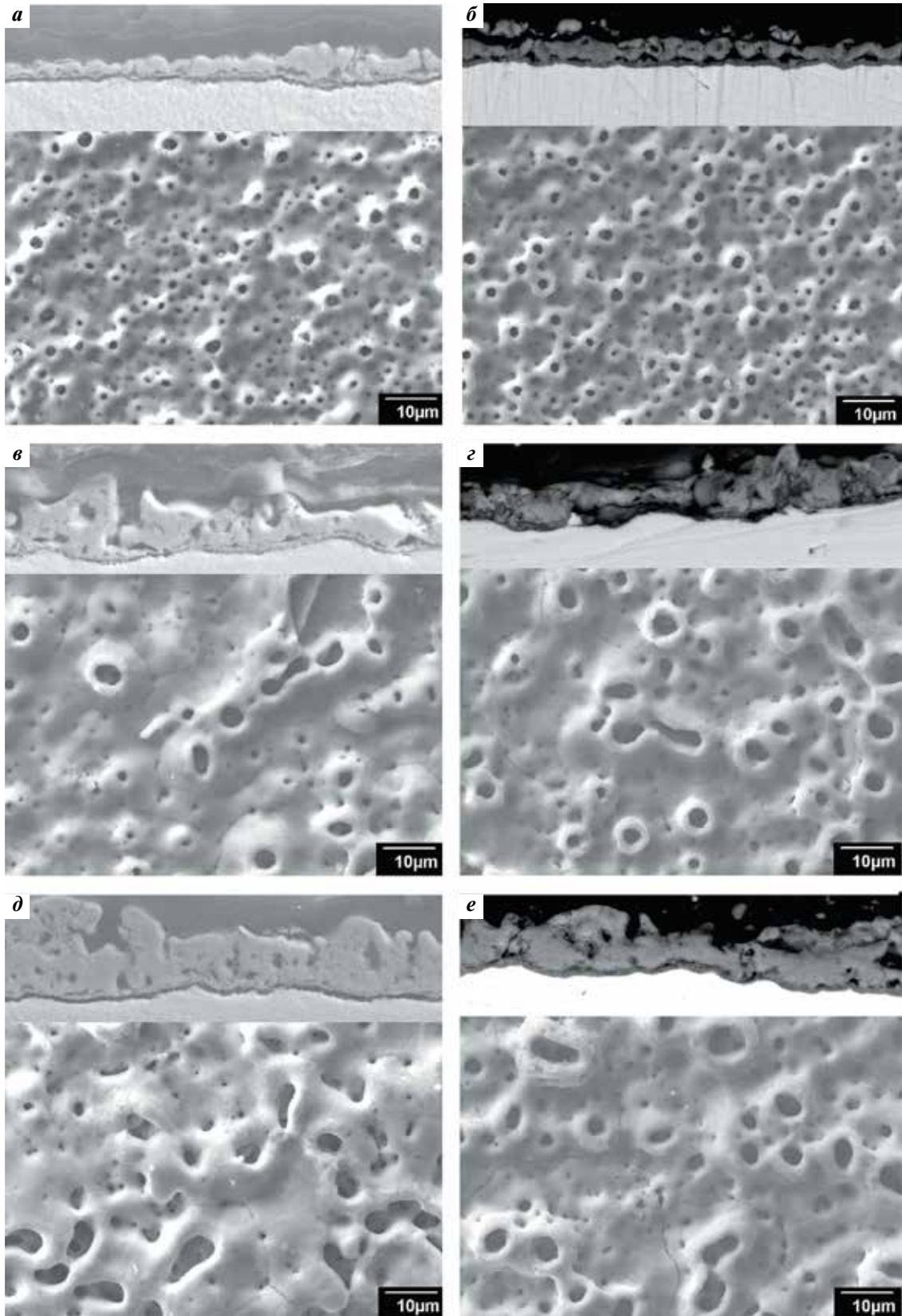
### Биосовместимость

Для изучения цитотоксичности образцов их инкубировали с МЛ, выделенными из крови доноров, в течение 24 ч, а для оценки гемолитической активности образцы сплавов инкубировали с эритроцитами в течение 4 ч. Установлено, что под влиянием изучаемых образцов отсутствует достоверное снижение жизнеспособности клеток (рис. 4, а) или нарастание уровня гемолиза (рис. 4, б) в сравнении с контролем ( $p > 0,05$ ).

### Стимуляция клеточной адгезии

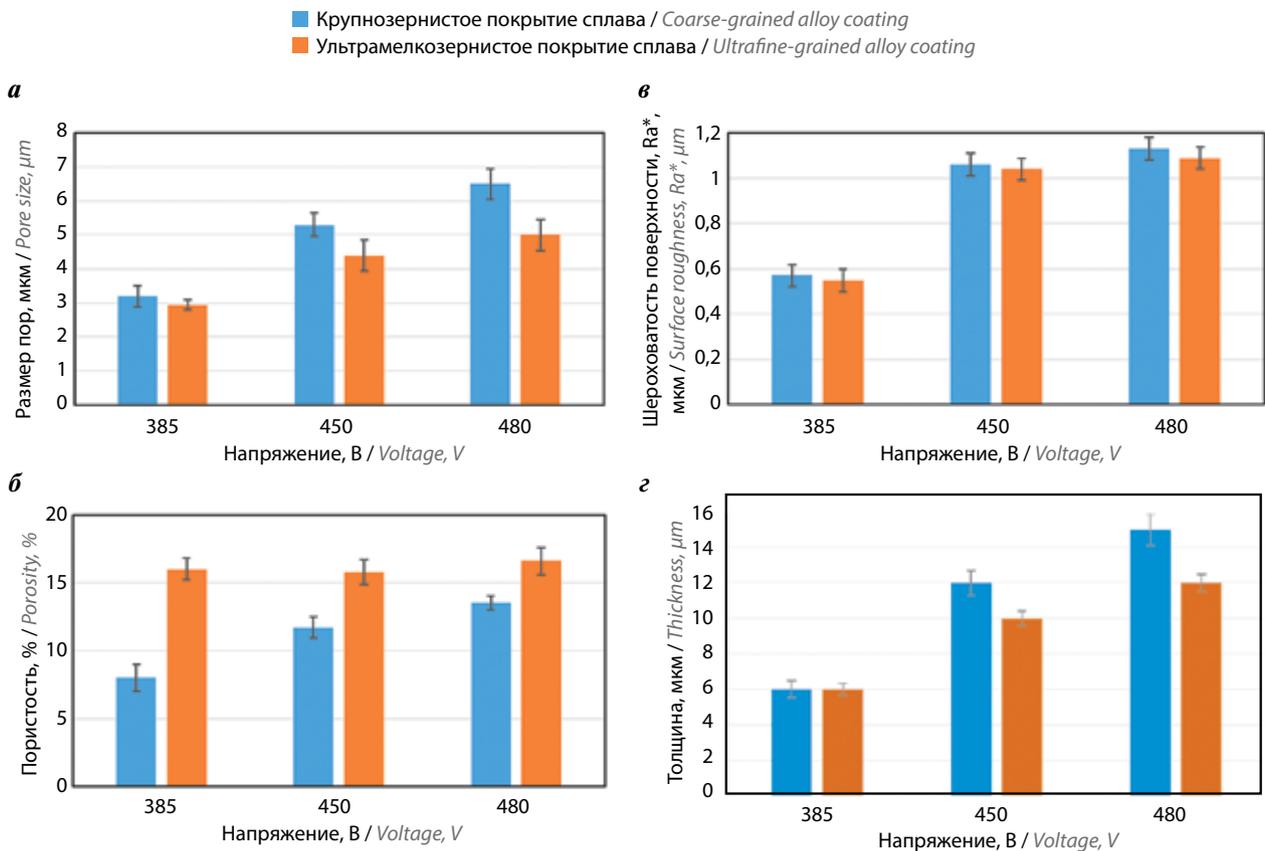
В качестве клеточной модели для проведения данных исследований использовали ММСК. Как известно, ММСК обладают остеогенным потенциалом, поэтому с их помощью можно оценить способность материалов стимулировать адгезию клеток, и в частности оценить их остеокондуктивность [16].

Согласно полученным данным, уровень ЛДГ активности клеток, прикрепившихся к поверхности образцов, через 1 ч инкубации составлял не менее 70 % от этого показателя в исходной клеточной суспензии (рис. 5). Это свидетельствует о том, что все изученные образцы проявляли остеокондуктивные свойства, стимулируя адгезию клеток к своей поверхности.

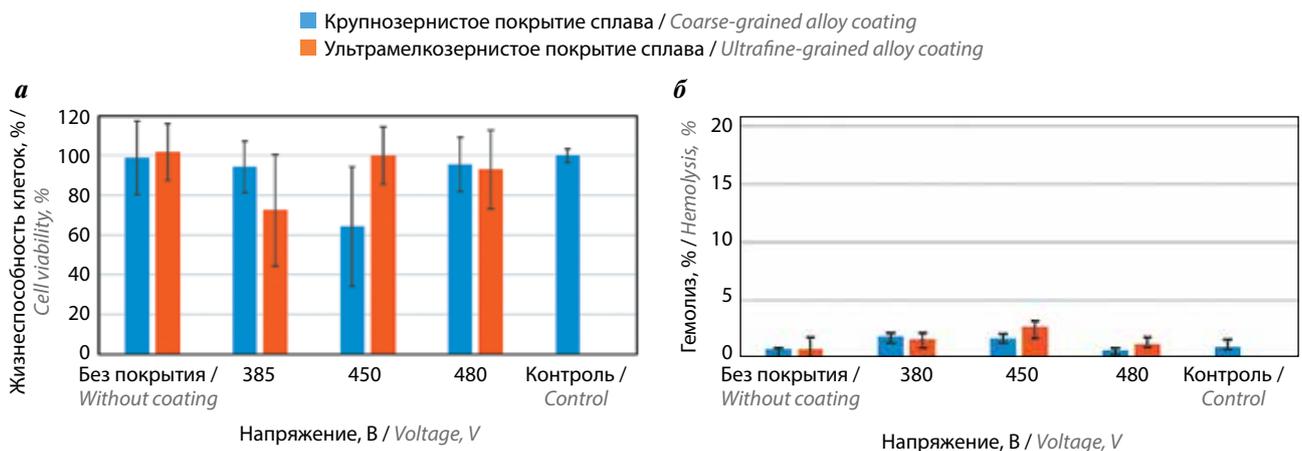


**Рис. 2.** Изображения покрытий методом плазменно-электролитического оксидирования: а, в, д – крупнозернистое покрытие сплава; б, г, е – ультрамелкозернистое покрытие сплава, полученных при различном напряжении: а, б – 385 В; в, г – 450 В; д, е – 480 В

**Fig. 2.** Images of coatings by plasma electrolytic oxidation method: а, в, д – coarse-grained alloy coating; б, г, е – ultrafine-grained alloy coating obtained at different voltage: а, б – 385 V; в, г – 450 V; д, е – 480 V



**Рис. 3.** Влияние напряжения на параметры покрытия методом плазменно-электролитического окисления: а – размер пор; б – пористость; в – шероховатость поверхности; г – толщина покрытий.  
 \*Ra – среднее арифметическое отклонение профиля  
**Fig. 3.** Effect of voltage on coating parameters by plasma electrolytic oxidation method: а – pore size; б – porosity; в – surface roughness; г – coatings thickness.  
 \*Ra – arithmetic mean deviation of the profile



**Рис. 4.** Оценка цитотоксичности (а) и гемолитической активности (б) образцов из крупно- и ультрамелкозернистого сплавов Ti-15Mo с различным покрытием  
**Fig. 4.** Evaluation of cytotoxicity (а) and hemolytic activity (б) of coarse- and ultrafine-grained samples of Ti-15Mo alloy with different coatings

Сравнивая активность образцов с различными характеристиками, можно отметить, что нанесенное при напряжении 380 В покрытие недостоверно стимулирует нарастание клеточной адгезии в сравнении с образцами без покрытия. При этом не установлено

достоверных отличий между активностью КЗ- и УМЗ-образцов. Однако утолщение на УМЗ-образцах покрывающего слоя, нанесенного при 450 и 480 В, способствовало нарастанию тенденции к усилению клеточной адгезии ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем



**Рис. 5.** Способность образцов из крупно- и ультрамелкозернистого сплавов Ti-15Mo с различным покрытием стимулировать адгезию мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток.

\*Достоверное отличие от ультрамелкозернистых образцов без покрытия ( $p < 0,05$ )

**Fig. 5.** The ability of coated Ti-15Mo alloy coarse- and ultrafine-grained samples with different coatings to stimulate the adhesion of multipotent mesenchymal stromal cells.

\*Reliable difference from uncoated ultrafine-grained samples ( $p < 0.05$ )

такой же структуры. Интересно, что КЗ-сплавы с такими же характеристиками демонстрировали менее выраженную активность.

## Обсуждение

Процесс остеоинтеграции имплантата и стабильность его соединения с костью являются основой для высокого процента успешно разрешенных клинических случаев. Понимание взаимосвязи между морфологическими характеристиками поверхности титана, биосовместимостью и остеоинтеграцией — ключевой фактор для потенциального применения этого материала при разработке биоактивных имплантатов. Микро- и наноструктура, а также химический состав поверхностей имплантатов определяют раннее формирование костной ткани вокруг протезов. Большинство поверхностей имплантатов на основе титана с умеренно шероховатой поверхностью изготавливаются с помощью комбинированных методов, таких как пескоструйная обработка с последующим кислотным травлением [17]. В частности, в работе S. Santander и соавт. [18] приведены результаты исследований *in vitro* остеокондуктивности титановых образцов, подвергнутых дробеструйной обработке с использованием оксида Al в качестве абразива и анодирования в среде кальция и фосфора. Подобная обработка приводила к формированию макрошероховатости поверхности титана с отложением кальция и фосфора, что способствовало улуч-

шению адгезионной способности и скорости пролиферации ММСК на обработанных поверхностях, а также экспрессии маркеров остеобластной дифференцировки: связанного с Runt транскрипционного фактора 2 (RUNX2) и остеопонтина без добавления дифференцировочных факторов.

В настоящей работе проведены исследования влияния УМЗ-структуры сплава Ti-15Mo на его механические свойства. Показано, что равноканальное угловое прессование приводит к значительному повышению прочностных свойств сплава (предел прочности увеличился с 800 до 1450 МПа) за счет зернограничного, дислокационного и дисперсного механизмов упрочнения. Однако при достаточном уровне удлинения до разрушения 10 % (ASTM 2066) УМЗ-сплав характеризуется низким равномерным удлинением. Такое поведение типично для многих металлов и сплавов, подвергнутых интенсивной пластической деформации, что связано с локализацией деформации, вызванной высокими внутренними напряжениями [19–21].

Анализ режимов ПЭО показал, что получаемые покрытия достаточно плотные, с небольшой шероховатостью. Стоит также отметить пористую поверхность покрытия, которая подобна поверхности кости, что с точки зрения биосовместимости является положительным аспектом. Выявлены отличительные особенности формирования ПЭО-покрытий на КЗ- и УМЗ-образцах из сплава Ti-15Mo. В частности, покрытия на УМЗ-материале характеризуются более однородным распределением толщины покрытия по поверхности образца.

Кроме того, установлено, что поверхность ПЭО-покрытия на УМЗ-подложке характеризуется большей пористостью во всех режимах. Повышенные значения пористости могут объясняться тем, что плотность тока концентрируется на границах зерен/субзерен на поверхности металла и в этом месте зарождаются микропоры. Повышение напряжения сопровождается увеличением толщины покрытия, шероховатости поверхности, доли и размеров пор в обоих структурных состояниях. При напряжении свыше 400 В размер пор лежит в диапазоне 4–7 мкм, а шероховатость — больше 1 мкм, что, согласно данным R. Valiev и соавт., является благоприятными параметрами поверхности для адгезии остеобластов [22].

Фазовый анализ состава покрытий показал, что они содержат оксиды титана — анатаз и рутил, причем доля первого превалирует. В работе A. Santos-Coquillat и соавт. представлено, что комбинация этих соединений в составе положительно влияет на приживаемость клеток [23]. В исследовании H.N. Pantaroto и соавт. продемонстрировано, что наилучшей биосовместимостью обладает анатаз, который имеет

больший антибактериальный эффект и лучшую смазываемость по сравнению с рутилом [24].

Проведенные исследования *in vitro* показали, что образцы из сплава Ti-15Mo и ПЭО-покрытия могут быть охарактеризованы как биосовместимые, поскольку не демонстрируют цитотоксического эффекта на мононуклеарных лейкоцитах крови здоровых доноров и не индуцируют гемолиз. Модификация поверхности сплава Ti-15Mo УМЗ-структурой методом ПЭО при напряжении 450 и 480 В способствует адгезии ММСК, что косвенно свидетельствует

об остеокондуктивных свойствах полученных изделий.

### Заключение

Таким образом, УМЗ-сплав Ti-15Mo с модифицированной поверхностью методом ПЭО – перспективный материал для создания постоянных погружных имплантатов. Однако требуется установление влияния особенностей покрытий на их биоактивные свойства, что является целью наших дальнейших исследований.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Schwartz A., Farley K., Guild G., Bradbury T. Projections and epidemiology of revision hip and knee arthroplasty in the United States to 2030. *J Arthroplasty* 2020;35:79–85. DOI: 10.1016/j.arth.2020.02.030
- Anisimova N.Yu., Martynenko N.S., Rybalchenko O.V. et al. Bioimplants for the reconstructive surgery and local delivery of chemo-immunoagents. In: *Interdisciplinary Cancer Research*. Springer, Cham, 2024; p. 1–43. DOI: 10.1007/16833\_2024\_374
- Zhang L.-C., Chen L.-Y. A review on biomedical titanium alloys: recent progress and prospect. *Adv Eng Mater* 2019;21:1801215. DOI:10.1002/adem.201801215
- Campos F.O., Araujo A.C., Kapoor Sh.G. Experimental comparison of micromilling pure titanium and Ti-6Al-4V. *J Micro Nano-Manuf* 2019;7(2):024506. DOI: 10.1115/1.4043501
- Cardoso G.C., Buzalaf M.A.R., Correa D.R.N., Grandini C.R. Effect of thermomechanical treatments on microstructure, phase composition, vickers microhardness, and young's modulus of Ti-xNb-5Mo alloys for biomedical applications. *Metals* 2022;12(5):788. DOI: 10.3390/met12050788
- Gatina S., Semenova I., Ubyyovk E., Valiev R. Phase transformations, strength, and modulus of elasticity of Ti-15Mo alloy obtained by high-pressure torsion. *Inorg Mater Appl Res* 2018;9:14–20. DOI: 10.1134/S2075113318010136
- Pesode P., Barve S. A review – metastable  $\beta$  titanium alloy for biomedical applications. *J Eng Appl Sci* 2023;70:25. DOI:10.1186/s44147-023-00196-7
- Pires L.C., Guastaldi F.P., Nogueira A.V. et al. Physicochemical, morphological, and biological analyses of Ti-15Mo alloy surface modified by laser beam irradiation. *Lasers Med Sci* 2019;34(3):537–46. DOI: 10.1007/s10103-018-2626-2
- Leśniak-Ziółkowska K., Kazek-Kęsik A., Rokosz K. et al. Electrochemical modification of the Ti-15Mo alloy surface in solutions containing ZnO and Zn<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> particles. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2020;115. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111098
- Avila G., Misch K., Galindo-Moreno P., Wang H.L. Implant surface treatment using biomimetic agents. *Implant Dent* 2009;18(1):17–26. DOI: 10.1097/ID.0b013e318192cb7d
- Wang M., Castro N.J., Li J. et al. Greater osteoblast and mesenchymal stem cell adhesion and proliferation on titanium with hydrothermally treated nanocrystalline hydroxyapatite/magnetically treated carbon nanotubes. *J Nanosci Nanotechnol* 2012;12(10):7692–702. DOI: 10.1166/jnn.2012.6624
- Cardoso G., Grandini C., Rau J. Comprehensive review of PEO coatings on titanium alloys for biomedical implants. *J Mater Res Technol* 2024;31(4):311–28. DOI: 10.1016/j.jmrt.2024.06.068
- Semenova I.P., Gatina S.A., Zhernakov V.S., Miloš J. Improving in fatigue strength of biomedical Ti-15Mo alloy while retaining low elastic modulus through severe plastic deformation. In: *Proceedings of the 13<sup>th</sup> World Conference on Titanium. USA, 2016*; p. 1777–1781 DOI: 10.1002/9781119296126.ch298
- Polyakova V.V., Gatina S.A., Stotskiy A.G. et al. Dependence of  $\alpha$ -phase particle morphology in aged metastable  $\beta$  Ti-15Mo alloy on the shear deformation degree. *Mater Letters* 2024;14(1):39–44. DOI:10.48612/letters/2024-1-39-44
- Мартыненко Н.С., Анисимова Н.Ю., Киселевский М.В. и др. Исследование биосовместимости *in vitro* ультрамелко-зернистых биорезорбируемых сплавов на основе Zn. *Российский биотерапевтический журнал* 2022;3(21):40–9. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-3-40-49
- Martynenko N.S., Anisimova N.Yu., Kiselevskiy M.V. et al. Investigation biocompatibility *in vitro* of ultrafine-grained Zn-based bioresorbable alloys. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2022;3(21):40–9. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-3-40-49
- Chen X., Xie W., Zhang M. et al. The emerging role of non-coding RNAs in osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Front Cell Dev Biol* 2022;10:903278. DOI: 10.3389/fcell.2022.903278
- Souza J.C.M., Sordi M.B., Kanazawa M. et al. Nano-scale modification of titanium implant surfaces to enhance osseointegration. *Acta Biomater* 2019;94:112–31. DOI: 10.1016/j.actbio.2019.05.045
- Santander S., Alcaine C., Lyahyai J. et al. *In vitro* osteoinduction of human mesenchymal stem cells in biomimetic surface modified titanium alloy implants. *Dent Mater J* 2014;33(3):305–12. DOI: 10.4012/dmj.2012-015-r
- Gatina S.A., Polyakova V.V., Modina I.M., Semenova I.P. Fatigue behavior and fracture features of Ti-15Mo alloy in  $\beta$ -, ( $\alpha + \beta$ )-, and ultrafine-grained two-phase states. *Metals* 2023;13(3):580. DOI: 10.3390/met13030580
- Gatina S.A., Polyakova V.V., Polyakov A.V., Semenova I.P. Microstructure and mechanical properties of  $\beta$ -titanium Ti-15Mo alloy produced by combined processing including

- ECAP-conform and drawing. *Materials* 2022;15(23):8666.  
DOI: 10.3390/ma15238666
21. Edalati K., Bachmaier A., Beloshenko V.A. et al. Nanomaterials by severe plastic deformation: review of historical developments and recent advances. *Materials Res Letters* 2022;10(4):163–256.  
DOI: 10.1080/21663831.2022.2029779
22. Valiev R., Parfenov E., Parfenova L. Developing nanostructured metals for manufacturing of medical implants with improved design and biofunctionality. *Mater Trans* 2019;60(7):1356–66.  
DOI: 10.2320/matertrans.MF201943
23. Santos-Coquillat A., Martínez-Campos E., Mohedano M. *In vitro* and *in vivo* evaluation of PEO-modified titanium for bone implant applications. *Surf Coat Technol* 2018;347:358–68.  
DOI:10.1016/j.surfcoat.2018.04.051
24. Pantaroto H.N., Ricomini-Filho A.P., Bertolini M.M. et al. Antibacterial photocatalytic activity of different crystalline TiO<sub>2</sub> phases in oral multispecies biofilm. *Dental Materials* 2018;34(7):182–95.  
DOI:10.1016/j.dental.2018.03.011

#### Вклад авторов

С.А. Гагина: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста рукописи;  
А.А. Гайсина, В.Р. Аубакирова: получение данных для анализа;  
В.В. Полякова: анализ полученных данных;  
Н.Ю. Анисимова: получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи;  
Н.А. Еникеев: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи.

#### Author's contributions

S.A. Gatina: review of publications on the topic of the article, analysis of the data obtained, writing the text of the manuscript;  
A.A. Gaysina, V.R. Aubakirova: obtaining data for analysis;  
V.V. Polyakova: analysis of the obtained data;  
N.Yu. Anisimova: obtaining data for analysis, analysis of the data obtained, writing the text of the manuscript;  
N.A. Enikeev: research design development, review of publications on the topic of the article.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

С.А. Гагина / S.A. Gatina: <https://orcid.org/0000-0002-7246-9196>  
А.А. Гайсина / A.A. Gaysina: <https://orcid.org/0009-0004-8819-2947>  
В.В. Полякова / V.V. Polyakova: <https://orcid.org/0000-0003-4302-411X>  
В.Р. Аубакирова / V.R. Aubakirova: <https://orcid.org/0000-0002-8483-6408>  
Н.Ю. Анисимова / N.Yu. Anisimova: <https://orcid.org/0000-0002-4370-6578>  
Н.А. Еникеев / N.A. Enikeev: <https://orcid.org/0000-0002-7503-8949>

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

**Финансирование.** Работа выполнена при поддержке проекта Российского научного фонда №23-69-10003 (<https://rscf.ru/project/23-69-10003/>).

**Funding.** The work was supported by Russian Science Foundation project No. 23-69-10003 (<https://rscf.ru/project/23-69-10003/>).

Статья поступила: 04.12.2024. Принята в печать: 06.03.2025. Опубликовано онлайн: 00.00.2025.  
Article received: 04.12.2024. Accepted for publication: 06.03.2025. Published online: 00.00.2025.