

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



Российский Биотерапевтический Журнал

Rossijskij bioterapevticeskij zurnal



Russian Journal
of Biotherapy

1

TOM/VOL. 25
2026

Российский Биотерапевтический Журнал 2026 • ТОМ 25 • № 1

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 25
'26

Учредитель:
ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России
Адрес учредителя и редакции:
115478, Москва, Каширское
шоссе, 24, стр. 2.
Тел.: +7 (499) 324-10-65
Факс: +7 (499) 324-22-74
E-mail: bioterapy_rbj@mail.ru
rbjournal@ronc.ru

Адрес издательства:
115478, Москва, Каширское
шоссе, 24, стр. 15, НИИ
канцерогенеза, 3-й этаж.
Тел./факс: +7 (499) 929-96-19
e-mail: abv@abvpress.ru
www.abvpress.ru
Редактор Ю.Н. Бирюкова
Корректор И.К. Пряхина
Дизайн: Е.В. Степанова
Верстка: О.В. Гончарук

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

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

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

Российский биотерапевтический журнал.
2026. Том 25. № 1. 1–104.

© Оформление, верстка.
ООО «ИД «АБВ-пресс», 2026

Подписной индекс в каталоге агентства
«Роспечать» – 81679.

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

<https://bioterapevt.abvpress.ru>

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

ЗАМЕСТИТЕЛИ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

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

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

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

ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ

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

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

Бунятян Наталья Дмитриевна, д.фарм.н., профессор, главный научный сотрудник научного отдела клинической фармакологии ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (Москва, Россия)

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

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

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

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

Мисюрин Андрей Витальевич, д.б.н., директор ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова» РАН (Москва, Россия)

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

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

Панкратов Андрей Александрович, к.б.н., заведующий отделением экспериментальной фармакологии и токсикологии Московского государственного онкологического института им. П.А. Герцена — филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России (Москва, Россия)

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

Рапопорт Наталья Яковлевна, д.х.н., профессор, почетный профессор департамента биомедицинской инженерии университета Юты (Солт Лейк Сити, США)

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

Степанова Евгения Владиславовна, д.м.н., профессор базовой кафедры Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (Москва, Россия)

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

Уласов Илья Валентинович, д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела современных биоматериалов, профессор Института регенеративной медицины ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Москва, Россия)

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

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

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

Демидов Лев Вадимович, д.м.н., профессор, главный научный консультант отделения опухолей кожи ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

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

Кадагидзе Заира Григорьевна, д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии и инновационных технологий ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (Москва, Россия)

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

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

При направлении статьи в редакцию журнала «Российский биотерапевтический журнал» авторам необходимо руководствоваться следующими правилами, составленными с учетом «Единых требований к рукописям, предоставляемым в биомедицинские журналы» (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals), разработанных Международным комитетом редакторов медицинских журналов (International Committee of Medical Journal Editors).

Редакция просит авторов в подготовке рукописей руководствоваться изложенными ниже правилами. Рукописи, оформленные без соблюдения данных правил, редакцией рассматриваться не будут.

1. Общие правила

Статья в обязательном порядке должна сопровождаться официальным направлением учреждения, в котором выполнена данная работа, с подписью руководителя, заверенной печатью учреждения. При первичном направлении рукописи в редакцию в копии электронного письма должны быть указаны все авторы данной статьи. Обратную связь с редакцией будет поддерживать ответственный автор, обозначенный в статье (см. пункт 2).

Представление в редакцию ранее опубликованных статей не допускается.

Присланные статьи проходят проверку в системе «Антиплагиат» и принимаются в случае удовлетворительного результата (определяемого для каждой из статей в индивидуальном порядке по соотношению оригинальных фрагментов текста, заимствованных фрагментов и наличия оформленных ссылок).

2. Оформление данных о статье и авторах

Первая страница должна содержать:

- 1) название статьи прописными буквами (шрифт **жирный**);
- 2) инициалы и фамилии всех авторов (шрифт **обычный**);
- 3) место работы каждого из авторов, адрес учреждения с указанием индекса (шрифт **курсив**);
- 4) ORCID авторов;
- 5) адрес электронной почты ответственного за связь автора (шрифт **курсив**).

Данные, указанные в пунктах 1–3, должны быть предоставлены на русском и английском языках.

Пример:

ПУБЛИКАЦИЯ СТАТЬИ В «РОССИЙСКОМ БИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОМ ЖУРНАЛЕ»

И.И. Иванов¹, П.П. Петров²

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское ш., 24;

²ФГБУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе», Россия, 119021 Москва, ул. Большая Пироговская, 11

Контакты: Иван Иванович Иванов chem_analysis@ronc.ru

THE PUBLICATION OF THE ARTICLE IN «ROSSIYSKY BIOTHERAPEVTICHESKY ZHURNAL»

I.I. Ivanov¹, P.P. Petrov²

¹N.N. Blokhin NMRCO; 24 Kashyrskoe Sh., Moscow, 115522, Russia;

²FSBSI "G.F. Gause Research Institute of search for new antibiotics"; 11 Bolshaya Pirogovskaya St, Moscow, 119435, Russia

Последняя страница должна содержать:

- 1) Сведения об авторе, ответственном за связь с редакцией:
 - фамилия, имя, отчество полностью; – занимаемая должность;
 - ученая степень, ученое звание; – контактный телефон;
 - рабочий адрес с указанием индекса; – адрес электронной почты.
- 2) Скан подписей всех авторов статьи.

3. Оформление текста

Статьи принимаются в формате doc, docx, rtf.

Шрифт – Times New Roman, размер 12, междустрочный интервал 1,5. Все страницы должны быть пронумерованы.

Текст статьи начинается со второй страницы.

4. Объем статей (включая список литературы, таблицы и подписи к рисункам)

Обзор литературы – не более 15 страниц,

оригинальная статья – не более 12 страниц,

краткие сообщения – не более 4 страниц.

Большой объем статьи допускается в индивидуальном порядке, по решению редакции.

5. Резюме и ключевые слова

Ко всем видам статей на второй странице должно быть приложено резюме на русском и английском языках. Слова «резюме» и “abstract” не указываются. Резюме должно кратко повторять структуру статьи, независимо от ее тематики. Для оригинальных статей резюме обязательно должно содержать следующие разделы:

- введение; – цель;
- материалы и методы; – результаты;
- заключение (выводы).

Объем резюме – 200–250 слов. Резюме не должно содержать ссылки на литературные источники и иллюстративный материал.

На этой же странице помещаются **ключевые слова** на русском и английском языке в количестве 3–10.

6. Структура статей

Оригинальная статья и краткое сообщение экспериментального или клинического характера должны содержать следующие разделы:

- введение; – цель;
- материалы и методы; – результаты и обсуждение;
- заключение (выводы); – конфликт интересов;
- при наличии финансирования исследования указать его источник (грант и т.д.);
- благодарности (раздел не является обязательным).

Обзоры литературы, статьи теоретического и концептуального характера должны включать следующие разделы:

- введение;
- разделы по отдельным обсуждаемым вопросам;
- заключение (выводы).

Введение. Краткий обзор состояния вопроса со ссылками на наиболее значимые публикации, при этом необходимости проведения исследования.

Цель. 1–3 предложения о том, какую проблему или гипотезу решает автор и с какой целью.

Материалы и методы. Подробное изложение методик исследования, аппаратуры, критериев отбора участников, их число и характеристики, способы и принципы распределения на группы, дизайн исследования, методы статистического анализа. Описанные методы исследования должны гарантировать возможность воспроизведения результатов. При перечислении использованной аппаратуры и препаратов в скобках указываются производитель и страна; при перечислении используемых в ходе работы лекарственных препаратов и химических веществ – их международное непатентованное (общепринятое) название, дозы, пути введения.

В конце статьи о проведенном исследовании указать, решением какого этического комитета оно одобрено, номер и дату протокола исследования, а также факт подписания испытуемыми информированного согласия.

Результаты. Должны быть представлены в логической последовательности, отражать данные описанного выше исследования с указаниями на графики, таблицы и рисунки. Допускается сопоставление полученных результатов с данными других исследователей. Возможно включение обоснованных рекомендаций для клинической практики и применения полученных данных в предстоящих исследованиях. Следует избегать повторения сведений из раздела «Введение». Результаты представляются четко, в виде коротких описаний.

Заключение. Должно быть кратким и лаконичным. Подведение итога проделанной работы и гипотеза автора о значении полученных данных – в рамках патогенеза, лечения, диагностики; перспективы использования полученных данных.

7. Иллюстративный материал

Иллюстративным материалом являются фотографии, рисунки, схемы, графики, диаграммы, таблицы. В тексте должны быть указаны ссылки на таблицы и рисунки, например: (табл. 1), (рис. 1) или на рис. 1 представлены. . . , которые должны быть размещены в соответствующих по смыслу абзацах и последовательно пронумерованы. Рисунки и таблицы нумеруются отдельно.

Иллюстративный материал должен быть представлен в виде отдельных файлов и не фигурировать в тексте статьи. Схемы, графики, диаграммы, таблицы могут быть собраны в общие файлы по типу иллюстративного материала с началом каждого с новой страницы. Например: все таблицы собраны в отдельный от статьи файл, где каждая новая таблица начинается с новой страницы. Если в этой же статье есть диаграммы, то они будут составлять следующий файл, где будут собраны исключительно диаграммы, и каждая из них будет размещена на отдельном листе документа. Файлы иллюстративного материала должны позволять воспроизвести высокое качество изображения в электронной и печатной версии журнала. Если иллюстративный материал ранее был опубликован в других изданиях, автор обязан предоставить в редакцию разрешение правообладателя на публикацию данного изображения в другом журнале, в противном случае это будет считаться плагиатом и к публикации принято не будет. Количество иллюстраций должно соответствовать объему предоставляемой информации, избыточность иллюстраций может привести к возвращению авторам статьи для доработки на предмет сокращения. Данные таблиц не должны повторять данные рисунков и текста и наоборот.

Фотографии представляются в формате TIFF, JPG с разрешением не менее 300 dpi (точек на дюйм). Глаза пациентов или здоровых испытуемых на фотографиях должны быть закрыты черным прямоугольником, в случае его отсутствия автор должен предоставить в редакцию письменное разрешение пациента на публикацию.

Рисунки, графики, схемы, диаграммы представляются в формате EPS Adobe Illustrator 7.0–10.0 или Office Excel. При невозможности представления в данном формате необходимо связаться с редакцией.

Все **рисунки** должны быть пронумерованы и снабжены подписочными подписями. Фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита – «а», «б» и т.д. Все сокращения, обозначения в виде кривых, букв, цифр и т.д., использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подписочной подписи. Подписи к рисункам даются на отдельном листе после текста статьи в одном с ней файле.

Названия рисунков должны быть переведены на английский язык.

Таблицы должны быть наглядными, иметь название и порядковый номер. Заголовки граф должны соответствовать их содержанию. Все сокращения расшифровываются в примечании к таблице. Необходимо указывать применявшийся для анализа статистический метод и соответствующее значение достоверности (p). В случае размера таблиц больше, чем на лист А4, они представляются в виде отдельного файла doc, docx, rtf.

Названия таблиц должны быть переведены на английский язык.

Все **формулы** должны быть тщательно выверены автором, набраны или встроены в формат текстового редактора. В формулах необходимо различать строчные и прописные, латинские и греческие, подстрочные и надстрочные буквы. Используемые автором сокращения должны быть разъяснены под формулой.

8. Единицы измерения и сокращения

Единицы измерения даются в Международной системе единиц (СИ). Если исследование проводилось на приборах, дающих показатели в других единицах, необходимо перевести их в систему СИ с указанием коэффициента пересчета или компьютерной программы в разделе «Материалы и методы».

Сокращения слов не допускаются, кроме общепринятых. Все аббревиатуры в тексте статьи должны быть полностью расшифрованы при первом упоминании (например, рак предстательной железы (РПЖ)). Список использованных сокращений приводится после списка литературы. Не следует параллельно использовать термин и его сокращение.

Название генов пишется курсивом, название белков – обычным шрифтом.

9. Список литературы

Не менее 50 процентов источников из списка литературы должны быть опубликованы за последние 5 лет, в том числе в журналах, индексируемых в базах данных *Web of Science, Scopus, Science Index*.

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. 25
'26

Founder:

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

Founder and editorial office:

Bld. 2, 24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478.

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

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

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

Publishing office:

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

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

www.abvpress.ru

Editor Yu.N. Biriukova
Proofreader I.K. Pryakhina
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)

Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal. 2026. Volume 25. No 1. 1–104.

© Design, layout PH "ABV-Press", 2026

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

1,000 copies. Free distribution
<https://bioterapevt.abvpress.ru>

EDITOR-IN-CHIEF

Kiselevskiy, Mikhail V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Oncoimmunology, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

DEPUTIES EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

EXECUTIVE EDITOR

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

EDITORIAL BOARD

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

Bunyatyan, Natalia D., PhD, DSc, Professor, Major Researcher of Scientific Department of Clinical Pharmacology, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

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

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

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

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

Misyurin, Andrey V., PhD, DSc, Director of the N.I. Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

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

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

Pankratov, Andrey A., PhD, Head of the Department of Experimental Pharmacology and Toxicology, P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Institute – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

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

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

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

Stepanova, Eugenia V., PhD, DSc, Professor of the Basic Department of the Institute of Bioorganic Chemistry, Academicians M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia)

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

Ulasov, Ilya V., PhD, DSc, Leading Researcher at the Department of Modern Biomaterials, Professor at the Institute of Regenerative Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenovskiy University) (Moscow, Russia)

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

EDITORIAL COUNCIL

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

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

Demidov, Lev V., MD, PhD, DSc, Professor, Chief Scientific Consultant of the Department of Skin Tumors, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

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

Kadagidze, Zaira G., MD, PhD, DSc, Professor, Leading Researcher at the Laboratory of Clinical Immunology and Innovative Technologies, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia (Moscow, Russia)

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

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

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

- А. В. Лобов, Е. А. Погодина, П. И. Иванова, Е. Г. Головня, Е. В. Сорокина, И. Ж. Шубина*
**Лабораторная диагностика В-клеточного звена иммунитета
 после перенесенных инфекции SARS-CoV-2 и других вирусных инфекций 10**
- А. М. Казаков, М. Г. Гордиев, К. К. Лактионов, С. Ю. Крутелева, Д. Д. Ткачева*
**Предиктивное значение варианта мутации в гене KRAS и комутационного
 статуса при использовании иммунотерапии у больных
 немелкоклеточным раком легкого 19**
- З. С. Шпрах, М. В. Дмитриева*
**Липофильность лекарственных средств: общая характеристика
 и методы определения 28**
- А. А. Вознюк, Е. Г. Глинская, Е. С. Демидов, М. Е. Луговой, Е. В. Кудан*
**Локальная доставка химиопрепаратов: инновационные технологии
 и материалы платформ для местной химиотерапии 41**

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- П. А. Штомпель, С. А. Хазанова, Е. С. Трапезникова, В. Ю. Зиновьева,
 А. А. Ловенгер, А. А. Тарарыкова, Б. Ю. Бохан, Н. В. Хромова,
 П. Б. Копнин, Т. И. Фетисов, М. Г. Якубовская, К. И. Кирсанов*
**Новая клеточная линия недифференцированной плеоморфной саркомы UPS134
 для исследований *in vitro* и *in vivo*. 62**
- В. С. Чернышенко, Н. М. Фаустова, В. М. Косман, М. В. Карлина, А. Ю. Романенко,
 М. Н. Макарова, В. Г. Макаров, А. А. Дмитриева, Е. В. Шипаева,
 М. Г. Чернобровкин, В. А. Постникова, О. В. Филон,
 М. Ю. Самсонов, В. Г. Игнатьев*
**Сравнение методов оценки иммуногенности биологических препаратов
 на основе моноклональных антител на примере пембролизумаба 71**
- Ю. М. Михайлов, А. В. Даровских, А. В. Смолина, Е. Н. Климанова, Т. Е. Сашенкова,
 Д. А. Полетаева, М. И. Ворожейкин, И. И. Файнгольд*
**Изучение острой токсичности нитратов γ -циклодекстрина
 в экспериментах *in vivo*. 84**
- С. В. Чулкова, Е. Н. Шолохова, О. П. Колбацкая, И. А. Гладилина, А. В. Егорова,
 И. С. Стилиди, Т. Н. Заботина*
**Лимфоидные популяции и опухолевые диссеминированные клетки
 в костном мозге при раннем раке молочной железы 94**

ЮБИЛЕЙ

- К юбилею Валерия Николаевича ЧАРУШИНА. 103**

REVIEW

Anton V. Lobov, Ekaterina A. Pogodina, Polina I. Ivanova, Evgeny G. Golovnya, Ekaterina V. Sorokina, Irina Zh. Shubina
Laboratory diagnostics of B-cell immunity after SARS-CoV-2 and other viral infections10

Aleksey M. Kazakov, Marat G. Gordiev, Konstantin K. Laktionov, Svetlana Yu. Kruteleva, Daria D. Tkacheva
Predictive value of the KRAS gene mutation variant and co-mutation status when using immunotherapy in patients with non-small cell lung cancer19

Zoya S. Shprakh, Maria V. Dmitrieva
Lipophilicity of drugs: general characteristics and methods of determination28

Amina A. Voznyuk, Elizaveta G. Glinskaia, Egor S. Demidov, Maksim E. Lugovoi, Elizaveta V. Koudan
Local delivery of chemotherapy: innovative technologies and materials for local chemotherapy platforms41

ORIGINAL REPORTS

Polina A. Shtompel, Sofya A. Khazanova, Ekaterina S. Trapeznikova, Victoria Yu. Zinovieva, Anastasia A. Lovenger, Anastasia A. Tararykova, Benjamin Yu. Bokhyan, Natalia V. Khromova, Pavel B. Kopnin, Timur I. Fetisov, Marianna G. Yakubovskaya, Kirill I. Kirsanov
New undifferentiated pleomorphic sarcoma cell line UPS134 for *in vitro* and *in vivo* studies62

Valeriia S. Chernyshenko, Natalia M. Faustova, Vera M. Kosman, Marina V. Karlina, Anna Yu. Romanenko, Marina N. Makarova, Valery G. Makarov, Anastasia A. Dmitrieva, Elena V. Shipaeva, Mikhail G. Chernobrovkin, Victoria A. Postnikova, Olga V. Filon, Mikhail Yu. Samsonov, Vasilij G. Ignatiev
Comparison of methods for assessing the immunogenicity of biological drugs based on monoclonal antibodies using the example of pembrolizumab71

Yurii M. Mikhailov, Anna V. Darovskikh, Anastasia V. Smolina, Elena N. Klimanova, Tatyana E. Sashenkova, Darya A. Poletaeva, Mikhail I. Vorozheikin, Irina I. Faingold
Study of acute toxicity of γ -cyclodextrin nitrates *in vivo*84

Svetlana V. Chulkova, Elena N. Sholokhova, Olga P. Kolbatskaya, Irina A. Gladilina, Angelina V. Egorova, Ivan S. Stilidi, Tatiana N. Zabolina
Lymphoid populations and tumor disseminated cells in the bone marrow in early breast cancer94

JUBILEE

To mark the anniversary of Valery Nikolaevich CHARUSHIN103

Лабораторная диагностика В-клеточного звена иммунитета после перенесенных инфекции SARS-CoV-2 и других вирусных инфекций

А.В. Лобов^{1,2}, Е.А. Погодина^{1,2}, П.И. Иванова^{1,2}, Е.Г. Головня¹, Е.В. Сорокина², И.Ж. Шубина³

¹Научно-медицинская лаборатория ООО «Аликвота»; Россия, 115201 Москва, Каширский пр-д, 23, стр. 5;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»; Россия, 105064 Москва, Малый Казенный пер., 5А;

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

Контакты: Антон Викторович Лобов lobov-anton@list.ru; anton.lobov@aliquot.ru

Введение. Пандемия COVID-19 существенно повлияла на развитие клинической лабораторной диагностики и показала важность комплексного изучения иммунного статуса к различным возбудителям инфекционных заболеваний, в частности к SARS-CoV-2, помимо проведения полимеразной цепной реакции для идентификации возбудителя. Исследование гуморального иммунитета, основанное на обнаружении антител без определения показателей клеточного звена, не позволяет комплексно оценить иммунный ответ, что важно для оценки его напряженности и прогноза заболевания при инфицировании. Определение потенциала В-клеток памяти к пролиферации в антителасекретирующие клетки и количественное определение секретированных ими специфических антител позволяют оценить длительность В-клеточной памяти.

Цель исследования – изучить современные возможности диагностики клеточного иммунитета с акцентом на В-клеточное звено после перенесенной инфекции SARS-CoV-2 и других вирусных инфекций.

Материалы и методы. Выполнено обзорное исследование по данным зарубежной (PubMed, Oxford Medicine Online, Penn Libraries, Springer) и российской (e-Library) литературы в основном за период с 2020 по 2025 г. по теме способов определения и длительности сохранения В-клеток памяти к COVID-19 после вакцинации и перенесенной инфекции и другим вирусным инфекциям.

Заключение. Поиск доступной платформы и способов для обнаружения специфической В-клеточной памяти к SARS-CoV-2 и другим инфекциям, которые могут быть использованы в клинико-диагностических лабораториях, является важной задачей на современном этапе. При этом обнаружение специфического клона В-клеток памяти позволило бы охарактеризовать иммунный статус, усовершенствовать ретроспективную долговременную диагностику COVID-19, оценить эффективность проведенной вакцинопрофилактики и прогнозировать эффективность антительного ответа при последующем контакте с инфекцией. Тест-системы, способные охарактеризовать В-лимфоциты, определив клональную принадлежность В-клеточного рецептора и потенциал пролиферации В-клеток памяти по последующей секреции специфических иммуноглобулинов, имеют низкую доступность и распространенность в мире и отсутствуют в России. При этом возможность обнаружения клонов В-клеток памяти к COVID-19 и к другим инфекциям, способных быстро синтезировать большое количество специфических антител, имеет решающее значение в развитии заболевания при повторном контакте с возбудителем.

Ключевые слова: В-клетки памяти, В-клеточный иммунитет, COVID-19, SARS-CoV-2

Для цитирования: Лобов А.В., Погодина Е.А., Иванова П.И. и др. Лабораторная диагностика В-клеточного звена иммунитета после перенесенных инфекций SARS-CoV-2 и других вирусных инфекций. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(1):10–8.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-10-18>

Laboratory diagnostics of B-cell immunity after SARS-CoV-2 and other viral infections

Anton V. Lobov^{1,2}, Ekaterina A. Pogodina^{1,2}, Polina I. Ivanova^{1,2}, Evgeny G. Golovnya¹, Ekaterina V. Sorokina², Irina Zh. Shubina³

¹Scientific and Medical Laboratory “Aliquot” LLC; Build. 5, 23 Kashirsky Proezd, Moscow 115201, Russia;

²I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Serums; 5A Maly Kazenny Pereulok, Moscow 105064, Russia;

³N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia

Contacts: Anton Viktorovich Lobov lobov-anton@list.ru; anton.lobov@aliquot.ru

Background. The COVID-19 pandemic significantly influenced the development of clinical laboratory diagnostics and showed the importance of comprehensive study of immune status to various infectious agents, in particular to SARS-CoV-2, in addition to PCR for pathogen identification. The study of humoral immunity, based on the detection of antibodies, without determining the cellular immunity assessment does not allow to assess the immune response, which is important for detecting its intensity and prognosis of the disease during infection. Assessing the potential of memory B cells to proliferate into antibody-secreting cells and quantifying the specific antibodies secreted by them will enable evaluation of the duration of B-cell memory.

Aim. To explore the current possibilities for diagnosing cellular immunity, with a focus on the B-cell component, after SARS-CoV-2 infection and other viral infections.

Materials and methods. A review study was conducted based on data from foreign (PubMed, Oxford Medicine Online, Penn Libraries, Springer) and Russian literature (e-Library), mainly from 2020 to 2025, on the methods of determining and maintaining the duration of B-cell memory to COVID-19 after vaccination and previous infection, as well as other viral infections.

Conclusion. Finding an accessible platform and methods for the detection of specific B-cell memory to SARS-CoV-2 and other infections that can be utilized in clinical diagnostic laboratories is an important challenge at the present time. The detection of a specific memory B-cell clone would allow characterizing immune status, improving retrospective long-term diagnosis of COVID-19, evaluating the efficacy of vaccine prophylaxis and predicting the effectiveness of the antagonistic response in subsequent exposure to infection. Test systems capable of characterizing B-lymphocytes by determining the clonal affiliation of the B-cell receptor and the proliferation potential of memory B-cells for subsequent secretion of specific immunoglobulins are poorly distributed in the world and absent in Russia. At the same time, the possibility of detecting memory B-cell clones for COVID-19 and other infections, capable of rapidly synthesizing a large number of specific antibodies, is of crucial importance in the development of the disease in case of repeated contact with the pathogen.

Keywords: B-cells memory, B-cell immunity, COVID-19, SARS-CoV-2

For citation: Lobov A.V., Pogodina E.A., Ivanova P.I. et al. Laboratory diagnostics of B-cell immunity after SARS-CoV-2 and other viral infections. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2026;25(1): 10–8. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-10-18>

Введение

В диагностике инфекционных заболеваний, помимо идентификации возбудителя, определяется специфический ответ иммунной системы, в частности гуморальный компонент, при помощи серологических тестов. Последние позволяют выявить специфические антитела (АТ) к антигенам возбудителя. Однако в борьбе с вирусными инфекциями важнейшую роль играет адаптивный клеточный ответ, представленный активностью Т- и В-лимфоцитов, что существенно значимо при повторном контакте с возбудителем [1]. Адаптивные иммунные реакции, особенно клеточно-опосредованные, имеют ключевое значение для подавления инфекции SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) [2]. С учетом быстрого развития SARS-CoV-2 и родственных ему вариантов вызывает большую озабоченность эффективность клеточного иммунитета [3]. При этом, поскольку мишенью Т-клеток являются консервативные пептидные эпитопы, последние могут реагировать на разные штаммы SARS-CoV-2 [4, 5]. Решающее значение для профилактики и исхода заболевания имеет

интегрированный клеточно-опосредованный иммунный ответ в дополнение к механизмам врожденных иммунных реакций [6–9].

Диагностические тесты, определяющие активность В-лимфоцитов с опорой на способность пролиферации В-клеток памяти и принадлежности В-клеточного рецептора, в медицинской практике не применяются. При этом возможность определения специфического к инфекции клона В-клеток памяти позволит оценить функциональное состояние иммунной системы и иммунологической памяти, в том числе к SARS-CoV-2, и оценить эффективность проведенной вакцинации [10, 11]. Поиск доступных методов для определения специфического В- и Т-клеточного иммунитета, в частности SARS-CoV-2, еще продолжается, и в литературе отмечаются противоречивые данные по их диагностической значимости [12]. Используемые в настоящее время тест-системы, основанные на высвобождении интерферона-γ (IGRA, Interferon Gamma Release Assay) на платформе ELISpot (Enzyme-Linked ImmunoSpot), в том числе и отечественного производства «ТиграТест®

SARS-CoV-2» («Генериум», Россия), способны обнаружить эффекторные Т-лимфоциты в течение довольно короткого времени после перенесенной инфекции COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) или вакцинации (6–8 мес). В связи с этим актуальным является определение В-клеток памяти, снижение количества которых не наблюдалось к 6–8 мес после инфицирования [13]. Однако доступные тест-системы для выявления определенного клона В-клеток памяти отсутствуют в России.

Цель исследования – изучить современные возможности диагностики клеточного иммунитета с акцентом на В-клеточное звено после перенесенной инфекции SARS-CoV-2 и других вирусных инфекций.

Материалы и методы

Выполнено обзорное исследование по данным зарубежной (PubMed, Oxford Medicine Online, Penn Libraries, Springer) и российской (e-Library) литературы в основном за период с 2020 по 2025 г. по теме способов определения и длительности сохранения В-клеток памяти к COVID-19 после вакцинации и перенесенной инфекции и другим вирусным инфекциям.

Вирус SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 входит в семейство коронавирусов и имеет одноцепочечный РНК(+)–геном. Коронавирусное семейство делится на подсемейства *Letovirinae* и *Orthocoronavirinae*. В 1960 г. впервые выделен HCoV, а в 2019 г. – впервые обнаружен SARS-CoV-2 [14]. На его наружной поверхности имеются спайковый (S), оболочечный (E) и мембранный (M) белки, позволяющие контактировать с клеточными рецепторами, CD (cluster of differentiation – кластером дифференцировки) 209, ангиотензинпревращающим ферментом 2 (АПФ2) и CD147 [15, 16].

Модель вируса SARS-CoV-2 представлена на рис. 1.

Жизненный цикл коронавируса SARS-CoV-2 начинается при попадании в организм (рис. 2). Он взаимодействует с рецептором АПФ2 S-белком, что приводит к его интернализации и проникновению в клетку. Несмотря на то что рецепторы АПФ2, позволяющие вирусу проникать в клетку, экспрессируются на клетках многих тканей и органов человека, особенно в сердце, кишечнике, верхних дыхательных путях, размножение вируса происходит в основном в легких. Причиной этого является наличие мембраносвязанной сериновой протеазы (TMPRSS) 2 и фурина, необходимых для проникновения SARS-CoV-2 [17, 18]. Тем не менее инфицированность SARS-CoV-2 характеризуется различными симптомами, формами течения заболевания – от легких до фульминантных – и последствиями перенесенной инфекции, часто имеет характер органо- или тканеспецифичной направленности.

Лабораторная диагностика В-клеточного звена иммунитета после перенесенных инфекции SARS-CoV-2 и других вирусных инфекций

В-клеточное звено иммунитета после перенесенной инфекции SARS-CoV-2

Взаимодействие наивных В-клеток с антигеном и CD4⁺-Т-клетками в герминальном центре индуцирует пролиферацию В-клеток, рекомбинацию на этапе переключения к созреванию аффинности и в итоге дифференцировку в долгоживущие клетки памяти и В-клетки памяти, которые продуцируют АТ с высокой аффинностью. После взаимодействия Т- и В-клеток некоторые В-клетки вступают во внефолликулярные реакции, в которых они, вместо формирования герминального центра, быстро пролиферируют и дифференцируются в короткоживущие плазматические клетки. Последние секретируют как низкоаффинные АТ, так и В-клетки памяти до их вхождения в герминальный центр, которые, в свою очередь, участвуют в дифференцировке в плазмобласты или инициации вторичных ответов герминального центра вместе с В-клетками памяти, образованными в герминальном центре. Фолликулярные Т-хелперы (Th) активируют и регулируют активность В-клеток в ответе, сформированном герминальным центром.

После активации В-клетки дифференцируются в АТ-продуцирующие клетки и секретируют АТ против первичной или вторичной инфекций. Данные показывают, что при инфекции SARS-CoV-2 нейтрализующие АТ вырабатываются из наивных В-клеток, а не из уже существующих В-клеток памяти. Сродство АТ улучшается за счет соматической гипермутации и клональной эволюции в герминальном центре, что увеличивает эффективность связывания с патогенами [19].

Серологические исследования безусловно значимы для отслеживания иммунного ответа, вызванного инфекцией и вакциной, однако анализ фактического ответа В-клеток необходим для понимания того, как развиваются определенные серологические характеристики. Использование самых современных методов анализа В-клеток стало отличительной чертой реакции научного сообщества на недавнюю пандемию. Полученные знания о динамике В-клеточного ответа, об ограниченной эффективности вакцинации против новых штаммов и особенностях вакцин на различных платформах, несомненно, помогут оптимизировать вакцинные стратегии, чтобы вызвать высокорезистивный, длительный и защитный иммунный ответ [20].

В настоящее время нет коммерчески доступной тест-системы для оценки уровня В-клеток после перенесенной инфекции SARS-CoV-2. В ряде исследований, в которых изучали В-клеточный ответ на SARS-CoV-2,

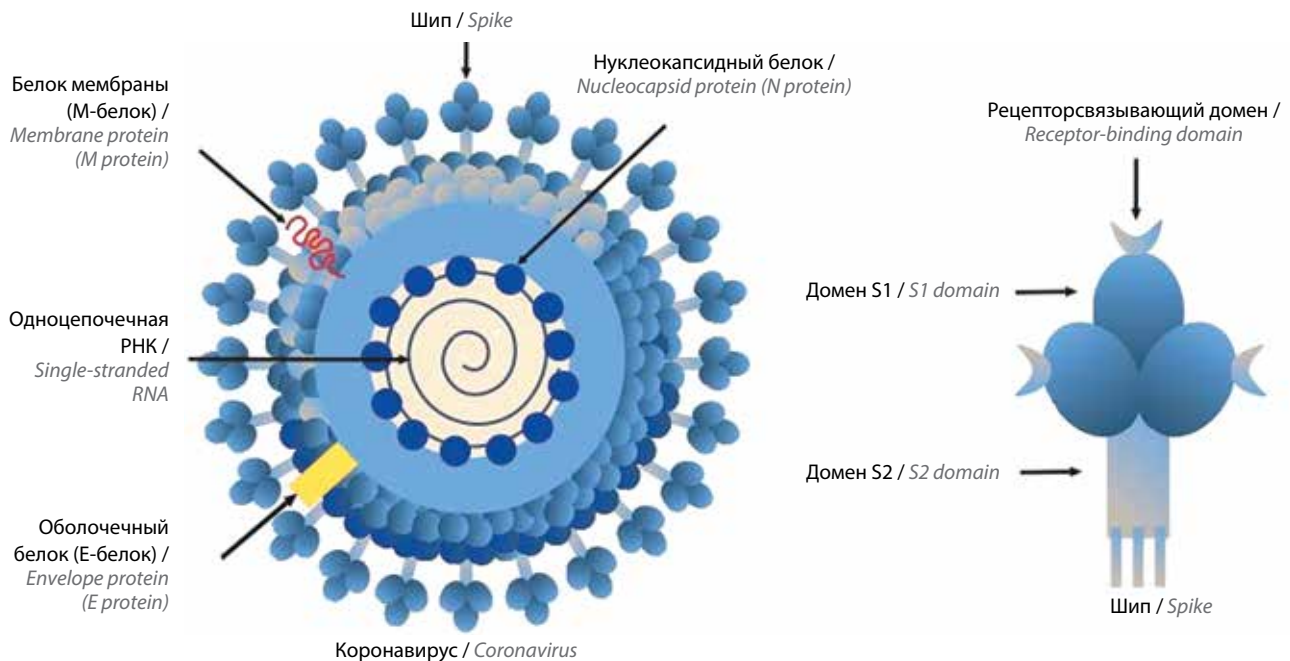


Рис. 1. Модель вируса SARS-CoV-2

Fig. 1. Model of SARS-CoV-2 virus

использовали различные методы исследования, чаще всего — проточную цитофлуориметрию.

R.A. Reyes и соавт. провели спектральную проточную цитофлуориметрию, чтобы охарактеризовать фенотип SARS-CoV-2-специфических В-клеток у невакцинированных пациентов, выздоровевших от нетяжелой или тяжелой форм COVID-19. В-клетки анализировали на спектральном проточном цитометре Cytex Aurora (Cytex Biosciences, Inc., США). Исследователи сосредоточились на двух сравнительных анализах. Во-первых, они сравнили фенотип спайкспецифических В-клеток у выздоровевших пациентов, госпитализированных с нетяжелой и тяжелой формами заболевания, чтобы определить, развивается ли В-клеточный ответ по-разному в этих 2 группах. Во-вторых, они сравнили фенотип В-клеток памяти вскоре после выздоровления с фенотипом этих же клеток через 5 мес после появления симптомов, чтобы проанализировать текущую эволюцию В-клеточного ответа. В совокупности полученные результаты подчеркивают различия в реакции В-клеток после нетяжелой и тяжелой форм COVID-19 и позволяют предположить, что реакция В-клеток памяти, вызванная во время нетяжелой формы COVID-19, может быть более качественной, чем реакция после тяжелой формы данного заболевания. Таким образом, результаты этого исследования дают представление о естественно приобретенной В-клеточной памяти против SARS-CoV-2 и позволяют лучше понять характеристики стойкого В-клеточного иммунитета [21].

В исследовании, проведенном A. Achiron и соавт., анализ SARS-CoV-2-специфических иммуноглобулинов (Ig) класса G — IgG-клеток памяти — выполнен на случайной выборке лиц, выздоравливающих после COVID-19. Исследователи использовали ELISpot PLUS (ALP kit, Mabtech, Швеция) с IgG SARS-CoV-2 рецепторсвязывающим доменом (RBD) в соответствии с инструкциями производителя. Мононуклеары периферической крови инкубировали (250 тыс. кл./лунку) на пластине с анти-IgG FluoroSpot после стимуляции смесью агониста Toll-подобных рецепторов. Количество SARS-CoV-2-специфических IgG-секретирующих В-клеток измеряли в пятнообразующих единицах (SFU) с помощью ридера Mabtech IRIS™ (Mabtech, Швеция). Результаты выражали как SFUs на 250 тыс. высевных клеток после вычитания фона нестимулированных клеток. В данном исследовании в группе из 44 выздоровевших пациентов с COVID-19, средний возраст которых составлял 32,3 (19,2–47,9) года, ответ В-клеток памяти, проанализированный через 1–9 мес после установления диагноза, обнаружен у 68,2 % пациентов. При этом не выявлено различий между субъектами с SARS-CoV-2 или без такового спайкспецифического IgG ответа В-клеток памяти, связанных с уровнем SARS-CoV-2 IgG, временем после выздоровления или возрастом [22].

Следует отметить, что для выявления В-клеток памяти используют предварительно стимулированные В-лимфоциты. В отличие от плазмобластов, В-клетки памяти требуют стимуляции *in vitro* для

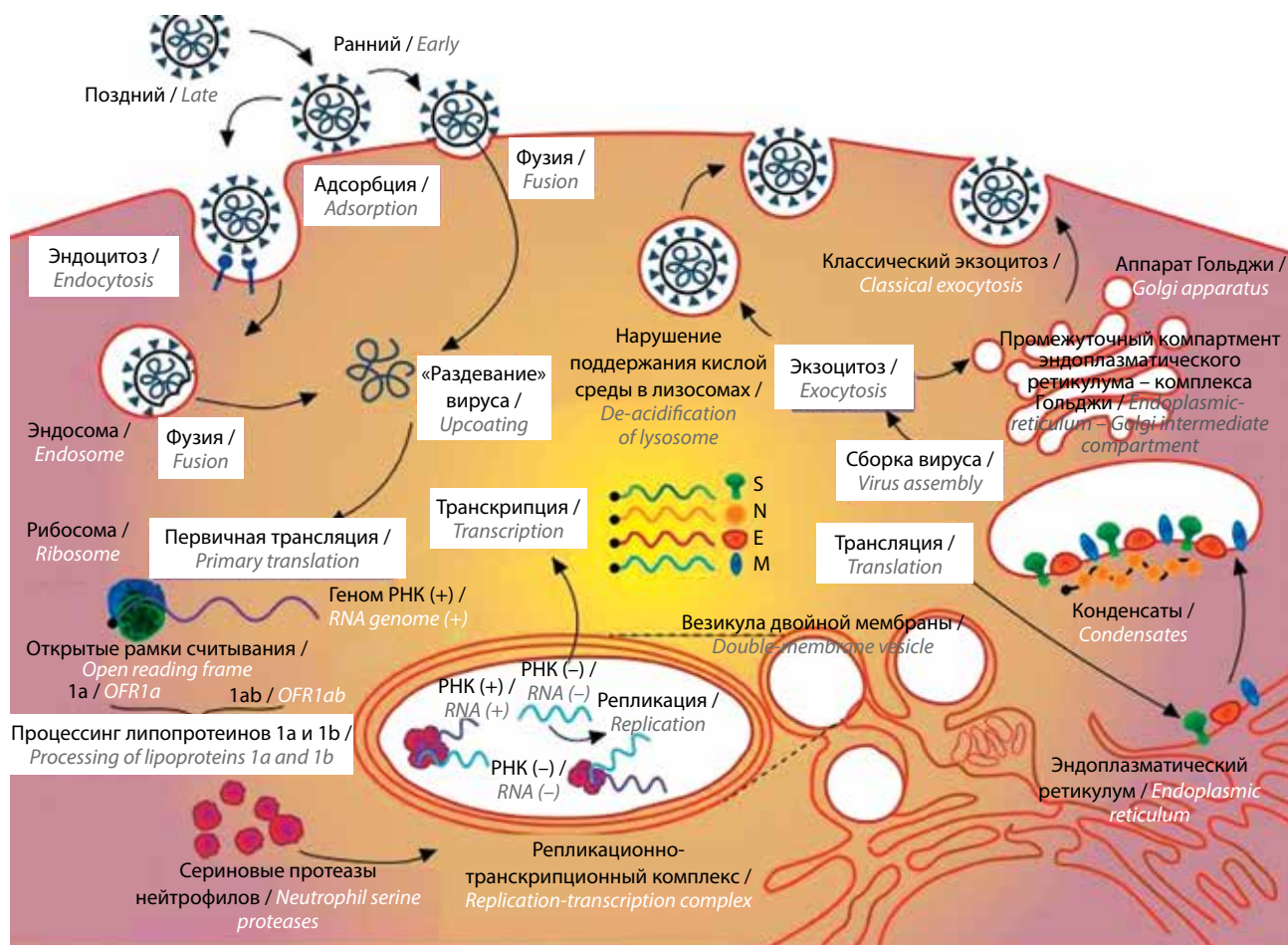


Рис. 2. Жизненный цикл вируса SARS-CoV-2

Fig. 2. Life cycle of SARS-CoV-2 virus

дифференциации в клетки, секретирующие АТ. Такая стимуляция позволяет В-клеткам памяти дифференцироваться в клетки, секретирующие АТ (ASC), а также анализировать характер вырабатываемых ими АТ в культуральных супернатантах с использованием метода иммуоферментного анализа или вируснейтрализующих тестов [23, 24].

А. Abayasingam и соавт. изучали долгосрочную персистенцию В-клеток памяти, специфичных к RBD⁺, кодирующих нейтрализующие АТ, при инфекции SARS-CoV-2. Существуют значительные опасения относительно продолжительности защитного иммунитета против SARS-CoV-2 при тяжелом остром респираторном синдроме, когда титры АТ быстро снижаются после заражения, а также сообщения о повторной инфекции. Всего в исследование включили 81 пациента. В данном исследовании авторы проследили за реакцией АТ против RBD SARS-CoV-2 в течение 6 мес после инфицирования. Хотя титры АТ сохраняются, нейтрализующие ответы ~13 % пациентов возвращаются к фоновому уровню. Однако обнадеживает тот факт, что в отдельно выбранной

группе из 13 участников у 12 были обнаружены специфические для RBD В-клетки памяти, и их количество в целом увеличивалось до 6 мес. Для оценки наличия RBD-специфического ответа В-клеток памяти отобраны всего 15 участников с разным уровнем конечного титра RBD (измеряемом в ВАУ/мл – единицах связывающих АТ в миллилитре). Среди пациентов с высоким конечным титром RBD (>1000 ВАУ/мл) было 5 человек, со средним (100–999 ВАУ/мл) – 7 и низким конечным титром RBD (<100 ВАУ/мл) – 3 участника. Мононуклеары периферической крови всех этих пациентов были проверены на наличие RBD-специфических CD27⁺-В-клеток памяти методом проточной цитометрии [25]. Исследование А. Abayasingam и соавт. позволяет предположить, что потеря нейтрализующих АТ в плазме крови может быть компенсирована сохранением нейтрализующей способности в В-клетках памяти.

Определить В-клетки памяти позволяет метод ELISpot с помощью регистрации «отпечатков» на PVDF-(Polyvinylidene Fluoride)-мембране АТ-секретирующих клеток. Однако в исследовании, проведенном

G. A. Kirchenbaum и соавт., обнаружено, что прямое покрытие антигеном PVDF-мембраны либо недостаточно для выявления антигенспецифических ASC, либо в лучшем случае приводит к образованию слабых, едва различимых секреторных отпечатков («пятен») даже при использовании запредельно высоких (и дорогостоящих) концентраций антигена. Чтобы преодолеть эту проблему и облегчить универсальный подход для достижения высокой плотности покрытия антигеном, авторы впервые применили технику «покрытия аффинным захватом»: мембрана сначала покрывается антиаффинным антителом-меткой, а затем добавляется рекомбинантный аффинномеченый антиген. Таким образом, подход I поколения, основанный на слабом неспецифическом связывании (в основном за счет гидрофобности) антигена с PVDF-мембраной, может быть заменен на специфическое высокоаффинное связывание, которое обеспечивает надежное и высокоплотное покрытие антигеном при значительно меньших концентрациях антигена. В результате можно разрабатывать анализы ELISpot практически для любого меченого антигена. Кроме того, используя эту инновацию, можно разработать варианты В-клеточного ImmunoSpot для оценки дополнительных аспектов функциональных свойств В-клеток памяти и ASC [26].

Устоявшийся метод выявления антигенспецифических В-клеток основан на окрашивании клеток флуоресцентно-мечеными антигенами для их количественного определения с помощью проточной цитометрии. Преимуществом этого метода является то, что он позволяет одновременно фенотипировать антигенспецифические В-клетки по другим поверхностным маркерам, что дает возможность идентифицировать антигенсвязывающие субпопуляции В-клеток и/или выделить их для последующего использования (например, для секвенирования). Однако проточная цитометрия также имеет множество недостатков по сравнению с ELISpot, прежде всего меньшую чувствительность. ELISpot позволяет идентифицировать единичные клетки, секретирующие АТ, среди мононуклеарных клеток периферической крови, вплоть до 1 из 10^5 клеток, которые не могут быть обнаружены с помощью проточной цитометрии. Однако поскольку В-клетки памяти являются покоящимися лимфоцитами, которые не выделяют АТ спонтанно, для их превращения в клетки, секретирующие АТ, которые можно обнаружить в анализе ELISpot, требуется поликлональная стимуляция *in vitro*. Напротив, плазмобласты, которые были вовлечены в иммунный ответ после контакта с антигеном *in vivo*, могут быть обнаружены с помощью анализа ELISpot непосредственно *ex vivo*. Последние представляют собой предшественников плазматических клеток, которые транзиторно появляются в крови во время

их миграции из лимфатических узлов или других лимфоидных тканей в костный мозг или другие ниши, где они могут находиться длительное время. Важно отметить, что только количество клеток, доступное для анализа ELISpot, определяет нижний предел обнаружения ASC при условии, что образцы для анализа высеваются в количестве $\leq 5 \times 10^5$ мононуклеаров периферической крови на лунку, чтобы избежать скопления клеток и ухудшения обнаружения секреторного следа каждой клетки в одной или нескольких повторных лунках [26].

Преимуществом ELISpot перед проточной цитометрией является то, что для определения антигенспецифических В-клеток с помощью ELISpot требуется значительно меньшее количество мононуклеаров периферической крови. При использовании менее 5×10^6 криоконсервированных мононуклеаров периферической крови на 1 антиген можно определить частоту появления антигенспецифических В-клеток, секретирующих все 4 класса Ig и подклассы IgG, а также частоту появления антигенспецифических В-клеток среди всех клеток, продуцирующих эти подтипы АТ.

С практической точки зрения уровень технических навыков, необходимых для точной многопараметрической проточной цитометрии, намного выше, чем для проведения ELISpot. Существующие протоколы позволяют проводить соответствующие требованиям надлежащей лабораторной практики высокопроизводительные измерения, позволяющие удобно идентифицировать класс/подкласс Ig-АТ, продуцируемых антигенспецифическими ASC. Проточная цитометрия, напротив, не позволяет достоверно определить класс/подкласс Ig, который будет продуцироваться отдельными В-клетками, поскольку экспрессия поверхностных BCR может быть очень вариабельной; это является недооцененной сложностью окрашивания. Более того, в случае В-клеток, секретирующих IgG, на поверхности клеток присутствует мало BCR, если они вообще есть; это подрывает оценку их антигенной специфичности и использования подклассов с помощью традиционных подходов к окрашиванию. Следовательно, для определения использования подкласса IgG требуется фиксация и внутриклеточное окрашивание, что приводит к значительной потере клеток в образце. Наконец, анализ В-клеток ELISpot подходит для высокопроизводительных исследований, а дополнительным преимуществом является то, что даже многоцветный анализ ELISpot может быть полностью автоматизирован [27].

Лабораторная диагностика В-клеточного звена иммунитета после перенесенных других вирусных инфекций или вакцинации

В работе D. C. Vaas и соавт. описано использование белкового микрочипа в качестве инструмента

мультиплексного анализа для выявления специфичных для штамма вируса гриппа H1 В-клеток памяти до инфицирования вирусом гриппа А (H1N1) pdm09 и после него. Распознавание основано на выявлении специфических АТ в культуральных супернатантах поликлонально стимулированных В-клеток против рекомбинантных белков HA1 вируса гриппа, представляющих подтипы вируса гриппа с H1 по H9. Белковый микрочип оказался чувствительным и специфичным для обнаружения АТ в культуральных супернатантах В-клеток, а также потенциально пригодным для определения истории инфицирования человека определенными вариантами вируса гриппа, включая А (H1N1) pdm09. В образцах крови, полученных от разных возрастных групп до начала распространения заболевания в 2009 г., частично показано наличие В-клеток, продуцирующих АТ, связывающиеся с близкородственным вирусом пандемического гриппа А (H1N1) 1918 г., причем их количество увеличивалось с возрастом. Эти перекрестно-реактивные АТ вырабатывались одиночными В-клетками памяти, присутствующими у этих доноров, и либо связывались с эпитопами на HA1, которые являются общими для разных штаммов H1 (гомосубтипический ответ), либо общими для разных субтипов (гетеросубтипический ответ) [27].

В исследовании, проведенном А.М. Buisman и соавт., описано выявление антигенспецифических В-клеток памяти в периферической крови лиц, родившихся между 1940 и 2004 гг. в Нидерландах. Поликлональная стимуляция либо мононуклеаров периферической крови, либо очищенных В-клеток вызывала пролиферацию и дифференцировку В-клеток памяти (CD19⁺/CD27⁺) в ASC. Таким образом, выявлены В-клетки памяти против компонентов вирусных вакцин (кори и гриппа) даже у лиц с низким титром АТ в сыворотке крови. Обогащение В-клеток повысило чувствительность определения В-клеток памяти по сравнению с мононуклеарами периферической крови. Низкие, но значимые корреляции между количеством антигенспецифических В-клеток памяти и соответствующими титрами циркулирующих АТ обнаружены для вируса кори. Определение количества и специфичности периферических В-клеток памяти и их взаимосвязи с циркулирующими антителами может быть очень полезным для определения долгосрочной эффективности вакцинации [28].

О.М. Драпкина и соавт. оценивали гуморальный и клеточный иммунные ответы при использовании гетерологичных и гомологичных схем ревакцинации против вируса SARS-CoV-2. В исследовании были сформированы 3 группы участников, которые получали вакцинацию по разным схемам. Так, участникам исследования из 1-й группы ($n = 106$) вводили вакцину «Гам-КОВИД-Вак», из 2-й группы ($n = 54$) –

«Гам-КОВИД-Вак», а ревакцинировали препаратом «КовиВак», а участников исследования из 3-й группы ($n = 40$) вакцинировали и ревакцинировали препаратом «КовиВак». При оценке иммунитета к SARS-CoV-2 показано, что через 12 мес после первичной вакцинации средний уровень IgG к S-гликопротеину SARS-CoV-2 в 1-й группе составил в среднем 520 BAU/мл, во 2-й группе – 499 BAU/мл и в 3-й группе – 456 BAU/мл. Максимальное снижение числа активных Т-клеток, реагирующих на стимуляцию S-антигена SARS-CoV-2 через 18 мес после первичной вакцинации, отмечали в 3-й группе. Авторы пришли к выводу о том, что 2 схемы вакцинации и ревакцинации в итоге позволяют сформировать устойчивый гуморальный и клеточный иммунные ответы, но вакцинация и ревакцинация препаратом «КовиВак» через 18 мес после первичной вакцинации приводит к значимому снижению количества активных Т-клеток, реагирующих на стимуляцию S- и N-антигена SARS-CoV-2 [29].

А.В. Иванов и соавт. изучали динамику гуморального иммунитета после инфицирования SARS-CoV-2 и/или вакцинации препаратом «Спутник V». В исследование включили 36 добровольцев, из которых 21 человек переболел COVID-19, а затем был вакцинирован примерно через 8–10 мес (1-я группа). У 15 первично вакцинированных человек предшествующее инфицирование SARS-CoV-2 исключили, используя периодически проводимые тесты – полимеразной цепной реакции и серологические (2-я группа). В 1-й группе усредненные максимальные значения уровней специфических IgA и IgG после последующей вакцинации составляли $13,45 \pm 1,35$ и $9,43 \pm 2,71$ соответственно, а во 2-й группе – $6,42 \pm 1,78$ и $7,53 \pm 1,32$ соответственно. Таким образом, у лиц, ранее перенесших SARS-CoV-2, ответ на вакцину «Спутник V» более выражен, чем у ранее не переболевших лиц [30].

Заключение

Многочисленные исследования посвящены вопросам гуморального ответа и определения специфических АТ, однако значительно меньше уделяется внимания возможностям определения специфических В-клеток памяти, и, как следствие, имеется недостаточная изученность их функциональных характеристик, в частности В-клеток памяти к SARS-CoV-2. Несколько ключевых проблем все еще требуют дополнительных исследований, а именно: 1) продолжительность циркулирования АТ и В-клеток памяти в сыворотке крови и слизистых; 2) разница между титрами нейтрализующих АТ и популяцией В-клеток памяти при вакцинации и инфекции; 3) факторы, влияющие на течение заболевания у инфицированных пациентов.

Вопросы о том, может ли вакцинация вызывать эффективный ответ В-клеток в слизистой оболочке и каким образом, требуют дальнейшего изучения. Современные исследования показали, что вакцинация обеспечивает эффективную защиту как неинфицированных ранее, так и перенесших заболевание людей. Однако в связи с продолжающейся мутацией вируса вакцины также нуждаются в постоянном обновлении. Для разработки вакцин требуются новые подходы к защите от вирусной инвазии, такие как индуцирование эффективного мукозального иммунитета димерными IgA и В-клетками памяти, спе-

цифичными к SARS-CoV-2. Кроме того, важной областью изучения являются перекрестно-реактивные АТ, индуцированные инфекцией или вакцинацией, которые защищают не только от COVID-19, но и от других коронавирусных инфекций. Открытым остается вопрос поиска доступной платформы и способов для обнаружения специфической В-клеточной памяти к SARS-CoV-2 и другим инфекциям, которая может быть использована в клинико-диагностических лабораториях. Наиболее перспективным видится определение специфических АТ разных классов в супернатанте суспензии мононуклеаров после панстимуляции.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Chaplin D.D. Overview of the immune response. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125(2 Suppl. 2):S3–23. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.12.980
- Kudlay D., Kofiadi I., Khaitov M. Peculiarities of the T cell immune response in COVID-19. *Vaccines (Basel)* 2022;10(2):242. DOI: 10.3390/vaccines10020242
- Moss P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nat Immunol* 2022;23(2):186–93. DOI: 10.1038/s41590-021-01122-w
- Kedzierska K., Thomas P.G. Count on us: T cells in SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell Rep Med* 2022;3(3):100562. DOI: 10.1016/j.xcrm.2022.100562
- Bertoletti A., Le Bert N., Tan A.T. Act early and at the right location: SARS-CoV-2 T cell kinetics and tissue localization. *Int J Mol Sci.* 2022;23(18):10679. DOI: 10.3390/ijms231810679
- Zhao J., Zhao J., Mangalam A.K. et al. Airway memory CD4⁺ T cells mediate protective immunity against emerging respiratory coronaviruses. *Immunity* 2016;44(6):1379–91. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.05.006
- Liu J., Chandrashekar A., Sellers D. et al. Vaccines elicit highly conserved cellular immunity to SARS-CoV-2 omicron. *Nature* 2022;603(7901):493–6. DOI: 10.1038/s41586-022-04465-y
- Rydzynski M., Moderbacher C., Ramirez S.I., Dan J.M. et al. Antigen-specific adaptive immunity to SARS-CoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity. *Cell* 2020;183(4):996–1012.e19. DOI: 10.1016/j.cell.2020.09.038
- Madden E.A., Diamond M.S. Host cell-intrinsic innate immune recognition of SARS-CoV-2. *Curr Opin Virol* 2022;52:30–8. DOI: 10.1016/j.coviro.2021.11.002
- Бойко О.В., Бойко А.Н., Яковлев П.А. и др. Результаты I фазы клинического исследования моноклонального антитела против CD20 (BCD-132): фармакокинетика, фармакодинамика и безопасность. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвып* 2019;119(10–2):87–95. DOI: 10.17116/jnevro201911910287
Boyko O.V., Boyko A.N., Yakovlev P.A. et al. Results of a phase I clinical study of anti-CD20 monoclonal antibody (BCD-132): pharmacokinetics, pharmacodynamics and safety. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova = S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry* 2019;119(10–2):87–95. (In Russ.). DOI: 10.17116/jnevro201911910287
- Winklmeier S., Eisenhut K., Taskin D. et al. Persistence of functional memory B cells recognizing SARS-CoV-2 variants despite loss of specific IgG. *iScience* 2022;25(1):103659. DOI: 10.1016/j.isci.2021.103659
- Augusto D.G., Murdolo L.D., Chatzileontiadou D.S.M. et al. A common allele of HLA is associated with asymptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nature* 2023;620(7972):128–36. DOI: 10.1038/s41586-023-06331-x
- Sherina N., Piralla A., Du L. et al. Persistence of SARS-CoV-2-specific B and T cell responses in convalescent COVID-19 patients 6–8 months after the infection. *Med (N Y)* 2021;2(3):281–95. DOI: 10.1016/j.medj.2021.02.001
- Kobayashi T., Yoshii K., Linton N.M. et al. Age dependence of the natural history of infection with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): an analysis of Diamond Princess data. *Int J Infect Dis* 2022;115:109–15. DOI: 10.1016/j.ijid.2021.12.319
- Turoňová B., Sikora M., Schürmann C. et al. In situ structural analysis of SARS-CoV-2 spike reveals flexibility mediated by three hinges. *Science* 2020;370(6513):203–8. DOI: 10.1126/science.abd5223
- Amraei R., Yin W., Napoleon M.A. et al. CD209L/L-SIGN and CD209/DC-SIGN act as receptors SARS-CoV-2. *ACS Cent Sci* 2021;7(7):1156–65. DOI: 10.1021/acscentsci.0c01537
- Harrison A.G., Lin T., Wang P. Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. *Trends Immunol* 2020;41(12):1100–15. DOI: 10.1016/j.it.2020.10.004
- Lukassen S., Chua R.L., Trefzer T. et al. SARS-CoV-2 receptor ACE2 and TMPRSS2 are primarily expressed in bronchial transient secretory cells. *EMBO J* 2020;39(10). DOI: 10.15252/embj.20105114
- Chen S., Guan F., Candotti F. The role of B cells in COVID-19 infection and vaccination. *Front Immunol* 2022;13:988536. DOI: 10.3389/fimmu.2022.988536
- Lapiente D., Winkler T.H., Tenbusch M. B-cell and antibody responses to SARS-CoV-2: infection, vaccination, and hybrid immunity. *Cell Mol Immunol* 2024;21(2):144–58. DOI: 10.1038/s41423-023-01095-w
- Reyes R.A., Clarke K., Gonzales S. J. et al. SARS-CoV-2 spike-specific memory B cells express higher levels of T-bet and FcRL5 after non-severe COVID-19 as compared to severe disease. *PLoS One* 2021;16(12):e0261656. DOI: 10.1371/journal.pone.0261656
- Achiron A., Gurevich M., Falb R. et al. SARS-CoV-2 antibody dynamics and B-cell memory response over time in COVID-19

- convalescent subjects. *Clin Microbiol Infect* 2021;27(9):1349.e1–e6. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.05.008
23. Meyer B., Lemaitre B., Didierlaurent A.M. Fitness of B-cell responses to SARS-CoV-2 WT and variants up to one year after mild COVID-19 – a comprehensive analysis. *Front Immunol* 2022;13:941492. DOI: 10.3389/fimmu.2022.841009
 24. Rouers A., Tay M.Z., Ng L.F.P., Renia L. B-cell ELISpot assay to analyze human memory B cell and plasmablast responses specific to SARS-CoV-2 receptor-binding domain. *STAR Protoc* 2023;4(1):102130. DOI: 10.1016/j.xpro.2023.102130
 25. Abayasingam A., Balachandran H., Agapiou D. et al. COSIN Study Group. Long-term persistence of RBD(+) memory B cells encoding neutralizing antibodies in SARS-CoV-2 infection. *Cell Rep Med* 2021;2(4):100228. DOI: 10.1016/j.xcrm.2021.100228
 26. Kirchenbaum G.A., Pawelec G., Lehmann P.V. The importance of monitoring antigen-specific memory B cells, and how immunospot assays are suitable for this task. *Cells* 2025;14(3):223. DOI: 10.3390/cells14030223
 27. Baas D.C., Koopmans M.P., de Bruin E. et al. Detection of influenza A virus homo- and heterosubtype-specific memory B-cells using a novel protein microarray-based analysis tool. *J Med Virol* 2013;85(5):899–909. DOI: 10.1002/jmv.23535
 28. Buisman A.M., de Rond C.G., Oztürk K. et al. Long-term presence of memory B-cells specific for different vaccine components. *Vaccine* 2009;28(1):179–86. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.09.102
 29. Драпкина О.М., Чашин М.Г., Бернс С.А. и др. Анализ гуморального и клеточного иммунного ответа при использовании гетерологичных и гомологичных схем ревакцинации против вируса SARS-CoV-2. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика* 2023;22(10):3764. DOI: 10.15829/1728-8800-2023-3764
Drapkina O.M., Chashchin M.G., Berns S.A. et al. Analysis of the humoral and cell-mediated immune response in heterologous and homologous SARS-CoV-2 revaccination. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika = Cardiovascular Therapy and Prevention* 2023;22(10):3764. (In Russ.). DOI: 10.15829/1728-8800-2023-3764
 30. Иванов А.В., Уварова М.А., Фролов К.Б., Семенова Е.В. Динамика гуморального иммунитета после инфицирования SARS-CoV-2 и/или вакцинации вакциной «Спутник V». *Медицинская иммунология* 2024;26(6):1291–300. DOI: 10.15789/1563-0625-DOH-2919
Ivanov A.V., Uvarova M.A., Frolov K.B., Semenova E.V. Dynamics of humoral immunity during natural SARS-CoV-2 infection and/or after vaccination with the ‘Sputnik V’ vaccine. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)* 2024;26(6):1291–300. (In Russ.). DOI: 10.15789/1563-0625-DOH-2919

Вклад авторов

А.В. Лобов: сбор и анализ данных литературы, написание текста обзора;
Е.А. Погодина, П.И. Иванова, Е.Г. Головня: анализ источников литературы;
Е.В. Сорокина, И.Ж. Шубина: разработка дизайна обзора, подготовка текста.

Author's contributions

A.V. Lobov: collection and analysis of literature data, writing a review;
E.A. Pogodina, P.I. Ivanova, E.G. Golovnya: analysis of literary sources;
E.V. Sorokina, I.Zh. Shubina: review design development, text preparation.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.В. Лобов / A.V. Lobov: <https://orcid.org/0000-0002-4703-5863>
Е.А. Погодина / E.A. Pogodina: <https://orcid.org/0000-0002-0421-3287>
П.И. Иванова / P.I. Ivanova: <https://orcid.org/0000-0002-3481-2854>
Е.Г. Головня / E.G. Golovnya: <https://orcid.org/0000-0003-3446-9176>
Е.В. Сорокина / E.V. Sorokina: <https://orcid.org/0000-0002-1188-6578>
И.Ж. Шубина / I.Zh. Shubina: <https://orcid.org/0000-0002-9374-3158>

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: 03.04.2025. Принята к публикации: 10.02.2026. Опубликовано онлайн: 30.04.2026.

Article submitted: 03.04.2025. Accepted for publication: 10.02.2026. Published online: 30.04.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-19-27>

Предиктивное значение варианта мутации в гене *KRAS* и комутационного статуса при использовании иммунотерапии у больных немелкоклеточным раком легкого

А.М. Казаков¹, М.Г. Гордиев², К.К. Лактионов^{1,3}, С.Ю. Крутелева¹, Д.Д. Ткачева¹

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

²ГБУЗ г. Москвы «Московский научно-практический центр лабораторных исследований Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 115580 Москва, Ореховый бульвар, 49, корп. 1;

³ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (Пироговский Университет); Россия, 117513 Москва, ул. Островитянова, 1, стр. 6

Контакты: Алексей Михайлович Казаков Kazakovich873@gmail.com

Введение. Прогнозирование течения заболевания и ответа на различные виды лекарственной терапии является важным аспектом в лечении немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). С бурным развитием различных опций молекулярно-генетического тестирования, особенно секвенирования нового поколения, стало возможным получать данные о значительном числе генетических нарушений сразу. Большое количество информации о молекулярно-генетических особенностях опухоли стало доступно для анализа и последующего синтеза данных, касающихся эффективности той или иной системной терапии в каждом конкретном случае в зависимости от мутационного статуса пациента.

Цель исследования – оценка влияния наличия мутаций в гене *KRAS*, таких как *KRAS G12C*, *G12D*, *G12V*, *G12A*, а также наиболее частых комутаций, встречающихся одновременно с *KRAS*, на эффективность иммунотерапии при лечении аденокарциномы легкого.

Материалы и методы. Сбор и анализ данных зарубежной и отечественной литературы о прогностическом значении комутационного статуса пациентов с *KRAS*-мутированным НМРЛ преимущественно за последние 5 лет. Поиск источников осуществляли в реферативных базах данных PubMed, Cochrane Library, eLibrary. Показано, что различные варианты мутаций в гене *KRAS* одновременно с различными комутациями по-разному влияют на эффективность иммунотерапии, что делает расширенное генетическое тестирование НМРЛ актуальной и востребованной задачей, имеющей прикладное значение.

Заключение. Определение комутационного статуса у пациентов с НМРЛ, особенно статуса гена *KRAS* в комбинации с другими мутациями, такими как *TP53*, *STK11*, *KEAP1* и прочими, чрезвычайно важно для оценки чувствительности к иммунотерапии и прогнозирования течения заболевания. Данное направление активно развивается как в России, так и за рубежом, что говорит о его перспективности и прикладном значении.

Ключевые слова: рак легкого, генетическое тестирование, *KRAS*-мутация, комутационный статус, иммунотерапия

Для цитирования: Казаков А.М., Гордиев М.Г., Лактионов К.К. и др. Предиктивное значение варианта мутации в гене *KRAS* и комутационного статуса при использовании иммунотерапии у больных немелкоклеточным раком легкого. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(1):19–27.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-19-27>

Predictive value of the *KRAS* gene mutation variant and co-mutation status when using immunotherapy in patients with non-small cell lung cancer

Aleksey M. Kazakov¹, Marat G. Gordiev², Konstantin K. Laktionov^{1,3}, Svetlana Yu. Kruteleva¹, Daria D. Tkacheva¹

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

²Moscow Scientific and Practical Center for Laboratory Research of the Moscow City Health Department; Build. 1, 49 Orekhovy Boulevard, Moscow 115580, Russia;

³N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov University), Ministry of Health of Russia; Build. 6, 1 Ostrovityanova St., Moscow 117513, Russia

Contacts: Aleksey Mikhailovich Kazakov Kazakovich873@gmail.com

Background. Predicting the disease course and response to various types of drug therapy is an important aspect of treating non-small cell lung cancer (NSCLC). With the rapid development of various molecular genetic testing options, particularly next-generation sequencing, it has become possible to obtain data on a large number of genetic abnormalities simultaneously. This wealth of information on the molecular genetic characteristics of tumors has become available for analysis and subsequent synthesis of data regarding the effectiveness of specific systemic therapies in each individual case, depending on the patient's mutation status.

Aim. To evaluate the impact of *KRAS* mutations, such as *KRAS G12C*, *G12D*, *G12V*, and *G12A*, as well as the most common co-mutations with *KRAS*, on the effectiveness of immunotherapy in the treatment of lung adenocarcinoma.

Materials and methods. Collection and analysis of data from foreign and domestic literature on the prognostic significance of the mutation status of patients with *KRAS*-mutated NSCLC, mainly over the past 5 years. Sources were searched in the PubMed, Cochrane Library, and eLibrary abstract databases. Detailed information on the prognostic significance of the co-mutation status of patients with *KRAS*-mutated NSCLC is presented. It has been shown that different *KRAS* mutations, along with various co-mutations, have different impacts on the efficacy of immunotherapy, making expanded genetic testing of NSCLC a relevant and in-demand task with practical application.

Conclusion. Determining the co-mutation status of NSCLC patients, particularly the *KRAS* gene status in combination with other mutations such as *TP53*, *STK11*, *KEAP1*, and others, is crucial for determining sensitivity to immunotherapy and prognosticating the disease course. This field is actively developing both in Russia and internationally, demonstrating its potential and potential practical application.

Keywords: lung cancer, genetic testing, *KRAS* mutation, co-mutation status, immunotherapy

For citation: Kazakov A.M., Gordiev M.G., Laktionov K.K. et al. Predictive value of the *KRAS* gene mutation variant and co-mutation status when using immunotherapy in patients with non-small cell lung cancer. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(1):19–27. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-19-27>

Введение

Лекарственное лечение немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) за последние десятилетия претерпело значительные изменения. В рутинную практику вошло использование ингибиторов контрольных точек иммунитета, комбинаций химио- и иммунотерапевтических препаратов и использование различных вариантов молекулярно-направленной терапии. По мере роста технических возможностей, выявления все большего количества молекулярно-генетических нарушений в опухоли и определения их клинической значимости все более сложной задачей становится подбор максимально персонализированной терапии для каждого конкретного пациента. Возрастают значимость осведомленности о конкретной мутации в конкретном гене и понимание комутационного статуса (совокупности всех мутаций, которые были выявлены в опухоли). Особый интерес представляют генетические альтерации в опухоли, для которых на данный момент нет специализированной таргетной терапии или ее эффективность не сильно превосходит другие методы лекарственного лечения, но которые самостоятельно или в совокупности с другими мутациями определяют чувствительность опухоли не только к таргетной терапии, но и к другим

методам лекарственного лечения. Одной из таких мутаций является мутация в гене *KRAS* (Kirsten rat sarcoma virus).

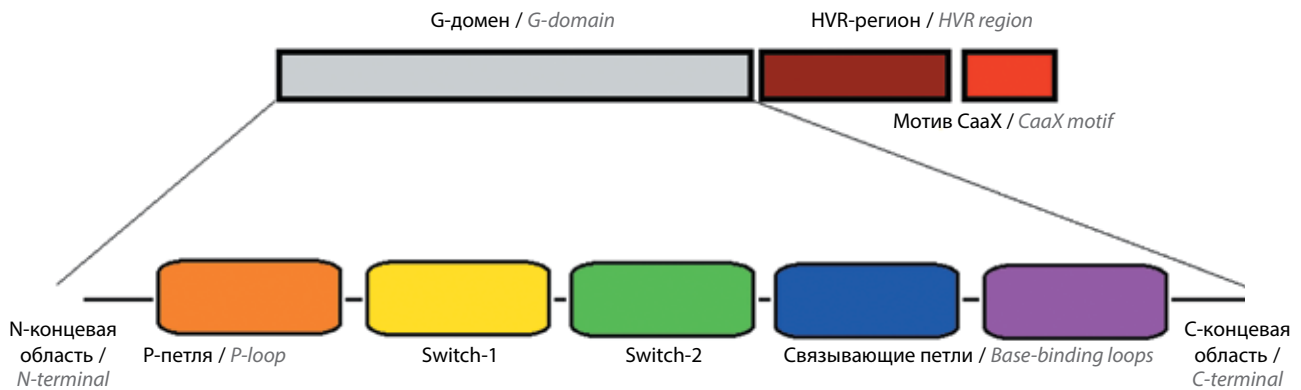
Цель данного исследования – оценка влияния наличия мутаций в гене *KRAS*, таких как *KRAS G12C*, *G12D*, *G12V*, *G12A*, а также наиболее частых комутаций, встречающихся одновременно с *KRAS*, на эффективность иммунотерапии при лечении аденокарциномы легкого.

Материалы и методы

Сбор и анализ данных зарубежной и отечественной литературы о прогностическом значении комутационного статуса пациентов с *KRAS*-мутированным НМРЛ преимущественно за последние 5 лет. Поиск источников осуществляли в реферативных базах данных PubMed, Cochrane Library, eLibrary.

Ген *KRAS* и его белок

Ген *KRAS* является протоонкогеном, который локализуется в коротком плече хромосомы 12 и кодирует одноименный белок, ответственный за передачу внутриклеточных сигналов по различным внутриклеточным сигнальным путям, таким как MAPK (mitogen-activated protein kinase), PI3K/AKT/mTOR

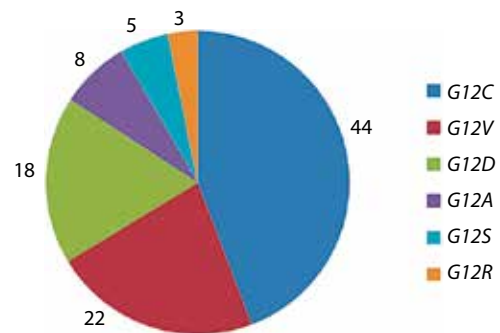
Рис. 1. Структура гена *KRAS*Fig. 1. Structure of the *KRAS* gene

(phosphoinositide 3-kinases/АКТ/mammalian target of rapamycin), NF- κ B (nuclear factor kappa B) и другим, тем самым регулируя рост и деление клетки [1]. Белок, строение которого кодирует ген *KRAS*, является гидролазой, которая действует как бинарный «переключатель» передачи сигналов по нижележащим сигнальным путям. Белок состоит из G-домена, который связывается с гуаниновыми нуклеотидами и обеспечивает активацию и передачу сигнала далее по сигнальным путям, и С-конца, который отвечает за закрепление белка на внутренней части мембраны клетки [2, 3]. Более подробно и наглядно строение гена *KRAS* представлено на рис. 1.

В неактивном состоянии белок связан с гуанозиндифосфатом (guanosine diphosphate, GDP). Данное состояние поддерживается внутренней активностью гидролиза гуанозинтрифосфата (guanosine-5'-triphosphate, GTP) до GDP, а также взаимодействием с G-белками, которые также ускоряют преобразование GTP в GDP. После получения рецепторной тирозинкиназой сигнала извне происходит активация факторов обмена гуаниновых нуклеотидов, которые связываются с неактивным *KRAS*, катализируют вытеснение GDP из активного сайта и связывание с GTP. Связывание GTP с *KRAS* позволяет активному сайту перейти из открытой в закрытую конформацию (изменение конформации части G-домена – Switch 1 и 2), что потенцирует последующее взаимодействие между *KRAS* и различными эффекторными белками [4].

Мутации в гене *KRAS*

Наиболее часто (более 90 % случаев) мутации возникают в кодонах 12 (*G12*), 13 (*G13*) или 61 (*Q61*) экзона 2 *KRAS*, который кодирует строение части G-домена белка *KRAS*. Наиболее частый вид мутаций – единичная замена нуклеотида [5, 6]. Среди перечисленных наиболее часто встречающихся мутаций первое место занимают мутации в кодоне 12 (по-

Рис. 2. Частота встречаемости мутаций *KRAS* в кодонах 12 и 13 при немелкоклеточном раке легкого, %Fig. 2. Frequency of occurrence of *KRAS* mutations in codons 12 and 13 in non-small cell lung cancer, %

рядка 80 %), далее мутации в кодоне 13 (примерно 15 %) и мутации в кодоне 61 (1–2 %) [7, 8]. Мутации в кодонах 12 и 13 приводят к изменению аминокислотной последовательности в белковом продукте – Р-петле (P-loop), которая, являясь частью G-домена, ответственна за связывание *KRAS* с гуаниновыми нуклеотидами.

Изменения в аминокислотном строении Р-петли приводит к изменению ее пространственного расположения, гидрофобных свойств, заряда, способности к гидролизу GTP, что в итоге отражается на функционировании Switch 1 и Switch 2, приводящим к неадекватной работе *KRAS* и гиперактивации нижележащих сигнальных путей [9, 10].

При НМРЛ мутации в гене *KRAS* встречаются достаточно часто – примерно в 30–40 % случаев аденокарцином и приблизительно в 4 % случаев плоскоклеточного рака. На рис. 2 наглядно представлена частота встречаемости при НМРЛ различных вариантов мутаций в кодонах 12 и 13 экзона 2 гена *KRAS* [11].

Из данных рис. 2 видно, что наиболее часто при НМРЛ встречаются мутации *G12C*, *G12V*, *G12D* –

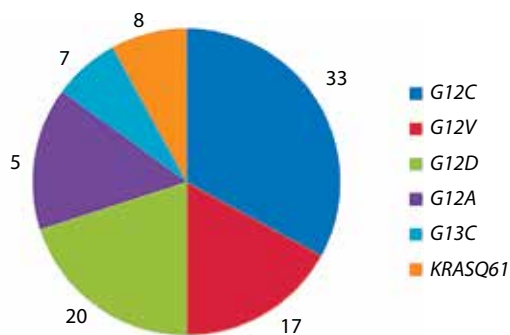


Рис. 3. Частота встречаемости мутаций *KRAS* (%) в кодонах 12 и 13 у российских пациентов при немелкоклеточном раке легкого

Fig. 3. Frequency of *KRAS* mutations (%) in codons 12 and 13 in Russian patients with non-small cell lung cancer

суммарно более 80 % случаев мутаций в гене *KRAS*. С учетом редкости остальных вариантов мутаций *KRAS* и их малоизученности в данной статье будут описаны только наиболее часто встречающиеся мутации. Особый акцент будет сделан на мутации *KRAS G12C*.

Если говорить о российской популяции пациентов с НМРЛ, то, основываясь на данных, полученных в ходе тестирования методом секвенирования нового поколения (next generation sequence, NGS) когорты из 800 пациентов с НМРЛ с аденокарциномой в период с 17.03.2023 по 22.07.2024, можно представить следующие результаты. Мутации в гене *KRAS* выявлены в 17,9 % случаев: вариант *KRAS G12C* встречался в 33 % от всех случаев *KRASm*, *KRAS G12D* – в 20 %, *KRAS G12V* – в 17 %, *KRAS G12A* – в 15 %, *KRASQ61* – в 8 %, *KRAS G13C* – в 7 % [12] (рис. 3).

При сравнении с общемировыми данными можно сделать вывод о том, что российские данные практически полностью их повторяют, за исключением того, что мутации *KRAS G12D* встречается чаще, чем *KRAS G12V*.

Влияние мутации в гене *KRAS* на эффективность иммунотерапии

Мутация *G12C* характеризуется заменой глицина на цистеин и представляет собой мишень для таргетной терапии соторасибом и адаграсибом, использование которых при терапии НМРЛ оценено в исследованиях NCT03600883 и NCT03785249 соответственно [13, 14]. Препараты показали эффект при назначении во 2-й и последующих линиях терапии НМРЛ, однако их эффективность оказалась не такой высокой, как эффективность таргетных препаратов при других активирующих мутациях (*EGFR*, *ALK*, *ROS1*, *RET*). Медиана безрецидивной выживаемости (БРВ) составила 6,5 мес для адаграсиба и 6,8 мес для соторасиба. Медиана общей выживаемости (ОВ) при терапии обоими препаратами составила 12,5 мес [13, 14].

В данном контексте определение мутации *G12C* важно с точки зрения потенциальной возможности назначения соответствующей таргетной терапии. Тем не менее, исходя из показателей эффективности таргетной терапии, ее назначение может рассматриваться, скорее, в 3-ю и последующие линии лечения (при отсутствии противопоказаний к другим методам лекарственной терапии).

Однако знание о наличии замены глицина на цистеин в кодоне 12 экзона 2 гена *KRAS* дает не только возможность назначения таргетных препаратов, но и информацию о прогнозе заболевания и потенциальной эффективности других методов лечения НМРЛ.

Если говорить о влиянии *KRAS G12C* на прогноз заболевания, то, основываясь на данных крупного метаанализа 2023 г., в который вошли данные более 10 тыс. пациентов, можно сказать, что само по себе наличие данной мутации является негативным прогностическим фактором. При сравнении популяций пациентов с диссеминированным НМРЛ, имеющим *KRAS G12C* и *KRASwt* (wild type – дикий тип гена), показано, что *KRAS G12C* является значимым фактором снижения ОВ и демонстрирует тенденцию к влиянию на снижение БРВ [15]. Между тем представленный анализ имеет большое количество ограничений – ретроспективность, чрезвычайно высокую гетерогенность включенных пациентов с точки зрения стадии, вида проведенного лечения и проч., о чем говорят авторы статьи. Это косвенно подтверждают и данные, опубликованные в декабре 2024 г., показавшие, что наличие мутации в гене *KRAS*, и особенно в *G12C*, было независимым негативным прогностическим фактором, ухудшающим ОВ у пациентов с радикально прооперированным локализованным НМРЛ I стадии, снижая 5-летнюю ОВ с 96 до 82 %. Кроме того, наличие мутации в гене *KRAS* нивелировало улучшение отдаленных результатов лечения при назначении адъювантной химиотерапии у пациентов со стадией IB [16], с одной стороны. С другой стороны, исследование С. Julian и соавт., опубликованное в 2023 г., демонстрирует отсутствие статистически значимого влияния *KRAS G12C* на отдаленные результаты лечения вне зависимости от использования моноиммунотерапии, комбинации химио-/иммунотерапии или химиотерапии. Более того, пациенты с *KRAS G12C* имели тенденцию к большей медиане ОВ при использовании моноиммунотерапии по сравнению с *KRASwt* [17].

Данные о влиянии *KRAS G12C* на эффективность иммунотерапии и химио-/иммунотерапии иногда противоречивы. Связано это, скорее всего, с тем, что во многих работах, посвященных данной теме, не оценивался комутационный статус, учет которого, особенно в случае с *KRAS*, очень важен.

Наиболее часто одновременно с *KRAS* встречаются мутации в генах *STK11* (10–28 %), *TP53* (17–50 %), *KEAP1* (6–23 %), *SMARCA4* (примерно 5–6 %) [18].

По данным работы [12] получены следующие частоты мутаций: *STK11* – 8 %, *TP53* – 26 %, *KEAP1* – 3,5 %.

Мутации в гене *STK11* при НМРЛ приводят к образованию так называемого холодного иммунного микроокружения (снижению инфильтрации опухоли Т-лимфоцитами, увеличению количества Т-регуляторных клеток и др.), что обуславливает ухудшение ответа опухоли на иммунотерапию [19]. Данное свойство находит отражение во влиянии на эффективность иммунотерапии, в том числе у пациентов с мутациями *KRAS*. Показано, что наличие комутации *STK11* одновременно с *KRAS* (как *G12C*, так и *V* или *D*) являлось статистически значимым негативным фактором прогноза заболевания при использовании ингибиторов белка запрограммированной клеточной гибели-1 (programmed cell death protein 1, PD-1) и его лиганда (programmed cell death ligand 1, PD-L1) у пациентов с диссеминированной аденокарциномой легкого в 1-й, 2-й и последующих линиях лечения. Эффект от наличия *STK11* одновременно с *KRAS G12C* выражался в значительном уменьшении медианы БРВ – 4,9 мес против 2,3 мес и медианы ОВ – 16,9 мес против 6,2 мес, для *KRAS G12V* – 8,2 мес против 1,9 мес и 24,1 мес против 4,6 мес соответственно, для *KRAS G12D* – 3,3 мес против 1,7 мес и 14,9 мес против 5,4 мес соответственно [20] (табл. 1).

Таблица 1. Влияние *STK11* на общую и безрецидивную выживаемость (мес) у пациентов с *KRAS*-мутацией

Table 1. Effect of *STK11* on overall and progression-free survival (month) in patients with *KRAS* mutation

Мутационный статус Mutation status	Выживаемость Survival	
	общая overall	безрецидивная progression-free
<i>KRAS G12C</i> +/- <i>STK11</i>	6,2/16,9	2,3/4,9
<i>KRAS G12D</i> +/- <i>STK11</i>	5,4/14,9	1,7/3,3
<i>KRAS G12V</i> +/- <i>STK11</i>	4,6/24,1	1,9/8,2

Еще одно крупное исследование подтверждает, что присутствие *STK11* (а также *KEAP1* и их комбинации) значительно снижает эффект как от моноиммунотерапии, так и комбинации иммунотерапии с химиотерапией у пациентов с наличием *KRAS G12C* как в 1-й, так и во 2-й линии лечения [16].

Белок *KEAP1* является одним из основных регуляторов клеточного гомеостаза, модулятором ответа клетки на метаболические и окислительные стрессы,

а также на ксенобиотики [21]. Наличие мутации в гене *KEAP1* уменьшает количество дендритных клеток, ответственных за антигенную презентацию, что приводит к ослаблению Т-клеточного иммунитета. Мутация в гене *KEAP1* – неблагоприятное событие в контексте ответа на лечение как химиотерапевтическими, так и иммунными препаратами при НМРЛ [22]. Так же как и при мутации в гене *STK11*, присутствие *KEAP1* одновременно с *KRAS G12C* приводит к ухудшению эффективности лечения ингибиторами контрольных точек иммунитета по данным множества исследований, одно из которых было представлено на ежегодном собрании Американского общества клинической онкологии (American Society of Clinical Oncology, ASCO) в 2021 г. Оно показало, что наличие мутации *KEAP1* (так же как и *STK11*) одновременно с *KRAS G12C* приводит к ухудшению ответа на иммуносодействующую лекарственную терапию – у пациентов с *KRAS G12C* комутация в *STK11* и/или *KEAP1* была связана с более короткой БРВ (15,8 мес против 5,1 мес; $p = 0,01$) при применении химио-/иммунотерапии в 1-й линии лечения [23]. Это же подтверждается и в другом крупном исследовании, которое также показало, что наличие *KEAP1* и *STK11* является негативными предикторами эффективности как моноиммунотерапии, так и комбинации химио-/иммунотерапии в 1-й линии лечения у пациентов с НМРЛ с *KRAS G12C* [17].

Мутации в гене *TP53*, являющемся опухолевым супрессором и кодирующем белок P53, одни из самых частых мутаций, встречающихся при солидных злокачественных новообразованиях, в том числе при НМРЛ. При последней мутации в гене *TP53* в целом носят негативный прогностический характер, однако ассоциируются с лучшим ответом на иммунотерапию [24]. В контексте комутационного статуса одновременное наличие в опухоли мутации *TP53* и *KRAS G12C* может быть положительным предиктором эффективности как моноиммунотерапии, так и комбинации химио-/иммунотерапии. В исследовании N. Frost и соавт. показано, что *KRAS G12C/TP53mut*-опухоли демонстрировали лучший ответ на моноиммунотерапию пембролизумабом (при PD-L1 TPS ≥ 50 %) в 1-й линии по сравнению со всеми другими вариантами – 1- и 2-летняя выживаемость без прогрессирования составила 83 и 67 % соответственно [25]. Аналогичные данные были получены и для ОВ [24].

В другом исследовании 2024 г. продемонстрировано позитивное влияние комутации *KRAS* (в целом и конкретно *G12C*) и *TP53* на эффективность как моноиммунотерапии, так и комбинации химио-/иммунотерапии у пациентов с НМРЛ в 1-й линии лечения, что выражалось в увеличении ОВ [26]. Следует отметить, что влияние имело тенденцию к статистической

значимости. Эту же тенденцию подтверждает и еще одно исследование, показавшее, что комутация *KRAS G12C* и *TP53* оказывает положительное влияние на моноиммунотерапию и комбинацию химио-/иммунотерапии в 1-й линии лечения НМРЛ, хотя, как и в предыдущем случае, влияние не носит статистически значимого характера [27]. Стоит указать, что по результатам данного исследования комутация *KRAS* и *TP53* показала статистически значимое влияние на увеличение ОБ только по результатам однофакторного анализа, не подтвердив статистически значимых результатов при многофакторном. Улучшение прогноза заболевания при иммуносодержащем лекарственном лечении НМРЛ у пациентов с *KRAS G12C* и *TP53* наблюдалось только при высокой экспрессии PD-L1 ($\geq 50\%$).

В целом влияние мутации в гене *KRAS* на эффективность иммунотерапии очень хорошо проиллюстрировано в крупном метаанализе 2024 г., в котором показано, что в различных исследованиях влияние *KRAS* (как в целом, так и *G12C*) на эффективность иммунотерапии различно: от умеренно негативного до выражено позитивного [28].

Исследование демонстрирует, что в целом мутация в гене *KRAS* оказывает положительное влияние на эффективность иммунотерапии (с учетом большинства включенных в анализ исследований), однако в некоторых из них мутации в гене *KRAS* статистически значимо не улучшили результаты иммунотерапии. Интересные данные представлены в отношении *KRASwt* и эффективности иммунотерапии – *KRASwt* почти статистически значимо показал положительное влияние на эффективность иммунотерапии, что также характеризует влияние мутаций в гене *KRAS* на эффективность иммунотерапии как неоднозначное.

KRAS G12C демонстрирует тенденцию к улучшению эффективности иммунотерапии, как и было показано в предыдущих представленных работах [28]. Этот же метаанализ хорошо подводит итог под влиянием комутационного статуса на эффективность иммунотерапии у пациентов с мутациями в гене *KRAS*, показывая негативное влияние *KEAP1* и *STK11* и тенденцию к позитивному влиянию *TP53* [28].

Учитывая, что *TP53* чаще других комутаций встречается одновременно с мутациями в гене *KRAS* и положительно влияет на эффективность иммунотерапии, можно объяснить тенденцию к улучшению результатов иммунотерапевтического лечения в целом у пациентов с *KRASm*.

Мутация *KRAS G12D* представляет собой замену гуанина на аденин (GGT → GAT) в кодоне 12 экзона 2 гена *KRAS*, в результате это приводит к соответствующей аминокислотной замене глицина на аспарагиновую кислоту [29]. Таргетные препараты, которые были бы эффективны при данной мутации,

находятся в разработке: ни один из них в настоящее время не зарегистрирован для использования в клинической практике. Мутация *KRAS G12D* ассоциирована с низким уровнем PD-L1, отсутствием или маленьким стажем курения в анамнезе, а также иммуносупрессивным опухолевым микроокружением – снижением уровня опухольинфильтрирующих Т-лимфоцитов CD8 (cluster of differentiation 8) – посредством уменьшения продукции таких хемокинов, как CXCL10/CXCL11 и др.) [30, 31].

Клинические данные демонстрируют, что присутствие в опухоли *KRAS G12D* оказывает негативное влияние на эффективность иммунотерапии. Например, в исследовании [28] также оценивалось влияние *KRAS G12D* на эффективность иммунотерапии, анализ показал абсолютное преобладание статистически значимого негативного влияния.

Другое исследование оценки влияния *KRAS G12D* на иммунотерапию показало, что наличие данной мутации статистически значимо является негативным предиктором эффективности иммунотерапии по сравнению со всеми другими вариантами мутаций в гене *KRAS* [30].

Стоит отметить, что комбинация иммунотерапии с химиотерапией нивелирует негативное влияние *KRAS G12D*. Различия в эффективности химио-/иммунотерапии (частота объективного ответа, ОБ, БРВ) в группах пациентов с *KRAS G12D* и других видов мутаций в гене *KRAS* не носили статистически значимого характера [32].

Мутация *KRAS G12V* (замена гуанина на тимин) входит в тройку наиболее частых мутаций в кодоне 12 экзона 2 гена *KRAS*. Эта генетическая альтерация изучена немного хуже, чем *G12C* и *G12D*, однако есть данные о том, что у пациентов с уровнем экспрессии PD-L1 $\geq 50\%$ альтерация негативно влияет на эффективность иммунотерапии, в то время как у пациентов с уровнем PD-L1 1–49 % и менее 1 % наличие *KRAS G12V* никак не влияет на эффект от иммунотерапии [33].

Другое ретроспективное исследование в Китае показало отсутствие статистически значимых различий в эффективности иммунотерапии в 1-й и 2-й линиях лечения у пациентов с *KRAS G12V* по сравнению с *KRASwt* (не проводилась привязка к уровню экспрессии PD-L1 [34].

Таким образом, в настоящий момент сложно определить прогностическое влияние *KRAS G12V* на эффективность иммунотерапии при НМРЛ, что требует дальнейшего изучения данной проблемы. F. John и соавт. в 2024 г. представили на ASCO первый этап исследования – клинико-морфологическую характеристику пациентов с НМРЛ с наличием *KRAS G12V*, в последующем авторы будут оценивать влияние *KRAS G12V* на эффективность ингибиторов

контрольных точек иммунитета, что, вероятно, будет доложено на одной из ежегодных конференций ASCO в будущем [35].

Ниже представлены данные о комутационном статусе, полученные в ходе проведения NGS-тестирования российской когорты пациентов ($n = 800$) с НМРЛ в период с 17.03.2023 по 22.07.2024 на базе Московского научно-практического центра лабораторных исследований Департамента здравоохранения г. Москвы. Образцы для исследования предоставили 111 центров из 8 федеральных округов (табл. 2).

Как следует из табл. 2, у 82 (примерно 10 %) пациентов из общей когорты обнаружена комбинация той или иной мутации в гене *KRAS* с мутациями в генах *TP53* или *STK11* или *KEAP1*. Мутации в гене *KRAS* чаще всего комбинировались с мутациями в гене *TP53*, причем в большинстве случаев это была мутация *KRAS G12C*.

Заключение

Выявление мутаций в гене *KRAS* становится неотъемлемой частью генетического тестирования при аденогенном подтипе НМРЛ. Наличие различных подтипов данной мутации (в частности, мутаций в различных кодонах экзона 12) оказывает различное влияние на эффективность одного из наиболее перспективных методов лекарственного лечения НМРЛ – иммунотерапии. В дополнение к этому выявление в опухоли различных комутаций одновременной с мутацией в гене *KRAS* также оказывает различное влияние на эффективность применения иммунотерапии. В настоящей работе осуществлена попытка систематизировать те данные, которые доступны в текущий момент в отношении прогностической роли наиболее часто встречаемых вариантов мутаций в гене *KRAS* и комутационного статуса. Тем не менее в данной работе не рассмотрено применение двойной блокады PD-1/L1 и CTLA-4 (гликопротеина цитотоксических Т-лимфоцитов 4) у пациентов с различными вариантами мутаций в гене *KRAS* и раз-

Таблица 2. Особенности молекулярно-генетического статуса российской популяции пациентов с немелкоклеточным раком легкого ($n = 82$)

Table 2. Features of the molecular genetic status of the Russian population of patients with non-small cell lung cancer ($n = 82$)

Комутационный статус Co-mutation status	Число пациентов Number of patients	
	абс. abs.	%
<i>KRAS G12C + TP53</i>	21	25,0
<i>KRAS G12D + TP53</i>	10	12,0
<i>KRAS G12V + TP53</i>	8	9,7
<i>KRAS G12A + TP53</i>	6	7,3
<i>KRAS Q61 + TP53</i>	2	2,4
<i>KRAS G13C + TP53</i>	11	13,4
<i>KRAS G12C + STK11</i>	6	7,3
<i>KRAS G12D + STK11</i>	4	4,8
<i>KRAS G12V + STK11</i>	5	6,0
<i>KRAS G12A + STK11</i>	3	3,6
<i>KRAS Q61 + STK11</i>	2	2,4
<i>KRAS G13C + STK11</i>	2	2,4
<i>KRAS G12C + KEAP1</i>	0	0
<i>KRAS G12D + KEAP1</i>	1	1,2
<i>KRAS G12V + KEAP1</i>	0	0
<i>KRAS G12A + KEAP1</i>	0	0
<i>KRAS Q61 + KEAP1</i>	1	1,2
<i>KRAS G13C + KEAP1</i>	0	0

личным комутационным статусом в силу ограниченности объема статьи. Данное перспективное направление будет рассмотрено в следующих работах.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Cascetta P., Marinello A., Lazzari C. et al. *KRAS* in NSCLC: state of the art and future perspectives. *Cancers (Basel)* 2022;14(21):5430. DOI: 10.3390/cancers14215430
- Burns T.F., Borghaei H., Ramalingam S.S. et al. Targeting *KRAS*-mutant non-small-cell lung cancer: one mutation at a time, with a focus on *KRAS G12C* mutations. *J Clin Oncol* 2020;38(35):4208–18. DOI: 10.1200/JCO.20.00744
- Kwan A.K., Piazza G.A., Keeton A.B. et al. The path to the clinic: a comprehensive review on direct *KRASG12C* inhibitors. *J Exp Clin Cancer Res* 2022;41(1):27. DOI: 10.1186/s13046-021-02225-w
- Johnson C., Burkhart D.L., Haigis K.M. Classification of *KRAS* activating mutations and the implications for therapeutic intervention. *Cancer Discov* 2022;12(4):913–23. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-22-0035
- Hensing W.K., Malik T. Prognostic and predictive value in *KRAS* in non-small-cell lung cancer: a review. *JAMA Oncol* 2016;2:805–12. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.0405

6. Cai X., Sheng J., Tang C. et al. Frequent mutations in *EGFR*, *KRAS* and *TP53* genes in human lung cancer tumors detected by Ion Torrent DNA sequencing. *PLOS One* 2014;9(4):e95228. DOI: 10.1371/journal.pone.0095228
7. Prior I.A., Hood F.E., Hartley J.L. The frequency of Ras mutations in cancer. *Cancer Res* 2020;80(14):2969–74. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-3682
8. Ottaiano A., Sabbatino F., Perri F. et al. *KRAS p.G12C* mutation in metastatic colorectal cancer: prognostic implications and advancements in targeted therapies. *Cancers* 2023;15(14):3579. DOI: 10.3390/cancers15143579
9. Shi S., Linqi Zheng, Ren Y., Wang Z. Impacts of mutations in the P-loop on conformational alterations of *KRAS* investigated with Gaussian accelerated molecular dynamics simulations. *Molecules* 2023;28(7):2886. DOI: 10.3390/molecules28072886
10. Vatansever S., Erman B., Gümüş Z.H. Oncogenic G12D mutation alters local conformations and dynamics of K-Ras. *Sci Rep* 2019;9(1):11730. DOI: 10.1038/s41598-019-48029-z
11. Reita D., Pabst L., Pencreac’h E. et al. Direct targeting *KRAS* mutation in non-small cell lung cancer: focus on resistance. *Cancers* 2022;14(5):1321. DOI: 10.3390/cancers14051321
12. Лактионов К.К., Гордиев М.Г., Саранцева К.А. и др. Геномные характеристики российских пациентов с немелкоклеточным раком легкого: результаты тестирования методом секвенирования нового поколения. *Медицинский совет* 2024;18(21):104–12. DOI: 10.21518/ms2024-541
Laktionov K.K., Gordiev M.G., Sarantseva K.A. et al. Genomic characteristics of Russian patients with non-small cell lung cancer: results of new generation sequencing testing. *Meditsinskiy sovet = Medical Advice* 2024;18(21):104–12. (In Russ.). DOI: 10.21518/ms2024-541]
13. Skoulidis F., Li B.T., Dy G.K. et al. Sotorasib for lung cancers with *KRAS p.G12C* mutation. *N Engl J Med* 2021;384(25):2371–81. DOI: 10.1056/NEJMoa2103695
14. Jänne P.A., Riely G.J., Gadgeel S.M. Adagrasib in non-small-cell lung cancer harboring a *KRAS G12C* mutation. *N Engl J Med* 2022;387(2):120–31. DOI: 10.1056/NEJMoa2204619
15. Wankhede D., Bontoux C., Grover S. et al. Prognostic role of *KRAS G12C* mutation in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Diagnostics* 2023;13(19):3043. DOI: 10.3390/diagnostics13193043
16. Ma S., Li K., Wang R. et al. The prognosis and adjuvant chemotherapy in *KRAS* mutation patients with stage I lung adenocarcinoma. *Clin Surg Oncol* 2024;3(4):100069. DOI: 10.1016/j.cson.2024.100069
17. Julian C., Pal N., Gershon A. et al. Overall survival in patients with advanced non-small cell lung cancer with *KRAS G12C* mutation with or without *STK11* and/or *KEAP1* mutations in a real-world setting. *BMC Cancer* 2023;23(1):352. DOI: 10.1186/s12885-023-10778-6
18. Hon Lim T.K., Skoulidis F., Kerr K.M. et al. *KRAS G12C* in advanced NSCLC: prevalence, co-mutations, and testing. *Lung Cancer* 2023;184:107293. DOI: 10.1016/j.lungcan.2023.107293
19. Koyama S., Akbay E.A., Li Y.Y. et al. *STK11/LKB1* deficiency promotes neutrophil recruitment and proinflammatory cytokine production to suppress T-cell activity in the lung tumor microenvironment. *Cancer Res* 2016;76(5):999–1008. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1439
20. Ricciuti B., Arbour K.C., Lin J.J. et al. Diminished efficacy of programmed death-(ligand)1 inhibition in *STK11*- and *KEAP1*-mutant lung adenocarcinoma is affected by *KRAS* mutation status. *J Thorac Oncol* 2021;17(3):399–410. DOI: 10.1016/j.jtho.2021.10.013
21. Scalera S., Mazzotta M., Cortile C. et al. *KEAP1*-mutant NSCLC: the catastrophic failure of a cell-protecting hub. *J Thorac Oncol* 2022;17(6):751–7. DOI: 10.1016/j.jtho.2022.03.011
22. Zavitsanou A., Pillai R., Hao Y. et al. *KEAP1* mutation in lung adenocarcinoma promotes immune evasion and immunotherapy resistance. *Cell Rep* 2023;42(11):113295. DOI: 10.1016/j.celrep.2023.113295
23. Arbour K.C., Ricciuti B., Rizvi H. et al. Chemo-immunotherapy outcomes of *KRAS-G12C* mutant lung cancer compared to other molecular subtypes of *KRAS*-mutant lung cancer. *J Clin Oncol* 2021;39(Suppl. 15):9088. DOI: 10.1200/JCO.2021.39.15_suppl.9088
24. Mathiot L., Nigen B., Goronflot T. et al. Prognostic impact of *TP53* mutations in metastatic nonsquamous non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2024;25(3):244–53.e2. DOI: 10.1016/j.clcc.2023.12.004
25. Frost N., Kollmeier J., Vollbrecht C. et al. *KRAS^{G12C}/TP53* co-mutations identify long-term responders to first line palliative treatment with pembrolizumab monotherapy in PD-L1 high (≥50%) lung adenocarcinoma. *Transl Lung Cancer Res* 2021;10(2):737–52. DOI: 10.21037/tlcr-20-958
26. Budczies J., Romanovsky E., Kirchner M. et al. *KRAS* and *TP53* co-mutation predicts benefit of immune checkpoint blockade in lung adenocarcinoma. *Br J Cancer* 2024;131(3):524–33. DOI: 10.1038/s41416-024-02746-z
27. de Jager V.D., van Kempen L.C., Cajiao Garcia B.N. et al. Prognostic value of *KRAS/TP53* status for overall survival in first-line monoimmunotherapy and chemoimmunotherapy treated patients with nonsquamous NSCLC in the Netherlands: a brief report. *JTO Clin Res Rep* 2024;5(12):100745. DOI: 10.1016/j.jtocrr.2024.100745
28. Zhao R., Shu Y., Xu W. et al. The efficacy of immunotherapy in non-small cell lung cancer with *KRAS* mutation: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cell Int* 2024;24(1):361. DOI: 10.1186/s12935-024-03498-9
29. Rachagani S., Senapati S., Chakraborty S. et al. Activated *Kras^{G12D}* is associated with invasion and metastasis of pancreatic cancer cells through inhibition of E-cadherin. *Br J Cancer* 2011;104(6):1038–48. DOI: 10.1038/bjc.2011.31
30. Liu C., Zheng S., Wang Z. et al. *KRAS-G12D* mutation drives immune suppression and the primary resistance of anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy in non-small cell lung cancer. *Cancer Commun (Lond)* 2022;42(9):828–47. DOI: 10.1002/cac2.12327
31. Shahna A., Davis A., Brown L.J. et al. Real-world outcomes of non-small cell lung cancer patients harbouring *KRAS G12C* and *KRAS G12D* mutations. *Lung Cancer* 2025;201:108421. DOI: 10.1016/j.lungcan.2025.108421
32. Ricciuti B., Alessi J.V., Elkrif A. et al. Dissecting the clinicopathologic, genomic, and immunophenotypic correlates of *KRASG12D*-mutated non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2022;33(10):1029–40. DOI: 10.1016/j.annonc.2022.07.005
33. Sun L., Zhou Y., Handorf E.A. et al. Brief report: not created equal: survival differences by *KRAS* mutation subtype in NSCLC treated with immunotherapy. *JTO Clin Res Rep* 2024;6(1):100755. DOI: 10.1016/j.jtocrr.2024.100755
34. Gu G., Liu C., Zhu X. et al. Clinical characteristics of *KRAS* mutation subtypes in non-small cell lung cancer population in Xinjiang, China, and their impact on the prognosis of immunotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol* 2024;150(9):413. DOI: 10.1007/s00432-024-05932-x
35. John F., Ruge L., Scharpenseel H. et al. Molecular and clinical characteristics of patients with non-small-cell lung cancer (NSCLC) harboring *KRAS G12V* mutations. *J Clin Oncol* 2024;42(Suppl. 16):8618. DOI: 10.1200/JCO.2024.42.16_suppl.8618

Вклад авторов

А.М. Казаков: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

М.Г. Гордиев: получение данных для анализа;

К.К. Лактионов: разработка дизайна исследования;

С.Ю. Крутелева, Д.Д. Ткачева: обзор публикаций по теме статьи.

Author's contributions

A.M. Kazakov: development of research design, data acquisition for analysis, review of relevant publications, manuscript writing;

M.G. Gordiev: data acquisition for analysis;

K.K. Laktionov: development of research design;

S.Yu. Kruteleva, D.D. Tkacheva: review of relevant publications.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.М. Казаков / A.M. Kazakov: <https://orcid.org/0000-0002-9534-2729>

М.Г. Гордиев / M.G. Gordiev: <https://orcid.org/0000-0002-3848-865X>

К.К. Лактионов / K.K. Laktionov: <https://orcid.org/0000-0003-4469-502X>

С.Ю. Крутелева / S.Yu. Kruteleva: <https://orcid.org/0000-0002-4573-8477>

Д.Д. Ткачева / D.D. Tkacheva: <https://orcid.org/0009-0003-8591-9947>

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: 09.07.2025. Принята к публикации: 20.02.2026. Опубликовано онлайн: 30.04.2026.

Article submitted: 09.07.2025. Accepted for publication: 20.02.2026. Published online: 30.04.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-41-61>

Локальная доставка химиопрепаратов: инновационные технологии и материалы платформ для местной химиотерапии

А.А. Вознюк, Е.Г. Глинская, Е.С. Демидов, М.Е. Луговой, Е.В. Кудан

ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСИС»; Россия, 119049 Москва, Ленинский пр-кт, 4

Контакты: Елизавета Валерьевна Кудан koudan1568@yandex.ru

Введение. Системы доставки химиопрепаратов становятся все более востребованной стратегией повышения эффективности лечения и снижения системной токсичности химиотерапии. В последние годы разработка биоматериалов и технологий изготовления платформ (носителей) для контролируемого высвобождения препаратов стала актуальной темой исследований на стыке материаловедения и онкологии, приведя к новым методам изготовления носителей и способов включения препаратов.

Цель исследования – структурировать данные о взаимосвязи между методом включения препарата, технологией изготовления платформы и ее структурно-функциональными свойствами.

Материалы и методы. Базы данных, включая Google Scholar, PubMed, Scopus и ClinicalTrials.gov, использованы для поиска и анализа исследований за последние десять лет, сообщающих об использовании локализованной доставки препаратов с помощью платформ для лечения онкологических заболеваний. Отобранные исследования сравнивались по ряду параметров, таких как формирование пористой и макроструктурной морфологии носителей, физико-химические характеристики и профиль контролируемого высвобождения химиопрепаратов.

Результаты. Обнаружено, что кинетика и продолжительность высвобождения препарата зависят от трех факторов: метода формирования носителя, его морфологии (особенно степени пористости) и химического состава полимера. Наиболее часто применяемой технологией является электроформование синтетических полимеров, обеспечивающее регулируемую пористость и высокую удельную поверхность.

Заключение. По данным рассмотренных исследований, локальная доставка препаратов с помощью носителей способствует эффективному снижению пролиферации опухолевых клеток и ограничению метастазирования. Это связано с достижением более высоких и длительно сохраняющихся концентраций препарата в зоне опухолевого роста при одновременном снижении его циркулирующих уровней в организме, что способствует уменьшению системной токсичности и увеличению медианы общей выживаемости пациентов. Преимущества локальной доставки химиопрепаратов в сочетании с технологическими достижениями открывают широкие перспективы для создания более безопасных и эффективных стратегий химиотерапии.

Ключевые слова: система доставки препаратов, онкология, местный рецидив, локальная химиотерапия, имплантируемое устройство

Для цитирования: Вознюк А.А., Глинская Е.Г., Демидов Е.С. и др. Локальная доставка химиопрепаратов: инновационные технологии и материалы платформ для местной химиотерапии. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(1):41–61.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-41-61>

Local delivery of chemotherapy: innovative technologies and materials for local chemotherapy platforms

Amina A. Voznyuk, Elizaveta G. Glinskaia, Egor S. Demidov, Maksim E. Lugovoi, Elizaveta V. Koudan

National University of Science and Technology “MISIS”; 4 Leninsky Prospekt, Moscow 119049, Russia

Contacts: Elizaveta Valeryevna Koudan koudan1568@yandex.ru

Background. Drug delivery systems are becoming an increasingly popular strategy to enhance the effectiveness of cancer treatment while reducing the systemic toxicity of chemotherapy. In recent years, the development of biomaterials and technologies for fabricating platforms (carriers) for controlled drug release has emerged as a key interdisciplinary research area at the intersection of materials science and oncology, leading to novel methods of carrier fabrication and drug incorporation.

Aim. To structure available data on the relationship between drug incorporation methods, platform fabrication techniques, and the resulting structural and functional properties of the carriers.

Materials and methods. Databases including Google Scholar, PubMed, Scopus, and ClinicalTrials.gov were used to identify and analyze studies from the past decade reporting on localized drug delivery platforms for cancer therapy. The selected studies were compared based on parameters such as porous and macrostructural morphology of the carriers, physicochemical characteristics, and controlled drug release profiles.

Results. It was found that drug release kinetics and duration depend on three main factors: the fabrication method of the carrier, its morphology (especially porosity), and the chemical composition of the polymer. Electrospinning of synthetic polymers is the most frequently applied method, enabling adjustable porosity and high specific surface area.

Conclusion. According to the reviewed studies, local drug delivery using carrier platforms contributes to an effective reduction in tumor cell proliferation and to the limitation of metastasis. This is associated with the achievement of higher and more sustained drug concentrations at the tumor site while simultaneously reducing circulating drug levels in the body, thereby decreasing systemic toxicity and increasing median overall survival. The advantages of local chemotherapy delivery, combined with technological advances, offer broad prospects for the development of safer and more effective chemotherapy strategies.

Keywords: drug delivery system, oncology, local recurrence, local chemotherapy, implantable device

For citation: Voznyuk A.A., Glinskaia E.G., Demidov E.S. et al. Local delivery of chemotherapy: innovative technologies and materials for local chemotherapy platforms. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2026;25(1):41–61. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-41-61>

Введение

Онкологические заболевания по-прежнему относятся к ведущим причинам смертности, и глобальная заболеваемость ими неуклонно растет. Наиболее распространенным послеоперационным методом лечения рака является химиотерапия, заключающаяся в использовании химиопрепаратов, направленных на разрушение быстро делящихся опухолевых клеток, предотвращение их дальнейшей пролиферации и рецидива заболевания. Хотя в современной клинической практике также активно развиваются и применяются иммунотерапия, таргетная и гормональная терапии, химиотерапия по-прежнему занимает важное место, особенно в адъювантном и паллиативном лечении.

Внутривенное введение приводит к быстрому повышению концентрации лекарственного средства в системном кровотоке с последующим ее снижением в течение нескольких часов из-за распределения по тканям, метаболизма и выведения [1]. Неизбежные колебания концентрации препарата в крови могут вызвать нестабильность терапевтического эффекта и снизить общую эффективность химиотерапии из-за сложности достижения терапевтических уровней препарата в опухоли. Например, менее 0,5 % от общей дозы паклитаксела, введенного внутривенно, локально доступно в опухоли [2]. Хотя увеличение вводимой дозы могло бы повысить абсолютное количество препарата, достигающего опухоли, такой

подход неизбежно сопровождается ростом системной токсичности, что делает поиск терапевтического компромисса сложной задачей.

Согласно ряду исследований, длительное воздействие химиопрепаратов в умеренных концентрациях обеспечивает устойчивый уровень цитотоксичности и, как следствие, повышает терапевтическую эффективность [3]. Это обусловлено тем, что для препаратов, действие которых связано с определенными фазами клеточного цикла, в каждый момент времени только часть опухолевых клеток находится в чувствительной фазе, и кратковременное воздействие способно охватить лишь ограниченную субпопуляцию клеток. Эти предпосылки стимулируют разработку систем доставки препаратов, где определенное количество химиопрепарата инкапсулируется в носитель, из которого в дальнейшем высвобождается с желаемой скоростью в течение длительного времени с помощью таких механизмов, как диффузия химиопрепарата, деградация материала-носителя и т. д. Однако при проектировании пролонгированных систем доставки необходимо учитывать, что длительное присутствие препарата в субтерапевтических концентрациях может также способствовать селективному выживанию клонов с устойчивым фенотипом, ускоряя формирование лекарственной резистентности. Формирование устойчивости имеет как кинетическую составляющую (связанную с фазой клеточного цикла), так и молекулярно-генетическую,

включая гиперэкспрессию транспортеров множественной лекарственной устойчивости (MDR, P-gp) [3, 4]. В этой связи особое внимание уделяется разработке профилей высвобождения, сочетающих начальную фазу ускоренного выхода препарата, позволяющую достичь цитотоксического порога в кратчайшие сроки, с последующей фазой контролируемого замедленного высвобождения, обеспечивающей продолжительное воздействие на популяцию клеток, вступающих в митоз на более поздних стадиях. Идеальным вариантом является однократное введение носителя, которое могло бы привести к эффективной химиотерапии с длительностью в несколько дней, недель или даже месяцев. При этом для минимизации системных побочных эффектов особое внимание уделяется селективности доставки, направленной преимущественно на опухолевые клетки при минимальном воздействии на здоровые ткани. Разработка таких систем доставки приобретает особую актуальность, поскольку применение ряда высокоэффективных химиопрепаратов ограничено их низкой растворимостью или выраженной токсичностью. В качестве носителей могут быть использованы:

- наночастицы, липосомы, полимерные микросферы, которые часто функционализируют для узнавания и связывания с опухолевыми клетками, или конъюгаты антитело-препарат (адресная доставка);
- платформы (полимерные пленки, гидрогели, скаффолды и др.), которые имплантируются непосредственно в локализацию опухоли с последующим выпуском химиопрепаратов (локальная доставка).

Данная статья посвящена обзору методов локальной доставки химиопрепаратов, поскольку данный вид доставки в настоящее время активно изучается в клиническом контексте [5] и представляется перспективным и многообещающим методом лечения онкологии. Так, локальная доставка препаратов по сравнению с внутривенным введением позволяет достичь более высоких и продолжительных уровней препарата в зоне опухолевого роста при одновременном снижении его концентраций в системном кровотоке, что подтверждается фармакокинетическими исследованиями для опухолевых и здоровых тканей, такими как анализы концентраций препарата в опухолевых и здоровых тканях методами высокоэффективной жидкостной хроматографии, масс-спектрометрии и тканевой экстракции [6, 7]. Подход, основанный на адресной доставке препаратов, важен для улучшения эффективности химиотерапии, однако в данную статью он не включен, поскольку широко представлен в русскоязычной научной литературе [5, 8–10]. В связи с тем, что для платформ локальной доставки химиопрепаратов может быть использован

широкий спектр методов изготовления и биоматериалов, возникает острая необходимость обобщить методы изготовления платформ и способы включения препаратов с точки зрения материаловедческих и химических аспектов, их физико-химические свойства и механизмы высвобождения препаратов.

Целью настоящего обзора являются обобщение современных подходов к локальной доставке химиопрепаратов и анализ преимуществ этого метода для повышения результативности и безопасности лечения злокачественных опухолей.

Базы данных, включая Google Scholar, PubMed и Scopus, были использованы для поиска и анализа исследований, сообщающих об использовании локализованной доставки препаратов с помощью платформ для лечения онкологических заболеваний. Из отобранных статей извлечены основные данные, включая материалы и методы изготовления платформ, данные по кинетике и продолжительности высвобождения препарата, а также по влиянию на опухолевые клетки. Основным поиском охватывал исследования, опубликованные с января 2014 г. до июля 2024 г., с включением значимых публикаций других лет. Для поиска информации о клинических исследованиях использована база данных ClinicalTrials.gov.

Ключевые слова и словосочетания, используемые для поиска статей, были следующими и могли комбинироваться: cancer, tumor, drug delivery, local chemotherapy, platform, film, nanofiber, 3D-printing, hydrogel.

Локальная доставка химиопрепаратов

Локальная доставка химиопрепаратов начала свое развитие в 1950-х годах. Первые клинические отчеты об этом подходе к доставке представлены в основополагающей работе Генри Брема, датированной 1990-ми годами, где группа Брема имплантировала пациентам полимерные пластины, загруженные кармустином, в полость резекции, образованную после хирургического удаления опухоли мозга [11]. Локальная доставка представляет собой метод введения в организм пациента химиопрепаратов, при котором лекарственные вещества высвобождаются в определенную область организма, где находится опухоль или была до ее резекции [12–57]. Это позволяет существенно повысить эффективность терапии за счет минимизации системной токсичности и увеличения концентрации действующего вещества непосредственно в очаге поражения.

Одним из преимуществ использования локальной доставки химиопрепаратов является ее применимость при неоперабельных опухолях или раке с высокой вероятностью локального рецидива. Например, менее 20 % пациентов с раком поджелудочной железы операбельны на момент постановки диагноза, и даже

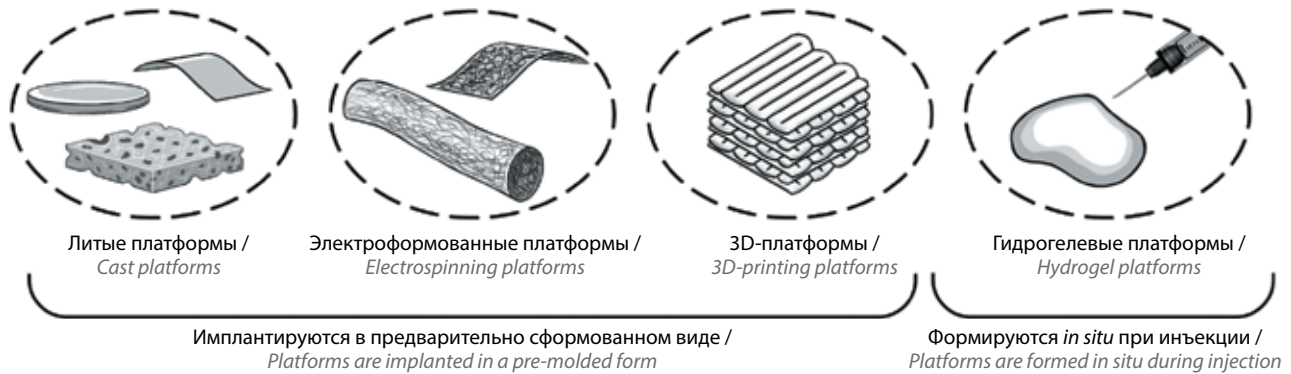


Рис. 1. Разновидности наиболее часто исследуемых платформ локальной химиотерапии

Fig. 1. Varieties of the most investigated localized chemotherapy platforms

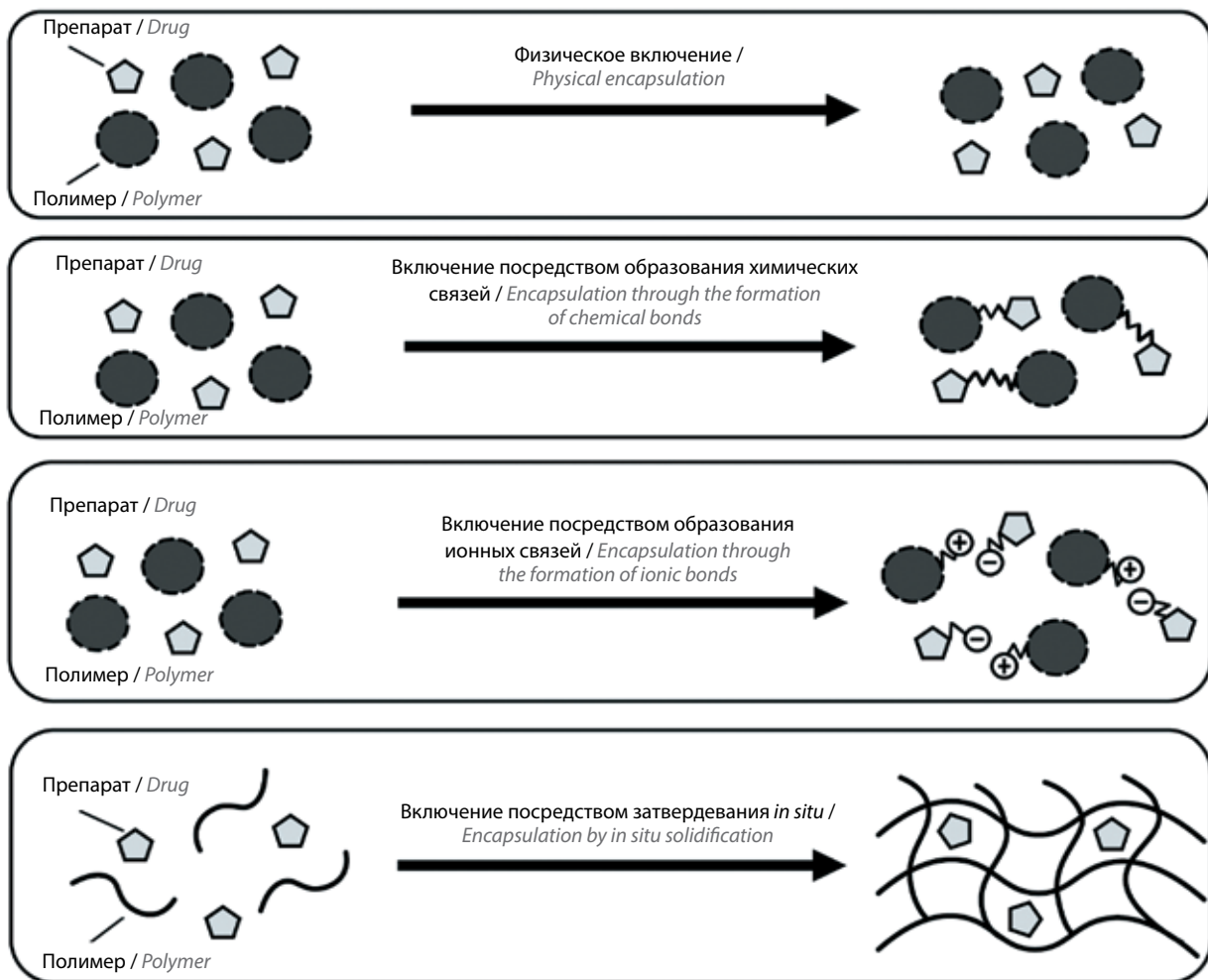


Рис. 2. Разновидности методов включения препаратов в платформы

Fig. 2. A variety of methods for incorporating drugs into platforms

в этом случае локальный рецидив является преобладающей причиной неэффективности лечения [12]. Имплантация локальной платформы доставки в резецированную полость опухоли позволяет воздей-

ствовать на остаточные опухолевые клетки и снизить риск местного рецидива. Более того, применение подобных систем может способствовать снижению объема хирургического вмешательства, позволяя

Таблица 1. Преимущества, недостатки и особенности различных методов изготовления платформ локальной химиотерапии
 Table 1. Advantages, disadvantages and features of different manufacturing methods for localized chemotherapy platforms

Метод изготовления Fabrication method	Преимущества Advantages	Недостатки Disadvantages	Особенности Features
Литье Casting	Доступный и простой метод изготовления; получение различных форм и размеров платформ; использование широкого спектра полимеров Accessible and simple fabrication method; fabrication platforms with various shapes and sizes; compatible with a wide range of polymers	Затруднен контроль пористости платформы, механических свойств, структуры и равномерного распределения замешанных компонентов в структуре; затруднена управляемость кинетикой выхода препарата Difficult to control porosity, mechanical properties, structure, and uniform distribution of encapsulated components; limited control over drug release kinetics	Загрузка препаратов в основном происходит вследствие физического включения препарата; наиболее частый механизм высвобождения — пассивный Drug loading mostly occurs via physical encapsulation; exhibits passive drug release mechanism
Электроформование Electrospinning	Получение высокой удельной площади поверхности и настраиваемой пористости; получение платформ из коаксиальных волокон структуры «оболочка–сердцевина» Produces high specific surface area and tunable porosity; enables fabrication of core-shell structured fibers	Ограничено получение объемных имплантатов сложной формы; необходим подбор растворителя с хорошей проводимостью; ограничено использование природных полимеров Limited ability to fabricate bulky implants of complex shape; requires solvents with good conductivity; limited use of natural polymers	Загрузка препаратов в основном происходит вследствие физического включения препарата; демонстрирует как пассивный, так и активный механизм высвобождения препарата Drug loading mainly occurs via physical encapsulation; exhibits both passive and active drug release mechanisms
3D-печать 3D-printing	Получение сложных форм и геометрией платформ; контроль пористости платформы, механических свойств, структуры и равномерного распределения включенных компонентов в структуре Enables fabrication of complex shapes and geometries; allows control over porosity, mechanical properties, structure, and distribution of encapsulated components	Чаше всего требует предварительной подготовки филлмента для включения препарата или частиц порога; ограничено использование природных полимеров Often requires pre-preparation of filaments containing drug or porogen particles; limited use of natural polymers crosslinking agents can be toxic	Загрузка препаратов чаще всего происходит вследствие физического включения; демонстрирует пассивный механизм высвобождения препарата. Drug loading mainly occurs through physical encapsulation; exhibits passive drug release mechanism
Инъекция гидрогеля Hydrogel injection	Получение платформ с наименее инвазивным вводом и хорошей заполняемостью места резекции; позволяет включать препарат посредством химических связей для наибольшей стабильности и контролируемости высвобождения Allows for minimally invasive implantation and good defect site fillability; enables drug encapsulation via chemical bonds for enhanced stability and controlled release	Демонстрирует краткосрочный выпуск препаратов, из-за чего требует конъюгирования препаратов; закрепления платформы и ее низкой адгезии к окружающим тканям может мигрировать из зоны инъекции. сшивающие агенты могут быть токсичными Often results in short-term drug release, necessitating drug conjugation; due to low mechanical strength, lack of anchoring capability, and poor tissue adhesion, the platform may migrate from the injection site; crosslinking agents can be toxic	Загрузка препаратов в основном происходит вследствие затвердевания <i>in situ</i> , образования ковалентных и ионных связей; демонстрирует как пассивный, так и активный механизм высвобождения препарата Drug loading primarily occurs <i>via in situ</i> solidification and formation of covalent and ionic bonds; exhibits both passive and active drug release mechanisms

уменьшить зону резекции и сохранить больше здоровой ткани. Следует отметить, что в случае метастатического поражения, когда опухолевые клетки диссеминированы в отдаленные органы и ткани, локальная доставка оказывается неэффективной из-за неспособности обеспечить терапевтическое воздействие за пределами локальной зоны имплантации. В подобных ситуациях необходим системный подход, например внутривенное введение химиопрепаратов, позволяющее достичь распределения лекарства по всему организму и воздействовать на множественные очаги метастазирования [1].

В качестве платформ для локальной доставки химиопрепаратов наиболее часто используют литые, электроформованные и 3D-имплантаты, а также гидрогелевые имплантаты (рис. 1) [2]. Последние относятся к платформам, формируемым *in situ*, все остальные платформы имплантируются в предварительно сформованном виде. Биоразлагаемость платформ является важным и во многих случаях предпочтительным свойством, поскольку позволяет избежать операции по удалению изделия и снизить риск хронического иммунного ответа на инородное тело.

Загрузка препаратов в платформу может осуществляться различными способами (рис. 2):

- физическим включением: химиопрепараты могут быть включены в материал платформы, например, путем введения их в поры или каналы материала (*применимо для загрузки как гидрофильных, так и гидрофобных препаратов*), адсорбцией (*применимо для загрузки препаратов, которые не имеют функциональных групп, способных образовывать химические связи с материалом платформы*) или в результате испарения смеси растворителя с полимером и препаратом [14–21, 33–36];
- посредством химической связи: химиопрепараты могут быть связаны с материалом платформы ковалентными или водородными связями (*этот метод может быть использован для загрузки препаратов, которые имеют функциональные группы, способные образовывать связи с материалом платформы*) [32, 43, 46];
- электростатическим взаимодействием: химиопрепараты могут быть загружены в материал платформы путем образования ионных связей (*этот метод может быть использован для загрузки препаратов, которые имеют заряженные группы*) [50];
- затвердеванием *in situ*: химиопрепараты могут быть загружены в гидрогель путем химического или физического сшивания, в результате которого гидрогель подвергается золь-гель переходу или объемному фазовому переходу (*этот метод может быть использован для загрузки препаратов в имплантаты, формируемые in situ*) [40, 42, 44].

Химиопрепараты высвобождаются из платформы локальной доставки пассивно или активно. Пассивное высвобождение обеспечивается диффузией и/или деградацией полимера и характерно для физического включения препаратов, из чего следует, что факторами, определяющими профиль высвобождения препарата, являются извилистость пор, стерическое взаимодействие между препаратом и платформой и молекулярная масса полимера. Активное высвобождение происходит из-за изменения размеров или физических свойств платформы, вызванных либо средой внутри тела (температура, водородный показатель – pH) [28, 30–32, 43–45], либо внешними стимулами (электромагнитные волны, ультразвук, инфракрасное излучение) [22–26, 29, 37–39].

Краткое сравнение различных подходов к изготовлению платформ локальной химиотерапии представлено в табл. 1.

Предварительно сформованные платформы

Благодаря структурной целостности и определенной геометрической форме предварительно сформованные платформы обеспечивают предсказуемые и регулируемые профили высвобождения препарата и деградации материала в течение длительного времени. Имплантация таких платформ обычно влечет за собой инвазивную операцию.

1. Литые платформы

Литые платформы, как следует из названия, изготавливаются литьем, которое заключается в заливке раствора/расплава полимера в форму отверждения посредством тепловой/химической/физической сшивки или перекристаллизации и при необходимости в дальнейшем вымывании частиц порога для создания пористой конструкции [13]. Литье позволяет получить различные формы и размеры изделий из широкого спектра материалов, таких как синтетические полимеры: полимолочная кислота, поликапролактон (ПКЛ), сополимеры молочной и гликолевой кислот (ПЛГА) и другие [14–17] и природные полимеры: коллаген, фиброин шелка, желатин, хитозан, гиалуриновая кислота и прочие [18]. Однако литье позволяет ограничено контролировать пористость, механические свойства и структуру платформы, а также равномерное распределение включенных компонентов в ней. Тем не менее благодаря простоте и доступности данный метод нередко используется для изготовления платформ локальной доставки из различных полимеров.

Загрузка препаратов в литые платформы чаще всего происходит за счет физического включения, а именно адсорбции препарата в готовую платформу [18] или предварительного замешивания препарата в раствор/расплав полимера и дальнейшего формования

платформы [14–17], при этом основным механизмом высвобождения препаратов является пассивное высвобождение.

2. Электроформованные платформы

Электроспиннинг (электроформование) предполагает использование сильного электрического поля для создания нано- и микрометровых волокон: полимерные растворы вытягиваются из инъекционной иглы в тонкие волокна под действием электростатической силы и наносятся на коллекторную пластину. Благодаря многим свойствам электроформованных волокон, включая высокую удельную площадь поверхности и настраиваемую пористость, электроформование является наиболее частым и распространенным методом создания имплантируемых платформ для доставки лекарств, но получение объемных имплантатов сложной формы данным методом ограничено. Материалами, используемыми для изготовления платформ методом электроформования, чаще всего являются синтетические полимеры: поливиниловый спирт, ПКЛ, полимолочная кислота, полиэтиленгликоль (ПЭГ) и др. [19–21]. Природные полимеры также могут использоваться в качестве материалов для электроформования [22], однако их низкая способность к электроформованию, невысокие механические свойства и относительно малое время резорбции являются ограничением для создания платформ и требуют добавления синтетических полимеров. Особое внимание в методе электроформования уделяют подбору растворителя (муравьиная кислота, дихлорметан, диметилформамид, уксусная кислота, тетрагидрофуран, дистиллированная вода и др.), поскольку такие свойства, как диэлектрическая проницаемость, проводимость, летучесть и растворимость полимера, будут иметь значительное влияние на процесс электроформования и морфологию волокон.

По аналогии с литыми платформами включение химиопрепаратов в электроформованные платформы в основном происходит в результате физического включения [19–21]. Электроформование позволяет получать мультиаксиальные волокна, состоящие из сердцевины, которая может быть нагружена химиопрепаратом, и оболочки, которая задерживает высвобождение препарата из сердцевины [23, 24].

В отличие от литых платформ множество исследований электроформованных платформ локальной химиотерапии посвящено активному высвобождению препарата [22–32]. Чувствительные к свету электроформованные платформы могут генерировать тепло или высвободить химиопрепараты в ответ на облучение на определенных длинах волн [22–26, 29]. Электроформованные платформы также могут быть термочувствительными [27, 28, 30] или чувствительными к pH [31, 32].

3. 3D-платформы, скаффолды

3D-печать – это процесс создания трехмерных объектов любой формы согласно цифровой модели. В отличие от других методов производства, таких как литье или электроформование, 3D-печать позволяет создавать сложные формы и геометрии, которые трудно или невозможно получить иными способами, поэтому данный метод является перспективным для персонализированной медицины и создания индивидуальных имплантатов, например для замещения костных дефектов при остеосаркоме и профилактики местного рецидива опухоли. 3D-платформы для доставки препаратов обычно изготавливаются с помощью одного из видов экструзионной печати – FDM (fused deposition modeling), где полимерный филамент подается в экструдер, плавится и выдавливается через сопло на платформу в процессе послойной печати. Основными полимерами для изготовления платформ методом 3D-печати выступают синтетические термопластичные полимеры, такие как ПКЛ, полилактид (ПЛА), ПЛГА [33, 34]. Основным механизмом включения препаратов в 3D-платформы является физическое включение с помощью адсорбции препарата в уже изготовленные платформы [33–35] либо с помощью предварительного создания филамента полимер-препарата (измельченная смесь препарата и полимера растворяется, отливается и перерабатывается в филамент) и дальнейшей 3D-печати на основе этого филамента [36].

Для изготовления платформ локальной химиотерапии с активным высвобождением препаратов [37–39] используется 4D-печать. Хотя в 4D-печати применяются те же методы печати, что и в 3D-печати, используемые материалы реагируют на внешние стимулы, что означает, что напечатанные платформы могут со временем менять форму и/или функцию в ответ на воздействие температуры, света, pH и магнитного поля.

4. Гидрогелевые платформы

Гидрогелевая платформа представляет собой полимерный биоразлагаемый гидрогель с химиопрепаратом, который затвердевает *in situ* при инъекции в локализацию опухоли. В качестве полимеров гидрогеля используются как природные полимеры (желатин, коллаген, альгинат, хитозан) [40, 41], так и синтетические полимеры (ПЛА, ПЛГА, ПЭГ) [42–44].

Препарат может быть включен в гидрогелевую платформу с помощью физической инкапсуляции или в результате химического связывания. Физическая инкапсуляция осуществляется в результате добавления раствора препарата к гидрогелю и последующего замешивания, при этом препарат адсорбируется в гидрогель за счет гидрофобных и электростатических взаимодействий, водородных связей

и сил Ван-дер-Ваальса между молекулами препарата и гидрогеля. При физической инкапсуляции неизбежно краткосрочное высвобождение препарата из платформ. Химическое связывание осуществляется в результате конъюгации молекул препарата с молекулами гидрогеля за счет ковалентных или ионных связей, которые могут быть ферментативно расщеплены или гидролизованы *in vivo* для высвобождения препарата. Химическое связывание обеспечивает наилучшую стабильность и контролируемость высвобождения препарата, но может влиять на физико-химические и противоопухолевые свойства препарата *in vivo*.

Инъектируемые платформы имеют следующие преимущества перед предварительно сформованными платформами: устранение инвазивного хирургического вмешательства и заполнение любой резецируемой полости, в которую они инъектируются. Некоторые из возможных недостатков этих имплантатов: токсичная сшивка, недостаточная механическая прочность, слабая адгезия к окружающим тканям и органам, а также довольно длительное время гелеобразования после инъекции.

Для гидрогелевых платформ чаще всего используют термочувствительные гидрогели [40–43], а именно три распространенных типа термочувствительных гидрогелей: диблочные сополимеры, такие как полиэтиленгликоль-*b*-поли(D, L-лактид-со-гликолид) (ПЭГ-*b*-ПЛГА), триблочные сополимеры, такие как поллоксамеры, и водорастворимые полимеры, которые проявляют в растворах либо нижнюю критическую температуру растворения, либо верхнюю критическую температуру растворения, такие как *p*-НИПААм – поли(*N*-изопропилакриламид). Хотя термочувствительные гидрогели и являются основными материалами для создания гидрогелевых платформ локальной химиотерапии, ведется и активная разработка гидрогелей, способных затвердевать (переходить в гелевую фазу) *in situ* в ответ на изменение pH, света или концентрации ионов [45–47]. По сравнению с другими гидрогелями, чувствительными к стимулам, такими как фото-, pH- и иончувствительные гидрогели, термочувствительные гидрогели легки в обращении, не требуют дополнительных сшивающих агентов, претерпевают золь-гель переход и находятся в твердом состоянии при температуре тела.

Другие виды платформ и подходы к их созданию

Область контролируемой доставки химиопрепаратов с помощью имплантируемых платформ локальной химиотерапии все еще имеет значительный потенциал для совершенствования. Наиболее важными аспектами, требующими улучшения, являются уменьшение взрывообразной кинетики и увеличение дли-

тельности высвобождения. Среди способов включения препарата в платформы локальной химиотерапии в последнее время особенно хорошо зарекомендовал себя метод послойного осаждения полиэлектролитов, благодаря которому препарат оказывается включенным в электростатический комплекс полиэлектролитов и демонстрирует более длительное (свыше 3 мес) и контролируемое высвобождение по сравнению с методами физического включения препаратов посредством электроформования или литья. Метод послойного осаждения полиэлектролитов использовался главным образом в качестве покрытий и материалов наночастиц для доставки препаратов ввиду наноразмерности получаемых комплексов и покрытий, однако в последнее время наблюдается тенденция использования данного метода в качестве создания платформ для доставки препаратов [48–50]. Так, А.А. Вознюк и соавт. создана платформа локальной химиотерапии, состоящая из многослойного функционального покрытия, полученного методом послойного осаждения полиэлектролитов (хитозана и поли- γ -глутаминовой кислоты) с ионно-конъюгированным доксорубицином, на подложке из ПКЛ [50]. Выпуск препарата из разработанных платформ длился более 6 мес и характеризовался линейной кинетикой высвобождения.

Помимо описанных разновидностей платформ существуют и другие малые передовые группы платформ локальной химиотерапии с различными концепциями высвобождения препаратов. Так, наиболее многочисленными являются платформы локальной химиотерапии в виде микроигл – игольчатых массивов размером несколько микрометров, предназначенных для проникновения через первичный барьер кожи, в частности через роговой слой, для внутрикожной доставки лекарственных средств [51, 52]. Применение микроигл в платформах основано на формировании временных микроканалов в коже, что позволяет доставлять химиопрепараты, не повреждая кровеносные сосуды, путем пассивной диффузии к опухолям, доступным через кожу (карциномы кожи, рак молочной железы, рак простаты и рак шейки матки). Исследования, а также доклинические и клинические испытания микроигльчатых платформ быстро развиваются из-за присущей им неинвазивности и более легкого доступа к местоположению опухоли. Так, микроигльчатые платформы, содержащие доксорубин, являются единственными платформами локальной химиотерапии, прошедшими клинические испытания для лечения базальноклеточной карциномы кожи (NCT05377905). Будущие разработки микроигльчатых платформ могут быть связаны с интегрированием с микроэлектронными биосенсорами, что может обеспечить возможность предоставления персонализированного

Таблица 2. Резюме рассмотренных исследований в области разработки платформ локальной химиотерапии

Table 2. Summary of reviewed studies in the development of localized chemotherapy platforms

Библиографическая ссылка Bibliographic reference	Материал платформы Platform material	Метод изготовления препарата и способ его включения Method of manufacturing a drug and method of it incorporating	Кинетика высвобождения Kinetics of release
[14]	ПЛГА-ПЭГ или ПЛГА-ПКЛ (пленочная платформа) PLGA-PEG or PLGA-PCL (film platform)	Литье из раствора, физическое включение паклитаксела или продигиозина Solvent casting, physical encapsulation of paclitaxel or prodigiosin	Взрывообразная; >60 дней: ~55 % за 10 дней, ~90 % за 60 дней Burst release, >60 days. ~55 % in 10 days, ~90 % in 60 days
[15]	ПЛГА (пленочная платформа) PLGA (film platform)	Литье из раствора, физическое включение паклитаксела Solvent casting, physical encapsulation of paclitaxel	Равномерная; 60 дней: задержка 17 дней, затем линейный выход до 100 % к 60-му дню Sustained release, 60 days. Delay in first 17 days, linear to 100 % by day 60
[16]	ПЛГА-ПКЛ (пленочная платформа) PLGA-PCL (film platform)	Литье из раствора, физическое включение паклитаксела Solvent casting, physical encapsulation of paclitaxel	Взрывообразная; 6 дней: ~90 % в 1-й день, 100 % к 6-му дню Burst release, 6 days. ~90 % day 1, 100 % by day 6
[17]	ПКФП-СА (платформа в виде таблетки) PCFP-SA (tablet platform)	Прессование, физическое включение кармустина Pressing, physical encapsulation of carmustine	Взрывообразная; 5 дней: ~70 % в 1-й день, 100 % к 5-му дню Burst release, 5 days. ~70 % on day 1, 100 % by day 5
[18]	Фиброин шелка (объемная цилиндрическая платформа) Silk fibroin (bulk cylindrical platform)	Лиофилизация, физическое включение доxorубина и винкристина Lyophilization, physical encapsulation of doxorubicin and vincristine	Взрывообразная; 25 дней: ~90 % за 10 дней, 100 % за 25 дней Burst release, 25 days. ~90 % in 10 days, 100 % in 25 days
[19]	ПЛГА (пленочная платформа) PLGA (film platform)	Электроформование, физическое включение паклитаксела и доxorубина Electrospinning, physical encapsulation of paclitaxel and doxorubicin	Доксорубин: интервальная, 30–35 дней; паклитаксел: равномерная, >80 дней (~85 %) Pulsatile release of doxorubicin by 30–35 days; sustained paclitaxel release over 80 days (~85 %)
[20]	ПЛГА (пленочная платформа) PLGA (film platform)	Электроформование, физическое включение паклитаксела Electrospinning, physical encapsulation of paclitaxel	Равномерная; >40 дней: ~40 % за 10 дней, ~90 % за 40 дней Sustained release, >40 days. ~40 % in 10 days, ~90 % in 40 days
[21]	ПЛГА-ПЛА-ПКЛ (пленочная платформа) PLGA-PLA-PCL (film platform)	Электроформование, физическое включение темозоломида Electrospinning, physical encapsulation of temozolomide	Взрывообразная; >30 дней: ~50 % за 10 дней, ~70 % за 30 дней Burst release, >30 days. ~50 % in 10 days, ~70 % in 30 days
[22]	Наночастицы мезопористого SiO ₂ , хитозан-ПВС (пленочная платформа) Mesoporous SiO ₂ nanoparticles with drug, chitosan-PVA as a material of nanofiber (film platform)	Электроформование смеси полимера и наночастиц, физическое включение доxorубина Electrospinning of polymer-nanoparticle mixture, physical encapsulation of doxorubicin	Неравномерная; >5 ч: с облучением ~27 % за 1 ч, 50 % за 5 ч; без облучения ~15 % за 1 ч, 25 % за 5 ч Irregular release, >5 hours. With irradiation: ~27 % in 1 hour, 50 % in 5 hours; Without irradiation: ~15 % in 1 hour, 25 % in 5 hours
[23]	ПКЛ (оболочка), ПЭГ (сердцевина), пленочная платформа PCL as a shell, PEG as a core (film platform)	Коаксиальное электроформование, физическое включение доxorубина Coaxial electrospinning, physical encapsulation of doxorubicin	Взрывообразная; >30 дней: ~55 % за 10 дней, ~65 % за 30 дней Burst release, >30 days. ~55 % in 10 days, ~65 % in 30 days

Продолжение табл. 2

Continuation of table 2

Библиографическая ссылка Bibliographic reference	Материал платформы Platform material	Метод изготовления препарата и способ его включения Method of manufacturing a drug and method of it incorporating	Кинетика высвобождения Kinetics of release
[24]	ПКЛ (оболочка), ПКФП-СА (сердцевина), пленочная платформа PCL as a shell, PCPP-SA as a core (film platform)	Коаксиальное электроформование, физическое включение кармустина Coaxial electrospinning, physical encapsulation of carmustine	Неравномерная; >160 дней: ~7 % за 5 дней; две линейные фазы – 0–60 и 60–160 дней Irregular release, >160 days. ~7 % in 5 days; two linear phases: day 0–60 and day 60–160
[25]	Наноллисты MoS ₂ , хитозан-ПВС (пленочная платформа) MoS ₂ nanosheets, chitosan-PVA (film platform)	Электроформование смеси полимера, наноллистов и препарата, физическое включение доксорубина Electrospinning of polymer-nanosheet-drug mixture, physical encapsulation of doxorubicin	Взрывообразная; >25 ч: ~60 % за 6 ч, ~65 % за 25 ч Burst release, >25 hours. ~60 % in 6 hours, 65 % in 25 hours
[26]	Полиуретан-мочевина, удлиненная глутатионом, золотые наностержни (пленочная платформа) Glutathione-extended polyurethane urea, gold nanorods (film platform)	Электроформование, наностержни добавлялись в раствор полимера, физическое включение паклитаксела Electrospinning, nanorods added to the polymer solution, physical encapsulation of paclitaxel	Равномерная; >30 дней: с облучением ~15 % за 4 дня, ~22 % за 30 дней; без облучения ~15 % за 30 дней Sustained release, >30 days. With irradiation: ~15 % in 4 days, ~22 % in 30 days; without irradiation: ~15 % in 30 days
[27]	Магнитные наночастицы Fe ₃ O ₄ , поли(НИПААМ-со-ГМААм) (пленочная платформа) Magnetic nanoparticles Fe ₃ O ₄ , poly (NIPAAm-co-HMAAm) (film platform)	Электроформование смеси полимера, магнитных наночастиц и препарата, физическое включение куркумина (модельное вещество) Electrospinning of a mixture of polymer, magnetic nanoparticles and drug, physical encapsulation of curcumin	Интервальная; >5 циклов: ~40 % за цикл, ~85 % за 5 циклов Pulsatile release, >5 cycles. ~40 % per cycle, ~85 % by 5 cycles
[28]	Сополимер НИПААМ-АК, восстановленный фиброин шелка (пленочная платформа) NIPAAm-AAc copolymer and regenerated silk fibroin (film platform)	Электроформование смеси полимеров и препарата, физическое включение родамина В (красителя) Electrospinning, physical encapsulation of Rhodamine B (dye)	Взрывообразная; >5 дней: ~70 % в 1-й день, ~85 % за 5 дней Burst release, >5 days. ~70 % day 1, ~85 % in 5 days
[29]	Золотые наночастицы, ауриновая и стеариновая кислоты, ПКЛ (пленочная платформа) Gold nanoparticles, auric and stearic acids, PCL (film platform)	Электроформование смеси полимера, золотых наночастиц и препарата из эмульсии вода – масло, физическое включение доксорубина Electrospinning from a mixture of polymer, gold nanoparticles and a drug from a water – oil emulsion, physical incorporation of doxorubicin	Взрывообразная; >4 ч: задержка до облучения, затем ~50 % за 4 ч Burst release, >4 hours. Delayed until irradiation; after irradiation ~50 % released within 4 hours
[30]	Сополимер НИПААМ-АК, ПКЛ (оболочка), ПЭГ (сердцевина), пленочная платформа NIPAAm-AAc copolymer and PCL as a shell, PEG as a core (film platform)	Коаксиальное электроформование, физическое включение доксорубина Coaxial electrospinning, physical encapsulation of doxorubicin	Интервальная; >3 циклов: ~25 % за цикл нагрева, ~90 % за 3 цикла Pulsatile release, >3 cycles. ~25 % per heating cycle, ~90 % in 3 cycles

Продолжение табл. 2

Continuation of table 2

Библиографическая ссылка Bibliographic reference	Материал платформы Platform material	Метод изготовления препарата и способ его включения Method of manufacturing a drug and method of it incorporating	Кинетика высвобождения Kinetics of release
[31]	ПКЛ (оболочка), ПВС (сердцевина), пленочная платформа PCL as a shell, PVA as a core (film platform)	Коаксильное электроформование, физическое включение доксорубина Coaxial electrospinning, physical encapsulation of doxorubicin	Взрывообразная; >8 дней. При низком pH: ~75 % в 1-й день, ~85 % за 5 дней. При pH 7,4: ~63 % в 1-й день, ~65 % за 5 дней Burst release, >8 days. pH low: ~75 % day 1, 85 % in 5 days; pH 7.4: ~63 % day 1, 65 % in 5 days
[32]	Полиуретан на основе окисленного L-глутатиона и сополимера ПКЛ-ПЭГ-ПКЛ (пленочная платформа) Polyurethane (based on oxidized glutathione and PCL-PEG-PCL) (film platform)	Электроформование, включение препарата за счет гидразоновой связи доксорубина с липоевой кислотой Electrospinning, hydrazone bonding of doxorubicin with lipoic acid	Взрывообразная; >2 дней. При низком pH: ~80 % в 1-й день, ~85 % за 2 дня. При pH 7,4: ~20 % в 1-й день, ~27 % за 2 дня Burst release, >2 days. pH low: ~80 % day 1, 85 % in 2 days; pH 7.4: ~20 % day 1, 27 % in 2 days
[33]	ПКЛ (трубчатая платформа) PCL (tubular platform)	3D-печать, физическое включение доксорубина 3D printing, physical encapsulation of doxorubicin	Взрывообразная; >19 дней: ~85 % в 1-й день, ~90 % к 19-му дню Burst release, >19 days. ~85 % day 1, ~90 % by day 19
[34]	ПКЛ (сетчатая платформа) PCL (mesh platform)	3D-печать, физическое включение доксорубина 3D printing, physical encapsulation of doxorubicin	Неравномерная; >25 дней: ~4 % за 20 ч, ~7 % за 25 дней Irregular release, >25 days. ~4 % in 20 hours, ~7 % in 25 days
[35]	ПЛА (сферическая или цилиндрическая платформа) PLA (spherical/cylindrical platform)	3D-печать, физическое включение доксорубина, ифосамида, метотрексата и цисплатина 3D printing, physical encapsulation of doxorubicin, ifosfamide, methotrexate and cisplatin	Неравномерная; количественные данные не приведены Irregular release; no quantitative data reported
[36]	ПЛГА-ПКЛ (сетчатая платформа) PLGA-PCL (mesh platform)	3D-печать, физическое включение 5-фторурацила 3D printing, physical encapsulation of 5-fluorouracil	Неравномерная; >30 дней: ~7 % за 10 дней, ~12 % за 30 дней Irregular release, >30 days. ~7 % in 10 days, ~12 % in 30 days
[37]	Полидопамин/альгинат (оболочка), желатин (сердцевина), сетчатая платформа Polydopamine-alginate shell, gelatin core, mesh platform	Коаксиальная 3D-печать, физическое включение доксорубина Coaxial 3D printing, physical encapsulation of doxorubicin	Интервальная; >6 циклов: ~13 % за 1-й цикл, ~55 % за 6 циклов. Без облучения – равномерная, ~5 % за 120 мин Pulsatile release, >6 cycles. ~13 % after 1 st cycle, ~55 % in 6; without irradiation: sustained release ~5 % in 120 min
[38]	ПКЛ (внутренняя оболочка), полидопамин (внешняя оболочка), альгинат/желатин (сердцевина), сетчатая платформа PCL inner shell, polydopamine outer shell, alginate-gelatin core, mesh platform	3D-печать, физическое включение доксорубина 3D printing, physical encapsulation of doxorubicin	Интервальная; >5 циклов: ~20 % за 1-й цикл, ~85 % за 5 циклов. Без облучения – взрывообразная, >15 дней: ~20 % в 1-й день, ~85 % за 15 дней Pulsatile release, >5 cycles. ~20 % after 1 st cycle, ~85 % in 5; without irradiation: burst release, ~20 % day 1, ~85 % in 15 days

Продолжение табл. 2

Continuation of table 2

Библиографическая ссылка Bibliographic reference	Материал платформы Platform material	Метод изготовления препарата и способ его включения Method of manufacturing a drug and method of it incorporating	Кинетика высвобождения Kinetics of release
[39]	Суперпарамагнитные наночастицы Fe ₃ O ₄ , метакриламидный хитозан (спиральная платформа) Superparamagnetic Fe ₃ O ₄ nanoparticles, methacrylamide chitosan (spiral platform)	3D-печать, включение препарата за счет образования ковалентных связей с полимером (модифицированный азидом доxorубин) 3D printing, encapsulation of drug through the formation of covalent bonds with the polymer (azide-modified doxorubicin)	Интервальная; >2 циклов: ~15 % за 1-й цикл, ~30 % за 2 цикла. Без облучения – взрывообразная, >30 мин: ~60 % за 5 мин, ~70 % за 30 мин Pulsatile release, >2 cycles. ~15 % in 1 st cycle, 30 % in 2; without irradiation: burst release ~60 % in 5 min, ~70 % in 30 min
[40]	Хитозан, β-глицерофосфат и карбоксиметил-хитозан (гидрогелевая платформа) Chitosan, β-glycerophosphate, carboxymethyl chitosan (hydrogel platform)	Физическое включение в гидрогель путем замешивания гемцитабина, левофлоксацина и 5-фторурацила Physical encapsulation of gemcitabine, levofloxacin, 5-fluorouracil	Взрывообразная; >3 дней: ~90 % в 1-й день, ~95 % за 3 дня Burst release, >3 days. ~90 % day 1, 95 % in 3 days
[41]	Хитозан и β-глицерофосфат (гидрогелевая платформа) Chitosan, β-glycerophosphate (hydrogel platform)	Физическое включение в гидрогель путем замешивания мелфалана, конъюгированного с ПЭГ Physical encapsulation of PEGylated melphalan through mixing	Равномерная; >4 дней: ~35 % в 1-й день, ~80 % за 4 дня Sustained release, >4 days. ~35 % day 1, ~80 % in 4 days
[42]	Полоксамеры P407/P188, альгинат, хитозан (гидрогелевая платформа) Poloxamers P407/P188, alginate, chitosan (hydrogel platform)	Физическое включение в гидрогель путем замешивания 5-фторурацила Physical encapsulation of 5-fluorouracil through mixing	Взрывообразная; 8 ч: ~80 % за первые 4 ч Burst release, ~80 % in first 4 hours, release ends at 8 hours
[43]	ПЛГА-ПЭГ-ПЛГА (гидрогелевая платформа) PLGA-PEG-PLGA (hydrogel platform)	Физическое включение в гидрогель путем замешивания пальмитоилированного производного гемцитабина Physical encapsulation of palmitoylated gemcitabine derivative through mixing	Равномерная; >35 дней: ~30 % за 10 дней Sustained release, ~30 % in 10 days, continues over 35 days
[44]	ПЛГА-ПЭГ-ПЛГА (гидрогелевая платформа) PLGA-PEG-PLGA (hydrogel platform)	Физическое включение в гидрогель путем замешивания паклитаксела Physical encapsulation of paclitaxel through mixing	Равномерная; >40 дней: ~35 % за 10 дней, ~80 % за 35 дней Sustained release, >40 days. ~35 % in 10 days, ~80 % in 35 days
[45]	Геллановая камедь, конъюгированная с глутатионом (гидрогелевая платформа) Gellan gum (glutathione-conjugated) (hydrogel platform)	Физическое включение в гидрогель путем замешивания доxorубина Physical encapsulation of doxorubicin through mixing	Взрывообразная; >2 дней: ~80 % в 1-й день, ~85 % за 2 дня Burst release, >2 days. ~80 % day 1, ~85 % in 2 days

Продолжение табл. 2

Continuation of table 2

Библиографическая ссылка Bibliographic reference	Материал платформы Platform material	Метод изготовления препарата и способ его включения Method of manufacturing a drug and method of it incorporating	Кинетика высвобождения Kinetics of release
[46]	Золотые наностержни, сополимер НИПААм и метакрилизованного поли-β-циклодекстрина (гидрогелевая платформа) Gold nanorods, copolymer of NIPAAm and methacrylated poly-β-cyclodextrin (hydrogel platform)	Химическое включение в гидрогель (адамантан-модифицированный доксорубин) Chemical incorporation of drug into the hydrogel (adamantane-modified doxorubicin)	Интервальная; 6 циклов: ~15 % за 1-й цикл, ~90 % за 5 циклов. Без облучения – неравномерная, >30 дней: ~45 % за 10 дней, ~70 % за 30 дней Pulsatile release, 6 cycles: ~15 % after 1 st , 90 % in 5. Without irradiation: irregular release ~45 % in 10 days, ~70 % in 30 days
[47]	ГК, функционализированная норборненом (гидрогелевая платформа) Norbornene-functionalized HA (hydrogel platform)	Физическое включение доксорубина и индоцианина в гидрогель с последующей сшивкой гидрогеля Physical encapsulation of doxorubicin and indocyanine into hydrogel by mixing and further crosslinking of hydrogel	Неравномерная, стимул-чувствительная; >5 дней: ~70 % в 1-й день, ~90 % за 5 дней Stimuli-responsive release, >5 days. ~70 % day 1, ~90 % in 5 days
[48]	Хитозан-альгинат или хитозан-ГК или хитозан-дубильная кислота (пленочная платформа) Chitosan-alginate or chitosan-HA or chitosan-tannic acid (film platform)	Физическое включение доксорубина, изотиоцианата флуоресцеина и овальбумина путем пропитки полиэлектролитного покрытия Physical encapsulation of doxorubicin, fluorescein isothiocyanate and ovalbumin by impregnation of polyelectrolyte coating with drug solutions	Взрывообразная; >1 дня: ~80 % за 1 ч, ~90 % за 1 день Burst release, >1 day. ~80 % in 1 hour, ~90 % in 1 day
[50]	Хитозан-(γ-ПГА) или поли-L-лизин-(γ-ПГА) (пленочная платформа) Chitosan-(γ-PGA) or poly-L-lysine-(γ-PGA) (film platform)	Химическое включение доксорубина путем ионного конъюгирования с γ-ПГА и осаждения покрытия на его основе Chemical ionic conjugation of doxorubicin with γ-PGA followed by layer-by-layer coating	Равномерная; >6 мес.: ~10 % за 1 мес., ~60 % за 6 мес. Sustained release, >6 months. ~10 % in 1 st month, ~60 % in 6 months
[51]	Наностержни с золотым ядром и оболочкой из силиката, ПВП, хитозан, ПВС (микроигльчатая платформа) Gold-core silica-shell nanorods, PVP, chitosan, PVA (microneedle platform)	Физическое включение доксорубина в покрытие микроигл Physical encapsulation of doxorubicin in microneedle coating	Интервальная: после облучения ~20 %; без облучения ~50 % за 2 ч, полное высвобождение за 4 ч Pulsatile release: ~20 % post-irradiation. Without irradiation: ~50 % in 2 hours, the drug is out over 4 hours
[52]	MnCl ₂ , ГК (микроигльчатая платформа) MnCl ₂ , HA (microneedle platform)	Физическое включение темозоломида с последующей отливкой микроигл Physical encapsulation of temozolomide followed by microneedle molding	Взрывообразная; 10 мин: ~30 % за 1 мин, 100 % за 10 мин Burst release, 10 minutes. ~30 % in 1 st min, ~100 % in 10 minutes
[54]	Наночастицы ПЭГ-ПКЛ, желатин (композитная гидрогелевая платформа) PEG-PCL nanoparticles, gelatin (composite hydrogel platform)	Физическое включение паклитаксела и тетрандрина в наночастицы с последующим введением в гидрогель Physical encapsulation of paclitaxel and tetrandrine into nanoparticles followed by hydrogel embedding	Взрывообразная; >5 дней: ~45 % в 1-й день, ~60 % за 5 дней Burst release, >5 days. ~45 % day 1, ~60 % in 5 days

Окончание табл. 2

The end of table 2

Библиографическая ссылка Bibliographic reference	Материал платформы Platform material	Метод изготовления препарата и способ его включения Method of manufacturing a drug and method of it incorporating	Кинетика высвобождения Kinetics of release
[55]	Наночастицы ПЛГА, ПВС, коллаген (композитная гидрогелевая платформа) PLGA nanoparticles, PVA, collagen (composite hydrogel platform)	Физическое включение паклитаксела в наночастицы с последующим введением в гидрогель Physical encapsulation of paclitaxel into nanoparticles followed by hydrogel embedding	Равномерная; >10 дней: ~20 % в 1-й день, ~90 % за 10 дней Sustained release, >10 days. ~20 % day 1, ~90 % in 10 days
[56]	Наночастицы бычьего сывороточного альбумина, наночастицы D- α -токоферола ПЭГ 1000 сукцината, хитозан (композитная гидрогелевая платформа) Bovine serum albumin nanoparticles, D- α -tocopheryl PEG 1000 succinate nanoparticles, chitosan (composite hydrogel platform)	Физическое включение доксорубина и йодида IR-780 в наночастицы с последующим введением в гидрогель и сшивкой Physical encapsulation of doxorubicin and IR-780 into nanoparticles, and further embedding nanoparticles into hydrogel	Взрывообразная; >2 дней: ~25 % в 1-й день, ~27 % за 2 дня Burst release, >2 days. ~25 % day 1, ~27 % in 2 days
[57]	Мезопористые наночастицы SiO ₂ , ПЛГА (пленочная платформа) Mesoporous SiO ₂ nanoparticles, PLGA (film platform)	Физическое включение куркумина в наночастицы и дальнейшее электроформование смеси полимера и наночастиц Physical encapsulation of curcumin into nanoparticles and further electrospinning of nanoparticles with polymer	Взрывообразная, >20 дней: ~45 % в 1-й день, ~95 % за 20 дней Burst release, >20 days: ~45 % day 1, ~95 % in 20 days

Примечание. ГК – гиалуроновая кислота; ПЛГА – сополимер молочной и гликолевой кислот; ПЭГ – полиэтиленгликоль; ПКЛ – поликапролактон; ПКФП-СА – сополимер поли(ангидрида) 1,3-бис(*n*-карбоксихефенокси) пропана и себаценовой кислоты; ПЛА – полимолочная кислота (полилактид); ПВС – поливиниловый спирт; поли(НИПААм-со-ГМААм) – сополимер *N*-изопропилакриламид (НИПААм) и *N*-гидроксиметилакриламид (ГМААм); НИПААм-АК – сополимер *N*-изопропилакриламида (НИПААм) и акриловой кислоты (АК); γ -ПГА – поли- γ -глутаминовая кислота; ПВП – поливинилпирролидон.
Note. HA – hyaluronic acid; PLGA – copolymer of lactic and glycolic acids; PEG – polyethylene glycol; PCL – polycaprolactone; PCPP-SA – copolymer of poly(anhydride) 1,3-bis(*n*-carboxyphenoxy) propane and sebacic acid; PLA – polylactic acid (polylactide); PVA – polyvinyl alcohol; poly(NIPAAm-co-HMAAm) – copolymer of *N*-isopropylacrylamide (NIPAAm) and *N*-hydroxymethyl acrylamide (HMAAm); NIPAAm-AAc copolymer – copolymer of *N*-isopropylacrylamide (NIPAAm) and acrylic acid (AAc); γ -PGA – poly- γ -glutamic acid; PVP – polyvinylpyrrolidone.

лечения и мониторинга лечения в реальном времени [53].

Совершенствование контролируемости и увеличения длительности высвобождения препаратов из платформ также привело к объединению подходов к доставке химиопрепаратов. Существует немало исследований, посвященных объединению концепции доставки химиопрепаратов с помощью наночастиц и платформ локальной химиотерапии, где платформы служат депо для наночастиц, в которые загружен химиопрепарат [54–57]. S. Wilhelm и соавт. обнаружили, что <1 % дозы внутривенно вводимых наночастиц без функционализированной поверхности для адрес-

ной доставки достигает локализации опухолевых клеток [58], в связи с чем существует необходимость в создании депо для наночастиц с дальнейшей имплантацией платформы в локализацию опухолевых клеток, что позволит избежать недостатков системной химиотерапии, увеличить ее эффективность посредством наночастиц и обеспечить локализованное высвобождение препарата. Помимо этого, наночастицы, включенные в платформы, могут обеспечивать комбинированную терапию опухолей, например за счет гипертермии и высвобождения химиопрепаратов, что вызывает синергическое воздействие на опухолевые клетки и повышает эффективность лечения.

В табл. 2 приведено резюме приведенных исследований в области разработки платформ локальной химиотерапии.

Оценка высвобождения, стабильность и стерильность платформ локальной химиотерапии

Современные подходы контроля высвобождения препарата включают комбинированное применение методов *in vitro* и *in vivo*, математическое моделирование процесса высвобождения, а также установление корреляций *in vitro* – *in vivo* (IVIVC).

Методы *in vitro*. Регуляторными органами пока не утвержден единый стандарт для *in vitro*-тестирования платформ локальной химиотерапии. Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA, США) и Европейское агентство по лекарственным средствам (EMA) рекомендуют научным группам разрабатывать собственный дискриминирующий тест, способный прогнозировать поведение системы *in vivo* и выявлять отклонения при производстве [59].

Оценку высвобождения препарата, как правило, проводят в лабораторных условиях, имитирующих физиологическую жидкость. Платформу (в частности, имплантат или гидрогель) помещают в буферный раствор (фосфатно-солевой буфер, культуральную клеточную среду и др.), инкубируют в нем при температуре 37 °C и 5 % CO₂ и проводят измерение кумулятивного высвобождения действующего вещества во времени. Применяют как простые методы (стационарное выдерживание с периодическим отбором проб), так и проточные системы (например, аппараты с непрерывным потоком среды или ячейки диализа) [59]. Улучшенные *in vitro*-модели включают использование 3D-культур (например, сфероидов) и пространственных структур, имитирующих ткань опухоли, что позволяет учитывать диффузию лекарства в реальной микросреде [60].

Методы *in vivo*. В исследованиях *in vivo* кинетику локального высвобождения оценивают путем измерения концентраций препарата в опухоли, прилегающих тканях, биологических жидкостях или системной циркуляции на разных промежутках времени после имплантации/инъекции платформы. Прямое определение фармакокинетики в месте имплантации у пациентов затруднено [61], поэтому часто применяют животные модели опухолей. Для мониторинга локального высвобождения в живых организмах используют методы микродиализа (введение зондов в ткань для отслеживания локальной концентрации лекарства) и неинвазивные методы визуализации. Так, с помощью магнитно-резонансной томографии с контрастными метками можно отслеживать профиль высвобождения веществ из ги-

дрогелей, имплантированных в мозг, в реальном времени [62].

Для платформ локальной химиотерапии установление строгой IVIVC представляет существенную проблему [59]. В отличие от таблеток для приема внутрь, для которых IVIVC формализованы в руководствах, для имплантатов и депо в мягких тканях отсутствуют стандартизованные методы *in vitro*, адекватно имитирующие *in vivo*-условия ввиду сложности процессов диффузии и деградации полимерной матрицы [59]. Тем не менее проведение стандартизованных тестов высвобождения входит в обязательный пакет доклинических исследований локальных лекарственных систем.

Стерильность. Все имплантируемые или инъекционные локальные системы доставки подлежат обязательной стерилизации, поскольку вводятся в организм парентерально, минуя естественные барьеры. Регуляторные требования предусматривают уровень гарантии стерильности (*sterility assurance level*) не менее 10⁻⁶, что обычно достигается валидированными методами стерилизации [63]. На практике применяют γ -облучение, электронно-лучевую стерилизацию или газовую обработку оксидом этилена. Радиационные методы считаются предпочтительными для полимерных носителей и медицинских изделий [63], однако они могут вызывать снижение молекулярной массы полимерного носителя и изменение скорости высвобождения препарата. Так, γ -стерилизация полимеров на основе ПЛГА нередко приводит к заметной деградации матрицы и ускоренному высвобождению действующего вещества [64]. Альтернативой становится стерилизация в газовой среде оксида этилена; однако остаточный газ и продукты его реакции также могут негативно влиять на чувствительные препараты и материалы. В ряде случаев локальные системы производят в асептических условиях без финальной стерилизации: этот путь избирается, если метод терминальной стерилизации недопустим (например, для термолабильных веществ). В любом случае готовый продукт должен соответствовать требованиям фармакопейного теста на стерильность.

Не менее важным параметром является апиrogenность – отсутствие эндотоксинов и других пирогенных примесей. Для контроля апиrogenности в мировой практике «золотым стандартом» считается LAL-тест (*limulus amoebocyte lysate*), доступный в нескольких модификациях (гель-тромб, турбидиметрический, хромогенный). В последние годы активно внедряются альтернативные методы на основе рекомбинантного фактора C, рекомендованные FDA и EMA, которые позволяют отказаться от использования биологического материала. Так, нормативные документы США (гл. 85 Фармакопеи США) [65] устанавливают жесткие лимиты по эндотоксинам: для

интракраниальных и интратекальных форм допустимый уровень составляет около 2,15 ЕС/доза, что примерно в 10 раз строже, чем для стандартных парентеральных лекарств. Для обеспечения соответствия этим требованиям контроль апиrogenности проводится на всех стадиях разработки. Несоответствие требованиям апиrogenности остается одной из частых причин отказа от трансляции экспериментальных платформ в клинику, что подчеркивает критическую роль стандартизации процедур валидации и контроля этого показателя.

Стабильность. Как и для любых лекарственных препаратов, для локальных платформ должны быть проведены исследования стабильности в соответствии с международными требованиями испытания новых лекарственных веществ и препаратов на стабильность (ICH Q1A) [66]. В случае платформ, помимо стандартных параметров (сохранности содержания действующего вещества, отсутствия продуктов разложения, внешнего вида и т. д.), необходимо контролировать биофармацевтическую стабильность – способность системы сохранять заданный профиль высвобождения на протяжении срока годности. Полимерные матрицы могут со временем деградировать (например, гидролиз ПЛА и ПЛГА), что способно ускорить либо замедлить высвобождение цитостатика. Именно поэтому при изучении стабильности локальных систем доставки, в том числе на этапе регистрационной оценки, протоколы исследований предусматривают хранение продукта в различных условиях и периодическую оценку профиля высвобождения препарата *in vitro*.

Упаковка. Упаковку платформ локальной доставки проектируют таким образом, чтобы сохранять их стерильность и стабильность на протяжении всего срока годности [66, 67]. Материалы упаковки не должны адсорбировать или пропускать действующее вещество, вступать с ним в нежелательные реакции или выделять примеси [67]. Например, биодеградируемые имплантаты (пластины, гранулы) упаковываются индивидуально во влагопрочные фольгированные пакеты (с вкладкой десиканта) и часто хранятся при пониженной температуре, что препятствует преждевременному гидролизу полимера и потере активности препарата [68]. В дополнение к первичной упаковке разрабатываются удобные формы вторичной упаковки и устройств введения. Так, для платформы Gliadel® регламентированы двойные алюминиевые ламинированные пакеты, а также специальные указания по вскрытию упаковки и обращению с имплантатом в операционной. Кроме того, к некоторым платформам локальной химиотерапии дополнительно предоставляют аппликаторы для размещения платформ в полости резекции [68].

Клинические исследования платформ локальной химиотерапии

По сравнению с существенным развитием платформ локальной химиотерапии и их доклинических исследований число клинических исследований по-прежнему ограничено. Представление о клинических тенденциях, касающихся локальной доставки и платформ локальной химиотерапии, получено и проанализировано с помощью базы данных ClinicalTrials.gov [69]. На данный момент приблизительно 19 % клинических исследований с локорегиональной доставкой препаратов посвящено доставке с помощью платформ [53]. Помимо этого, 28,9 % клинических исследований посвящено предварительно сформированным полимерным имплантатам, а 10 % – инъектируемыми платформам. До 53,9 % клинических исследований направлены на платформы доставки препаратов для неoadъювантной терапии и 34,3 % – на платформы для адъювантной терапии. Химиотерапия составляет большую часть локорегиональной клинической картины лечения онкологии с помощью платформ (рис. 3): 88,2 % клинических исследований посвящены платформам для доставки химиопрепаратов и только 9 % – направлены на доставку биологических препаратов (вирусные векторы и препараты на основе РНК, протеины и пептиды).

Из всех клинических исследований локальной доставки препаратов с помощью платформ 37,5 % исследований проводятся в настоящее время, что указывает на то, что различные стратегии локальной доставки препаратов для лечения рака все еще находятся в стадии активного изучения. Наличие 62,5 % завершенных клинических исследований с известными результатами позволило выявить как сильные, так и слабые стороны локальной доставки препаратов. Можно выделить следующие наиболее актуальные проблемы платформ локальной химиотерапии:

1. Эффективность загрузки и высвобождения препаратов: необходимо обеспечить контролируемую загрузку и кинетику высвобождения препаратов в достаточном количестве и в течение нужного времени с учетом изменения в микроокружении таких факторов, как pH и температура.
2. Проникновение препаратов: платформа должна преодолевать физиологические барьеры, обеспечивать достижение препаратом опухолевых клеток в терапевтических концентрациях.
3. Биосовместимость: материалы платформы не должны вызывать патологических процессов в организме, т. е. должны быть нетоксичными, апиrogenными и неиммуногенными.

Несмотря на высокий интерес к платформам локальной химиотерапии, только ограниченное их количество успешно переведено в клиническую практику, что часто связано с рядом факторов, включая

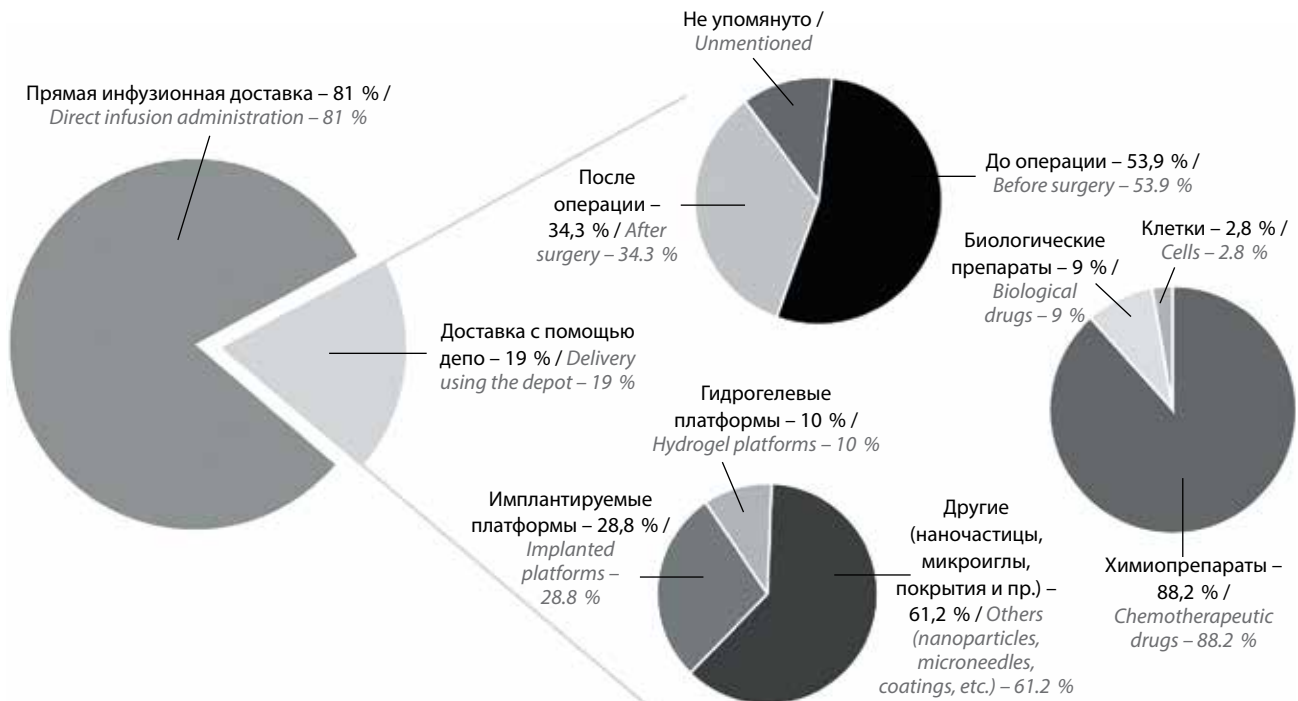


Рис. 3. Статистика клинических испытаний локальной доставки препаратов с использованием платформ (депо)

Fig. 3. Statistics of clinical trials of localized drug delivery using platforms (depots)

сложность регуляторного одобрения, ограниченную биосовместимость или недостаточную эффективность в онкологии. В настоящее время существуют две коммерчески доступные платформы локальной химиотерапии: Gliadel® [17] и OncoGel® [44]. Методы изготовления данных платформ, способ включения препарата и параметры кинетики представлены в табл. 2.

OncoGel® является единственной существующей гидрогелевой платформой с химиопрепаратом, которая завершила клинические испытания I и II фазы. Платформа OncoGel® получила статус орфанного препарата от FDA для лечения рака мозга в 2009 г. и от ЕМА для лечения карциномы желудка в 2010 г. [70]. Эта платформа была изучена в тот же период в двух клинических исследованиях: у пациентов с рецидивирующей глиобластомой с инъекцией непосредственно после резекции опухоли (исследование эскалации дозы фазы I/II, NCT00479765) и у пациентов с раком пищевода в сочетании со стандартной химиотерапией (цисплатином и 5-фторурацилом) и лучевой терапией с инъекцией перед операцией (исследование фазы II, NCT00573131). В первом исследовании проводили оценку максимально переносимой дозы OncoGel®, однако исследование было прекращено из-за снижения финансирования. Во втором исследовании лечение с помощью платформы OncoGel® в сочетании со стандартной терапией оказалось безопасным, но не демонстрировало

изменения общей выживаемости, и поэтому последующее наблюдение за исследованием было прекращено [70]. Клиническое исследование NCT00573131 платформы OncoGel® является ярким примером глобальной проблемы трансляции результатов доклинических исследований на клинические испытания, связанной со сложностью подбора репрезентативных доклинических моделей:

- доклинические исследования на животных моделях не способны в точности воспроизвести клиническую картину онкологических заболеваний пациентов из-за различий в микроокружении опухолей, иммунных реакциях, агрессивности опухолей, чувствительности к лечению и потенциального наличия резистентности у пациентов;
- пациенты в клинических испытаниях часто имеют различные типы и стадии рака, а также генетически разнообразны, что может влиять на результаты лечения; эта гетерогенность менее выражена в доклинических исследованиях, где условия более контролируемы и однородны;
- в клинических испытаниях такие факторы, как перфузия тканей, скорость кровотока и метаболизма пациентов, могут изменять скорость всасывания и распределения лекарственных препаратов по сравнению с животными моделями, что может привести к непредсказуемому изменению эффективности лечения посредством платформ локальной химиотерапии;

- индивидуальные различия в биологии опухоли и состоянии здоровья пациента могут привести к различным реакциям на лечение, что затрудняет предсказание и оптимизацию результатов химиотерапии в клинических испытаниях.

Платформа Gliadel® была одобрена FDA в 2003 г. после доклинических исследований и нескольких клинических исследований I–III фаз (NCT01310868, NCT00525590, NCT01656980) у пациентов с рецидивирующей и впервые диагностированной глиомой высокой степени злокачественности. Данная платформа характеризовалась низкой системной токсичностью и обеспечивала более продолжительную общую выживаемость пациентов. Несмотря на это, платформа Gliadel® не включена в рекомендации Европейской ассоциации нейроонкологии по лечению глиобластомы и ее использование остается ограниченным в клинической практике. В настоящее время, согласно данным ClinicalTrials.gov [69], проводится более масштабное клиническое исследование с целью сбора информации о безопасности и эффективности платформы Gliadel® в обычной медицинской практике (NCT02684838).

Несмотря на то что число клинических испытаний, посвященных платформам доставки препаратов, и эффективных формул платформ локальной химиотерапии растет экспоненциально со временем, стоит отметить, что разработка новых подходов к доставке препаратов и лечению онкологических заболеваний все еще может восприниматься настороженно крупными фармацевтическими компаниями, что связано с обширным барьером, возникающим при регистрации новых протоколов лечения и их адаптации в клинической практике.

Заключение

В данной работе проведено исследование по выявлению основных стратегий лечения онкологических заболеваний с помощью платформ для локальной доставки препаратов, их методов изготовления и используемых материалов. Показано, что локальная доставка препаратов способна значительно снизить недостатки фармакокинетики системной (внутри-

венной) доставки лекарственного средства и минимизировать сопутствующую системную токсичность для здоровых тканей. Использование различных биоматериалов и подходов к изготовлению платформ для локальной доставки открывает огромные перспективы для революционного изменения лечения онкологических заболеваний. Тем не менее, несмотря на значительный прогресс в доклинических исследованиях и растущее количество клинических, только две платформы (Gliadel® и OncoGel®) дошли до регистрации и частичного внедрения в медицинскую практику. Причины такой ограниченной трансляции включают не только технологические сложности (контроль дозирования, биосовместимость, стабильность), но и фундаментальные барьеры: невозможность точного моделирования клинической ситуации на животных, высокая межиндивидуальная вариабельность пациентов, а также трудности с интерпретацией клинических данных в условиях гетерогенности опухолей.

Важно подчеркнуть, что локальные системы доставки вряд ли найдут широкое применение в качестве монотерапии. Это связано, с одной стороны, с ограниченной способностью контролировать микрометастазы и системные проявления заболевания, а с другой – с риском развития лекарственной резистентности при использовании единственного лекарственного средства. Однако именно в составе комбинированных схем такие платформы открывают значительные перспективы: они позволяют повысить эффективность системных подходов (химио- или иммунотерапии) за счет локального усиления действия и снижения токсичности, что делает их ценным дополнением к современным протоколам лечения. Таким образом, развитие платформ для контролируемой локальной доставки препаратов остается актуальным направлением, особенно в условиях растущего интереса к персонализированной медицине. При комплексном подходе, сочетающем разработку материалов платформ, фармакологию и клинические данные, системы локальной доставки препаратов имеют потенциал для формирования новых терапевтических стратегий с улучшенными показателями безопасности и эффективности.

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

- Larrañeta E., Singh T.R.R., Donnelly R.F. Overview of the clinical current needs and potential applications for long-acting and implantable delivery systems. *Long-Acting Drug Delivery Systems*. Woodhead Publishing. 2022:1–16. DOI: 10.1016/B978-0-12-821749-8.00005-7
- Wolinsky J.B., Colson Y.L., Grinstaff M.W. Local drug delivery strategies for cancer treatment: gels, nanoparticles, polymeric films, rods, and wafers. *J Control Release* 2012;159(1):14–26. DOI: 10.1016/j.jconrel.2011.11.031
- Feng S.S., Chien S. Chemotherapeutic engineering: application and further development of chemical engineering principles for chemotherapy of cancer and other diseases. *Chem Eng Sci* 2003;58(18):4087–114. DOI: 10.1016/S0009-2509(03)00234-3
- Gottesman M.M., Fojo T., Bates S.E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nat Rev Cancer* 2002;2(1):48–58. DOI: 10.1038/nrc706
- Хамид Х.А., Островский О.В., Зыкова Е.В., Сперанский Д.Л. Адресные системы доставки лекарств в химиотерапии рака молочной железы. *Вестник ВолГМУ*. 2021;1:12–6. DOI: 10.19163/1994-9480-2021-1(77)-12-16
- Hamid H.A., Ostrovsky O.V., Zyкова E.V., Speransky D.L. Targeted drug delivery systems in breast cancer chemotherapy. *Vestnik VolGМУ = Journal of Volgograd State Medical University* 2021;1:12–6. (In Russ.). DOI: 10.19163/1994-9480-2021-1(77)-12-16
- Danhier F. To exploit the tumor microenvironment: Since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine? *J Control Release* 2016;244(Pt A):108–21. DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.11.015
- Langer R., Peppas N.A. Advances in biomaterials, drug delivery, and bionanotechnology. *AICHE J* 2003;49(12):2990–3006. DOI: 10.1002/aic.690491202
- Северин Е.С. Новые подходы к избирательной доставке лекарственных препаратов в опухолевые клетки. *Успехи химии* 2015;84(1):43–60. DOI: 10.1070/RCR4468
- Severin E.S. New approaches to targeted drug delivery to tumour cells. *Uspekhi khimii = Russ Chem Rev* 2015;84(1):43–60. (In Russ.). DOI: 10.1070/RCR4468
- Постнов В.Н., Наумышева Е.Б., Королев Д.В., Галагудза М.М. Наноразмерные носители для доставки лекарственных препаратов. *Биотехносфера* 2013;6:16–27. Postnov V.N., Naumysheva E.B., Korolev D.V., Galagudza M.M. Nanoscale carriers for drug delivery. *Biotechnosfera = Biotechnosphere* 2013;6:16–27. (In Russ.).
- Пятаев Н.А., Мельцаев Г.Г., Скопин П.И. и др. Таргетный транспорт противоопухолевых химиопрепаратов: современные технологии и перспективы развития. *Поволжский онкологический вестник* 2012;3:47–58. Pyataev N.A., Meltsaev G.G., Skopin P.I. et al. Targeted transport of antitumor chemopreparations: modern technologies and prospects of development. *Povolzhskiy onkologicheskii vestnik = Oncology Bulletin of the Volga Region* 2012;3:47–58. (In Russ.).
- Brem H. Polymers to treat brain tumours. *Biomater* 1990;11(9):699–701. DOI: 10.1016/0142-9612(90)90030-t
- Strobel O., Neoptolemos J., Jäger D., Büchler M.W. Optimizing the outcomes of pancreatic cancer surgery. *Nat Rev Clin Oncol* 2019;16(1):11–26. DOI: 10.1038/s41571-018-0112-1
- Talebian S., Foroughi J., Wade S.J. et al. Biopolymers for antitumor implantable drug delivery systems: recent advances and future outlook. *Adv Mater* 2018;30(31):e1706665. DOI: 10.1002/adma.201706665
- Obayemi J.D., Jusu S.M., Salifu A.A. et al. Degradable porous drug-loaded polymer scaffolds for localized cancer drug delivery and breast cell/tissue growth. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2020;112:110794. DOI: 10.1016/j.msec.2020.110794
- Indolfi L., Ligorio M., Ting D.T. et al. A tunable delivery platform to provide local chemotherapy for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Biomaterials* 2016;93:71–82. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2016.03.044
- Youssef S.H., Kim S., Khetan R. et al. The development of 5-fluorouracil biodegradable implants: a comparative study of PCL/PLGA blends. *J Drug Deliv Sci Tec* 2023;81:104300. DOI: 10.1016/j.jddst.2023.104300
- Fleming A.B., Saltzman W.M. Pharmacokinetics of the carmustine implant. *Clin Pharmacokinet* 2002;41:403–19. DOI: 10.2165/00003088-200241060-00002
- Coburn J., Harris J., Zakharov A.D. et al. Implantable chemotherapy-loaded silk protein materials for neuroblastoma treatment. *Int J Cancer* 2017;140(3):726–35. DOI: 10.1002/ijc.30479
- Chen H., Wu J., Rahman M.S.U. et al. Dual drug-loaded PLGA fibrous scaffolds for effective treatment of breast cancer *in situ*. *Biomater Adv* 2023;148:213358. DOI: 10.1016/j.bioadv.2023.213358
- Hsu M.Y., Hsieh C.H., Huang Y.T. et al. Enhanced paclitaxel efficacy to suppress triple-negative breast cancer progression using metronomic chemotherapy with a controlled release system of Electrospun Poly-DL-Lactide-co-glycolide (PLGA) nanofibers. *Cancers (Basel)* 2021;13(13):3350. DOI: 10.3390/cancers13133350
- Ramachandran R., Junnuthula V.R., Gowd G.S. et al. Theranostic 3-Dimensional nano brain-implant for prolonged and localized treatment of recurrent glioma. *Sci Rep* 2017;7(1):43271. DOI: 10.1038/srep43271
- Wang X., Wang L., Zong S. et al. Use of multifunctional composite nanofibers for photothermal chemotherapy to treat cervical cancer in mice. *Biomater Sci* 2019;7(9):3846–54. DOI: 10.1039/C9BM00756C
- Darbasizadeh B., Mortazavi S.A., Kobarfard F. et al. Electrospun Doxorubicin-loaded PEO/PCL core/sheath nanofibers for chemopreventive action against breast cancer cells. *J Drug Delivery Sci Technol* 2021;64(1):102576. DOI: 10.1016/j.jddst.2021.102576
- Han D., Serra R., Gorelick N. et al. Multi-layered core-sheath fiber membranes for controlled drug release in the local treatment of brain tumor. *Sci Rep* 2019;9(1):17936. DOI: 10.1038/s41598-019-54283-y
- Zhao J., Zhu Y., Ye C. et al. Photothermal transforming agent and chemotherapeutic co-loaded electrospun nanofibers for tumor treatment. *Int J Nanomedicine* 2019;14:3893–909. DOI:10.2147/IJN.S202876
- Martorana A., Puleo G., Miceli G.C. et al. Redox/NIR dual-responsive glutathione extended polyurethane urea electrospun membranes for synergistic chemo-photothermal therapy. *Int J Pharm* 2025;669:125108. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2024.125108
- Wei W., Zarghami N., Abasi M. et al. Implantable magnetic nanofibers with ON-OFF switchable release of curcumin for possible local hyperthermic chemotherapy of melanoma. *J Biomed Mater Res A* 2022;110(4):851–60. DOI: 10.1002/jbm.a.37333
- Li J., Zhu J., Jia L. et al. Aqueous-based electrospun P (NIPAAm-co-AAc)/RSF medicated fibrous mats for dual temperature-and pH-responsive drug controlled release. *RSC Adv* 2020;10(1):323–31. DOI: 10.1039/C9RA08832F
- Park J.H., Seo H., Kim D.I. et al. Gold nanocage-incorporated poly(ϵ -caprolactone)(PCL) fibers for chemophotothermal synergistic cancer therapy. *Pharmaceutics* 2019;11(2):60. DOI: 10.3390/pharmaceutics11020060
- Li L., Yang G., Zhou G. et al. Thermally switched release from a nanogel-in-microfiber device. *Adv Healthc Mater* 2015;4(11):1658–63. DOI: 10.1002/adhm.201500267

31. Yan E., Jiang J., Yang X. et al. pH-sensitive core-shell electrospun nanofibers based on polyvinyl alcohol/polycaprolactone as a potential drug delivery system for the chemotherapy against cervical cancer. *J Drug Delivery Sci Technol* 2019;55:101455. DOI: 10.1016/j.jddst.2019.101455
32. Federico S., Martorana A., Pitarresi G. et al. Development of stimulus-sensitive electrospun membranes based on novel biodegradable segmented polyurethane as triggered delivery system for doxorubicin. *Biomater Adv* 2022;136:212769. DOI: 10.1016/j.bioadv.2022.212769
33. Lahr C.A., Landgraf M., Sanchez-Herrero A. et al. A 3D-printed biomaterials-based platform to advance established therapy avenues against primary bone cancers. *Acta Biomater* 2020;118:69–82. DOI: 10.1016/j.actbio.2020.10.006
34. Dang H.P., Shafiee A., Lahr C.A. et al. Local doxorubicin delivery via 3D-printed porous scaffolds reduces systemic cytotoxicity and breast cancer recurrence in mice. *Adv Therap* 2020;3(9):2000056. DOI: 10.1002/adtp.202000056
35. Wang Y., Sun L., Mei Z. et al. 3D printed biodegradable implants as an individualized drug delivery system for local chemotherapy of osteosarcoma. *Mater Des* 2020;186:108336. DOI: 10.1016/j.matdes.2019.108336
36. Yi H.G., Choi Y.J., Kang K.S. et al. A 3D-printed local drug delivery patch for pancreatic cancer growth suppression. *J Control Release* 2016;238:231–41. DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.06.015
37. Wei X., Liu C., Wang Z., Luo Y. 3D printed core-shell hydrogel fiber scaffolds with NIR-triggered drug release for localized therapy of breast cancer. *Int J Pharm* 2020;580:119219. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119219
38. Liu C., Wang Z., Wei X. et al. 3D printed hydrogel/PCL core/shell fiber scaffolds with NIR-triggered drug release for cancer therapy and wound healing. *Acta Biomater* 2021;131:314–25. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.07.011
39. Bozuyuk U., Yasa O., Yasa I.C. et al. Light-triggered drug release from 3D-printed magnetic chitosan microswimmers. *ACS nano* 2018;12(9):9617–25. DOI: 10.1021/acsnano.8b05997
40. Kong X., Houzong R., Fu J. et al. Application of a novel thermo-sensitive injectable hydrogel in therapy *in situ* for drug accurate controlled release. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2020;108(8):3200–16. DOI: 10.1002/jbm.b.34658
41. Alexander A., Ajazuddin A., Khan J. et al. Formulation and evaluation of chitosan-based long-acting injectable hydrogel for PEGylated melphalan conjugate. *J Pharm Pharmacol* 2014;66(9):1240–50. DOI: 10.1111/jphp.12262
42. Al Sabbagh C., Seguin J., Agapova E. et al. Thermosensitive hydrogels for local delivery of 5-fluorouracil as neoadjuvant or adjuvant therapy in colorectal cancer. *Eur. J. Pharm. Biopharm* 2020;157:154–64. DOI: 10.1016/j.ejpb.2020.10.011
43. Yang X., Chen X., Wang Y. et al. Sustained release of lipophilic gemcitabine from an injectable polymeric hydrogel for synergistically enhancing tumor chemoradiotherapy. *J Chem Eng* 2020;396:125320. DOI: 10.1016/j.cej.2020.125320
44. Zentner G.M., Rathi R., Shih C. et al. Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs. *J Control Release* 2001;72(1–3):203–15. DOI: 10.1016/S0168-3659(01)00276-0
45. Zhou S., Zheng X., Yi K. et al. Temperature-ion-pH triple responsive gellan gum as *in situ* hydrogel for long-acting cancer treatment. *Gels* 2022;8(8):508. DOI: 10.3390/gels8080508
46. Xu X., Huang Z., Huang Z. et al. Injectable, NIR/pH-responsive nanocomposite hydrogel as long-acting implant for chemophotothermal synergistic cancer therapy. *ACS Appl Mater Interfaces* 2017;9(24):20361–75. DOI: 10.1021/acsmi.7b02307
47. Jo Y.J., Gulfam M., Jo S.H. et al. Multi-stimuli responsive hydrogels derived from hyaluronic acid for cancer therapy application. *Carbohydr Polym* 2022;286:119303. DOI: 10.1016/j.carbpol.2022.119303
48. Sun H., Choi D., Heo J. et al. Studies on the drug loading and release profiles of degradable chitosan-based multilayer films for anticancer treatment. *Cancers* 2020;12(3):593. DOI: 10.3390/cancers12030593
49. Hsu B.B., Park M.H., Hagerman S.R., Hammond P.T. Multimonth controlled small molecule release from biodegradable thin films. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(33):12175–80. DOI: 10.1073/pnas.1323829111
50. Voznyuk A.A., Makarets Y.A., Advakhova D.Y. et al. Biodegradable local chemotherapy platform with prolonged and controlled release of doxorubicin for the prevention of local tumor recurrence. *ACS Appl Bio Mater* 2024;7(4):2472–87. DOI: 10.1021/acsbm.4c00078
51. Moreira A.F., Rodrigues C.F., Jacinto T.A. et al. Poly(vinyl alcohol)/chitosan layer-by-layer microneedles for cancer chemophotothermal therapy. *Int J Pharm* 2020;576:118907. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2019.118907
52. Jiang Y., Jin Y., Feng C. et al. Engineering hyaluronic acid microneedles loaded with Mn²⁺ and temozolomide for topical precision therapy of melanoma. *Adv Healthc Mater* 2024;13(8):2303215. DOI: 10.1002/adhm.202303215
53. Shaha S., Rodrigues D., Mitragotri S. Locoregional drug delivery for cancer therapy: preclinical progress and clinical translation. *J Control Release* 2024;367:737–67. DOI: 10.1016/j.jconrel.2024.01.072
54. Zhang H., Tian Y., Zhu Z. et al. Efficient antitumor effect of co-drug-loaded nanoparticles with gelatin hydrogel by local implantation. *Sci Rep* 2016;6(1):26546. DOI: 10.1038/srep26546
55. Wang M., Chen J., Li W. et al. Paclitaxel-nanoparticles-loaded double network hydrogel for local treatment of breast cancer after surgical resection. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2020;114:111046. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111046
56. Sabino I.J., Lima-Sousa R., Alves C.G. et al. Injectable *in situ* forming hydrogels incorporating dual-nanoparticles for chemophotothermal therapy of breast cancer cells. *Int J Pharm* 2021;600:120510. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.120510
57. Mohebian Z., Babazadeh M., Zarghami N., Mousazadeh H. Anticancer efficiency of curcumin-loaded mesoporous silica nanoparticles/nanofiber composites for potential postsurgical breast cancer treatment. *J Drug Deliv Sci Technol* 2021;61:102170. DOI: 10.1016/j.jddst.2020.102170
58. Wilhelm S., Tavares A.J., Dai Q. et al. Analysis of nanoparticle delivery to tumours. *Nat Rev Mater* 2016;1(5):16014. DOI: 10.1038/natrevmats.2016.14
59. Wang X., Burgess D.J. Drug release from *in situ* forming implants and advances in release testing. *Adv Drug Deliv Rev* 2021;178:113912. DOI: 10.1016/j.addr.2021.113912
60. Lugovoi M.E., Karshieva S.S., Usatova V.S. et al. The design of the spheroids-based *in vitro* tumor model determines its biomimetic properties. *Biomater Adv* 2025;169:214178. DOI: 10.1016/j.bioadv.2025.214178
61. Shapira-Furman T., Serra R., Gorelick N. et al. Biodegradable wafers releasing Temozolomide and Carmustine for the treatment of brain cancer. *J Control Release* 2019;295:93–101. DOI: 10.1016/j.jconrel.2018.12.048
62. Yanev P., van Tilborg G.A.F., Boere K.W.M. et al. Thermosensitive biodegradable hydrogels for local and controlled cerebral delivery of proteins: MRI-based monitoring of *in vitro* and *in vivo* protein release. *ACS Biomater Sci Eng* 2023;9(2):760–72. DOI: 10.1021/acsbomaterials.2c01224
63. Ostergaard J., Nielsen L.H., Larsen S.W. et al. Development of a bio-relevant *in vitro* release testing method for subcutaneous and intramuscular oil depot formulations. *J Drug Deliv Sci Technol* 2024;102:106412. DOI: 10.1016/j.jddst.2024.106412
64. Sintzel M.B., Merkli A., Tabatabay C., Gurny R. Influence of irradiation sterilization on polymers used as drug carriers – a review. *Drug Dev Ind Pharm* 2008;23(9):857–78. DOI: 10.3109/03639049709148693

65. United States Pharmacopeia. Bacterial Endotoxins Test <85>. USP-NF. 2017. DOI: 10.31003/uspnf_m98830_02_01
66. ICH Harmonised Tripartite Guideline Q1A(R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products. International Conference on Harmonisation. 2003 URL: <https://pharmadvisor.ru/document/tr3520/>.
67. Guidance for Industry: Container Closure Systems for Packaging Human Drugs and Biologics. U.S. Food and Drug Administration. 1999. URL: <https://www.fda.gov/media/70788/download>.
68. GLIADEL® WAFER (carmustine implant), for intracranial use. U.S. Food and Drug Administration. 2018. URL: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/020637s029lbl.pdf.
69. About ClinicalTrials.gov. National Library of Medicine. 2025 updated: June 0, 2024. URL: <https://clinicaltrials.gov/about-site/about-ctg>.
70. Bastiancich C., Malfanti A., Pr at V., Rahman R. Rationally designed drug delivery systems for the local treatment of resected glioblastoma. Adv Drug Deliv Rev 2021;177:113951. DOI: 10.1016/j.addr.2021.113951

Вклад авторов

А.А. Вознюк: разработка концепции исследования, анализ литературы, написание статьи;
Е.Г. Глинская, М.Е. Луговой: анализ литературы, написание статьи;
Е.С. Демидов: обзор публикаций по теме статьи, анализ полученных данных;
Е.В. Кудан: разработка концепции исследования, редактирование и утверждение конечной версии.

Author's contributions

A.A. Voznyuk: development of the study concept, literature analysis, writing of the article;
E.G. Glinskaia, M.E. Lugovoi: literature analysis, writing of the article;
E.S. Demidov: review of publications on the topic of the article, analysis of the obtained data;
E.V. Koudan: development of the study concept, editing and approval of the final version.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.А. Вознюк / A.A. Voznyuk: <https://orcid.org/0009-0001-7549-5947>
Е.Г. Глинская / E.G. Glinskaia: <https://orcid.org/0000-0001-8246-9846>
Е.С. Демидов / E.S. Demidov: <https://orcid.org/0009-0000-7935-7931>
М.Е. Луговой / M.E. Lugovoi: <https://orcid.org/0009-0007-7160-7802>
Е.В. Кудан / E.V. Koudan: <https://orcid.org/0000-0001-9377-8118>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. The authors declare the absence a conflict of interest warranting disclosure in this article.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030» в НИТУ МИСИС.

Funding. This work was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation under the strategic academic leadership program “Priority 2030” at National University of Science and Technology “MISIS”.

Статья поступила: 19.06.2025. Принята к публикации: 18.03.2026. Опубликовано онлайн: 30.04.2026.

Article submitted: 19.06.2025. Accepted for publication: 18.03.2026. Published online: 30.04.2026.

Новая клеточная линия недифференцированной плеоморфной саркомы UPS134 для исследований *in vitro* и *in vivo*

П.А. Штомпель^{1,2}, С.А. Хазанова^{1,2}, Е.С. Трапезникова^{1,3}, В.Ю. Зиновьева¹, А.А. Ловенгер¹, А.А. Тарарькова¹, Б.Ю. Бохян¹, Н.В. Хромова¹, П.Б. Копнин¹, Т.И. Фетисов^{1,2}, М.Г. Якубовская^{1,2}, К.И. Кирсанов^{1,2}

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

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

³ФГБНУ «Российский центр неврологии и нейронаук»; Россия, 125367 Москва, Волоколамское шоссе, 80

Контакты: Полина Александровна Штомпель polina.shtooo@gmail.com

Введение. Ввиду ограниченного числа клеточных линий, а также высокой гетерогенности недифференцированных плеоморфных сарком (НПС) создание новых стабильных клеточных линий является актуальной задачей. **Цель исследования** – получение стабильной клеточной линии из послеоперационного образца НПС для моделирования процессов канцерогенеза *in vitro* и *in vivo*.

Материалы и методы. Клетки выделяли из образца опухоли от пациента с диагнозом НПС. По достижении 40-го пассажа и стабильного роста оценивали скорость пролиферации, морфологию клеток и способность к росту в условиях 3D-культивирования. Для оценки туморогенности клеточную суспензию вводили бестимусным мышам BALB/c пц/пц. На 15-й день образовавшуюся опухоль извлекали, измеряли объем и гистологически исследовали. С помощью анализа коротких tandemных повторов (STR) исследовали клетки полученной линии на наличие маркеров клеток человека и их уникальность. Химиочувствительность клеток оценивали с помощью резазуринового теста.

Результаты. Клеточная культура продемонстрировала стабильный рост и формирование сфероидов в условиях 3D-культивирования. У всех мышей, перевитых суспензией клеток UPS134, наблюдался рост опухоли, и к 14-му дню эксперимента ее средний размер составил 28,7 мм³. Гистологически опухоль схожа с морфологией НПС, за исключением меньшего количества миксоида и меньшего полиморфизма. Показано наличие в клетках полученной линии всех анализируемых генетических маркеров клеток человека, а также то, что данные STR полученной линии не совпадали с STR других линий. Для препаратов доксорубина, гемцитабина и доцетаксела определены показатели IC₅₀ (inhibitory concentration), которые составили 15, 6,5 и 10 % концентрации плазматического пика соответственно.

Заключение. Нами получена новая клеточная линия UPS134, которая в дальнейшем может быть использована для изучения патогенеза НПС, а также в доклинических исследованиях новых противоопухолевых агентов *in vitro* и *in vivo*.

Ключевые слова: недифференцированная плеоморфная саркома, клеточная линия, оценка туморогенности

Для цитирования: Штомпель П.А., Хазанова С.А., Трапезникова Е.С. и др. Новая клеточная линия недифференцированной плеоморфной саркомы UPS134 для исследований *in vitro* и *in vivo*. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(1):62–70.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-62-70>

New undifferentiated pleomorphic sarcoma cell line UPS134 for *in vitro* and *in vivo* studies

Polina A. Shtompel^{1,2}, Sofya A. Khazanova^{1,2}, Ekaterina S. Trapeznikova^{1,3}, Victoria Yu. Zinovieva¹, Anastasia A. Lovenger¹, Anastasia A. Tararykova¹, Benjamin Yu. Bokhyan¹, Natalia V. Khromova¹, Pavel B. Kopnin¹, Timur I. Fetisov^{1,2}, Marianna G. Yakubovskaya^{1,2}, Kirill I. Kirsanov^{1,2}

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

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

³Russian Center of Neurology and Neuroscience; 80 Volokolamskoe Shosse, Moscow 125367, Russia

Contacts: Polina Aleksandrovna Shtompel polina.shtooo@gmail.com

Background. Due to the limited number of cell lines, as well as the high heterogeneity of undifferentiated pleomorphic sarcomas (UPS), the creation of new stable cell lines is relevant.

Aim. Obtaining a stable cell line from a sample of UPS obtained during surgery to model carcinogenesis processes *in vitro* and *in vivo*.

Materials and methods. Cells were isolated from a tumor sample from a patient diagnosed with UPS. After passage 40 and stable growth, the proliferation rate, cell morphology, and growth ability in 3D culture conditions were assessed. To assess tumorigenicity, the cell suspension was injected into *BALB/c* nu/nu athymic mice. On the 15th day of the experiment, the tumor was removed, its volume was measured, and it was examined histologically. Using short tandem repeat (STR) analysis, the cells of the resulting line were examined for the presence of human cell markers and their uniqueness. The chemosensitivity of the cells was assessed using the resazurin test.

Results. Stable growth and formation of spheroids under 3D culturing conditions were demonstrated for the cell culture. All mice inoculated with the UPS134 cell suspension showed tumor growth, and by day 14 of the experiment its average size was 28,7 mm³. Histologically, the tumor is similar in morphology to UPS, except for a smaller amount of myxoid and less polymorphism. The cells of the obtained line were shown to contain all analyzed genetic markers of human cells, and also that the STR data of the obtained line did not coincide with the STR of other lines. For doxorubicin, gemcitabine and docetaxel, IC₅₀ (inhibitory concentration) were determined to be 15, 6.5 and 10 % of the plasma peak concentration, respectively.

Conclusions. We obtained a new cell line UPS134, which can be further used to study the pathogenesis of UPS, as well as in preclinical studies of new antitumor agents *in vitro* and *in vivo*.

Keywords: undifferentiated pleomorphic sarcoma, cell line, assessing tumorigenicity

For citation: Shtompel P.A., Khazanova S.A., Trapeznikova E.S. et al. New undifferentiated pleomorphic sarcoma cell line UPS134 for *in vitro* and *in vivo* studies. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(1):62–70. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-62-70>

Введение

Саркомы мягких тканей (СМТ) представляют собой гетерогенную группу редких мезенхимальных злокачественных новообразований, составляющих 1 % всех случаев опухолей взрослых [1]. Недифференцированные плеоморфные саркомы (НПС) относятся к одним из наиболее распространенных подтипов СМТ с агрессивным течением заболевания. Эти опухоли характеризуются миксоидной стромой и высоким клеточным полиморфизмом [2]. Основной метод лечения НПС, как и всех СМТ, — хирургическое иссечение опухоли, однако склонность опухолей данного подтипа к инвазии и метастазированию существенно осложняет лечение [3]. Так, у пациентов с НПС после резекции опухоли частота местных рецидивов составляет 20–30 %, а частота отдаленных метастазов достигает 50 % [3, 4]. В настоящее время для химиотерапии СМТ используется ограниченное число противоопухолевых препаратов, которые эффективны только для 40–60 % пациентов, что актуализирует поиск новых подходов к терапии НПС [4].

Одним из этапов поиска новых подходов к терапии опухолей является исследование противоопухолевой активности новых веществ на моделях *in vitro* и *in vivo*, в том числе на 2D- и 3D-культурах опухоле-

вых клеток стабильных линий и их перевивке животным для получения ксенографтов. Согласно базе данных Cellosaurus, в настоящее время для использования в экспериментальной онкологии имеется более 1500 стабильных линий опухолевых клеток рака молочной железы, в то время как число доступных клеточных линий НПС не превышает 60 (<https://www.cellosaurus.org/search?query=undifferentiated+pleomorphic+sarcoma>). Таким образом, ограниченное число клеточных линий НПС, а также чрезвычайно разнообразный гистогенез НПС указывают на необходимость получения новых стабильных клеточных линий данного типа опухолей для улучшения экспериментальной базы в лечении этой группы опухолей.

Целью данной работы было получение стабильной клеточной линии из послеоперационного образца НПС для моделирования процессов канцерогенеза *in vitro* и *in vivo*. Конкретные задачи исследования включали: (1) получение стабильной линии при 2D-культивировании *in vitro*; (2) определение характеристик сфероидов при их культивировании в гипoadгезионных условиях (3D-культивировании); (3) оценку скорости пролиферации клеток полученной линии при 2D- и 3D-культивировании; (4) генетический анализ клеток полученной линии на наличие маркеров

клеток человека и их уникальность; (5) проверку полученной клеточной линии на отсутствие инфицирования микоплазмой; (6) определение туморогенности клеток полученной линии в условиях *in vivo*; (7) характеристику резистентности/чувствительности клеток полученной стабильной линии к противоопухолевым препаратам, применяемым в терапии СМТ, с помощью резазуринового теста, используемую ранее L. F. Tarias и соавт. [5].

Материалы и методы

Клинические данные донора опухолевых клеток

Пациентом-донором стал 62-летний мужчина с диагнозом НПС. При обследовании по месту жительства выявлено образование мягких тканей в левой подвздошно-паховой области. По данным ультразвукового исследования мягких тканей в пахово-бедренной области слева до крыла подвздошной кости определяется солидное образование неоднородной структуры, с жидкостными включениями, размером $10,0 \times 7,0 \times 10,0$ см, с единичными сосудами в структуре. При магнитно-резонансной томографии костей таза с захватом верхней трети бедренных костей с внутривенным контрастным усилением в мягких тканях левой подвздошно-паховой области с переходом на переднюю поверхность проксимальных отделов бедра визуализируется опухоль неоднородной кистозно-солидной структуры, с нечеткими неровными контурами, размерами $12,0 \times 11,3 \times 7,0$ см (рис. 1, а, б). На основании результатов core-биопсии опухоли поставлен гистологический диагноз НПС. В дальнейшем выполнено оперативное вмешательство в объеме удаления опухоли мягких тканей подвздошно-паховой области слева. Опухолевые ткани, полученные во время операции, использованы для получения первичной культуры опухолевых клеток, а затем стабильной клеточной линии НПС. По данным гистологического исследования опухоли (см. рис. 1, в, г) отмечаются веретенообразные плеоморфные клетки с вытянутым гиперхромным ядром, округлые клетки с амфифильной цитоплазмой и округлыми везикулярными ядрами, а также клетки с оптически пустой цитоплазмой и оттесненным к периферии гиперхромным ядром и многоядерные гигантские клетки. В ткани опухоли определяются участки некроза, занимающие 50 % от анализируемых срезов, расширенные тонкостенные сосуды и очаги миксоидно-измененной стромы. Митотическая активность опухолевых клеток – до 32 фигур митоза на 10 полей зрения при увеличении микроскопа 400 (см. рис. 1, г).

Получение стабильно пролиферирующей клеточной линии

Образец опухолевой ткани получен от пациента отделения опухолей костей, мягких тканей и кожи

Научно-исследовательского института клинической онкологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина. Ткань предварительно механически измельчили (до размера фрагментов 1 мм^2), а затем инкубировали с 5–10 мл стерильного раствора коллагеназ I и II. Диссоциацию опухолевой ткани до суспензии клеток проводили на шейкере в течение 2–3 ч при температуре 37°C . Выделенные клетки помещали на культуральные чашки (SPL Life Sciences, Корея) и культивировали в среде DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) («ПанЭко», Россия) с добавлением 20 % эмбриональной телячьей сыворотки (BioSera, Южная Америка), 292 мг L-глутамин («ПанЭко», Россия), пенициллина (500 Ед/мл) и стрептомицина (500 мкг/мл). Клеточную культуру инкубировали при 37°C и 5 % CO_2 , используя аппарат NU-5810 (NuAire, США). Клетки культивировали не менее 40 пассажей.

3D-культивирование клеточной линии

Для получения сфероидов клетки (400 тыс. кл/лунку) посеяли в 6-луночные планшеты с низкой адгезией (Corning, США) в среде DMEM/F-12 («ПанЭко», Россия) с добавлением человеческого альбумина и инсулина-трансферрина-селенита («ПанЭко», Россия) и инкубировали при 37°C и 5 % CO_2 . Наличие сфероидов фиксировали в разные временные отрезки (24, 48, 72, 96, 120, 144 и 168 ч) с помощью микроскопии. Полученные при микроскопии изображения анализировали с помощью ImageJ (Wayne Rasband, США) и определяли объем сфероидов по формуле, используемой в работе С.Т. Куо и соавт. [6]:

$$V = \frac{4 \times \pi \times (l/2)^3}{3}, \quad (1)$$

где V – средний объем сфероидов, а l – средний диаметр определяли по следующему уравнению:

$$l = \frac{(a \times b) \times l}{2}, \quad (2)$$

где a и b представляют два ортогональных диаметра каждого сфероида.

Оценка скорости пролиферации клеточной линии

Клетки (125 тыс. кл/мл) рассеивали на культуру в чашки Петри (3 см, SPL, Корея) и культивировали в течение 24 ч в среде DMEM с добавлением 20 % эмбриональной телячьей сыворотки при температуре 37°C и 5 % CO_2 . Через выбранные временные интервалы (24, 48, 72 ч) клетки снимали с помощью раствора трипсина, окрашивали раствором трипанового синего и подсчитывали в камере Горяева. На основе данных строили кривую роста в программе GraphPad

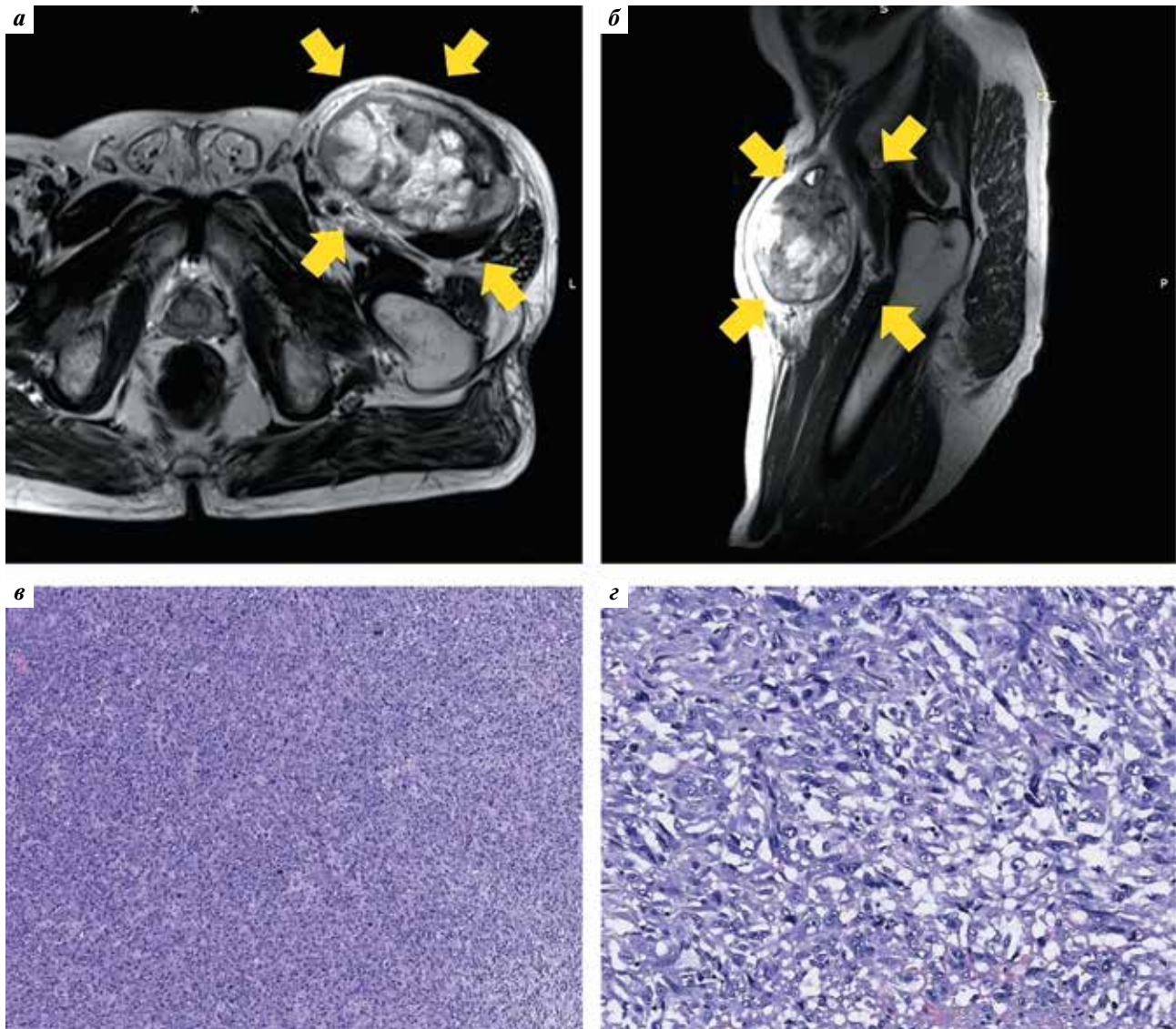


Рис. 1. Данные магнитно-резонансной томографии в аксиальной (а) и сагиттальной (б) проекциях костей таза с захватом верхней трети бедренных костей с внутривенным контрастным усилением и гистологического анализа опухоли (в, г – окраска гематоксилином и эозином, ув. 200 и 400 соответственно) пациента с недифференцированной плеоморфной саркомой (а, б – желтые стрелки)

Fig. 1. Magnetic resonance imaging data in axial (a) and sagittal (б) projections of the pelvic bones with capture of the upper third of the femurs with intravenous contrast enhancement and histological analysis of the tumor (в, г – hematoxylin and eosin staining, magnification 200 and 400, respectively) in a patient with undifferentiated pleomorphic sarcoma (а, б – yellow arrows)

Prism 8.4.3 (GraphPad Software, США). Расчет периода удвоения проводили с помощью ресурса Cell Doubling Time Calculator (omnicalculator.com).

Определение наличия микоплазмы окраской флуоресцентным красителем DAPI

Для проверки клеточной культуры на наличие микоплазм клетки посеяли на покровные стекла (200 тыс. кл/мл) и инкубировали в течение 24 ч в среде DMEM с добавлением 20 % эмбриональной телячьей сыворотки при температуре 37 °С и 5 % CO₂. Затем стекла промывали 1 раз в фосфатно-солевом буфере (PBS) и фиксировали 3,7 % раствором фор-

мальдегида в течение 10 мин при комнатной температуре. После 3-кратной промывки PBS и окрашивания раствором DAPI (4',6-диамидино-2-фенилиндола) стекла фиксировали средой Mowiol. Клетки исследовали и фотографировали с помощью флуоресцентного микроскопа при увеличении 100.

Выделение РНК и полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией с праймерами к микоплазме

Тотальную РНК выделяли с помощью реагента ExtractRNA (все реактивы – «Евроген», Россия) согласно протоколу производителя. Для синтеза

комплементарной ДНК использовали набор реагентов для обратной транскрипции MMLV RT kit. Полимеразную цепную реакцию в реальном времени проводили с помощью интеркалирующего флуоресцентного агента SYBR Green I и ДНК-полимеразы Taq на приборе CFX Connect Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США). Программа амплификации: при температуре 95 °С 3 мин (при температуре 95 °С – 10 с, 60 °С – 10 с, 72 °С – 30 с) – 39 циклов, кривая плавления – при температуре 65–95 °С. Последовательности праймеров к 16S рРНК микоплазмы выбраны согласно протоколу, предложенному L. Young и соавт.: F: GGGG GCAAACAGGATTAGATACCCT; R: SAC CATCTG TCACTCTGTAACTC [7].

Генетический анализ клеток полученной линии на наличие маркеров клеток человека и их уникальность

Наличие в клетках полученной линии маркеров клеток человека проверено с помощью анализа ко-

ротких tandemных повторов (STR) в определенных локусах фирмой GORDIZ. Анализ проводили на STR-системе CordisPlus, содержащей 19 маркеров ДНК и ген амелогенина. Уникальность клеточной линии подтверждена путем сравнения полученных результатов с консолидированными данными базы Cellosaurus STR, включающей данные баз клеточных линий ATCC, DSMZ, JCRB, RIKEN (<https://www.cellosaurus.org/str-search/>).

Оценка туморогенности *in vivo* клеточной линии

Оценку туморогенности проводили на самках иммунодефицитных бестимусных мышей *BALB/c* nu/nu в возрасте 7–8 нед и массой тела 15–20 г. Экспериментальная группа состояла из 5 животных. Клеточную суспензию ($2,5 \times 10^6$ клеток в 100 мкл) в стерильном матригенгеле (Standard Star Matrigel, ABW (Mogengel Bio), Китай) вводили подкожно для определения роста ксенотрансплантата. Начиная с 11-х суток

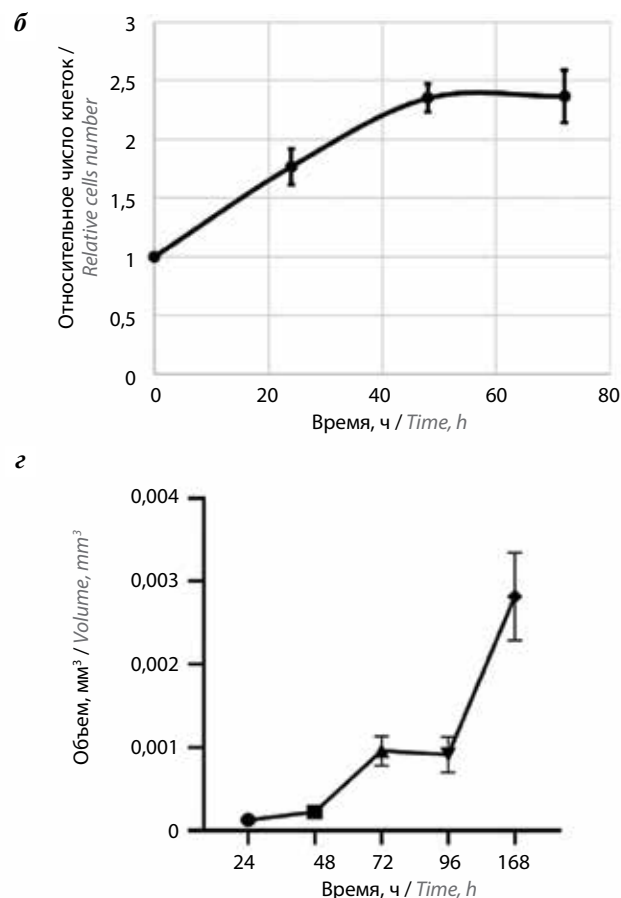
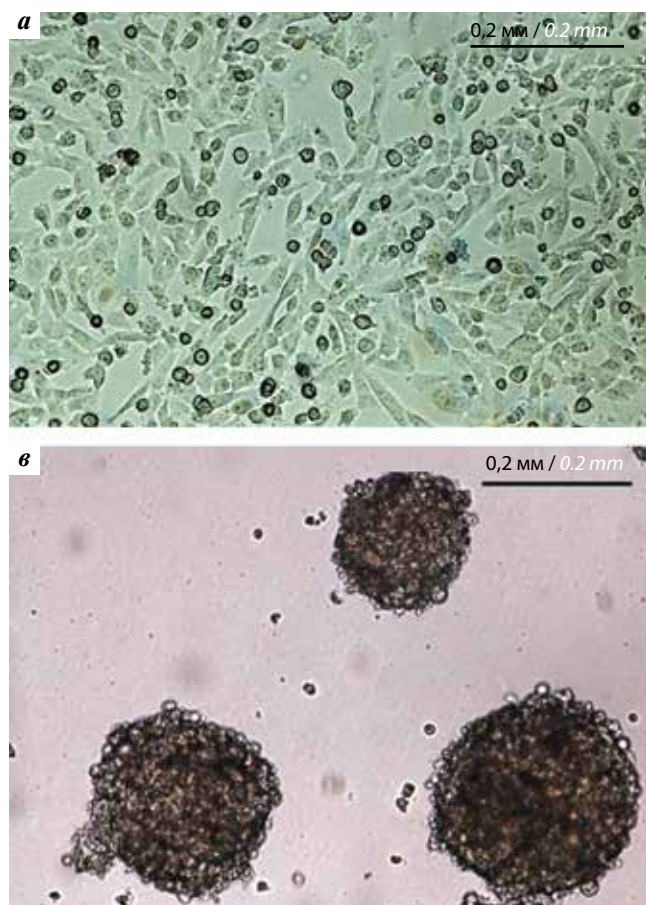


Рис. 2. Рост линии UPS134 в условиях 2D- и 3D-культивирования: а – морфология UPS134 клеточной линии в условиях 2D-культивирования; б – динамика роста UPS134 в условиях 2D-культивирования; в – морфология клеточной линии UPS134 в условиях 3D-культивирования; г – динамика роста сфероидов UPS134

Fig. 2. Growth of the UPS134 cell line under 2D and 3D culture conditions: а – morphology of the UPS134 cell line under 2D culture conditions; б – growth dynamics of UPS134 under 2D culture conditions; в – morphology of the UPS134 cell line under 3D culture conditions; г – growth dynamics of UPS134 spheroids

Маркер / Marker	Генотип / Genotype
AMEL	X, Y
D3S1358	15,16
TH01	9,9,3
D12S391	21,21
D1S1656	17,3,17,3
D10S1248	14,14
D22S1045	16,16
D2S441	10,11
D7S820	9,11
D13S317	8,13
FGA	21,26
TPOX	11,11
D18S51	17,18
D16S539	11,13
D8S1179	14,15
CSF1PO	11,12
D5S818	10,11
vWA	17,17
D21S11	30,30.2
SE33	26.2,26.2

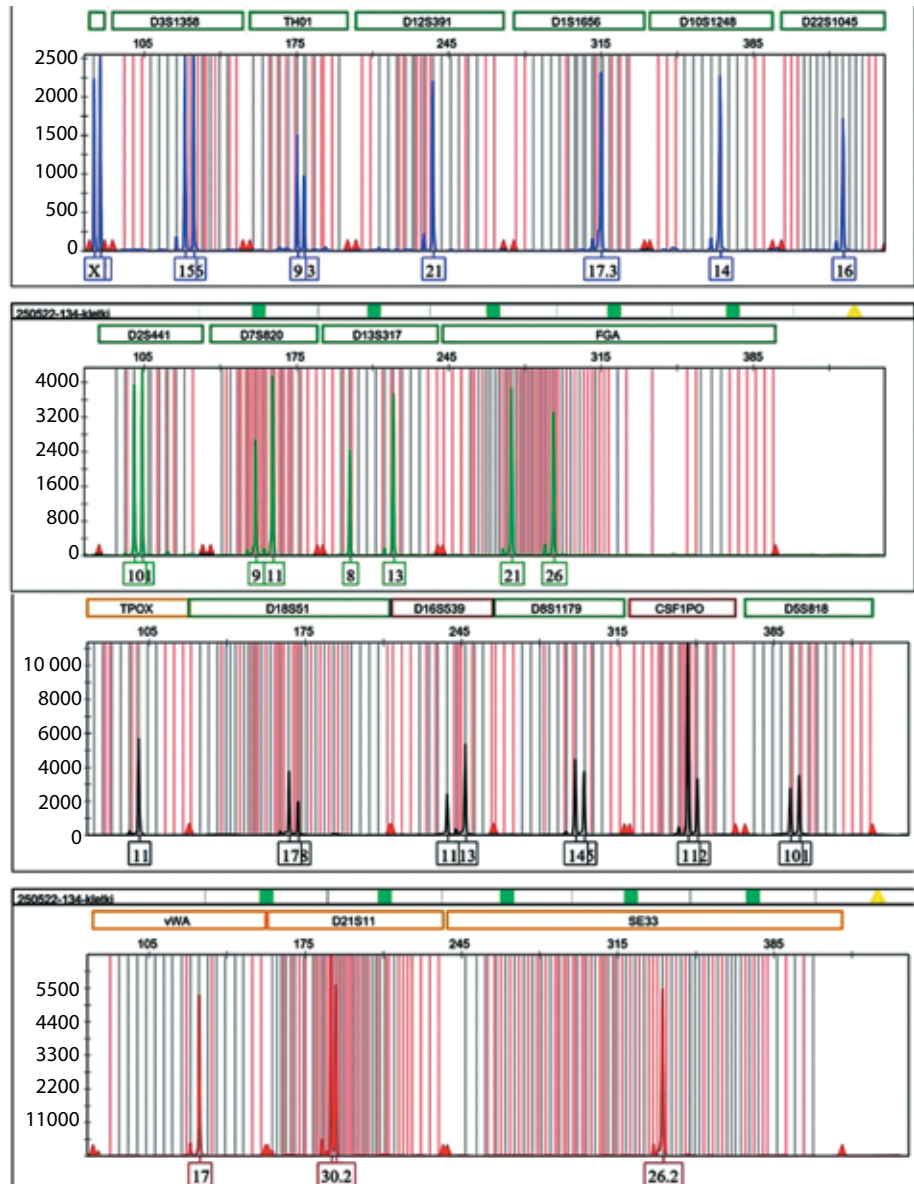


Рис. 3. Анализ коротких tandemных повторов линии UPS134

Fig. 3. Short tandem repeat analysis of the UPS134 cell line

после инъекции пальпаторно определялось наличие опухоли. Вскрытие было проведено на 15-е сутки, после чего опухоль извлекали и измеряли ее объем.

Анализ структуры опухолей, образованных клетками полученной линии

Для гистологического исследования выделенный опухолевый материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине в течение 48 ч. Далее материал промывали в проточной воде, образцы обезвоживали спиртами, хлороформом и заливали в Histomix («Био-Витрум», Россия). После депарафинизации ксилолом и регидратации срезы окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной процедуре [8].

Оценка химиочувствительности клеток

Клетки (10 тыс. кл./лунку) рассаживали в 96-луночный планшет (SPLLife Sciences, Корея) и культивировали в течение 24 ч в среде DMEM с добавлением 20 % эмбриональной телячьей сыворотки при 37 °C и 5 % CO₂. Методом серийного разведения приготовили растворы гемцитабина (BIOCAD, Россия), доксорубина (РОНЦ, Россия), доцетаксела (NATIVA, Россия) и добавляли их в клеточный планшет. Для каждого химиопрепарата выбраны 6 концентраций на основе проводимого нами ранее исследования [9]. Через 72 ч инкубации оценивали метаболическую активность клеток с помощью резазуринового теста по методике L.F. Tarias и соавт. [5].

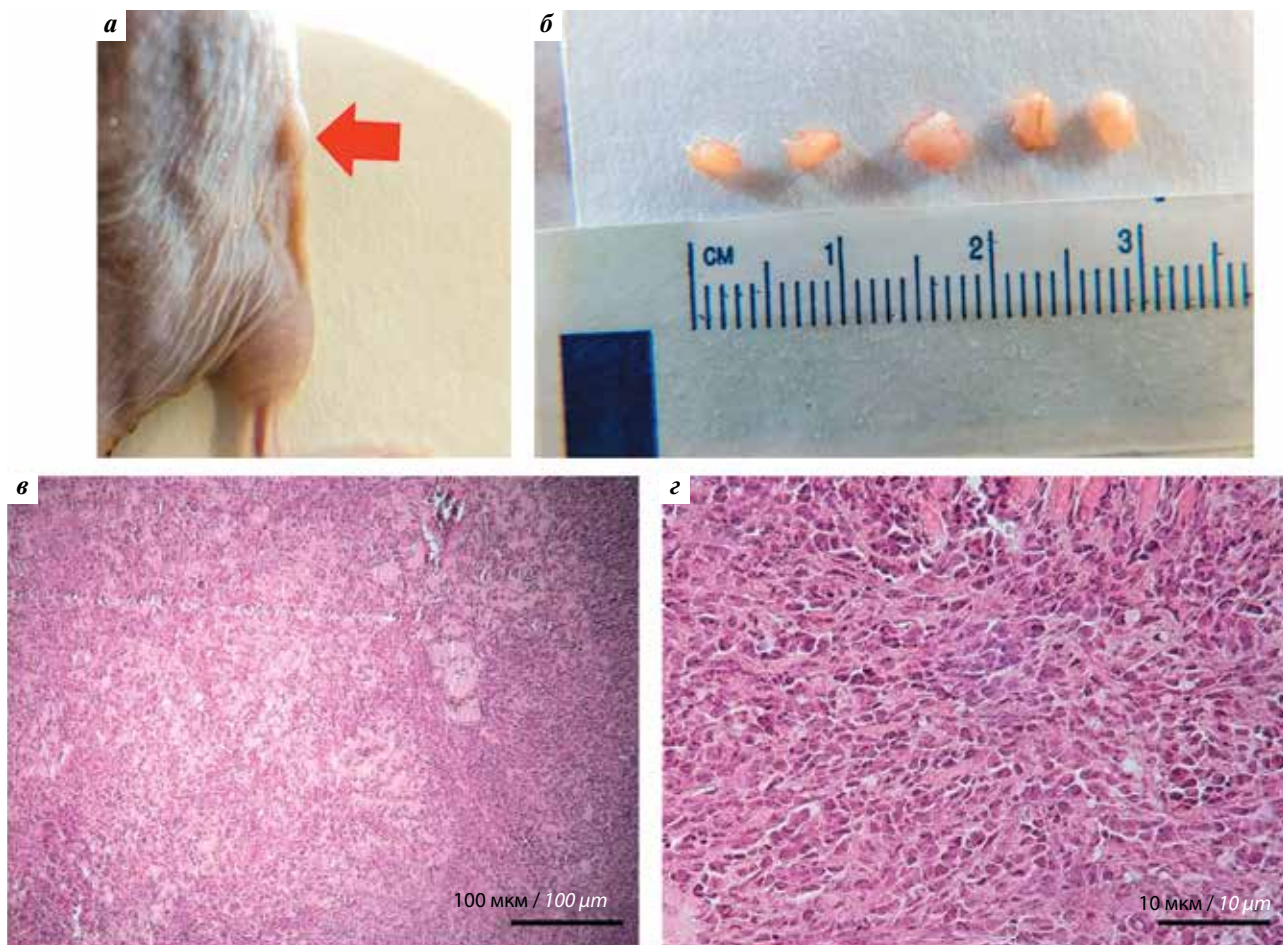


Рис. 4. Туморогенность опухолевой линии UPS134: а – рост опухоли в животном (стрелка); б – макроскопия полученных опухолей; в, з – гистология полученных образцов опухолей

Fig. 4. Tumorigenicity of the UPS134 tumor cell line: а – tumor growth in the animal (arrow); б – macroscopic view of the obtained tumors; в and з – histology of the obtained tumor samples

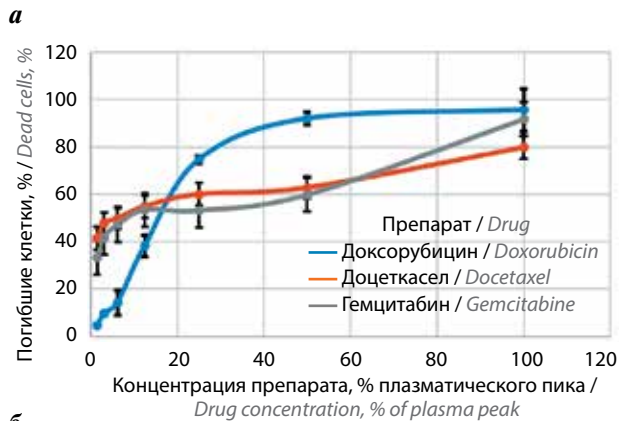
Результаты

В результате длительного культивирования первичной клеточной линии (40 пассажей) в 2D-условиях клетки UPS134 сохранили веретенообразную форму (рис. 2, а на с. 98) и стабильную скорость пролиферации. С использованием инструмента Cell Doubling Time Calculator рассчитали время удвоения популяции, которое составило 32 ч (рис. 2, б). Помимо этого, выявили способность UPS134 формировать сфероиды в условиях обедненной среды на гипoadгезионной подложке (3D-культивирование) (рис. 2, в). Динамика роста сфероидов представлена на рис. 2, г.

На следующем этапе провели STR-анализ с последующим поиском совпадений в базе данных Cellosaurus с помощью инструмента CLASTR (cellosaurus.org). Показано присутствие в клетках полученной линии всех анализируемых генетических маркеров человека, а также подтверждено отсутствие совпадений STR полученной линии с STR других клеточных линий (рис. 3 на с. 99).

Полученную линию протестировали на контаминацию микоплазмой с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени с праймерами, описанными ранее L. Young и соавт. [7]. Кроме того, провели окраску клеток красителем DAPI с их последующим анализом с помощью микроскопии. Оба метода не выявили наличие микоплазмы в клетках.

На следующем этапе проведена оценка туморогенности полученной линии UPS134. Клетки, перевитые бестимульным мышам ($n = 5$), вызвали развитие опухолей в описанных условиях у всех животных (рис. 4, а, б). Размер опухоли последовательно увеличивался после трансплантации в течение всего периода наблюдения, и к 14-му дню средний объем опухоли составил 28,7 мм³. Гистологически опухоль была схожа по строению с морфологической картиной НПС, однако в отличие от опухоли источника наблюдали меньшее количество миксоида и меньший полиморфизм, что связано с клональным отбором опухолевых клеток в линии (рис. 4, в, з).

**б**

Препарат / Drug	100 % концентрация плазматического пика, мг/мл / 100 % plasma peak concentration, mg/ml
—	3,0
—	11,3
—	25,0

Рис. 5. Выживаемость клеток линии UPS134 в присутствии доксорубина, доцетаксела и гемцитабина: а – график выживаемости клеток; б – используемые концентрации плазматического пика препаратов

Fig. 5. Cell survival of the UPS134 cell line in the presence of doxorubicin, docetaxel, and gemcitabine: а – cell survival plot; б – used concentrations of the plasma peak of the drugs

На следующем этапе оценили чувствительность полученной линии UPS134 к используемым в химиотерапии НПС терапевтическим агентам. Определены значения IC_{50} (inhibitory concentration, концентрации полумаксимального ингибирования) для препаратов, применяемых в терапии НПС, таких как доксорубин, гемцитабин и доцетаксел. IC_{50} соответствовала 15, 6,5 и 10 % концентрации плазматического пика для этих 3 препаратов (рис. 5).

Обсуждение

В научных исследованиях активно используют культивируемые *in vitro* клетки тканей и опухолей с начала XX в. С этого времени клеточные линии остаются одним из самых необходимых инструментов в онкологических исследованиях, направленных как на изучение патогенеза злокачественных новообразований, так и для поиска новых подходов в противоопухолевой терапии. С учетом высокой гетерогенности НПС между пациентами следует увеличивать число доступных для исследования стабильных линий клеток опухолей данного нозологического типа.

В представленной работе описаны этапы получения и характеристики новой стабильной линии опухолевых клеток НПС человека – UPS134 из опухоли пациента с подтвержденным диагнозом злокачественного новообразования. Полученная клеточная линия UPS134 обладает стабильными ростовыми характеристиками как при 2D-, так и 3D-культивировании. В экспериментах *in vivo* на самках иммунодефицитных бестимусных мышей BALB/c nu/nu продемонстрировано, что полученная культура является опухолевой. Сравнительное патоморфологическое исследование образца опухолевой ткани пациента и полученных ксенотрансплантатов UPS134 выявило их схожесть.

Заключение

Таким образом, стабильная линия опухолевых клеток UPS134, полученная из образца НПС, является охарактеризованной моделью и может быть использована при изучении патогенеза НПС, а также в доклинических исследованиях новых противоопухолевых агентов *in vitro* и *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Sbaraglia M., Bellan E., Dei Tos A.P. The 2020 WHO Classification of Soft Tissue Tumours: news and perspectives. *Pathologica* 2021;113(2):70–84. DOI: 10.32074/1591-951X-213
- Menon G., Solis-Ledesma G. Undifferentiated pleomorphic sarcoma. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570612/>
- Vodanovich D.A., Spelman T., May D. et al. Predicting the prognosis of undifferentiated pleomorphic soft tissue sarcoma: a 20-year experience of 266 cases. *ANZ J Surg* 2019;89(9): 1045–50. DOI: 10.1111/ans.15348
- Makris E.A., Tran T.B., Delitto D.J. et al. Natural history of undifferentiated pleomorphic sarcoma: experience from the US Sarcoma Collaborative. *J Surg Oncol* 2024;129(7): 1354–63. DOI: 10.1002/jso.27620
- Tapias L.F., Gilpin S.E., Ren X. et al. Assessment of proliferation and cytotoxicity in a biomimetic three-dimensional model of lung cancer. *Ann Thorac Surg* 2015;100(2):414–21. DOI: 10.1016/j.athoracsur.2015.04.035
- Kuo C.T., Wang J.Y., Lin Y.F. et al. Three-dimensional spheroid culture targeting versatile tissue bioassays using a PDMS-based hanging drop array. *Sci Rep* 2017;7(1):4363. DOI: 10.1038/s41598-017-04718-1
- Young L., Sung J., Stacey G., Masters J.R. Detection of mycoplasma in cell cultures. *Nat Protoc* 2010;5(5):929–34. DOI: 10.1038/nprot.2010.43
- Lesovaya E.A., Kirsanov K.I., Antoshina E.E. et al. Rapatar, a nanoformulation of rapamycin, decreases chemically-induced benign prostate hyperplasia in rats. *Oncotarget* 2015;6(12):9718–27. DOI: 10.18632/oncotarget.3929
- Fetisov T.I., Khazanova S.A., Shtompel P.A. et al. Perspectives of cell sensitivity/resistance assay in soft tissue sarcomas chemotherapy. *Int J Mol Sci* 2023;24(15):12292. DOI: 10.3390/ijms241512292

Вклад авторов

П.А. Штомпель: концептуализация, методология, проведение исследования, создание черновика рукописи, редактирование;
С.А. Хазанова, Е.С. Трапезникова, В.Ю. Зиновьева, Н.В. Хромова, П.Б. Копнин: методология, проведение исследования;
А.А. Ловенгер: методология, проведение исследования, предоставление материала для исследования;
А.А. Тарарыкова, Б.Ю. Бохан: предоставление материала для исследования;
Т.И. Фетисов: концептуализация, методология, верификация данных, формальный анализ, проведение исследования, создание черновика рукописи, редактирование, визуализация;
М.Г. Якубовская, К.И. Кирсанов: концептуализация, верификация данных, формальный анализ, создание черновика рукописи, редактирование, визуализация, администрирование проекта, получение финансирования.

Author's contributions

P.A. Shtompel: conceptualization, methodology, investigation, creation of the draft manuscript, editing of the manuscript;
S.A. Khazanova, E.S. Trapeznikova, V.Yu. Zinovieva, N.V. Khromova, P.B. Kopnin: methodology, investigation;
A.A. Lovenger: methodology, investigation, resources;
A.A. Tararykova, B.Yu. Bokhyan: resources;
T.I. Fetisov: conceptualization, methodology, data verification, formal analysis, investigation, creation of the draft manuscript, editing of the manuscript, visualization;
M.G. Yakubovskaya, K.I. Kirsanov: conceptualization, data verification, formal analysis, resources, creation of the draft manuscript, editing of the manuscript, visualization, project administration, funding acquisition.

ORCID авторов / ORCID of authors

П.А. Штомпель / P.A. Shtompel: <https://orcid.org/0009-0000-8673-597X>
С.А. Хазанова / S.A. Khazanova: <https://orcid.org/0000-0002-8350-0021>
Е.С. Трапезникова / E.S. Trapeznikova: <https://orcid.org/0000-0001-6839-7436>
В.Ю. Зиновьева / V.Yu. Zinovieva: <https://orcid.org/0000-0003-2809-8487>
А.А. Ловенгер / A.A. Lovenger: <https://orcid.org/0009-0000-3317-9543>
А.А. Тарарыкова / A.A. Tararykova: <https://orcid.org/0000-0002-5548-3295>
Б.Ю. Бохан / B.Yu. Bokhyan: <https://orcid.org/0000-0002-1396-3434>
Н.В. Хромова / N.V. Khromova: <https://orcid.org/0000-0001-8348-6760>
П.Б. Копнин / P.B. Kopnin: <https://orcid.org/0000-0002-2078-4274>
Т.И. Фетисов / T.I. Fetisov: <https://orcid.org/0000-0002-5082-9883>
М.Г. Якубовская / M.G. Yakubovskaya: <https://orcid.org/0000-0002-9710-8178>
К.И. Кирсанов / K.I. Kirsanov: <https://orcid.org/0000-0002-8599-6833>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, № 23-65-00003.

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation, No. 23-65-00003.

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей. Протокол исследования одобрен на заседании локального этического комитета ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», заключение № 2020-42.

Conformity of the principles of bioethics. The study was carried out in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Research and Other Scientific Purposes. The protocol of the experiment was approved at a meeting of the local ethical committee of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, approval report No. 2020-42.

Статья поступила: 17.09.2025. Принята к публикации: 20.02.2026. Опубликовано онлайн: 30.04.2026.

Article submitted: 17.09.2025. Accepted for publication: 20.02.2026. Published online: 30.04.2026.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-71-83>

Сравнение методов оценки иммуногенности биологических препаратов на основе моноклональных антител на примере пембролизумаба

В.С. Чернышенко¹, Н.М. Фаустова¹, В.М. Косман¹, М.В. Карлина¹, А.Ю. Романенко¹,
М.Н. Макарова¹, В.Г. Макаров¹, А.А. Дмитриева², Е.В. Шипаева², М.Г. Чернобровкин³,
В.А. Постникова³, О.В. Филон², М.Ю. Самсонов², В.Г. Игнатъев²

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

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

³ООО «Рисерч Лаб»; Россия, 127521 Москва, ул. Анненская, 21, стр. 1

Контакты: Валерия Сергеевна Чернышенко chernyshenko.vs@doclinika.ru

Введение. Для обеспечения безопасности и эффективности биологических препаратов критически важно оценить их иммуногенность. Наиболее часто применяемый для этого иммуноферментный анализ (ИФА) имеет ряд ограничений, поэтому значимо понимание возможностей альтернативных подходов, например метода биослойной интерферометрии (БСИ).

Цель исследования – разработка, валидация и сравнение двух методов для скринингового анализа в рамках оценки иммуногенности биологических препаратов на основе моноклональных антител на примере препаратов пембролизумаба при многократном внутривенном введении яванским макакам.

Материалы и методы. Оценка иммуногенности проводили в рамках сравнительного изучения токсичности и местной переносимости двух препаратов с пембролизумабом при многократном введении. Яванским макакам (3 группы по 3 самца и 3 самки) на 1, 8, 15 и 22-й дни эксперимента внутривенно струйно вводили контрольное вещество (буферный раствор), тестируемый препарат (RPH-075, АО «Р-Фарм», Россия) и препарат сравнения (Китруда®, МСД Интернэшнл ГмбХ, Ирландия) в дозе 30 мг/кг. В образцах сыворотки крови, отобранной до введения, на 15, 22 и 29-й дни исследования определяли содержание связывающих антител к пембролизумабу двумя методиками – мостиковым ИФА и БСИ.

Результаты. При разработке и апробации методик количественной оценки содержания связывающих антител к пембролизумабу в сыворотке крови макак методом мостикового ИФА и БСИ выявлено, что большей чувствительностью обладает метод мостикового ИФА (12,3 и 419,7 нг/мл соответственно). Определение уровня связывающих антител к пембролизумабу методом ИФА позволило выявить иммуногенность у 4 из 12 животных; при анализе проб методом БСИ увеличение количества связывающих антител обнаружено только у 1 животного.

Заключение. Метод мостикового ИФА более чувствительный, чем метод БСИ, он является предпочтительным при оценке иммуногенности препаратов с неизвестной или предполагаемой низкой иммуногенностью.

Ключевые слова: иммуногенность, пембролизумаб, мостиковый иммуноферментный анализ, биослойная интерферометрия, антилекарственные антитела, связывающие антитела, *Macaca fascicularis*

Для цитирования: Чернышенко В.С., Фаустова Н.М., Косман В.М. и др. Сравнение методов оценки иммуногенности биологических препаратов на основе моноклональных антител на примере пембролизумаба. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(1):71–83.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-71-83>

Comparison of methods for assessing the immunogenicity of biological drugs based on monoclonal antibodies using the example of pembrolizumab

Valeriia S. Chernyshenko¹, Natalia M. Faustova¹, Vera M. Kosman¹, Marina V. Karlina¹,
Anna Yu. Romanenko¹, Marina N. Makarova¹, Valery G. Makarov¹, Anastasia A. Dmitrieva²,

Elena V. Shipaeva², Mikhail G. Chernobrovkin³, Victoria A. Postnikova³, Olga V. Filon²,
Mikhail Yu. Samsonov², Vasily G. Ignatiev²

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

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

³Limited Liability Company “Research Lab”; Build. 1, 21 Annenskaya St., Moscow 127521, Russia

Contacts: Valeriia Sergeevna Chernyshenko chernyshenko.vs@doclinika.ru

Background. To ensure the safety and effectiveness of biological drugs, it is critically important to evaluate their immunogenicity. The most commonly used enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) has a number of limitations, so it is important to understand the possibilities of alternative approaches, for example, the biolayer interferometry (BSI) method.

Aim. Development, validation and comparison of two methods for screening assay in the context of assessing the immunogenicity of biological drugs based on monoclonal antibodies using the example of pembrolizumab with multiple intravenous administration to *Macaca fascicularis*.

Materials and methods. Immunogenicity was evaluated as part of a comparative study of toxicity and local tolerance of two drugs with International Nonproprietary Name pembrolizumab following repeated administration. *Macaca fascicularis* (3 groups of 3 males and 3 females in each) on days 1, 8, 15 and 22 of the experiment received intravenously a control substance (buffer solution), test drug (RPH-075, JSC R-Pharm, Russia) and reference drug (Keytruda®, MSD International GmbH, Ireland) at a dose 30 mg/kg. Serum samples, were collected pre-dose and on study days 15, 22, 29, and were tested for assessment of binding antibodies to pembrolizumab using two methods, bridging ELISA and BSI.

Results. During the development and testing of methods for binding antibodies (BAb) to pembrolizumab quantification in monkey's blood serum of by the bridge ELISA and BSI assays, it was revealed that the bridge ELISA has greater sensitivity (12.3 and 419.7 ng/mL, respectively). Determination of BAb level to pembrolizumab by ELISA revealed immunogenicity in 4 out of 12 animals; when analyzing samples by BSI, an increasing of BAb concentration was detected in only one animal.

Conclusion. Bridging ELISA is more sensitive than BSI making it the preferred method for assessing of drugs with unknown or suspected low immunogenicity.

Keywords: immunogenicity, pembrolizumab, bridging enzyme-linked immunosorbent assay, biolayer interferometry, anti-drug antibody, binding antibodies, *Macaca fascicularis*

For citation: Chernyshenko V.S., Faustova N.M., Kosman V.M. et al. Comparison of methods for assessing the immunogenicity of biological drugs based on monoclonal antibodies using the example of pembrolizumab. *Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2026;25(1):71–83. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-71-83>

Введение

Введение биологических препаратов на основе моноклональных антител (МАТ) в клиническую практику стало прорывом в лечении онкологических и аутоиммунных заболеваний. Однако их применение сопряжено с риском развития иммуногенности — способности индуцировать образование антител к препарату (антилекарственные антитела, АЛА), что может снижать эффективность терапии и провоцировать нежелательные реакции. В связи с расширением применения МАТ в медицине и активным развитием биоаналогов актуальной задачей стано-

вится выбор оптимальных методов оценки иммуногенности на доклиническом этапе.

Оценка иммуногенности (определение АЛА) — обязательный элемент доклинического изучения токсичности при повторном введении биологических препаратов, к которым относятся МАТ. Многоуровневый подход к тестированию является стандартом, рекомендованным Евразийской экономической комиссией¹, Управлением по санитарному надзору за пищевыми продуктами и медикаментами² (Food and Drug Administration) и Европейским медицинским агентством³ (European Medicines Agency)

¹Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 89 «Об утверждении правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза». URL: <https://docs.cntd.ru/document/456026116>.

²FDA. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products — Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection. URL: <https://www.fda.gov/media/119788/download>.

³European Medicines Agency (EMA). Guideline on immunogenicity assessment of therapeutic proteins. Revision 1. EMA/CHMP/BMWP/14327/2006 Rev 1. Adopted 18 May 2017. Effective from 1 December 2017. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-immunogenicity-assessment-therapeutic-proteins-revision-1_en.pdf.

для выявления и характеристики АЛА. Обычно этот подход включает скрининговый анализ для выявления любых антител, которые связываются с лекарственным средством (связывающие антитела, САТ), подтверждающий анализ для исключения ложноположительных результатов и анализ нейтрализующей активности антител для выявления их влияния на препарат.

Иммуноферментный анализ (ИФА) в варианте мостикового ИФА наиболее часто применяется для оценки иммуногенности МАТ [1, 2]. Несмотря на множество преимуществ, ИФА имеет определенные недостатки, такие как трудоемкая процедура анализа и наличие перекрестной специфичности при распознавании сложных биологических объектов анализа в биоматериале, поэтому активно продолжается поиск более простого, специфичного и чувствительного метода для оценки иммуногенности [2].

Альтернативным подходом для оценки иммуногенности может быть метод биослойной интерферометрии (БСИ), применяемый для оценки межмолекулярных взаимодействий. БСИ – это оптический аналитический метод, который анализирует интерференционную картину белого света, отраженного от двух поверхностей. Изменения в количестве молекул, связанных с наконечником биосенсора, приводят к изменению интерференционной картины⁴ [3]. По сравнению с ИФА БСИ имеет ряд преимуществ: высокую скорость анализа, низкий уровень фона, возможность анализа сложных образцов без специальной пробоподготовки, в ряде случаев более низкая себестоимость анализа, малый объем образца (от 4 мкл), возможность анализа в режиме реального времени [3].

Представляется целесообразным сравнение двух методов оценки иммуногенности – мостикового ИФА и биосенсорного анализа на основе БСИ в контексте их чувствительности, специфичности и применимости для скрининговой оценки уровня САТ. В качестве модели для такого сравнения выбран пембролизумаб, являющийся ингибитором контрольной точки, рецептора запрограммированной клеточной смерти 1 (programmed cell death protein 1, PD-1), широко используемый в лечении метастатической меланомы и других злокачественных новообразований [4–6].

Цель исследования – разработка, валидация и сравнение двух методов для скринингового анализа в рамках оценки иммуногенности биологических препаратов на основе МАТ на примере препаратов

пембролизумаба при многократном внутривенном введении яванским макакам.

Материалы и методы

Объектами исследования служили 2 лекарственных препарата: тестируемый препарат RPH-075 (действующее вещество пембролизумаб), произведенный АО «Р-Фарм» (Россия), а также референтный препарат Китруда®, выпускаемый компанией «МСД Интернэшнл ГмбХ», торгующий как «МСД Ирландия» (Карлоу), регистрационное удостоверение в России принадлежит ООО «МСД Фармасьютикалс». Оба препарата представляют собой концентраты для приготовления растворов для инфузий с концентрацией 25 мг/мл пембролизумаба. Тестируемый препарат рассматривали как биоаналог референтного средства.

Животные. Исследование проведено на клинически здоровых приматах *Macaca fascicularis*. Исследование было рассмотрено на заседании биоэтической комиссии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»» и одобрено для проведения (протокол № 1.38/22 от 13.08.2022). Исследование спланировано и выполнено с соблюдением принципов «трех R» (Replacement, Reduction, Refinement – замещение, сокращение, совершенствование), оценку иммуногенности проводили в рамках сравнительного изучения токсичности и местной переносимости двух препаратов с пембролизумабом при многократном введении. Статус здоровья животных, условия поступления, содержания в период карантина и эксперимента [7] соответствовали регуляторным документам (Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях).

Дизайн эксперимента по оценке иммуногенности. В исследование включены яванские макаки возрастом 2–7 лет, средняя масса тела самцов составляла 4,3 кг, самок – 3,2 кг. Общее число задействованных животных – 18 особей (3 группы по 6 животных – по 3 самца и 3 самки в каждой группе), формирование групп выполнено методом стратификации по массе тела [8] в каждой из 3 экспериментальных групп, получавших контрольное вещество (буферный раствор, используемый для приготовления раствора тестируемого препарата, 1-я группа), тестируемый препарат (2-я группа) и препарат сравнения (3-я группа). Объекты исследования вводили на 1, 8, 15 и 22-й дни эксперимента внутривенно струйно в первой половине дня.

В данном исследовании с учетом доступной информации об оригинальном препарате⁵ и этических

⁴Blitz. User Guide. ForteBio, Inc. URL: https://projects.iq.harvard.edu/files/cmi/files/blitz_user_guide.pdf.

⁵EMA assessment report for Keytruda. International Nonproprietary Name pembrolizumab. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/keytruda-epar-public-assessment-report_en.pdf; Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов: Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202. URL: <https://www.altar.ru/tamdoc/19kr0202/>.

норм препараты были введены в дозе, 10-кратно превышающей терапевтическую, – 30 мг/кг.

Образцы крови из вены отбирали до первого введения, на 15, 22 и 29-й дни исследования в вакуумные пробирки с активатором свертывания и разделительным гелем объемом 1 мл (Lind-Vac, серия AG240643, InterVac Technology, Эстония), выдерживали при комнатной температуре в течение 30 мин до образования сгустка, центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин при температуре 20–22 °С (центрифуга Varispin 12R, Cryste separation technology, Южная Корея). Полученные образцы сыворотки крови делили на 2 аликвоты (по 220 мкл) и хранили при температуре -70 ± 10 °С (низкотемпературный морозильник Haier DW-86W420, HAIER, Германия) до момента анализа.

Аналитический этап оценки иммуногенности. Реактивы и материалы. Стандартные образцы (СО) АЛА к пембролизумабу (Human anti-pembrolizumab Ab, концентрация антител 0,5 мг/мл, ref № HCA298/ref № HCA297, BioRad, США), пембролизумаб, конъюгированный с пероксидазой хрена (HRP-пембролизумаб, «Вега», Россия), пембролизумаб, конъюгированный с биотином (биотинилированный, «Вега», Россия), 96-луночные полистироловые планшеты высокого связывания (№ 2592, Corning Costar, США), оптические биосенсоры (Octet® Streptavidin (SA) Biosensors, № 18–5019, Sartorius, Китай), фосфатно-солевой буфер (таблетки, № 2.1.1, «Росмедбио», Россия), Твин 20 (№ 142312, PanReac, США), молоко обезжиренное, 0,5 %, ультрапастеризованное («Белгородский молочный комбинат», Россия), хромоген ТМБ (тетраметилбензидин) $\times 10$ и раствор для разведения хромогена («Биосервис», Россия), серная кислота (№ 141058.1611, PanReac AppliChem, Германия), уксусная кислота (химически чистая, «БалтПромХим», Россия), трис-(оксиметил)-аминометан («ЛенРеактив», Россия).

Оборудование: анализатор микропланшетный CLARIOstar® (BMG Labtech, Германия), система анализа молекулярных взаимодействий ForteBio (Pall) Octet N1 (Sartorius AG, США), в качестве вспомогательного оборудования использовали центрифугу Varispin 12R (CRYSTE Separation Technology, Южная Корея), шейкер термостатированный ST-3L (Elmi, Латвия), промыватель микропланшетов «Аквamarin» (Biosan SIA, Латвия), низкотемпературный морозильник Haier DW-86W420 (HAIER, Германия), весы лабораторные электронные Adventurer AR2140 (OHAUS, Швейцария).

Анализ проб. Образцы сыворотки, полученные от экспериментальных животных, анализировали параллельно двумя методиками – мостиковым ИФА и БСИ. Для валидационных испытаний использовали модельные смеси интактного биоматериала (сыворотки крови обезьян) с добавлением целевого ана-

лита (СО АЛА к пембролизумабу) – калибровочные стандарты (S) и образцы для контроля качества (КК). Концентрации антител для каждой методики представлены в табл. 1.

Предварительно сыворотки крови, а также калибровочные и контрольные растворы для метода мостикового ИФА обрабатывали с использованием техники кислотной диссоциации (affinity capture elution, ACE), которая является наиболее простым способом улучшить чувствительность и специфичность анализа. Пробы крови 10 мкл разбавляли 90 мкл 0,33 М уксусной кислоты и инкубировали 30 мин при температуре 37 °С. Затем пробы нейтрализовали 48 мкл 1 М раствора трис-(оксиметил)-аминометана, пробы перемешивали и выдерживали при комнатной температуре не менее 15 мин. Подробный ход анализа для двух методов приведен в табл. 2.

Обработка результатов. Для обработки данных, проанализированных методом мостикового ИФА, использовали программное обеспечение к микропланшетному анализатору Mars 4.01 R2 (BMG Labtech, Германия). Для расчета концентрации САТ методом ИФА из значений оптических плотностей, полученных при длине волны 450 нм, вычитали значения оптических плотностей, полученных при длине волны 630 нм: $D = D_{450} - D_{630}$. Для обработки данных и построения калибровочной зависимости использовали 4-параметрическую модель (4-Parameter fit): $Y = \text{Bottom} + (\text{Top} - \text{Bottom}) / (1 + (EC50/X)^{\text{Slope}})$, где Y – оптическая плотность D, о. е. ($D = D_{450} - D_{630}$), X – концентрация САТ к пембролизумабу (C), нг/мл, Top – верхнее плато, Bottom – нижнее плато, EC₅₀ – концентрация, которая вызывает реакцию, находящуюся на полпути между верхним и нижним плато, Slope – коэффициент наклона.

Для расчета концентрации САТ к пембролизумабу в биоматериале концентрацию, рассчитанную по калибровочному уравнению, умножали на соответствующий коэффициент разведения пробы (k):

$$C_{\text{САТ}} = k \times C, \quad (1)$$

где $C_{\text{САТ}}$ – концентрация антител к пембролизумабу в биоматериале, нг/мл; C – концентрация САТ к пембролизумабу, рассчитанная по калибровочному уравнению (нг/мл).

Для обработки данных, проанализированных с помощью метода БСИ, использовали программное обеспечение Octet® Software 1.4.0.13 (Sartorius, США) в соответствии с установленным в инструкции производителя алгоритмом действий. С помощью данной программы строили калибровочную зависимость изменения аналитического сигнала (скорости связывания) от концентрации СО АЛА к пембролизумабу и далее автоматически рассчитывали концентрацию аналита в испытуемых

Таблица 1. Концентрации стандартных образцов антилекарственных антител (АЛА) к пембролизумабу в модельных смесях, нг/мл
Table 1. Concentrations of standard samples of anti-drug antibodies (ADA) to pembrolizumab in model mixtures, ng/ml

Мостиковый ИФА Bridging ELISA		БСИ BLI	
образец samples	концентрация АЛА concentration of ADA	образец sample	концентрация АЛА concentration of ADA
S ₁ ; ВПКО S ₁ ; ULOQ	1000	S1; ВПКО S1; ULOQ	25 000
Верхний КК High QC	750	Верхний КК High QC	20 000
S ₂ ; средний КК S ₂ ; medium QC	500	S ₂ ; средний КК S ₂ ; average QC	12 500
S ₃	250	S ₃	6250
S ₄	125	S ₄ ; низкий КК S ₄ ; low QC	3125
S ₅	61,5	S ₅ ; НПКО S ₅ ; LLOQ	1560
S ₆ ; низкий КК S ₆ ; low QC	31,5	S ₆ (якорная концентрация) S ₆ (anchor concentration)	780
S ₇ ; НПКО S ₇ ; LLOQ	15,6		

Примечание. Здесь и в табл. 2–4: ИФА – иммуноферментный анализ; БСИ – биослойная интерферометрия; КК – контроль качества; ВПКО – верхний предел количественного определения; НПКО – нижний предел количественного определения.

Note. Here and in Tables 2–4: ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay; BLI – biolayer interferometry; QC – quality controls; ULOQ – upper limit of quantitative determination; LLOQ – lower limit of quantitative determination.

пробах. Для обработки данных была выбрана линейная зависимость:

$$Y = a \times X + b, \quad (2)$$

где Y – скорость связывания, нм/с; X – концентрация АЛА к пембролизумабу, нг/мл, коэффициент корреляции (r) – не менее 0,99.

Для оценки чувствительности (предела обнаружения, ПО) проводили анализ 10 бланк-проб. Полученные данные усредняли, рассчитывали среднее значение аналитического сигнала ($Y_{cp.}$) и стандартное отклонение SD, затем рассчитывали значение аналитического сигнала (Y), соответствующее пределу обнаружения, по формуле⁶:

$$Y_{по} = Y_{cp.} \pm 2SD. \quad (3)$$

Полученное значение $Y_{по}$ подставляли в соответствующее калибровочное уравнение и рассчитывали концентрацию, соответствующую пределу обнаружения (чувствительности методики).

Для установления предела исключения методики (ПИМ) использованы сыворотки 18 интактных макак (т. е. образцы, полученные до введения исследуемых объектов от всех животных, отобранных в эксперимент). Согласно данным А. Laurén и соавт. для установления ПИМ в рамках ДКИ допустимо использование не менее 15 животных [9]. Анализ был выполнен двумя аналитиками в разные дни с последующей обработкой данных согласно рекомендациям Управления по санитарному надзору за пищевыми продуктами и медикаментами⁷. Вычисление ПИМ проводили по следующей формуле⁸:

$$\text{ПИМ} = \bar{D} + 1,645 \times SD, \quad (4)$$

где \bar{D} – среднее значение фоновой оптической плотности ($D_{450} - D_{630}$), SD – стандартное отклонение \bar{D} ; множитель 1,645 соответствует одностороннему 95 % доверительному интервалу.

Для всех данных была применена описательная статистика: рассчитаны среднее значение (M) и его стандартное отклонение (SD). Статистический

⁶ГОСТ Р 51352-2013 «Медицинские изделия для диагностики ин витро. Методы испытаний» (утв. приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 8 ноября 2013 г.). URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200108445?ysclid=mmrlg0e65f563783081>.

⁷FDA. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products – Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection. URL: <https://www.fda.gov/media/119788/download>.

⁸Там же.

Таблица 2. Ход анализа для двух методов

Table 2. Assay scheme for two methods

№ этапа Step No.	Этап Step	Мостиковый ИФА Bridging ELISA	БСИ BLI
1	Иммобилизация Immobilization	Раствором неконъюгированного пембролизумаба (тестируемый препарат RPH-075) с концентрацией 2 мкг/мл в 0,01 М PBS по 100 мкл/лунку, инкубация в течение ночи при $t = 2-8^{\circ}\text{C}$ With a solution of unconjugated pembrolizumab (test drug RPH-075) with a concentration of 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ in 0.01 M PBS of 100 $\mu\text{l}/\text{well}$, incubation overnight at $t = 2-8^{\circ}\text{C}$	Биосенсоры погружали в 0,01 М PBS на 10–15 мин для гидратации, затем в раствор биотинилированного пембролизумаба с концентрацией 100 нг/мл в 0,01 М PBS, инкубация при комнатной температуре в течение 1 ч Biosensors were immersed in 0.01 M PBS for 10–15 min for hydration, then in a solution of biotinylated pembrolizumab with a concentration of 100 ng/ml in 0.01 M PBS, incubation at room temperature for 1 h
2	Промывка Washing	2 раза 0,01 М PBS 2 times 0,01 M PBS	3 раза в 0,01 М PBS 3 times 0,01 M PBS
3	Блокировка неспецифического связывания Blocking of non-specific binding	5 % раствором сухого обезжиренного молока в 0,01 М PBS по 300 мкл/лунку, инкубация при $t = 25^{\circ}\text{C}$ в течение 2 ч 5 % solution of skimmed milk in 0,01 M PBS at 300 $\mu\text{l}/\text{well}$, incubation at $t = 25^{\circ}\text{C}$ for 2 h	1 % раствором сывороточного бычьего альбумина в 0,01 М PBS, инкубация при комнатной температуре в течение 30 мин 1 % bovine serum albumin solution in 0,01 M PBS, incubation at room temperature for 30 min
4	Промывка Washing	3 раза 0,01 М PBS 3 times 0,01 M PBS	3 раза 0,01 М PBS 3 times 0,01 M PBS
5	Внесение калибровочных, контрольных образцов и анализируемых проб (после кислотной диссоциации) Adding of calibration, control and analyzed samples (after acid dissociation)	По 100 мкл/лунку образцов/проб, инкубация 1 ч при $t = 37^{\circ}\text{C}$ 100 $\mu\text{l}/\text{well}$ of samples, incubation for 1 h at $t = 37^{\circ}\text{C}$	4 мкл/фиксатор капли, время анализа 2 мин 4 $\mu\text{l}/\text{drop}$ fixator, analysis time 2 min
6	Промывка Washing	5 раз 0,01 М PBS 5 times 0,01 M PBS	—
7	Внесение детектирующих антител Adding of detecting antibodies	По 100 мкл/лунку раствора детектирующих антител (HRP-пембролизумаб) концентрацией 2 мкг/мл, инкубация 1 ч при $t = 37^{\circ}\text{C}$ 100 $\mu\text{l}/\text{well}$ of a solution of detecting antibodies (HRP-pembrolizumab) with a concentration of 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$, incubation for 1 h at $t = 37^{\circ}\text{C}$	—
8	Промывка Washing	7 раз 0,01 М PBS 7 times 0,01 M PBS	—
9	Внесение ТМБ-субстрата Adding of TMB-substrate	По 100 мкл/лунку, инкубация 15 мин при $t = 37^{\circ}\text{C}$ 100 $\mu\text{l}/\text{well}$, incubation for 15 min at $t = 37^{\circ}\text{C}$	—
10	Внесение стоп-реактента (0,2 М раствор серной кислоты) Adding of Stop Reagent (0,2 M sulfuric acid solution)	По 50 мкл/лунку 50 $\mu\text{l}/\text{well}$	—

Окончание табл. 2
End of table 2

№ этапа Step No.	Этап Step	Мостиковый ИФА Bridging ELISA	БСИ BLI
11	Измерение аналитического сигнала Analytical signal measuring	Оптическая плотность (450 и 630 нм) Optical density (450 and 630 nm)	Время связывания, нм/с Binding rate, nm/s

Примечание. PBS (phosphate-buffered saline) – фосфатно-солевой буферный раствор. Здесь и в табл. 3: t – температура.
Note. PBS – phosphate-buffered saline. Here and in Table 3: t – temperature.

анализ выполнен с помощью лицензированного ПО (Prism 9, GraphPad Software, США, Statistica 10.0, StatSoft, США).

Результаты и обсуждение

Разработка и валидация методик оценки иммуногенности

Для оценки САТ к пембролизумабу в сыворотке крови обезьян разработаны методики с применением мостикового ИФА и БСИ. В ходе разработки методики были оптимизированы условия проведения мостикового ИФА по следующим параметрам: концентрация пембролизумаба в посадочном буферном растворе для иммобилизации лунок планшетов, тип блокирующего буферного раствора, условия и длительность стадии иммобилизации лунок планшета и блокировки сайтов неспецифического связывания, аналитический диапазон методики. На стадии разработки также были оптимизированы условия предварительной кислотной диссоциации (техники АСЕ) испытуемых проб.

В ходе разработки методики методом БСИ были оптимизированы следующие условия проведения анализа: условия и длительность стадии иммобилизации поверхности биосенсоров биотинилированным пембролизумабом, а также условия блокировки сайтов неспецифического связывания, аналитический диапазон методики, длительность этапа ассоциации аналита на поверхности иммобилизованных биосенсоров. Дополнительно оценивали возможность регенерации поверхности биосенсоров для повторного использования. По данным производителя, возможны 2–3 цикла регенерации поверхности биосенсоров после иммобилизации, однако в нашем случае

регенерация не давала воспроизводимых результатов. В дальнейшем регенерацию биосенсоров не проводили. Именно поэтому в рамках настоящего исследования методика БСИ была подвергнута частичной валидации, что допустимо, если метод применяют в исследовательских целях⁹.

Методика определения САТ к пембролизумабу в сыворотке крови обезьян методом ИФА валидирована в соответствии с рекомендациями¹⁰ по следующим параметрам: специфичность/селективность, чувствительность, минимальное необходимое разведение, нижний предел количественного определения (НПКО), калибровочный диапазон, правильность (точность), прецизионность, стабильность аналита; определен ПИМ; методика с применением метода БСИ – частично валидирована по показателям: специфичность, чувствительность, минимальное необходимое разведение, НПКО, калибровочный диапазон, правильность (точность), прецизионность внутри одного аналитического цикла.

Результаты валидации разработанных методик оценки иммуногенности представлены в табл. 3. Примеры калибровочных зависимостей продемонстрированы на рис. 1 и 2.

При сравнении результатов валидации двух рассмотренных методик очевидно то, что метод БСИ имеет более широкий калибровочный диапазон по сравнению с методом ИФА (1560–25 000 и 31,3–1000 нг/мл соответственно), но на более высоких уровнях концентраций также установлено, что метод БСИ на примере пембролизумаба обладает меньшей чувствительностью по сравнению с мостиковым ИФА (419,7 и 12,3 нг/мл соответственно).

Различия в диапазонах калибровки методик приводят к выбору различных уровней концентрации

⁹FDA. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products – Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection. URL: <https://www.fda.gov/media/119788/download>; European Medicines Agency (EMA). Guideline on immunogenicity assessment of therapeutic proteins. Revision 1. EMA/CHMP/BMWP/14327/2006 Rev 1. Adopted 18 May 2017. Effective from 1 December 2017. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-immunogenicity-assessment-therapeutic-proteins-revision-1_en.pdf.

¹⁰FDA. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products – Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection. URL: <https://www.fda.gov/media/119788/download>; Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. № 89 «Об утверждении правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза». URL: <https://docs.cntd.ru/document/456026116>.

Таблица 3. Результаты валидации методик определения связывающих антител к пембролизумабу в сыворотке крови обезьян с использованием процедур мостикового ИФА и БСИ

Table 3. Results of validation of methods for the determination of binding antibodies to pembrolizumab in the monkeys blood serum by bridge ELISA and BLI procedures

Параметр Parameter	Уровень концентрации Concentration level	Критерий приемлемости Acceptance criteria	Мостиковый ИФА Bridging ELISA	БСИ BLI
Минимальное необходимое разведение Minimum required dilution	—	Не более 1:100, наименьшее разведение, до которого следует развести образец для оптимизации правильности и прецизионности Not more than 1:100, the lowest dilution to which the sample should be diluted to optimize accuracy and precision	1:10 (с учетом обработки раствором уксусной кислоты, дополнительное разведение не требуется) 1:10 (account the treatment with acetic acid solution, additional dilution is not required)	
Чувствительность (с учетом разбавления сыворотки) Sensitivity (including dilution of serum)	—	Не выше 500 нг/мл Not higher than 500 ng/ml	12,3 нг/мл 12.3 ng/ml	419,7 нг/мл 419.7 ng/ml
Селективность Selectivity	Бланк-сыворотка, НПКО Blank-serum LLOQ	Правильность должна находиться в пределах $\pm 25\%$ от номинальной концентрации по меньшей мере в 80 % изученных биологических образцов The accuracy should be within $\pm 25\%$ of the nominal concentration in at least 80 % of the studied biological samples	77,5–123 % для 82 % биологических образцов 77.5–123 % for 82 % of biological samples	88,5–119 % для 80 % биологических образцов 88.5–119 % for 80 % of biological samples
Калибровочный диапазон Calibration range	Калибровочные стандарты не менее чем 6 концентраций, не менее 3 серий Calibration standards of at least 6 concentrations, at least 3 runs	Коэффициент корреляции (r), отклонения экспериментально рассчитанных значений концентраций от номинальных не более 20 % (25 % для НПКО) для не менее чем 75 % стандартов Correlation coefficient (r), deviations of experimentally calculated concentration values from nominal values of no more than 20 % (25 % for LLOQ) for at least 75 % of standards	31,3–1000 нг/мл, $r = 0,9933–0,9991$, отклонения менее 20 % (25 % – для НПКО) для 79–100 % стандартов 31.3–1000 ng/ml, $r = 0.9933–0.9991$, deviations less than 20 % (25 % for LLOQ) for 79–100 % of standards	1560–25 000 нг/мл (780 – якорная концентрация), $r = 0,9952$, отклонения менее 20 % (25 % – для НПКО) для 85,7 % стандартов 1560–25 000 ng/ml (780 – anchor concentration), $r = 0.9952$, deviations less than 20 % (25 % for LLOQ) for 85.7 % of standards
Правильность в 1 цикле/между циклами, % Accuracy in 1 run/between runs, %	ВПКО ULOQ	80–120	89–115/102	98–104/–
	Высокий КК High QC	80–120	84–110/97	99–114/–
	Средний КК Medium QC	80–120	88–116/98	85–108/–
	Низкий КК Low QC	80–120	84–112/98	103–114/–
	НПКО LLOQ	75–125	76–114/95	79–108/–
Прецизионность в одном цикле/между циклами, % Precision in one run/between runs, %	ВПКО ULOQ	<20	0,7–11,4/6,1	5,5/–
	Высокий КК High QC	<20	4,0–12,5/8,3	4,8/–
	Средний КК Medium QC	<20	0,9–13,3/9,7	10,59/–
	Низкий КК Low QC	<20	7,4–15,2/11,3	3,9/–
	НПКО LLOQ	<25	10,2–18,6/14,4	13,95/–

Окончание табл. 3
End of table 3

Параметр Parameter	Уровень концентрации Concentration level	Критерий приемлемости Acceptance criteria	Мостиковый ИФА Bridging ELISA	БСИ BLI
Стабильность аналита в сыво- ротке крови при $t = 2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$, % (24 ч)/в условиях заморозки при $t \geq$ $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ (14 дней) Stability of the analyte in a matrix stored under $t = 2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$, % (24 h)/freezing conditions at $t \geq -78\text{ }^{\circ}\text{C}$ (14 days)	ВПКО ULOQ	80–120	105/115	—
	Высокий КК High QC	80–120	85/83	
	Средний КК Medium QC	80–120	102/88	
	Низкий КК Low QC	80–120	88/91	
	НПКО LLOQ	75–125	81/82	
Предел исключе- ния методики Cut-off	—	—	122 нг/мл 122 ng/ml	1560 нг/мл 1560 ng/ml

Примечание. Прочерк означает отсутствие данных, поскольку для метода БСИ проведена частичная валидация.
Note. Dash indicate the absence of data, because partial validation has been performed for the BLI procedure.

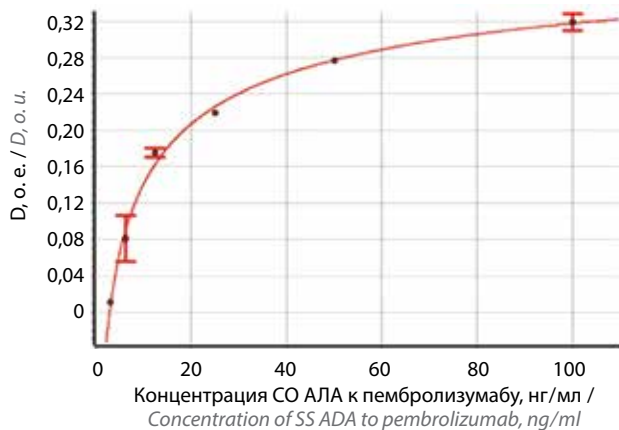


Рис. 1. Пример типичной калибровочной зависимости оптической плотности от концентрации стандартных образцов антилекарственных антител (СО АЛА) к RPH-075 (пембролизумабу) в сыворотке крови, полученной в ходе валидации методики мостикового иммуноферментного анализа (D – оптическая плотность калибровочных образцов после вычитания значений оптической плотности для бланка, о. е.)

Fig. 1. Example of a typical calibration curve of optical density on the concentration of standard samples of anti-drug antibodies (SS ADA) to RPH-075 (pembrolizumab) in blood serum obtained during the validation of the bridging enzyme-linked immunosorbent assay procedure (D is the optical density of calibration standards after subtracting the optical density values for the blank, o. u.)

для образцов контроля качества (см. табл. 3: параметры «НПКО», «низкий КК», «средний КК», «высокий КК», «ВПКО»), результаты оценки правильности и прецизионности для двух сравниваемых методов сопоставимы и соответствуют нормативным стандар-

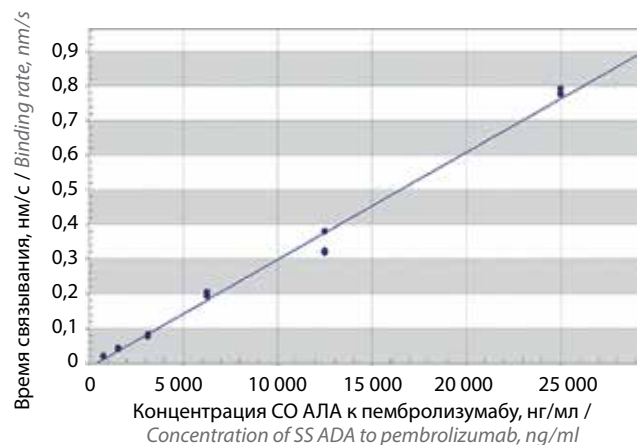


Рис. 2. Калибровочная зависимость изменения скорости связывания (нм/с) от концентрации стандартных образцов антилекарственных антител (СО АЛА) к пембролизумабу (мкг/мл), полученная методом биослойной интерферометрии

Fig. 2. Calibration curve of the change in the binding rate (nm/s) on the concentration standard samples of anti-drug antibodies (SS ADA) to pembrolizumab (ng/ml), obtained by the biolayer interferometry procedure

там. В ходе уточнения диапазона методики и проверки значения НПКО для метода БСИ по результатам анализа пула сывороток крови интактных обезьян концентрацию 780 нг/мл приняли за якорную; в дальнейшем ее учитывали при построении калибровочной зависимости, но для нее не оценивали правильность и прецизионность.

Методы также различаются типом аналитического сигнала (разница в оптических плотностях для двух

Таблица 4. Данные по оценке иммуногенности препаратов с пембролизумабом (международное непатентованное название) у яванских макак, полученные методами мостикового ИФА и БСИ, нг/мл (интерпретация данных с учетом предела исключения методики)

Table 4. Data of assessment the immunogenicity of drugs with pembrolizumab (International Nonproprietary Names) in *Macaca fascicularis* obtained by bridging ELISA and BLI procedures, ng/ml (interpretation of data taking into cut-off)

№ животного № of animal	Объект Object	Доза, мг/мл Dose, mg/ml	Данные по оценке иммуногенности Immunogenicity assessment data			
			до введения before administration	15-й 15 th	22-й 22 nd	29-й 29 th
1.1	Буферный раствор Buffer solution	–	–	–	–	–
1.2			–	–	–	–
1.3			–	–	–	–
1.4			–	–	–	–
1.5			–	–	–	–
1.6			–	–	–	–
2.1	Тестируемый препарат Test drug	30	–	–	–	–
2.2			–	–	–	–
2.3			–	266/1033*. **	294/838	162/820
2.4			–	–	–	–
2.5			–	–	–	–
2.6			–	204/–	231/–	195/–
3.1	Китруда® Keytruda®	30	–	–	–	–
3.2			–	–	–	–
3.3			–	–	–	–
3.4			–	–	–	–
3.5			–	201/–	131/–	139/–
3.6			–	250/–	161/–	191/–

*Если результаты, полученные двумя методами, не совпадали, перед косой чертой приведены данные для метода мостикового ИФА, после – для метода БСИ; **для метода БСИ приведенные концентрации ниже уровня нижнего предела количественного определения, но выше якорной концентрации.

Примечание. Проверк – концентрация связывающих антител к пембролизумабу данного животного ниже уровня предела исключения методики: 122 нг/мл для метода мостикового ИФА и 780 нг/мл – для метода БСИ.

*If the results, obtained by the two procedures do not match, data for the bridging ELISA procedure are shown before the slash, after – for the BLI procedure; **for the BLI procedure, are shown concentrations are below the lower limit of quantitative determination, but above the anchor concentration.

Note. Dash – concentration of binding antibodies to pemrolizumab of this animals is below the cut-off: 122 ng/ml for bridging ELISA procedure and 780 ng/ml for BLI procedure.

длин волн в случае ИФА и скоростью связывания – в случае БСИ) и характером калибровочной зависимости: 4-параметрическая модель обработки данных в случае мостикового ИФА (см. рис. 1) и линейная зависимость – для метода БСИ (см. рис. 2). Особенностью реализации мостикового ИФА является необходимость построения калибровочной зависимости в каждом цикле измерений (планшете), метод БСИ требует построения только одной зависимости для одной партии биосенсоров.

Для методики ИФА ПИМ был установлен на основании математической обработки результатов анализа сыворотки крови интактных животных, и его значение составило 122 нг/мл, а для методики БСИ этот подход оказался неприменим, поскольку все результаты были ниже НПКО. Вследствие этого за предел исключения была принята концентрация, соответствующая уровню НПКО (1560 нг/мл).

Таким образом, результаты валидационных испытаний позволяют считать обе методики пригодными

для оценки иммуногенности препаратов с пембролизумабом (МНН), но значительно более низкая чувствительность методики БСИ по сравнению с методикой ИФА может иметь решающее значение при анализе биологических препаратов с низкой иммуногенностью¹¹. Схожие закономерности в отношении чувствительности методов ИФА и БСИ для анализа иммуногенности различных МАТ показаны в работах [10, 11].

Анализ связывающих антител в сыворотке крови обезьян

Филогенетическое родство представителей отряда приматов делает обезьян релевантной моделью для доклинических исследований МАТ [12, 13]. Согласно данным литературы, пембролизумаб в равной степени взаимодействует с рецепторами PD-1 человека и *Macaca fascicularis* [14].

Результаты определения уровня САТ к пембролизумабу в сыворотке крови обезьян после повторного введения препаратов с пембролизумабом (МНН) с помощью методов мостикового ИФА и БСИ представлены в табл. 4.

На протяжении всего эксперимента методом ИФА у животных контрольной группы антитела к пембролизумабу, превышающие значения предела исключения, не обнаружены. При оценке иммуногенности методом БСИ у животных контрольной группы уровни САТ не превышали значения НПКО, который принят за ПИМ метода БСИ. Это подтверждает отсутствие перекрестно-реактивных или спонтанно возникающих антител к этому МАТ, а также указывает на низкий уровень неспецифического связывания реагентов, т. е. оба метода детектируют только индуцированные САТ, а не фоновые помехи.

Определение уровня САТ к пембролизумабу в сыворотке крови обезьян после многократного введения лекарственных препаратов с пембролизумабом (МНН) методом ИФА позволило выявить иммуногенность у 4 из 12 животных, получавших исследуемые препараты (см. табл. 4). При анализе проб методом БСИ увеличение количества САТ после введения пембролизумаба обнаружено только у 1 животного: от 0 нг/мл (фоновый уровень до введения препарата) до 820–

1033 нг/мл (после введения). Полученные значения выше уровня наименьшего калибратора (780 нг/мл), но меньше уровня НПКО, который принят за предел исключения данного метода, поэтому данный образец признан отрицательным. Полученные в исследовании результаты подтверждают потенциальную иммуногенность пембролизумаба при многократном введении приматам в дозе, десятикратно превышающей терапевтическую. Обнаружение САТ у ограниченного числа животных согласуются с опубликованными данными доклинических и клинических исследований; частота индукции САТ к пембролизумабу у человека невелика и не оказывает клинически значимого влияния на эффективность или безопасность терапии¹² [14–16].

Заключение

По результатам разработки и валидации методики количественной оценки содержания САТ к пембролизумабу в сыворотке крови яванских макаков методом мостикового ИФА в сравнении с результатами разработки и частичной валидации аналогичной методики с применением БСИ выявлено, что большей чувствительностью обладает первый метод – ИФА (12,3 и 419,7 нг/мл соответственно). По показателям правильности и прецизионности получены сопоставимые результаты, соответствующие требованиям нормативных документов.

Несмотря на преимущества метода БСИ, связанные с высокой скоростью проведения анализа (от момента начала пробоподготовки до получения результата проходит не более 50–60 мин) и лучшей специфичностью метода, для оценки иммуногенности лекарственных препаратов с пембролизумабом (международное непатентованное или группировочное наименование) можно рекомендовать применение более чувствительного метода мостикового ИФА.

Таким образом, мостиковый вариант ИФА является методом выбора при оценке иммуногенности для препаратов с неизвестной или предполагаемой низкой иммуногенностью. Метод БСИ можно использовать для препаратов с ожидаемой высокой иммуногенностью.

¹¹FDA. Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products – Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection.

URL: <https://www.fda.gov/media/119788/download>.

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

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

- Pineda C., Castaneda H.G., Jacobs I.A. et al. Assessing the immunogenicity of biopharmaceutical. *BioDrugs* 2016;30(3):195–206. DOI: 10.1007/s40259-016-0174-5
- Hosseini S., Vázquez-Villegas P., Rito-Palomares M., Martínez-Chapa S.O. Advantages, disadvantages and modifications of conventional ELISA. Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA), SpringerBriefs in Forensic and Medical Bioinformatics. Singapore: Springer, 2018. P. 67–115. DOI: 10.1007/978-981-10-6766-2_5
- Choo S.; ForteBio. Converting an ELISA Assay into an Octet Quantitation Assay. Application Note. Sartorius, 2022. URL: <https://www.sartorius.com/download/756478/converting-elisa-assay-into-octet-quantitation-assay-application-note-en-sartorius-data.pdf>.
- Peters S., Kerr K.M., Stahel R. PD-1 blockade in advanced NSCLC: a focus on pembrolizumab. *Cancer Treat Rev* 2018;62:39–49. DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.10.002
- Al Hadidi S.A., Lee H.J. Pembrolizumab for the treatment of Hodgkin lymphoma. *Expert Opin Biol Ther* 2020;20(11):1275–82. DOI: 10.1080/14712598.2020.1830056
- Yamamoto S., Kato K. Pembrolizumab for the treatment of esophageal cancer. *Expert Opin Biol Ther* 2020;20(10):1143–50. DOI: 10.1080/14712598.2020.1792881
- Косман В.М., Карлина М.В., Барыбина Т.Н. и др. Сравнительное изучение фармакокинетики препаратов пембролизумаба при однократном внутривенном введении яванским макакам. *Российский биотерапевтический журнал* 2024;23(4):49–60. DOI: 10.17650/1726-9784-2024-23-4-49-60
Kosman V.M., Karlina M.V., Barybina T.N. et al. Comparative pharmacokinetics of pembrolizumab after single intravenous administration to *Macaca fascicularis*. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2024;23(4):49–60. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2024-23-4-49-60
- Watanabe T., Kiso M., Fukuyama S. et al. Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans. *Nature* 2013;501(7468):551–5. DOI: 10.1038/nature12392
- Laurén A., Goodman J., Blaes J. et al. A strategic approach to nonclinical immunogenicity assessment: a recommendation from the European Bioanalysis Forum. *Bioanalysis* 2021;(7):537–49. DOI: 10.4155/bio-2021-0028
- Li J., Schantz A., Schwegler M., Shankar G. Detection of low-affinity anti-drug antibodies and improved drug tolerance in immunogenicity testing by Octet® biolayer interferometry. *J Pharm Biomed Anal* 2011;54(2):286–94. DOI: 10.1016/j.jpba.2010.08.022
- Markwalter C.F., Jang I.K., Burton R.A. et al. Biolayer interferometry predicts ELISA performance of monoclonal antibody pairs for *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2. *Anal Biochem* 2017;534:10–3. DOI: 10.1016/j.ab.2017.07.010
- van Meer P.J., Kooijman M., Brinks V. et al. Immunogenicity of mAbs in non-human primates during nonclinical safety assessment. *MAbs* 2013;5(5):810–6. DOI: 10.4161/mabs.25234
- Brinks V., Jiskoot W., Schellekens H. Immunogenicity of therapeutic proteins: the use of animal models. *Pharm Res* 2011;28(10):2379–85. DOI: 10.1007/s11095-011-0523-5
- Hutchins B., Starling G.C., McCoy M.A. et al. Biophysical and immunological characterization and *in vivo* pharmacokinetics and toxicology in nonhuman primates of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab. *Mol Cancer Ther* 2020;19(6):1298–307. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-19-0774
- Самойленко И.В., Покатаев И.А., Жукова Л.Г. и др. Исследование фармакокинетики, фармакодинамики и безопасности биоаналога пембролизумаба RPH-075 в сравнении с препаратом Китруда® у пациентов со злокачественными новообразованиями. *Злокачественные опухоли* 2024;14(1):56–66. DOI: 10.18027/2224-5057-2024-14-1-56-66
Samoylenko I.V., Pokataev I.A., Zhukova L.G. et al. Study of the pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of the biosimilar pembrolizumab RPH-075 compared to Keytruda® in patients with malignant neoplasms. *Zlokachestvennyye opukholy = Malignant Tumours* 2024;14(1):56–66. (In Russ.). DOI: 10.18027/2224-5057-2024-14-1-56-66
- van Vugt M.J.H., Stone J.A., De Greef R.H.J.M.M. et al. Immunogenicity of pembrolizumab in patients with advanced tumors. *J Immunother Cancer* 2019;7(1):212. DOI: 10.1186/s40425-019-0663-4

Вклад авторов

В.С. Чернышенко: подготовка публикации, экспериментальная работа методом биослойной интерферометрии;
 Н.М. Фаустова: идея сравнения методов, курирование валидации методик и анализа биопроб;
 В.М. Косман, М.В. Карлина: обсуждение результатов, концепция публикации, редактирование текста рукописи и иллюстраций;
 А.Ю. Романенко: экспериментальная работа методом мостикового иммуноферментного анализа;
 М.Н. Макарова: критический пересмотр публикации и иллюстраций;
 В.Г. Макаров: утверждение финального текста статьи;
 А.А. Дмитриева, М.Г. Чернобровкин, В.А. Постникова: обсуждение результатов исследования, редактирование текста рукописи;
 Е.В. Шипаева: координация исследования, редактирование текста рукописи;
 О.В. Филон, М.Ю. Самсонов: планирование и организация исследований, редактирование текста рукописи;
 В.Г. Игнатьев: утверждение финального текста статьи.

Author's contributions

V.S. Chernyshenko: publication preparation, experimental work by the method of biolayer interferometry;
 N.M. Faustova: the idea of methods comparing, supervising the validation of methods and analysis of bioassays;
 V.M. Kosman, M.V. Karlina: discussion of results, publication concept, editing of manuscript text and illustrations;
 A.Yu. Romanenko: experimental work by the method of bridge enzyme-linked immunosorbent assay;
 M.N. Makarova: critical revision of the publication and illustrations;
 V.G. Makarov: approval of the final article text;
 A.A. Dmitrieva, M.G. Chernobrovkin, V.A. Postnikova: discussion of the study results, editing of the manuscript text;
 E.V. Shipaeva: study coordination, manuscript text editing;
 O.V. Filon, M.Yu. Samsonov: research planning and organization, manuscript text editing;
 V.G. Ignatiev: approval of the final article text.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.С. Чернышенко / V.S. Chernyshenko: <https://orcid.org/0009-0003-3246-3771>

Н.М. Фаустова / N.M. Faustova: <https://orcid.org/0000-0002-6866-5741>

В.М. Косман / V.M. Kosman: <https://orcid.org/0000-0001-9690-1935>

М.В. Карлина / M.V. Karlina: <https://orcid.org/0000-0002-6292-8934>

А.Ю. Романенко / A.Yu. Romanenko: <https://orcid.org/0009-0005-7026-9245>

М.Н. Макарова / M.N. Makarova: <https://orcid.org/0000-0003-3176-6386>

В.Г. Макаров / V.G. Makarov: <https://orcid.org/0000-0002-2447-7888>

А.А. Дмитриева / A.A. Dmitrieva: <https://orcid.org/0000-0003-4743-6189>

Е.В. Шипаева / E.V. Shipaeva: <https://orcid.org/0000-0002-5953-984X>

М.Г. Чернобровкин / M.G. Chernobrovkin: <https://orcid.org/0000-0003-4909-598X>

В.А. Постникова / V.A. Postnikova: <https://orcid.org/0009-0007-7505-5734>

О.В. Филон / O.V. Filon: <https://orcid.org/0000-0002-8735-7429>

М.Ю. Самсонов / M.Yu. Samsonov: <https://orcid.org/0000-0003-2685-1623>

В.Г. Игнатъев / V.G. Ignatiev: <https://orcid.org/0000-0003-2818-6583>

Конфликт интересов. Существует потенциальный конфликт интересов в силу финансирования данной научной работы компанией АО «Р-Фарм» (Россия). Однако при написании статьи авторы руководствовались соображениями научной ценности полученного материала и заявляют о беспристрастности оценки полученных данных.

Conflict of interest. There is a potential conflict of interest due to the financial support of this study by JSC “R-Pharm” (Russia). However, when writing the article, the authors were guided by considerations of the scientific value of the material obtained; the authors declare their impartiality in its assessment.

Финансирование. Работа выполнена без государственного бюджетного финансирования при финансовой поддержке АО «Р-Фарм» (Россия).

Funding. The study received no government budget funding; the work was supported by JSC “R-Pharm” (Russia).

Соблюдение правил биоэтики. Все исследования были выполнены в соответствии с рекомендациями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Проведение исследований было одобрено на заседании биоэтической комиссии АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ»» (протокол заседания № 1.34/22 от 29.07.2022).

Compliance with principles of bioethics. All the experiments were performed according to the recommendations of Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of European Union 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes. The study was approved by the Bioethics Committee of the research-and-manufacturing company “HOME OF PHARMACY” (Approval No. 1.34/22 of 29.07.2022).

Статья поступила: 31.07.2025. Принята к публикации: 10.02.2026. Опубликовано онлайн: 30.04.2026.

Article submitted: 31.07.2025. Accepted for publication: 10.02.2026. Published online: 30.04.2026.

Изучение острой токсичности нитратов γ -циклодекстрина в экспериментах *in vivo*

Ю.М. Михайлов, А.В. Даровских, А.В. Смолина, Е.Н. Климанова, Т.Е. Сашенкова, Д.А. Поletaева, М.И. Ворожейкин, И.И. Файнгольд

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН»; Россия, 142432 Московская область, Черноголовка, пр-кт Академика Семенова, 1

Контакты: Анна Владимировна Даровских avd@icp.ac.ru

Введение. Циклодекстрины и их отдельные производные, которые способны образовывать комплексы включения с труднорастворимыми физиологически активными соединениями и благодаря этому повышать их растворимость в воде и замедлять их метаболизм, находят применение как носители лекарственных препаратов различного назначения. Ранее нитраты циклодекстрина (НЦД) были впервые предложены нами в этих же целях, так как они, являясь органическими нитратами, могут служить источником экзогенного оксида азота, обеспечивая дополнительный и самостоятельный терапевтический эффекты. Установлено, что комплексы на основе НЦД проявляют синергетическую антиоксидантную активность. Оценка безопасности применения на животных собственно индивидуальных водорастворимых НЦД, и в частности γ -НЦД, является необходимым этапом исследования их биологической эффективности.

Цель исследования – определение токсического действия водорастворимых γ -НЦД при различном содержании нитратных групп в молекуле в остром эксперименте на мышах при однократном внутрибрюшинном введении.

Материалы и методы. Исследования проводили на здоровых самцах мышей-гибридов 1-го поколения BDF₁ (C57Bl/6J × DBA/2). Водные растворы низконитрованных γ -НЦД с содержанием азота 2,02 % (1), 1,44 % (2) и 0,84 % (3) вводили внутрибрюшинно в диапазоне доз 200–600, 700–900 и 900–1300 мг/кг соответственно. Регистрировали клинические признаки интоксикации животных, летальность, изменение массы тела мышей, потребление корма и воды в течение 14 дней, проводили макроскопическое исследование внутренних органов павших или эвтаназированных особей по окончании эксперимента.

Результаты. Изучена острая токсичность γ -НЦД 1–3 в опыте при однократном внутрибрюшинном введении лабораторным животным в диапазоне доз 300–600, 750–900 и 1000–1300 мг/кг соответственно. Установлена величина ЛД₅₀ (полулетальной дозы): для γ -НЦД 1 она составила 415 ± 33 мг/кг, для γ -НЦД 2 – 800 ± 18 мг/кг, для γ -НЦД 3 – 1115 ± 33 мг/кг. Результаты исследования острой токсичности позволяют отнести γ -НЦД 1 и γ -НЦД 2 к IV классу токсичности (малотоксичные вещества), γ -НЦД 3 – к V классу токсичности (практически нетоксично). Гамма-циклодекстрин при однократном внутрибрюшинном введении в дозах >3000 мг/кг не обладает токсическим эффектом и может быть отнесен к VI классу токсичности (относительно безвредно).

Заключение. Впервые установлены уровни токсических доз при остром введении мышам водорастворимых низконитрованных γ -НЦД с содержанием азота от 0,84 до 2,02 %. Полученные результаты позволяют рекомендовать исследуемые соединения для дальнейших исследований.

Ключевые слова: нитраты γ -циклодекстрина, острая токсичность, мыши

Для цитирования: Михайлов Ю. М., Даровских А. В., Смолина А. В. и др. Изучение острой токсичности нитратов γ -циклодекстрина в экспериментах *in vivo*. Российский биотерапевтический журнал 2026;25(1):84–93.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-84-93>

Study of acute toxicity of γ -cyclodextrin nitrates *in vivo*

Yurii M. Mikhailov, Anna V. Darovskikh, Anastasia V. Smolina, Elena N. Klimanova, Tatyana E. Sashenkova, Darya A. Poletaeva, Mikhail I. Vorozheikin, Irina I. Faingold

Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry, Russian Academy of Sciences; 1 Akademika Semenova Prospekt, Chernogolovka, Moscow region 142432, Russia

Contacts: Anna Vladimirovna Darovskikh avd@icp.ac.ru

Background. Cyclodextrins and their individual derivatives capable of forming inclusion complexes with poorly soluble physiologically active compounds, increasing their solubility in water and slowing down their metabolism, are used as carriers of various drugs. Previously, cyclodextrin nitrates (NCD) were first proposed by us for these purposes: being organic nitrates, they can serve as a source of exogenous nitric oxide and provide an additional and independent therapeutic effect. It was found that complexes based on them exhibit synergistic antioxidant activity. A necessary stage in the study of the biological effectiveness of water-soluble NCDs, in particular, γ -NCDs, is the assessment of the safety of their use in animals.

Aim. To determine the toxic effect of water-soluble γ -NCD depending on the content of nitrate groups in an acute experiment on mice with a single intraperitoneal administration.

Materials and methods. The studies were conducted on healthy male BDF₁ hybrid mice. Aqueous solutions of low-nitrated γ -NCD with nitrogen content of 2.02 % (1), 1.44 % (2) and 0.84 % (3) were administered intraperitoneally at doses of 200–600, 700–900 and 900–1300 mg/kg, respectively. Clinical signs of animal intoxication, mortality, changes in body weight, food and water consumption have been recorded for 14 days, and macroscopic examination of the internal organs of dead animals was carried out.

Results. The acute toxicity of γ -NCD 1–3 was studied experimentally with a single intraperitoneal injection to laboratory animals in the dose range of 300–600, 750–900 and 1000–1300 mg/kg, respectively. The LD₅₀ value was established: for γ -NCD 1 it was 415 ± 33 mg/kg, for γ -NCD 2 – 800 ± 18 mg/kg, for γ -NCD 3 – 1115 ± 33 mg/kg. The results of the acute toxicity study make it possible to classify γ -NCD 1 and γ -NCD 2 to the class IV of toxicity (low-toxic substances); γ -NCD 3 to the class V of toxicity (practically nontoxic). γ -CD (gamma-cyclodextrin) with a single intraperitoneal injection in doses of 3000 mg/kg, it has no toxic effect and can be classified as toxicity class VI (relatively harmless).

Conclusion. For the first time, toxic dose levels of water-soluble low-nitrated γ -NCDs with nitrogen content from 0.84 to 2.02 % have been established, which allows them to be recommended for further research.

Keywords: γ -cyclodextrin nitrates, acute toxicity, mice

For citation: Mikhailov Yu.M., Darovskikh A.V., Smolina A.V. et al. Study of acute toxicity of γ -cyclodextrin nitrates *in vivo*. Rossijskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy 2026;25(1):84–93. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2026-25-1-84-93>

Введение

Циклодекстрины (ЦД) – циклические олигомеры глюкозы, содержащие различное количество глюкопиранозных фрагментов, соединенных между собой α -1–4-гликозидной связью. ЦД и некоторые их производные находят широкое применение как перспективные носители лекарственных препаратов, способные замедлить метаболизм, а также обеспечить повышение растворимости в воде таких физиологически активных субстанций, растворимость которых в индивидуальном состоянии ограничена [1].

Возможность использования водорастворимых низконитрованных γ -ЦД (гамма-циклодекстринов) для формирования комплексов «гость–хозяин» впервые показана на примере антиангинальных лекарственных веществ 2-[(3-пиридинилкарбонил)-амино]этилнитрата (никорандила) и 1,4:3,6-диангидро-D-глюцита 5-нитрата (изосорбидмононитрата) [2], что в дальнейшем позволило применить полученные знания для получения композиций с конъюгатом тетрагидрокарбазола и аминоксантамина [3] – перспективным препаратом для лечения нейродегенеративных заболеваний. При этом предполагалось, что нитраты ЦД сохраняют все перечисленные достоинства ЦД и их уже используемых производных и смогут привнести дополнительный терапевтический эффект для лекарст-

венных препаратов на их основе, поскольку они как типичные представители класса органических нитратов являются потенциальными донорами экзогенного оксида азота [4, 5].

В работе Ю.М. Михайлова и соавт. изучено влияние нитратов циклодекстринов (НЦД) на ключевые биологические системы и процессы [6]. Вместе с тем необходимым и важным этапом для исследования биологической эффективности композиций, основанных на водорастворимых нитратах ЦД, является оценка безопасности исходных низконитрованных продуктов на животных.

Цель настоящего исследования – определение токсического действия водорастворимых γ -НЦД при различном содержании нитратных групп в молекуле в остром эксперименте на мышах при однократном внутрибрюшинном введении.

Материалы и методы

Получение и характеристика γ -НЦД

В качестве объектов исследования служили γ -ЦД и его низконитрованные производные, полученные по описанной Ю.М. Михайловым и соавт. методике [2, 3]. В работе использованы коммерчески доступные реагенты (Sigma-Aldrich, США) и растворители без дополнительной очистки. Для получения исследуемых

соединений к расчетному количеству азотной кислоты с заданной концентрацией при температуре 0–5 °С присыпали расчетную навеску γ -ЦД. После полного растворения γ -ЦД реакционную массу выдерживали при необходимой температуре требуемое время, после чего сливали массу в воду со льдом. Водорастворимые НЦД высаживали с помощью ацетона, после чего полученное вещество обрабатывали до нейтральной реакции и сушили до постоянной массы при температуре 60 °С и остаточном вакууме 1 мм рт. ст.

Содержание нитратных групп определяли методом потенциометрического ферросульфатного титрования по соответствующей методике [7] с помощью автоматического титратора АТП-02 («Аквилон НПК», Россия). Вероятнее всего, исследуемые продукты представляют собой смесь изомеров, в которых нитратные группы распределены по молекуле циклодекстрина произвольным образом, т. е. нет точной информации о взаимном расположении нитратных групп относительно друг друга. Количество замещенных групп рассчитывали на основании данных по определению нитратного азота путем потенциометрического ферросульфатного титрования. Полученные значения указывают на общее содержание нитратного азота в процентах, после чего нами рассчитано количество замещенных гидроксильных групп (табл. 1).

Животные

Исследования проводили с соблюдением принципов гуманного обращения с животными в соответствии с национальными и международными стандартами [8]. Эксперименты одобрены этическим комитетом Федерального исследовательского центра проблем химической физики и медицинской химии Российской академии наук (ФИЦ ПХФ и МХ РАН) (протокол № 87 от 26.12.2023).

Здоровые самцы ($n = 75$) мышей-гибридов 1-го поколения BDF₁ (C57Bl/6J × DBA/2) получены из питомника ФИЦ ПХФ и МХ РАН. Масса тела мышей на начало исследования составляла 21–24 г. Животных содержали в стандартных лабораторных условиях при температуре 22 ± 2 °С и относительной влажности воздуха 60–70 % в нормальном световом цикле (12 ч света/12 ч темноты). Мыши находились на стандартной сбалансированной диете с использованием экструдированного комбикорма для содержания мелких лабораторных грызунов «ЧАРА» («Ассортимент-Агро», Россия) и получали чистую питьевую воду.

Исследования *in vivo*

Перед началом исследования острой токсичности сформировано 15 опытных групп мышей и 1 контрольная группа (по 5 особей в каждой). Водные растворы γ -НЦД 1–3 вводили однократно внутрибрюшинно в диапазоне доз 200–600, 700–900 и 900–1300 мг/кг соответственно в объеме, который определяли индивидуально в зависимости от массы тела каждой особи. Выбор доз основан на результатах, полученных в предварительных экспериментах. Для растворения γ -НЦД использовали воду для инъекций. Контрольным животным вводили физиологический раствор внутрибрюшинно в аналогичном режиме введения, как и опытным животным.

В 1-й день эксперимента животные находились под наблюдением в течение 2 ч после введения γ -НЦД. Далее проверку состояния животных и регистрацию их гибели проводили каждый день в течение 14 дней. Регистрировали клинические признаки интоксикации, изменение массы тела мышей, потребление ими корма и воды, гибель животных от токсичности, сроки их гибели. Взвешивание животных осуществляли на весах Ohaus Pioneer (PA) (Ohaus

Таблица 1. Характеристика исследуемых соединений

Table 1. Characteristics of the tested compounds

Название соединения Compounds	Содержание азота, % Nitrogen content, %	Брутто-формула Molecular formula	Молекулярная масса Molecular weight
γ -ЦД γ -CD	0	$C_{48}H_{56}O_{16}(OH)_{24}$	1287
γ -НЦД 1 γ -NCD 1	2,02	$C_{48}H_{56}O_{16}(OH)_{22}(ONO_2)_2$	1382
γ -НЦД 2 γ -NCD 2	1,44	$C_{48}H_{56}O_{16}(OH)_{22,6}(ONO_2)_{1,4}$	1356
γ -НЦД 3 γ -NCD 3	0,84	$C_{48}H_{56}O_{16}(OH)_{23,2}(ONO_2)_{0,8}$	1330

Примечание. Здесь и в табл. 2–6: γ -ЦД – гамма-циклодекстрин; γ -НЦД 1–3 – гамма-нитраты циклодекстрина 1–3.
Note. Here and in Tables 2–6: γ -CD – gamma-cyclodextrin; γ -NCD 1–3 – gamma-nitrates of cyclodextrin 1–3.

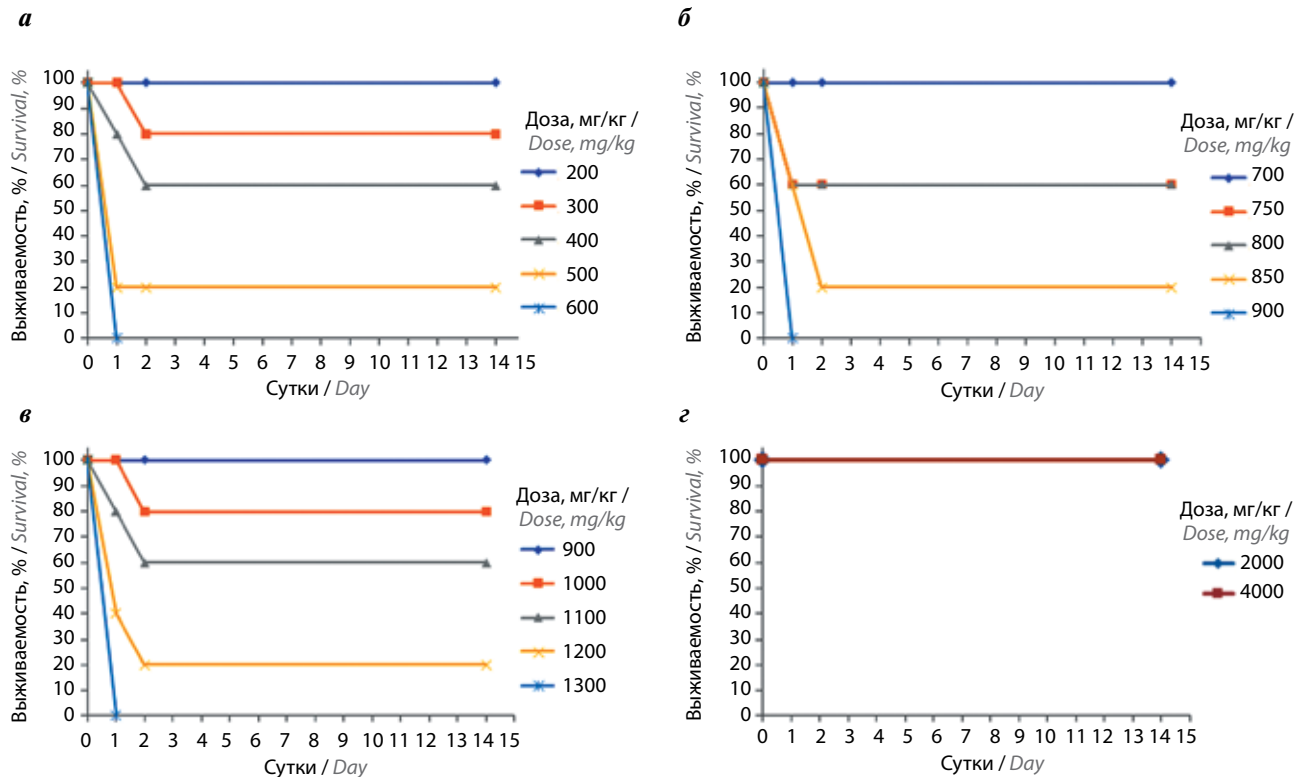


Рис. 1. Выживаемость мышей при изучении острой токсичности γ -НЦД и γ -ЦД после внутривентриального введения в разных дозах (а–г) (кривая Каплана–Мейера). γ -НЦД 1–3 – гамма-нитраты циклодекстрина 1–3; γ -ЦД – гамма-циклодекстрин

Fig. 1. Survival rate of mice in the study of acute toxicity of γ -NCD and γ -CD after intraperitoneal administration at different doses (a–г) (Kaplan–Meier curve). γ -NCD 1–3 – gamma-nitrates of cyclodextrin 1–3; γ -CD – gamma-cyclodextrin

Corporation, США) до введения γ -НЦД (фон), а также на 1, 3, 5, 9, 13-е сутки после их введения. Потребление корма и воды оценивали на 1, 3, 5, 9 и 13-е сутки наблюдения.

Для оценки повреждающего действия γ -НЦД на внутренние органы и ткани каждое павшее или эвтаназированное разрезанием шейных позвонков по окончании эксперимента животное подвергнуто аутопсии с последующим макроскопическим исследованием. У мышей изымали печень, почки, селезенку, легкие и сердце, которые затем взвешивали для последующего расчета их массовых коэффициентов.

В качестве значимых параметров при изучении острой токсичности каждого исследуемого соединения использовали оценку расчетных токсических доз: летальных доз (ЛД) – ЛД₁₀ (максимально переносимая доза), ЛД₁₆, ЛД₅₀, ЛД₈₄, ЛД₁₀₀ при однократном внутривентриальном введении по методу Беренса [9–11].

Статистическая обработка. Для проведения статистического анализа использовали компьютерную программу Microsoft Office Excel (Microsoft Corporation, США). Для всех количественных значений вычисляли ($M \pm m$) групповое среднее арифметическое (M) и его ошибку (m), которые представлены в таблицах. В качестве параметрического инструмен-

тария использовали t -критерий Стьюдента. Статистически значимые отличия определяли при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

При изучении острой токсичности на мышах при однократном внутривентриальном введении соединений γ -НЦД 1 в дозе 200 мг/кг; γ -НЦД 2 в дозе 700 мг/кг; γ -НЦД 3 в дозе 900 мг/кг гибели животных не выявлено, клинические признаки интоксикации отсутствовали (рис. 1, а–в, табл. 2). Мыши были активны, такие параметры, как поведение, дыхание, тактильные раздражители, потребление корма и воды, а также масса тела животных, во всех группах были в пределах нормы. При введении γ -НЦД 1 мышам в дозах 300, 400, 500, 600 мг/кг, γ -НЦД 2 – в дозах 750, 800, 850, 900 мг/кг, γ -НЦД 3 – в дозах 1000, 1100, 1200, 1300 мг/кг гибель животных наблюдали на 1–2-е сутки. Доля павших животных указана в табл. 2. После введения соединений, содержащих нитратные группы, в высоких дозах у мышей отмечали резкое повышение двигательной активности в течение первых 5 мин, которая сменялась общим угнетенным состоянием, нарушением координации движения, снижением двигательной активности. Гибель мышей наступала на фоне выраженной гиподинамии.

У выживших животных общее состояние и поведение нормализовались на 2–4-е сутки после введения γ -НЦД, и они соответствовали аналогичным показателям у животных контрольной группы. Картина интоксикации была одинакова для всех исследуемых соединений.

На основании полученных результатов рассчитаны токсические дозы γ -НЦД при однократном внутрибрюшинном введении мышам BDF_1 (табл. 3). Значение LD_{50} для соединения γ -НЦД 3 выше в 2,7 и 1,4 раза по сравнению с γ -НЦД 1 и γ -НЦД 2 соответственно. Таким образом, γ -НЦД 1 и γ -НЦД 2 при однократном внутрибрюшинном введении мышам являются малотоксичными веществами и относятся к IV классу токсичности по классификации токсичности веществ при парентеральных способах введения К.К. Сидорова [12], γ -НЦД 3 – практически нетоксичным веществом и относится к V классу токсичности.

Для сравнения изучили острую токсичность γ -ЦД и показали, что его однократное внутрибрюшинное введение в дозах 2000 и 4000 мг/кг не вызывает гибели

животных (см. рис. 1, з). После введения γ -ЦД клинические признаки интоксикации отсутствовали в течение всего срока наблюдения за животными (14 сут).

Динамика изменения массы тела мышей после однократного внутрибрюшинного введения γ -НЦД представлена в табл. 4. Показано умеренное снижение массы тела на 1-е – 3-и сутки после введения соединений γ -НЦД 1–3. Так, в группах с введением γ -НЦД 1 снижение массы тела составило от 4 до 10 %, для соединения γ -НЦД 2 – от 9 до 15 %, а для соединения γ -НЦД 3 – на 10–15 % по сравнению с исходным весом животных. Во всех группах начиная с 3–5-х суток отмечена положительная динамика к восстановлению массы тела животных к 14-м суткам наблюдения. Отрицательная динамика прироста массы тела была обусловлена снижением потребления корма в течение 1–3-х суток после введения γ -НЦД (табл. 5).

При аутопсии и макроскопическом исследовании внутренних органов и тканей мышей, получавших внутрибрюшинно γ -ЦД в дозах, равных 2000 и 4000 мг/кг,

Таблица 2. Токсичность γ -НЦД при однократном внутрибрюшинном введении мышам BDF_1

Table 2. Toxicity of γ -NCD after a single intraperitoneal administration to BDF_1 mice

Исследуемое соединение Tested compound	Доза, мг/кг Dose, mg/kg	Гибель животных от токсичности Animal death from toxicity		
		всеобщее количество/пало, абс. total animals/died animals, abs.	павшие животные, % dead animals, %	срок гибели, сут time of death, day
γ -НЦД 1 γ -NCD 1	200	5/0	0	–
	300	5/1	20	2
	400	5/2	40	1, 2
	500	5/4	80	1, 1, 1, 1
	600	5/5	100	1, 1, 1, 1, 1
γ -НЦД 2 γ -NCD 2	700	5/0	0	–
	750	5/2	40	2, 2
	800	5/2	40	2, 2
	850	5/4	80	1, 1, 2, 2
	900	5/5	100	1, 1, 1, 1, 1
γ -НЦД 3 γ -NCD 3	900	5/0	0	–
	1000	5/1	20	2
	1100	5/2	40	1, 2
	1200	5/4	80	1, 1, 1, 2
	1300	5/5	100	1, 1, 1, 1, 1
Контрольная группа Control group	0	5/0	0	–

Таблица 3. Параметры острой токсичности γ -НЦД при однократном внутривнутрибрюшинном введении мышам BDF_1 Table 3. Parameters of acute toxicity of γ -NCD after a single intraperitoneal administration to BDF_1 mice

Исследуемое соединение Tested compound	Расчетная токсическая доза, мг/кг Estimated toxic dose, mg/kg				
	ЛД ₁₀ (МПД) LD ₁₀ (MTD)	ЛД ₁₆ LD ₁₆	ЛД ₅₀ LD ₅₀	ЛД ₈₄ LD ₈₄	ЛД ₁₀₀ LD ₁₀₀
γ -НЦД 1 γ -NCD 1	290 ± 10	320 ± 14	415 ± 33	490 ± 28	527 ± 18
γ -НЦД 2 γ -NCD 2	725 ± 15	735 ± 12	800 ± 18	840 ± 16	860 ± 10
γ -НЦД 3 γ -NCD 3	995 ± 24	1020 ± 21	1115 ± 33	1185 ± 23	1220 ± 28

Примечание. ЛД – летальная доза; МПД – максимально переносимая доза.

Note. LD – lethal dose; MTD – maximum tolerated dose.

Таблица 4. Динамика изменения массы тела мышей после однократного внутривнутрибрюшинного введения γ -НЦД ($M \pm m$)Table 4. Dynamics of changes in body weight of mice after a single intraperitoneal administration of γ -NCD ($M \pm m$)

Доза соединения, мг/кг Dose, mg/kg	Фон (0), нг/мл Background (0), ng/ml	Масса тела мышей после введения соединения, г Bodyweight, g				
		1-е сутки 1 st day	3-е сутки 3 rd day	5-е сутки 5 th day	9-е сутки 9 th day	13-е сутки 13 th day
γ-ЦД γ -CD						
2000	20,28 ± 0,54	20,31 ± 1,16	20,65 ± 1,11	20,98 ± 0,89	21,58 ± 0,54	21,54 ± 0,63
4000	21,15 ± 0,28	21,16 ± 0,76	21,61 ± 1,49	21,88 ± 1,28	22,19 ± 0,98	22,53 ± 0,84
γ-НЦД 1 γ -NCD 1						
200	22,40 ± 0,88	20,85 ± 0,67	21,29 ± 0,76	22,13 ± 1,74	22,71 ± 1,45	23,49 ± 1,58
300	25,03 ± 0,77	22,72 ± 1,71	24,67 ± 1,46	25,16 ± 0,76	26,77 ± 0,93	26,93 ± 0,68
400	22,52 ± 0,70	20,38 ± 0,63	19,80 ± 0,08	21,83 ± 1,21	23,48 ± 0,63	24,24 ± 0,33
500	22,15 ± 0,34	21,18*	21,45*	21,89*	22,14*	22,43*
600	23,35 ± 0,29	—**	—**	—**	—**	—**
γ-НЦД 2 γ -NCD 2						
700	22,63 ± 0,24	20,81 ± 0,53	21,44 ± 0,71	22,39 ± 0,62	23,41 ± 0,24	23,12 ± 0,38
750	22,80 ± 0,70	20,78 ± 0,38	20,84 ± 0,27	21,49 ± 0,43	23,41 ± 1,32	23,51 ± 1,06
800	23,12 ± 0,38	21,33 ± 0,93	20,36 ± 2,50	21,88 ± 1,69	23,24 ± 0,60	24,19 ± 0,39
850	23,56 ± 0,49	22,12 ± 0,93	20,56*	20,93*	21,77*	22,88*
900	21,99 ± 0,21	—**	—**	—**	—**	—**
γ-НЦД 3 γ -NCD 3						
900	22,80 ± 0,70	20,78 ± 0,38	21,21 ± 0,51	22,34 ± 1,09	23,29 ± 1,15	23,40 ± 1,41
1000	23,05 ± 0,31	20,86 ± 0,48	19,51 ± 1,24	20,71 ± 1,71	23,15 ± 0,38	23,76 ± 0,29

Окончание табл. 4
End of table 4

Доза соединения, мг/кг Dose, mg/kg	Фон (0), нг/мл Background (0), ng/ml	Масса тела мышей после введения соединения, г Bodyweight, g				
		1-е сутки 1 st day	3-е сутки 3 rd day	5-е сутки 5 th day	9-е сутки 9 th day	13-е сутки 13 th day
1100	23,09 ± 0,29	21,05 ± 0,48	18,63 ± 0,16	19,99 ± 0,76	20,92 ± 0,64	23,38 ± 1,02
1200	23,02 ± 1,21	21,54 ± 0,59	20,02*	20,56*	20,94*	21,53*
1300	23,77 ± 0,59	—**	—**	—**	—**	—**
Контрольная группа Control group						
Отсутствует Absence of the phenomenon	22,47 ± 0,82	22,51 ± 0,64	22,58 ± 0,86	23,03 ± 0,81	23,44 ± 0,80	23,96 ± 0,31
*Недостаточное число животных для статистической обработки; **все животные в данной группе погибли. *Insufficient number of animals for statistical analysis; **all animals in this group died.						

Таблица 5. Потребление корма и воды мышами после однократного внутрибрюшинного введения γ -НЦДTable 5. Water intake and feeding behavior in mice intraperitoneally injected with γ -NCD

Доза соединения, мг/кг Dose, mg/kg	Фон (0), нг/мл Background (0), ng/ml	Потребление корма, г/воды, мл, по суткам* Daily feed consumption, g/water, ml, by day*				
		1-е сутки 1 st day	3-е сутки 3 rd day	5-е сутки 5 th day	9-е сутки 9 th day	13-е сутки 13 th day
γ -ЦД γ -CD						
2000	3,3/4,8	3,2/4,7	3,2/4,4	3,4/4,8	3,5/4,5	3,3/4,9
4000	3,6/5,2	3,2/5,0	3,5/4,3	3,8/4,8	3,5/5,4	3,3/5,7
γ -НЦД 1 γ -NCD 1						
200	3,5/4,2	1,0/1,8	2,2/3,8	3,3/4,3	3,4/5,5	3,3/4,5
300	4,5/4,6	1,0/1,6	3,4/4,8	4,6/4,9	4,9/4,9	4,8/4,8
400	3,8/4,4	0,2/2,0	1,3/3,1	2,9/4,3	3,6/5,1	3,5/4,7
500	3,8/4,9	0/2,5	0,5/3,0	3,5/4,6	3,9/5,0	3,8/5,1
γ -НЦД 2 γ -NCD 2						
700	3,5/5,0	0,8/5,0	2,3/6,1	3,6/5,7	3,6/5,6	3,2/5,5
750	3,6/4,6	0,7/3,8	2,3/4,0	3,6/4,3	3,5/4,9	3,7/4,8
800	3,6/4,9	0,2/3,4	2,5/4,8	3,3/5,1	3,5/5,0	3,9/5,4
850	3,8/5,1	0,5/3,1	2,4/4,9	3,7/5,1	4,1/5,5	4,1/5,4
γ -НЦД 3 γ -NCD 3						
900	3,8/4,7	0,7/3,8	2,3/4,0	3,6/4,3	3,5/4,9	3,7/4,8
1000	4,0/5,0	0,4/4,8	0,8/5,2	3,3/5,0	3,8/5,0	4,2/5,1
1100	3,9/5,1	0,8/2,2	0,5/5,5	1,8/4,9	3,6/5,8	4,4/5,5
1200	3,8/4,9	0,0/2,8	1,6/4,6	3,0/4,3	4,0/4,5	3,5/5,5

Окончание табл. 5
End of table 5

Доза соединения, мг/кг Dose, mg/kg	Фон (0), нг/мл Background (0), ng/ml	Потребление корма, г/воды, мл, по суткам* Daily feed consumption, g/water, ml, by day*				
		1-е сутки 1 st day	3-е сутки 3 rd day	5-е сутки 5 th day	9-е сутки 9 th day	13-е сутки 13 th day
Контрольная группа Control group						
Отсутствует Absence of the phenomenon	3,3/5,6	3,4/5,4	3,5/5,3	3,6/5,5	4,2/7,0	3,9/6,5

*Рассчитано на одно животное.

*Consumption per animal.

Таблица 6. Массовые коэффициенты внутренних органов мышей после однократного внутрибрюшинного введения γ -НЦД, % ($M \pm m$)Table 6. Mass coefficients of mice organs after a single intraperitoneal administration of γ -NCD, % ($M \pm m$)

Доза соединения, мг/кг Dose, mg/kg	Массовые коэффициенты внутренних органов Mass coefficients of internal organs				
	Печень Liver	Почки Kidneys	Селезенка Spleen	Легкие Lungs	Сердце Heart
γ-ЦД γ -CD					
2000	6,33 \pm 0,35	1,40 \pm 0,09	0,52 \pm 0,05	0,80 \pm 0,07	0,63 \pm 0,09
4000	6,14 \pm 0,38	1,35 \pm 0,05	0,51 \pm 0,06	0,85 \pm 0,10	0,57 \pm 0,11
γ-НЦД 1 γ -NCD 1					
200	6,22 \pm 0,65	1,34 \pm 0,23	0,42 \pm 0,08	0,88 \pm 0,13	0,67 \pm 0,06
300	6,03 \pm 0,65	1,24 \pm 0,25	0,32 \pm 0,11	0,76 \pm 0,19	0,58 \pm 0,05
400	6,82 \pm 0,89	1,43 \pm 0,18	0,47 \pm 0,04	0,87 \pm 0,10	0,56 \pm 0,07
500	6,61*	1,33*	0,35*	0,85*	0,58*
γ-НЦД 2 γ -NCD 2					
700	6,54 \pm 0,64	1,39 \pm 0,05	0,41 \pm 0,05	0,80 \pm 0,03	0,64 \pm 0,49
750	6,83 \pm 0,46	1,44 \pm 0,11	0,43 \pm 0,05	0,87 \pm 0,03	0,57 \pm 0,07
800	6,43 \pm 0,08	1,34 \pm 0,01	0,49 \pm 0,06	0,78 \pm 0,04	0,59 \pm 0,05
850	6,60*	1,42*	0,39*	0,79*	0,59*
γ-НЦД 3 γ -NCD 3					
900	6,87 \pm 0,43	1,48 \pm 0,13	0,42 \pm 0,12	0,84 \pm 0,07	0,58 \pm 0,06
1000	6,37 \pm 0,54	1,45 \pm 0,05	0,49 \pm 0,04	0,79 \pm 0,03	0,56 \pm 0,02
1100	6,52 \pm 0,42	1,52 \pm 0,14	0,41 \pm 0,03	0,85 \pm 0,17	0,65 \pm 0,03
1200	6,2*	1,48*	0,41*	0,80*	0,57*
Контрольная группа Control group					
Отсутствует Absence of the phenomenon	6,07 \pm 0,63	1,36 \pm 0,16	0,38 \pm 0,08	0,78 \pm 0,08	0,59 \pm 0,06

*Недостаточное число животных для статистической обработки.

*Insufficient number of animals for statistical analysis.

и контрольных мышей, получавших внутривентриально 0,9 % раствор хлористого натрия, различий у животных опытных и контрольных групп не выявлено. Относительная масса внутренних органов животных опытных и контрольных групп, представленных в табл. 6, также не имела существенных различий. В результате аутопсии погибших от токсичности и выживших животных, умерщвленных на 15-е сутки, и последующего макроскопического исследования внутренних органов различий между животными, получившими внутривентриально γ -НЦД, и контрольными животными не установлено. Анализ массовых коэффициентов внутренних органов животных также не выявил различий между опытными группами и контрольной группой (см. табл. 6).

Заключение

Таким образом, изучена острая токсичность γ -ЦД и его водорастворимых нитрованных производных γ -НЦД 1–3 на лабораторных мышках-гибридах. По результатам проведенных исследований установлено, что при однократном внутривентриальном введении

γ -ЦД в дозах, равных 2000 и 4000 мг/кг, гибель от токсичности отсутствовала, в то время как при введении γ -НЦД 1–3 в диапазоне доз 300–600, 750–900 и 1000–1300 мг/кг соответственно гибель животных наступала на 1–2-е сутки на фоне выраженной гиподинамии и угнетенного состояния. Картина интоксикации была одинакова для всех γ -НЦД. При макроскопическом исследовании внутренних органов животных и анализе рассчитанных массовых коэффициентов различий между опытными и контрольной группами не обнаружено. Для исследуемых γ -НЦД рассчитаны токсические дозы: ЛД₅₀ для γ -НЦД 1 составляет 415 ± 33 мг/кг, для γ -НЦД 2 – 800 ± 18 мг/кг, для γ -НЦД 3 – 1115 ± 33 мг/кг. γ -НЦД 1 и γ -НЦД 2 являются малотоксичными веществами и относятся к IV классу токсичности; γ -НЦД 3 – практически нетоксично и относится к V классу токсичности, γ -ЦД не обладает токсическим эффектом в дозе >3000 мг/кг и может быть классифицирован как относительно безвредный и отнесен к VI классу опасности. Полученные результаты позволяют рекомендовать γ -НЦД для дальнейших исследований.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Liu H., Guo S., Wei S. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cyclodextrin-based oral drug delivery formulations for disease therapy. *Carbohydr Polym* 2024;329:121763. DOI: 10.1016/j.carbpol.2023.121763
- Михайлов Ю.М., Бачурин С.О., Даровских А.В. и др. Комплекс включения нитрата γ -циклодекстрина с конъюгатом тетрагидрокарбазола и аминадамантана. Докл. РАН. Химия, науки о материалах 2024;517:3. DOI: 10.31857/S2686953524040019
Mikhailov Yu.M., Bachurin S.O., Darovskikh A.V. et al. Inclusion complex of nitrate γ -cyclodextrine with conjugate of tetrahydrocarbasol and aminoadamantane. *Doklady RAN. Khimia, nauki o materialakh = Chemistry, Materials Sciences* 2024;517:3. (In Russ.). DOI: 10.31857/S2686953524040019
- Михайлов Ю.М., Даровских А.В., Романова Л.Б. и др. О комплексах включения на основе нитратов циклодекстринов и возможности использования их в качестве новых носителей лекарственных препаратов. Технологии безопасности жизнедеятельности 2023;3:5–14. DOI: 10.17223/7783494/3/1
Mikhailov Yu.M., Darovskikh A.V., Romanova L.B. et al. On inclusion complexes based on cyclodextrin nitrates and their potential use as new drug carriers. *Tekhnologii bezopasnosti zhiznedejatelnosti = Life Safety Technologies* 2023;3:5–14. (In Russ.). DOI: 10.17223/7783494/3/1
- Ванин А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях. Вестник Российской академии медицинских наук 2000;4:3–5. Vanin A.F. Nitric Oxide in Biomedical Research. *Vestnik Rossiyskoy akademii medicinskih nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences* 2000;4:3–5. (In Russ.).
- Гуманова Н.Г. Оксид азота, его циркулирующие метаболиты NOx и их роль в функционировании человеческого организма и прогнозе риска сердечно-сосудистой смерти (часть I). Профилактическая медицина 2021;24(9):102–9. DOI: 10.17116/profmed202124091102
Gumanova N.G. Nitric oxide, its circulating metabolites NOx, and their role in the functioning of the human body and the prediction of the risk of cardiovascular death (Part I). *Profilakticheskaya meditsina = Preventive Medicine* 2021;24(9):102–9. (In Russ.). DOI: 10.17116/profmed202124091102
- Михайлов Ю.М., Мальцев А.В., Бачурин С.О. и др. Химико-биологические свойства нитратов циклодекстринов как потенциальных носителей фармакологических субстанций. Известия Академии наук. Серия химическая 2025;74(5):1355–62. Mikhailov Yu.M., Maltsev A.V., Bachurin S.O. et al. Chemical and biological properties of cyclodextrin nitrates as potential carriers of pharmacological substances. *Izvestiya Akademii nauk. Seriya himicheskaya = Russian Chemical Bulletin. Chemical Series* 2025;74(5):1355–62.
- Михайлов Ю.М., Романова Л.Б., Даровских А.В., Барина Л.С. Изучение процесса нитрования сверхразветвленных полиглицидолов. Журнал прикладной химии 2019;92(3):401–8. DOI: 10.1134/S0044461819030162
Mikhailov Yu.M., Romanova L.B., Darovskikh A.V., Barinova L.S. Study of nitration of hyperbranched polyglycidols. *Jurnal prikladnoy himii = Russ J Appl Chem* 2019;92(3):401–8. (In Russ.). DOI: 10.1134/S0044461819030162
- Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Off J Eur Union* 2010;(1):L 276/33–79.
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. А.Н. Миронова. Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012; 944 с. A guide to preclinical drug research. Ed. by A.N. Mironov. Moscow: Grif and Co, 2012; 944 p. (In Russ.).
- Методические указания по изучению общетоксического действия противоопухолевых фармакологических средств. В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому)

изучению новых фармакологических веществ.

Под ред. Р.У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005; 832 с.

Methodological instructions for studying the general toxic effects of antitumor drugs. In: Guide to experimental (preclinical) study of new pharmacological substances. Ed. by R.U. Khabriev. 2nd ed., revised and additional edition. Moscow: Medtsina, 2005; 832 p. (In Russ.).

11. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Л.: Медгиз, 1963; 152 с.

Belenkiy M.L. Elements of quantitative assessment of pharmacological effect. Leningrad: Medgiz, 1963; 152 p. (In Russ.).

12. Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. Химико-фармацевтический журнал 2003;37(3):32–4. DOI: 10.30906/0023-1134-2003-37-3-32-34
Berezovskaya I.V. Classification of substances with respect to acute toxicity for parenteral administration. Himiko-farmaceuticheskiy jurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal 2003;37(3):32–4. (In Russ.). DOI: 10.30906/0023-1134-2003-37-3-32-34

Вклад авторов

Ю.М. Михайлов: научный дизайн и методология, научное руководство;

А.В. Даровских: получение и характеристика γ -нитратов циклодекстрина, подготовка оригинального черновика;

А.В. Смолина: написание – рецензирование и редактирование;

Е.Н. Климанова: экспериментальное исследование, статистическая обработка данных, подготовка оригинального черновика;

Т.Е. Сашенкова: экспериментальное исследование;

Д.А. Полетаева: анализ и обобщение результатов;

М.И. Ворожейкин: получение и характеристика γ -нитратов циклодекстрина;

И.И. Файнгольд: методология, научное руководство.

Author's contributions

Yu.M. Mikhailov: scientific design and methodology, scientific supervision;

A.V. Darovskikh: obtaining and characterizing γ -nitrates of cyclodextrin, preparing the original draft;

A.V. Smolina: writing – reviewing and editing;

E.N. Klimanova: experimental research, statistical data processing, and preparing the original draft;

T.E. Sashenkova: experimental research;

D.A. Poletaeva: analysis and generalization of the results;

M.I. Vorozheikin: obtaining and characterizing γ -nitrates of cyclodextrin;

I.I. Faingold: methodology and scientific guidance.

ORCID авторов / ORCID of authors

Ю.М. Михайлов / Yu.M. Mikhailov: <https://orcid.org/0000-0002-1894-4814>

А.В. Даровских / A.V. Darovskikh: <https://orcid.org/0000-0002-7879-1370>

А.В. Смолина / A.V. Smolina: <https://orcid.org/0000-0003-0163-8471>

Е.Н. Климанова / E.N. Klimanova: <https://orcid.org/0000-0001-6319-3151>

Т.Е. Сашенкова / T.E. Sashenkova: <https://orcid.org/0000-0002-2753-979X>

Д.А. Полетаева / D.A. Poletaeva: <https://orcid.org/0000-0002-4315-9180>

М.И. Ворожейкин / M.I. Vorozheikin: <https://orcid.org/0009-0002-7527-3129>

И.И. Файнгольд / I.I. Faingold: <https://orcid.org/0000-0003-4926-3859>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 24-13-00288) при использовании оборудования Аналитического центра коллективного пользования ФИЦ ПХФ и МХ РАН (<https://equipments.icp.ac.ru/ru/equipments/ckp/ackp>).

Funding. The work was carried out with the financial support of the Russian Science Foundation (project No. 24-13-00288) using the equipment of the Analytical Center for Collective Use at the Federal Research Center for Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry, Russian Academy of Sciences (<https://equipments.icp.ac.ru/en/equipments/ckp/ackp>).

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей. Протокол исследования № 87 от 26.12.2023 одобрен комитетом по биомедицинской этике ФИЦ ПХФ и МХ РАН.

Conformity of the principles of bioethics. The study was conducted in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research and Other Scientific Purposes. The study protocol No. 87 dated December 26, 2023 was approved by the Biomedical Ethics Committee of Federal Research Center for Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry, Russian Academy of Sciences.

Статья поступила: 05.06.2025. Принята к публикации: 18.03.2026. Опубликовано онлайн: 30.04.2026.

Article submitted: 05.06.2025. Accepted for publication: 18.03.2026. Published online: 30.04.2026.