



**Вестник Российского университета дружбы народов.
Серия: МЕДИЦИНА**

2025 Том 29 № 4

Тема номера: MEDICAL GENETICS

DOI: 10.22363/2313-0245-2025-29-4

<http://journals.rudn.ru/medicine>

Научный журнал

Издается с 1997 г.

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи,
информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-61206 от 30.03.2015 г.

Учредитель: Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов
имени Патриса Лумумбы»

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор

КОБАЛАВА Жанна Давидовна, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующая кафедрой внутренних болезней с курсом кардиологии и функциональной диагностики имени В.С. Моисеева медицинского института, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

Зместители главного редактора

ФАТХУДИНОВ Тимур Хайсамудинович, д.м.н., профессор, Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, г. Москва, Российская Федерация
ГУРЬЯНОВА Светлана Владимировна, д.б.н., доцент, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, Российская Федерация

Члены редакционной коллегии

АБРАМОВ Алексей Юрьевич д.м.н., профессор, директор медицинского института, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

АЗОВА Мадина Мухамедовна, д.б.н., профессор, кафедра биологии и общей генетики, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

АКДИС Мубацел, профессор, Научно-исследовательский институт по аллергии и астме, г. Давос, Швейцария

БАХНА Сами, профессор, Университет Луизианны, г. Шreveпорт, США

БЛАГОНРАВОВ Михаил Львович, д.м.н., профессор, кафедра общей патологии и патологической физиологии им. В.А. Фролова, Медицинский институт, РУДН, г. Москва, Российская Федерация

БЫКОВ Илья Михайлович, д.м.н., профессор, кафедра фундаментальной и клинической биохимии, Кубанский государственный медицинский университет, г. Краснодар, Российская Федерация

ВАЛЕНТА Рудольф, профессор, Венский медицинский университет, г. Вена, Австрия

ВУКСАНОВИЧ Александр, д.м.н., профессор, профессор медицинского факультета университета г. Белград, Белград, Сербия

ГАБИБОВ Александр Габирович, академик РАН, д.х.н., профессор, директор Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, Российская Федерация

ДЕЕВ Сергей Михайлович, д.б.н., профессор, академик РАН, Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва, Российская Федерация

ДРАПКИНА Оксана Михайловна, д.м.н., профессор, академик РАН, директор Национального медицинского исследовательского центра терапии и профилактической медицины, г. Москва, Российская Федерация

ЕЛЬЧАНИНОВ Андрей Владимирович, д.м.н., профессор, Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова, г. Москва, Российская Федерация

ЕФРЕМОВ Анатолий Васильевич, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, кафедра патологической физиологии и клинической патофизиологии, Новосибирский государственный медицинский университет, г. Новосибирск, Российская Федерация

КАНОНИКА Вальтер, д.м.н., профессор, Директор Центра персонализированной медицины в исследовательской больнице, г. Роззано, г. Милан, Италия

КОСТИН Андрей Александрович, д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, кафедра урологии с курсами онкологии, радиологии и андрологии, Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

КУСТОВИЧ Аднан, профессор, Имперский колледж Лондона, г. Лондон, Великобритания

МЕРКЭЛИ Бела, профессор, директор Кардиоцентра Университета Земмельвейса, г. Будапешт, Венгрия

НАПАРСТЕК Яаков, профессор, Университет Хадасса, г. Иерусалим, Израиль

НОЙХАУС Йохен, д.б.н., профессор, заведующий научно-исследовательской лабораторией кафедры урологии, Лейпцигский университет, г. Лейпциг, Германия

ПОЛЕВЩИКОВ Александр Витальевич, д.б.н., профессор, заведующий отделом иммунологии Института экспериментальной медицины, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

РЕЙМЮЛЛЕР Райнер, д.м.н., профессор, Медицинский университет, кафедра радиологии, г. Грац, Австрия

РОДИН Сергей Александрович, д.б.н., профессор, старший научный сотрудник отделения хирургических наук Университета г. Уппсала, г. Уппсала, Швеция

ТИМАНН Маркус, д.м.н., профессор, Институт гематопатологии, г. Гамбург, Германия

ХЕ Джи, д.м.н., профессор, Онкологический институт и больница, Китайская академия медицинских наук и Медицинский колледж Пекинского союза, г. Пекин, Китай



RUDN JOURNAL OF MEDICINE

2025 Volume 29 No. 4

Theme of the issue: MEDICAL GENETICS

DOI: 10.22363/2313-0245-2025-29-4

<http://journals.rudn.ru/medicine>

Founded in 1997

Founder: Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba

EDITORIAL BOARD

Editor-in-Chief

Zhanna D. KOBALAVA, MD, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Department of Internal Medicine with a course of cardiology and functional diagnostics named after V.S. Moiseev Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba (RUDN University), Moscow, Russian Federation

Deputy Editors - in - Chief

Timur Kh. FATKHUDINOV, MD, Professor, Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Federal state budgetary scientific institution «Petrovsky National Research Centre of Surgery», Moscow, Russian Federation

Svetlana V. GURYANOVA, Ph.D., Associate Professor, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russian Federation

Members of Editorial Board

Aleksey Y. ABRAMOV, MD, Professor, Director of the Medical Institute, RUDN University, Moscow, Russian Federation

Mubacel AKDIS, MD, Professor, Research Institute for Allergy and Asthma, Davos, Switzerland

Madina M. AZOVA, D. Sc., Professor, Department of Biology and General Genetics, Medical Institute, RUDN University, Moscow, Russian Federation

Sami BAHNA, MD, Professor, University of Louisiana, Shreveport, USA

Mikhail L. BLAGONRAVOV, MD, Professor, Frolov Department of General Pathology and Pathological Physiology, Medical Institute, RUDN University, Moscow, Russian Federation

Ilya M. BYKOV, MD, Professor, Head of the Department of Fundamental and Clinical Biochemistry, Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia

Walter CANONICA, MD, Professor, Director of the Center for Personalized Medicine at the Research Hospital Humanitas IRCCS, Rozzano, Milan, Italy

Adnan CUSTOVIC, MD, Professor, Imperial College of London, London, Great Britain

Sergey M. DEEV, Sc., Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russian Federation

Oksana M. DRAPKINA, MD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine, Moscow, Russian Federation

Anatoly V. EFREMOV, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Department of Pathological Physiology and Clinical Pathophysiology, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Andrey V. ELCHANINOV, MD, Professor, Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia

Alexander G. GABIBOV, D. Sc., Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, Moscow, Russian Federation

Jie HE, Professor, Cancer Institute and Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing, China

Jochen NEUHAUS, PhD, Professor, Head of Research Laboratory, Department of Urology, University of Leipzig, Leipzig, Germany

Andrei A. KOSTIN, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Department of Urology with courses oncology, radiology and andrology, the Medical Institute, RUDN University, Moscow, Russian Federation

Bela MERKELY, MD, PhD, Professor and Chairman of Heart and Vascular Center, Rector of the University of Semmelweis, Budapest, Hungary

Yakov NAPARSTEK, MD, Professor, Director of the Hadassah Center for Clinical Immunology and Rheumatology at the Hadassah University Medical Center, Jerusalem, Israel

Alexander V. POLEVSHCHIKOV, D.Sc, Professor, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia

Rainer RIENMUELLER, MD, Professor Medical University, Department of Radiology, Graz, Austria

Sergey A. RODIN, PhD, Professor, Senior Researcher, Department of Surgical Sciences, Uppsala. University, Uppsala, Sweden

Markus TIEMANN, MD, Professor, Institute of Hematopathology, Hamburg, German

Rudolph VALENTA, MD, Professor MD, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

Alexander VUKSANOVICH, MD, Professor, Professor of the Medical Faculty of the University, Belgrade, Serbia

Вестник Российского университета дружбы народов.

Серия: МЕДИЦИНА

ISSN 2313-0261 (Online); 2313-0245 (Print)

Периодичность: 4 выпуска в год (ежеквартально).

Входит в перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ.

Языки: русский, английский.

Материалы журнала размещаются на платформе РИНЦ Российской научной электронной библиотеки, Scopus, Научной электронной библиотеки КиберЛенинка, Directory of Open Access Journals (DOAJ).

Цели, задачи и тематика журнала

Научный рецензируемый медицинский журнал «Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина» выходит ежеквартально с 1997 года.

Цель журнала – интегрировать результаты научных исследований и богатый опыт отечественных и зарубежных специалистов в области клинической медицины и медико-биологических проблем, в первую очередь в области онкологии, физиологии и нейробиологии, аллергологии и иммунологии, медицинской генетики и микробиологии, инфекционных болезней.

Каждый выпуск является тематическим. Тематика каждого выпуска объявляется заранее. Для публикаций принимаются оригинальные статьи, обзоры, а также описание клинических случаев и современных методов диагностики.

Публикации в журнале принимаются по отдельности как на русском или английском языках, так и на двух языках одновременно.

Авторы должны гарантировать, что статья не была опубликована раньше, в том числе частично и на других языках, и не находится на рассмотрении в других научных журналах.

Журнал ориентирован на ученых и преподавателей, аспирантов и молодых ученых, практических врачей, ведущих поисковые работы по разработке новых и по усовершенствованию существующих профилактических, диагностических, лечебных и реабилитационных методов.

На основании решения ВАК Министерства образования и науки РФ журнал входит в «Перечень периодических изданий, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук по специальностям: с 01.02.22 — 1.5.5. Физиология человека и животных (биологические науки), 1.5.22. Клеточная биология (биологические науки), 3.1.18. Внутренние болезни (медицинские науки), 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (медицинские науки); с 22.11.22 — 1.5.5. Физиология человека и животных (медицинские науки), 1.5.22. Клеточная биология (медицинские науки), 3.1.6. Онкология, лучевая терапия (биологические науки), 3.1.20. Кардиология (медицинские науки), 3.1.31. Геронтология и гериатрия (медицинские науки), 3.2.7. Аллергология и иммунология (медицинские науки), 3.2.7. Аллергология и иммунология (биологические науки)».

Редакционная коллегия журнала приглашает к сотрудничеству ученых и научные коллективы по подготовке специальных тематических выпусков журнала: <http://journals.rudn.ru/medicine/announcement/view/327>

Электронный адрес: medj@rudn.ru

Литературный редактор К.В. Зенкин

Компьютерная верстка: М.В. Рогова

Почтовый адрес редакции:

117198, Москва, Россия, ул. Миклухо-Маклая, д. 8

e-mail: medj@rudn.ru

Адрес издательства:

115419, Москва, Россия, ул. Орджоникидзе, д. 3

Тел.: +7 (495) 955-07-16; e-mail: publishing@rudn.ru

Подписано в печать 15.12.2025. Выход в свет 25.12.2025. Формат 60×84/8

Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура «Tinos, Roboto».

Усл. печ. л. 13,2. Тираж 500 экз. Заказ № 1657. Цена свободная.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
«Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН)

117198, Москва, Россия, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

Отпечатано в типографии ИПК РУДН

115419, Москва, Россия, ул. Орджоникидзе, д. 3

Тел.: +7 (495) 955-08-61; e-mail: publishing@rudn.ru

RUDN Journal of Medicine

ISSN 2313-0261 (Online); 2313-0245 (Print)

Publication frequency: 4 issues per year (quarterly).

Included in the list of peer-reviewed scientific publications of the higher attestation Commission of the Russian Federation.

Languages: Russian, English.

The journal articles are posted at databases: Russian Index of Science Citation, Scopus, Electronic Journals Library Cyberleninka, Directory of Open Access Journals (DOAJ).

Aim, tasks and topics of the journal

The “RUDN JOURNAL OF MEDICINE” is a quarterly journal that publishes peer-reviewed medical research papers since 1997.

A major goal of the journal is to integrate the results of basic and clinical research and rich experience of domestic and foreign experts in the field of clinical medicine and biomedical problems. Primary areas covered range from oncology, physiology and neurobiology, allergology and immunology, to medical genetics and microbiology, as well as infectious diseases.

Each issue is devoted to a specific medical topic that is announced in advance. We accept original research including important new tools and techniques, reviews, and clinical cases.

Papers may be submitted in Russian and/or English.

Authors must ensure that the article was not published elsewhere before, either as a whole or in part, in Russian or other languages. They should also guarantee that the paper submitted is not under consideration in other scientific journals.

The journal is intended for researchers, lecturers, graduate students and young scientists, practitioners who do research to develop new and improve existing preventive, diagnostic, therapeutic and rehabilitation methods.

The Editorial Board of the journal encourages individual researches and research teams to collaborate in preparing issues devoted to specific topics: <http://journals.rudn.ru/medicine/announcement/view/327>

Contact e-mail: medj@rudn.ru

Review editor *K.V. Zenkin*
Computer design: *M.V. Rogova*

Postal Address of the Editorial Board:
10 Miklukho-Maklaya St., 117198 Moscow, Russian Federation
e-mail: medj@rudn.ru

Address of the Publishing House
3 Ordzhonikidze St., 115419 Moscow, Russian Federation
Ph. +7 (495) 955-07-16; e-mail: publishing@rudn.ru

Printing run 500 copies. Open price.

Peoples' Friendship University of Russia Named After Patrice Lumumba (RUDN University)
6 Miklukho-Maklaya St., 117198 Moscow, Russian Federation

Printed at RUDN Publishing House:
3 Ordzhonikidze St., 115419 Moscow, Russian Federation
Ph. +7 (495) 955-08-61; e-mail: publishing@rudn.ru

СОДЕРЖАНИЕ

ТЕМА НОМЕРА: MEDICAL GENETICS

Gusev A.E., Chernov P.V., Dmitriev N.A., Kofiadi I.A.

Single cell RNA sequencing: modern approaches and achievements (Секвенирование РНК единичных клеток: современные подходы и достижения) 421

Шеденкова М.О., Гурьянова А.А., Судьина А.К., Гугучкин Е.П., Карпулевич Е.А.,
Фатхудинов Т.Х., Гольдштейн Д.В., Салихова Д.И.

Нейропротективное действие внеклеточных везикул, полученных из глиальных производных человека на модели глутаматной эксайтотоксичности 436

Tskhovrebova L.V., Aghajanyan A.V., Bekoeva D.D., Kurevlev S.V.

Biological and psychological aspects of familial hypercholesterolemia (Биологические и психологические аспекты семейной гиперхолестеремии) 454

Степаненко В.И., Жалсанова И.Ж., Фонова Е.А., Ербунова Д.Н., Государкина С.Н.,
Равжаева Е.Г., Фадюшина С.В., Никитина А.А., Сеитова Г.Н., Климчук О.И., Степанов В.А.,
Скрябин Н.А. Семейный случай синдрома Марфана: новый вариант в гене *FBN1* 470

ЦИТОЛОГИЯ

Третьякова М.С., Простакишина Е.А., Колегова Е.С., Чойнзонов Е.Л., Денисов Е.В.

Опухолевые модели в изучении патогенеза и разработке методов лечения рака полости рта 480

Artemova D.A., Elchaninov A.V., Vishnyakova P.A.

Therapeutic activity of proinflammatory macrophages in endometriosis is driven by their antiproliferative and proapoptotic action (Антипролиферативное и проапоптотическое действие – терапевтическая активность провоспалительных макрофагов при эндометриозе) 488

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ

Abramov A.Yu., Alekseenko A.O., Koshkina E.A., Kicha D.I., Arshinova V.V., Shchepanskaya L.V.

Results of a comprehensive drug addiction triptych among Moscow teenagers (Результаты комплексного мониторинга наркологической ситуации среди подростков Москвы) 496

СТОМАТОЛОГИЯ

Avanesov A.M., Gvozdikova E.N., Simionidi Y., Titova V.A.

Oral microbiota importance in the development and prognosis of oropharyngeal region oncological diseases (Значение микробиоты полости рта в возникновении и прогнозе онкологических заболеваний оротарингеальной области) 510

Хадыева М.Н., Галиуллин А.Н., Блашкова С.Л.

Стоматологическая заболеваемость детей дошкольного возраста в приемных семьях 520

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ**Фоминых Т.А., Кутя С.А.**

Вклад сэра Чарльза Белла в медицину532

ОНКОЛОГИЯ**Ivina A.A., Tigay Yu.O., Familia Frias D.R., Rabinovich O.F., Babichenko I.I.**

Immunohistochemical study of P53 protein expression in the development of squamous cell carcinoma of the oral mucosa (Иммуногистохимическое исследование экспрессии белка P53 при развитии

плоскоклеточного рака слизистой полости рта)543

CONTENTS

THEME OF THE ISSUE: MEDICAL GENETICS

- Gusev A.E., Chernov P.V., Dmitriev N.A., Kofiadi I.A.**
Single cell RNA sequencing: modern approaches and achievements 421
- Shedenkova M.O., Gurianova A.A., Sudina A.K., Guguchin E.P., Karpulevich E.A., Fatkhudinov T.Kh.**
Neuroprotective effect of extracellular vesicles obtained from human glial derivatives on the model
of glutamate excitotoxicity 436
- Tskhovrebova L.V., Aghajanyan A.V., Bekoeva D.D., Kurevlev S.V.**
Biological and psychological aspects of familial hypercholesterolemia 454
- Stepanenko V.I., Zhalsanova I.Zh., Fonova E.A., Erbuova D.N., Gosudarkina S.N., Ravzhaeva E.G.,
Fadyushina S.V., Nikitina A.A., Seitova G.N., Klimchuk O.I., Stepanov V.A., Skryabin N.A.**
A familial case of Marfan syndrome: a novel variant in the *FBN1* gene..... 470

CYTOLOGY

- Tretyakova M.S., Prostakishina E.A., Kolegova E.S., Choinzonov E.L., Denisov E.V.**
Tumor models in the investigation of oral cancer pathogenesis and treatment development 480
- Artemova D.A., Elchaninov A.V., Vishnyakova P.A.**
Therapeutic activity of proinflammatory macrophages in endometriosis is driven by their antiproliferative
and proapoptotic action 488

HEALTH POLICY AND PUBLIC HEALTH

- Abramov A.Yu., Alekseenko A.O., Koshkina E.A., Kicha D.I., Arshinova V.V., Shchepanskaya L.V.**
Results of a comprehensive drug addiction triptych among Moscow teenagers 496

DENTISTRY

- Avanesov A.M., Gvozdikova E.N., Simionidi Y., Titova V.A.**
Oral microbiota importance in the development and prognosis of oropharyngeal region oncological diseases..... 510
- Khadyeva M.N., Galiullin A.N., Blaskova S.L.**
Problems of the dental health in kids from foster families 520

HISTORY OF MEDICINE

Fominykh T.A., Kutia S.A.
Contribution of Sir Charles Bell to medicine 532

ONCOLOGY

Ivina A.A., Tigay Yu.O., Familia Frias D.R., Rabinovich O.F., Babichenko I.I.
Immunohistochemical study of P53 protein expression in the development of squamous cell carcinoma of the oral mucosa... 543



ТЕМА НОМЕРА: МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА THEME OF THE ISSUE: MEDICAL GENETICS

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-421-435
EDN AAFUKT

ОБЗОР
REVIEW

Single cell RNA sequencing: modern approaches and achievements

Artem E. Gusev^{ID}, Petr V. Chernov^{ID}, Nikolai A. Dmitriev^{ID}, Ilya A. Kofiadi^{ID}✉

National Research Center Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russian Federation
✉ kofiadi@mail.ru

Abstract. Relevance. Single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) is a modern approach to studying the diversity and heterogeneity of RNA transcripts in individual cells, as well as to identifying the composition of different cell types and functions in organisms, organs, and tissues. Based on NGS (next-generation sequencing), scRNA-seq provides a vast amount of information at high cellular resolution in various fields, enabling new discoveries in understanding the composition and interaction patterns of individual cell types in humans, animal models, and plants. Despite its rapid development, optimization, and automation worldwide over the past 15 years, scRNA-seq remains relatively new and has only recently been used in Russia. The challenge of mastering and successfully implementing this method is urgent and critical — it is a powerful tool for in-depth analysis and diagnostics, as demonstrated by the results of studies in which it has been used. *The aim* of the review was to examine the basic principles and steps of scRNA-seq implementation, both in terms of technical implementation and sample preparation as an extension of the classic NGS method, as well as in terms of the complexity and expansion of data processing, and the use of new algorithms and databases. We examined commercially available scRNA-seq technologies and technologies described in scientific literature that have served as prototypes and alternatives. We also examined examples and results of the use of such technologies in various fields of science and medicine, such as oncology, senescence, diagnostics, and clinical trials. *Conclusion.* Development and successful application of the scRNA-seq method in scientific and clinical practice will become the key to a wide range of future discoveries and successful accurate personalized diagnostics and healthcare.

Keywords: sequencing, RNA, next-generation sequencing (NGS), single-cell sequencing (sc-seq, scRNA-seq), cellular heterogeneity

Funding. This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (the Federal Scientific-technical program for genetic technologies development for 2019–2030 (agreement N 15.ЦГМУ.25.3.3.))

© Gusev A.E., Chernov P.V., Dmitriev N.A., Kofiadi I.A., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Author contributions. Data collection and analysis, writing the article — Gusev A.E.; analysis of literature, writing the article — P.V. Chernov; analysis of literature, editing of the article — N.A. Dmitriev; analysis of literature, scientific proofreading — I.A. Kofiadi. All authors have made significant contributions to the manuscript preparation, read, and approved final version before publication.

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

Ethics approval — not applicable.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 27.08.2025. Accepted 25.09.2025.

For citation: Gusev AE, Chernov PV, Dmitriev NA, Kofiadi IA. Single cell RNA sequencing: modern approaches and achievements. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):421–435. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-421-435. EDN: AAFUKT

Introduction

The human body is a complex system consisting of more than 400 different cell types and more than 3×10^{13} unique cells in its composition [1]. Despite almost all cells in the human body sharing the same set of genes, their transcriptome function in each type and each individual cell exhibits a unique activity for only a certain part of these genes, which increases the relevance of the issue of studying their unique properties and heterogeneity.

Sequencing technology became one of the common tools for studying cell heterogeneity, including genomics, transcriptomics, epigenomics, proteomics and metabolomics. Sequencing allows to establish the primary structure of the studied linear biopolymers, for DNA and RNA it allows to establish their nucleotide sequence, presented in simple text form. During its widespread use over the past 50 years, sequencing technology has become mundane in various fields of biology and medicine, and currently represents three main generations of this technology [2, 3] (presented in Table 1, [4–15]). The most frequently employed set of methods belongs to the second generation sequencing, which is also called short-read sequencing or next generation sequencing (NGS) is currently the “gold standard” in scientific and laboratory genetic research [3].

The main limitation of the basic sequencing approach is its non-specific character. In its classical implementation, the second-generation sequencing technology provides only average data (bulk sequencing) for the total populations of the analyzed cells; data for individual cell populations, represented in insignificant quantities, are then “lost” against the background of the total mass of recorded data. This limitation gave an impetus to the development of a technology for isolating and indexing unique cells for their subsequent mass analysis using NGS methods. Over the past fifteen years, classical approaches to RNA sequencing (bulk RNA-seq) based on cell populations had a significant role in deciphering transcriptome variations across the genome in a wide range of areas, including oncology, cell development and aging, and cellular homeostasis [16–18]. However, since bulk RNA-seq data, as described above, represent only an “average” of gene expression in individual cells, they may obscure transcriptional trends of individual subpopulations with the most common cell types or states [19].

A modification of NGS technology in the form of single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) overcame this obstacle, providing a broad range of possibilities for gene expression profiling at single-cell resolution. With scRNA-seq, it is now possible to analyze the transcriptome at the single-cell level for more than

Table 1**Generations of sequencing methods**

Generation and characteristics	Examples of technologies	Ref.
First generation Sanger sequencing, used from 1975 to the present. Average read length: 600–1000 base pairs, analysis of single samples	Manual and automated protocols using radioactively or fluorescently labeled reagents and gel electrophoresis	4, 5
Second generation Next generation sequencing (NGS) or short-read sequencing or High-throughput sequencing, used from 2005 to the present. Short read length: 250–800 base pairs, multiple parallel analysis.	"Ion Torrent" , Thermo Fisher Scientific, USA	6, 7
	"Illumina" , Illumina, Inc., USA	8, 9
	"MGI/BGI" , Beijing Genomics Institute, BGI, China	10, 11
Third generation Long-read sequencing, under development and implementation since 2010. High read length: 105–107 base pairs, single and multiple parallel analysis.	"PacBio" , Pacific Biosciences, USA	12, 13
	"ONT" , Oxford Nanopore Technologies, UK	14, 15

millions of cells in a single study. Most importantly, the development of the method has significantly reduced the cost while improving automation and throughput. This has enabled various discoveries in various fields, such as identifying new cell types [20, 21], understanding a range of cellular dynamic processes [22–25], revealing intracellular gene variations [26], and RNA processing [27]. As a result, scRNA-seq has begun to be used as a key tool in the field of precision medicine [28, 29].

Concept of scRNA-seq method

Since its first application in 2009 [30], scRNA-seq technology has opened the possibility of studying the underlying cellular heterogeneity of complex systems [31]. However, at the time of its introduction, practical procedures were labor-intensive and expensive, presented as "closed solutions" in the form of reagent kits and protocols from a single manufacturer, requiring the researcher to have a full product line of equipment from a specific manufacturer. Currently, the application of the technology is relatively unified and can be successfully applied in typical laboratories, which promotes scRNA-seq to be used as a standard procedure in an increasing number of tasks.

The main concept of scRNA-seq technology has not changed since its discovery and represents approaches for isolating individual cells, capturing and scaling their genetic material with subsequent use of NGS sequencing [32, 33]. Later, various modifications of scRNA-seq technology were proposed, supported by the development and evolution of methods for bioinformatics analysis of the final data. All scRNA-seq technologies can be described in the form of five key steps presented in Figure 1: isolation of single cells from biomaterial and their combination with reagents, isolation of the transcriptome from a single cell and its capture with a reagent, individual barcoding of the transcriptome by reverse transcription (synthesis and amplification of cDNA), library generation and NGS sequencing, additional bioinformatics analysis of the data [34]. The first three steps of the technology are the most difficult to implement, the remaining two are true for all sequencing methods.

Single cell isolation is a mechanical process of capturing cells after their dissociation from tissues and combining them into separate isolated cavities along with reagents. With classical sequencing, the transcriptome can only be examined at a general level and cannot distinguish individual cell variations. In the case of scRNA-seq technology, special attention

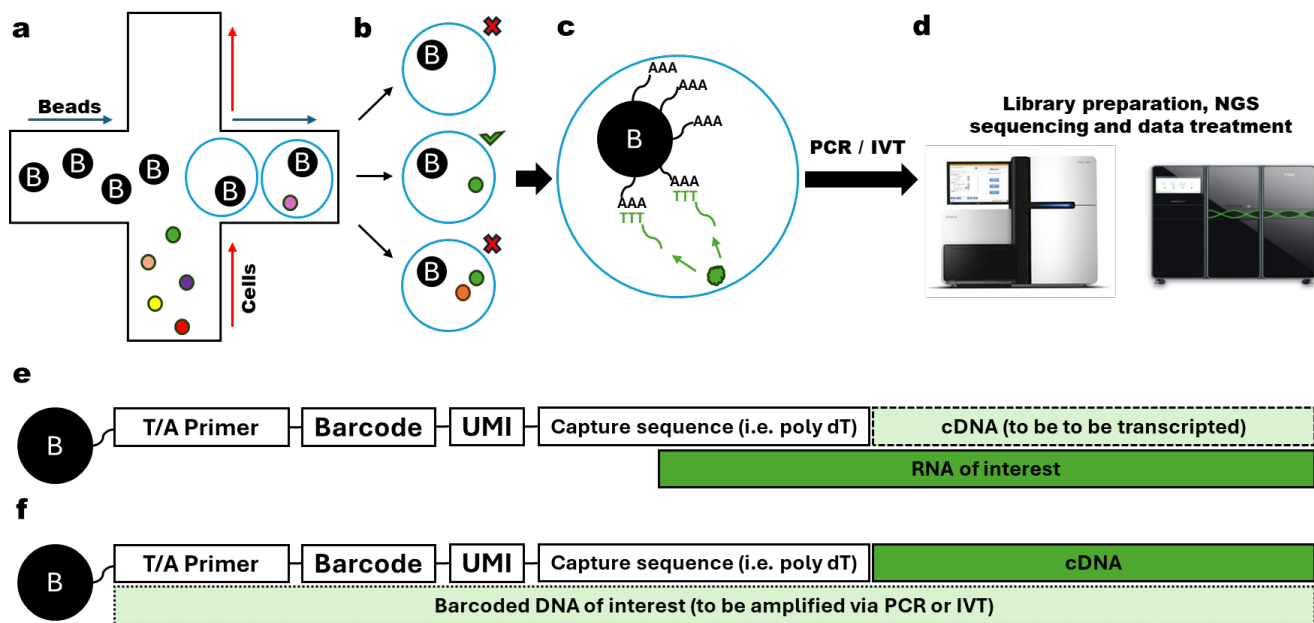


Fig. 1. Schematic of the scRNA-seq experiment. A mixture of beads, cells, and reagents is pumped through an orthogonal fluidic system to form droplets via a reverse emulsion (a). The system parameters are adjusted to maximize the ratio of single cell captures per droplet while minimizing double captures (b). Each droplet is an individual mini-reaction chamber containing all the necessary reagents for cell lysis, reverse transcription, and amplification (c), thus generating large quantities of barcoded DNA complementary to the cellular transcriptome, suitable for subsequent NGS sequencing (d). Each individual bead contains on its surface numerous complex primers, including in their composition both identical regions necessary for, for example, transcription or amplification ("T/A Primer"), unique for each specific bead regions for cell barcoding ("Barcode") and unique for each primer regions for barcoding each specific transcriptome sample extracted from the cell ("UMI"). The terminal region of the primer contains a sequence of oligonucleotides for complementary capture of the type of transcriptome of interest, for example, poly-dT regions for binding to many RNA variants. After such capture, conditions are created for reverse transcription and obtaining cDNA (e) and further, cycles of synthesis of the complete barcoded DNA variant (f).

Note: PCR – polymerase chain reaction; IVT – in vitro transcription; UMI – unique molecular identifier; cDNA – complementary DNA.

is required to obtain the genetic material from each cell in a unique, isolated form and preventing mixing.

Methods for isolating and capturing single cells vary greatly depending on the organism, tissue, or cell properties [35]. Cell isolation can be achieved for whole cells or, for example, individual elements of cells [36]. The most common methods for isolating and capturing single cells include microfluidic systems, Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS) or Magnetic Activated Cell Sorting (MACS), and laser microdissection [31]. The main goal of each method is to perform a single capture into an isolated reaction mixture, which will also contain reagents for the further process.

The process can be schematically considered using the example of a microfluidic system shown in Figure

1. A suspension of dissociated cells is fed to a microfluidic system with selected parameters of channel sizes and flow rates; a reaction mixture in an aqueous medium and oils are fed to orthogonal directions of the chip to form spherical capsules — droplets according to the principle of inverse emulsion (Figure 1a). With the correct selection of system parameters, conditions are achieved where the majority of single cells are enclosed in emulsion spheres, which contain only one cell and a solution of reagents for further processing, a significant part of the empty spheres and only a small part of the spheres with double inclusion of cells (Figure 1b). Each of the spheres will represent a separate reaction vessel, ensuring the isolated flow of processes. In this way, unique genetic and biochemical

information is extracted for its further transformation and study [37].

Transcriptome isolation and capture occurs due to the presence of a lysis buffer and special microparticles in the reaction mixture. The lysis buffer ensures cell lysis and the release of genetic material into the reaction mixture, the microparticle captures genetic material from the reaction mixture via oligonucleotide molecules grafted onto the surface — primers (Figure 1c).

The general structure of the primer can be divided into at least three main sections: (1) cell barcode (Cell Label / Barcode) — a short sequence common to all primers on one microparticle, for the precise identification of all transcripts belonging to the same cell; (2) unique molecular identifier (Unique Molecular Identifier, UMI) — a molecular tag for the precise identification of each read of each unique captured transcript and their number before the amplification stage [38]; (3) a capture and amplification segment designed for a specific capture target, e.g. the basic version of the capture segment for RNA is a poly-T tail to capture the 3' end of the transcript (Figure 1e). In modern scRNA-seq methods, additional sections of the primer structure may be present, e.g. for cDNA amplification or further work in a specific NGS sequencing system. Thus, a specific part of the genetic material released into the reaction mixture is captured by a microparticle designed for this type of genetic material due to complementary interaction.

Barcoding of the single-cell transcriptome is a key step of the scRNA-seq technology in all available protocols and is the main difference from mass RNA-seq. The introduction of this step allows for the unambiguous designation of each transcriptome with a unique cellular barcode. The transcript complementarily bound to the microparticle is subjected to several cycles of amplification using the polymerase chain reaction (PCR) or *in vitro* transcription (IVT) due to the presence of the necessary reagents and primers in the reaction mixture. In the first amplification cycle, DNA complementary to the transcript on the microparticle is synthesized, forming a single chain with a complex primer, and, as a result, the barcode described above (Figure 1f). Then, in subsequent

amplification cycles, multiple cDNA synthesis occurs in the reaction mixture [37].

The subsequent steps of the technology are similar to classical NGS sequencing. Library preparation and quality control, the sequencing process itself and computer processing of the obtained data are carried out in accordance with the protocol and using reagents from the sequencing equipment manufacturer (Figure 1d). Historically, the most popular sequencing platforms in the majority of cases are various series of NGS sequencers from Illumina (Illumina, Inc., USA) due to the high efficiency and high quality of results obtained using this equipment. Most of the commercially available scRNA-seq solutions presented have been developed and adapted for Illumina equipment. A relatively new player in this field is the MGI/BGI (Beijing Genomics Institute, BGI, China) line of NGS sequencers, which is competitively increasing its market share and demonstrating equivalent sequencing results even in studies of individual cells [39]. Besides, the growth and development of software should not be overlooked. Recent advances enable additional processing and visualization of data obtained by the scRNA-seq method.

The process of data processing in the scRNA-seq experiment, unlike bulk analysis options, requires the use of additional tools to solve emerging problems due to the increase in the amount of individual data [40, 41]. Currently, more than 600 stand-alone tools in the R and Python programming languages are available for analyzing and exploring scRNA-seq data [42], but most of them have a high entry threshold and will be difficult for beginners to master [43, 44]. Furthermore, due to the relative novelty of the method, working with different types of cells and biological samples may require a different approach to data processing and analysis, which also complicates working with scRNA-seq data.

The obtained sequencing data undergo primary processing by the algorithms of the software of the sequencing equipment manufacturer. Then the data undergoes additional processing using specialized scRNA-seq software packages. The data are presented in the form of gene expression matrices (in the “cell — gene” format), where the number of copies of the detected transcripts is indicated for each gene. Such separation of cells is achieved

by introducing additional identifiers at the barcoding stage — Cell Label / Barcode and UMI. The presence of the Cell Label / Barcode allows to associate all readings with a specific cell, and the presence of unique molecular identifiers UMI allows to count the number of readings of specific transcripts for each gene within a single cell. Further processing involves dividing cells into populations using normalization methods (SCT / log), and then reducing the dimensionality using the Principal Component

Analysis (PCA) method and the nonlinear dimensionality reduction (Uniform Manifold Approximation and Projection, UMAP) method. This allows to plot single cells on a two-dimensional graph considering their differences in gene expression for their most variable representatives. After this, individual cell clusters are isolated by detecting cells with a similar expression profile. The isolated clusters are then identified as individual cell populations with a specific phenotype (Figure 2).

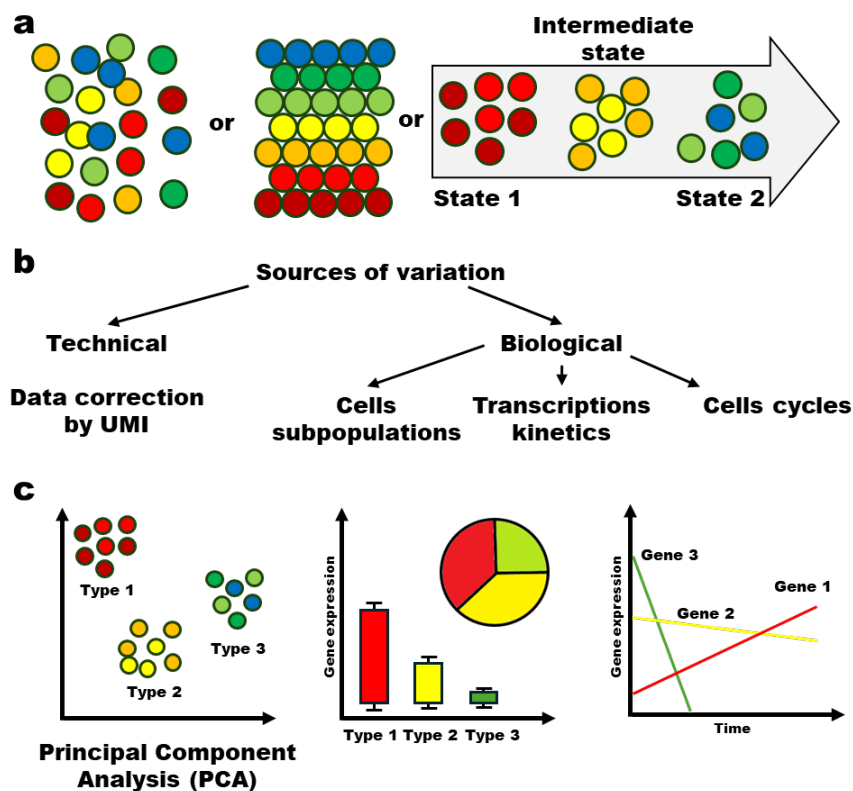


Fig. 2. Data processing in an scRNA-seq experiment. Various variants of heterogeneous cell populations can be studied: a mixture of different cell types, such as blood; a tissue with a gradient of different cells that may be associated during development; cells transitioning from one state to another, such as differentiating cells (a). The main sources of variation in the experiment are technical and biological. Technical noise is estimated and corrected for using approaches that relate the number of unique reads and labels. Sources of biological variability can be variability among different subpopulations, cell-to-cell variability in gene expression and transcription kinetics, and variability due to cell function and biological processes, such as the cell cycle, which serves as a source of data for further analysis (b). Identification of cell populations can be performed using principal component analysis (PCA) or hierarchical clustering. There are also various approaches to characterize subpopulations: searching for cell type markers by analyzing differential expression between different groups of cells; frequency of occurrence of cell populations; identification of genes that exhibit certain patterns during a process, such as development or response to stimuli: genes which expression either increases or decreases throughout the process, but, most interestingly, genes that are expressed transiently in intermediate cell types, since these genes may be important for the process (c).

Note: UMI — unique molecular identifier.

A classic example of a software package for working with scRNA-seq data regardless of the cell types studied is the approach described in [45], which proposes four ready-to-use software packages that include raw count normalization, feature selection, dimensionality reduction, and clustering, shown in Figure 2. The proposed software packages use both R and Python programming languages and include Seurat (R) [46], Scanpy (Python) [47], Monocle (R) [48, 49], and gf-icf (R) [50]. Using this approach will allow inexperienced users to analyze scRNA-seq data without complications and loss of information. An example of using this approach with a description of the steps, demonstration of graphs and command lines is available on “github” [51].

Examples of using the scRNA-seq method

During their development and application over the past 15 years, scRNA-seq technologies have grown into various solutions, including commercial ones (presented in Table 2, [52–68]), which can be classified in various ways, the most relevant of which, in our opinion, is by the cell isolation method. Similar to what was described in the section above, the technologies can be divided into microfluidic options that use chips and the formation of emulsion

microdroplets for separation, options with magnetic or fluorescent sorting, and other options that use, for example, laser dissection or cytometry. For example, in the field of scRNA-seq, microfluidic technologies have recently gained popularity due to their cost-effectiveness, high performance, and moderate requirements for the budget and the size of the generated data [27, 28]. Another important parameter is the division into technologies with high throughput but low detection limits, and, conversely, low throughput but deep detection limits.

The most well-known commercial technologies currently in use are Chromium® from 10X Genomics, USA and BD Rhapsody® from BD Biosciences, USA, which provide users with a wide range of commercial solutions and equipment for sample preparation using scRNA-seq technology and compatible with NSG sequencing methods from various manufacturers. Technologies have successfully competed for a long time and are subject to constant comparison [69]. As scRNA-seq technology is mastered and distributed, more and more manufacturers are mastering the technology and offering their commercial solutions, for example, ddSEQ® Single-Cell from BioRad, DNBelab® C Series from MGI/BGI, China, Quantum Scale® from Scale Bioscience, USA and Gexscope® from Singlerion, Germany.

Table 2

scRNA-seq technologies

Technology	Isolation type	Add. parameters	Year / Ref.	Examples of commercial technologies
Smart-seq	FACS	PCR, Full-length	2012 [52]	SMART-Seq®, Takara Bio, Japan [62]
Smart-seq2	FACS	PCR, Full-length	2013 [53]	
MATQ-seq	FACS	PCR, Full-length	2017 [54]	
CEL-seq	FACS	IVT, 3' end	2012 [55]	
MARS-seq	FACS	IVT, 3' end	2014 [56]	
Fluidigm C1	Micro-fluidic	PCR, Full-length	2013 [57]	BD Rhapsody®, BD Biosciences, USA [63]Quantum Scale®, Scale Bioscience, USA, [64]Gexscope®, Singlerion, Germany [65]
Seq-Well	Micro-fluidic	PCR, 3' end	2017 [58]	
Drop-seq	Microdroplets	PCR, 3' end	2015 [37]	Chromium®, Gem-X®, 10X Genomics, USA [66]DNBelab® C Series, MGI/BGI, China [67]ddSEQ® Single-Cell, BioRad, USA [68]
inDrop-seq	Microdroplets	IVT, 3' end	2015 [59]	
10x Genomics	Microdroplets	PCR, 3' end	2016 [60]	
DNBelab C4	Microdroplets	PCR, 3' end	2019 [61]	

Note: FACS – fluorescence-activated cell sorting; PCR – polymerase chain reaction; IVT – in vitro transcription.

However, the implementation of scRNA-seq methods is still not widely available for many laboratories due to its relatively high cost [34, 35]. At the moment, the technology is still relatively expensive, the cost of a reagent kit varies from several thousand to several hundred US dollars excluding the cost of equipment that performs operations according to the protocol. Nevertheless, it is the presence and development of competition between commercial scRNA-seq solutions that has a positive effect on this gradual reduction in the cost of using the technology. Moreover, a number of companies have already announced the development and imminent release of new cost-effective commercial solutions for scRNA-seq technology. Organizations such as Parse Biosciences, USA and Fluent BioSciences, USA announce the development of solutions that allow to scale up analysis multiple times and simplify the procedure for analyzing and processing data due to the implementation of new technologies and use of machine learning and artificial intelligence. ArgenTAG, Argentina, in turn, is preparing a commercial solution for applying scRNA-seq to third-generation sequencers, in particular Oxford Nanopore, and plans to reduce the cost due to both more productive cell barcoding technologies and the advantage of long reads of new sequencers. Also, Scipio Bioscience, France, has proposed an alternative approach to barcoding in hydrogel without the use of expensive equipment and is preparing its kits for release to the market. Such a solution will allow scRNA-seq experiments to be carried out simply at the lab table further reducing their cost.

Below are examples of the application of the technology and the results obtained in the fields of clinical diagnostics, cellular aging and oncology, obtained mainly using only commercial solutions Chromium® from 10X Genomics, USA and BD Rhapsody® from BD Biosciences, USA. The rapid development of scRNA-seq technology inspires optimism and promises growth in the prospects for future medical and biological research.

Oncology

Currently, scRNA-seq technology is widely used in oncology for profiling the transcriptomes of

individual cells. The data obtained using this method have improved our understanding of the biological characteristics and dynamics within cancer lesions, including information related to malignant cell and immune cell landscapes, tumor heterogeneity, circulating tumor cells, and the underlying mechanisms of tumor biological behavior [70]. Various scRNA-seq technologies have been used to study cell hierarchy and decipher clonal heterogeneity in normal bone marrow and acute myeloid leukemia [71], and to search for new diagnostic and prognostic biomarkers among various tumors [72], such as bladder cancer and pancreatic cancer [73]. Systematic accumulation of scRNA-seq data has allowed the creation of a cancer cell atlas that covers a spectrum of cancer types [74–84] and may provide guidance for treatment of conditions where basic guidelines are lacking [85].

The use of scRNA-seq has enabled the characterization of dynamic interactions within a single cell by analyzing transcriptome variation over space and time. The sequential attachment of spatial barcodes allows the encoding and extraction of location information of individual cells, which can effectively inform research and diagnostics. Thus, tracking temporal and spatial variability allows the study of the impact on tumor heterogeneity and stress response, which in turn can be used for cancer diagnosis, classification, and treatment [86–88]. For example, a study [89] deciphered a detailed spatial map of individual cell phenotypes and cell systems, which the researchers used to demonstrate the phenotypic heterogeneity of tumor cells in breast cancer. Similar results were achieved in studies [90, 91] on pancreatic and breast cancer.

The use of scRNA-seq has enabled the identification of gene expression changes during cancer progression. Studies using single cell sequencing of adjacent normal tissues and adenomas at different stages in patients have comprehensively revealed genomic changes, clonal architecture, and metabolic dynamics during tumor development, which in turn has provided insight into tumor progression inhibition [92]. For example, a study [93] investigated the cell evolutionary pathway in salivary gland squamous cell carcinoma, including the stages of basal cell carcinogenesis, activation of Wnt

signaling cascades, and subsequent cell differentiation into luminal cells. Another example is a study [94] describing the mechanism of transformation of familial adenomatous polyposis to adenocarcinoma, indicating that malignant cells retain epithelial characteristics while undergoing rapid migration in breast cancer.

The use of scRNA-seq allows clustering of different cells. Clustering of tumor cell subsets helps to identify rare subsets or a spectrum of cell states of malignant cells [70]. For example, studies [95–99] using scRNA-seq have identified melanoma cells in intermediate states and malignant cell subsets with unique characteristics in pancreatic, ovarian, and gastric cancers. scRNA-seq can also be used to cluster subsets of immune cells that make up the tumor immune microenvironment, also allowing to assess the impact on immunotherapeutic response and clinical outcomes [70]. For example, a study [100] describes gradual replacement of resident myeloid cells by macrophages and monocyte-derived DCs upon T cell depletion in metastatic lung adenocarcinoma.

Senescence

The field of studying cellular senescence is an interesting example of the early use of scRNA-seq technology. Various factors can induce cellular senescence, and the rate of accumulation of senescent cells varies across organs. In addition, since heterogeneity is due to the spatiotemporal context of senescent cells, *in vivo* studies are required to improve the understanding of senescent cells [101]. While previous attempts have been made to find markers commonly expressed in senescent cells, researchers have been actively using bulk RNA-seq as a primary tool to study cells and their relationships over time [102–105].

The use of scRNA-seq in senescence is currently a relatively new approach to study rare senescent cells. This is because only modern scRNA-seq technologies achieve the minimum required throughput of ~10,000 cells per approach to work with rather rare senescent cells in the bulk, which constitute only 2% of specific tissues *in vivo* [106]. Technologies such as InDrops and Drop-seq can easily scale up cell numbers, thereby

increasing the ability to detect rare cells [107]. Therefore, improving the throughput of scRNA-seq and ways to enrich for rare senescent cells are priority areas for development.

One of the most striking examples of the use of scRNA-seq in this area is the creation of the Tabula Muris Senis — atlas of mouse aging [108], where various tissues of male and female mice were analyzed over time. The study observed the emergence of aging-specific cell types in tissues such as the liver and bladder, as well as immune infiltration of various tissues. It was noted that the number of T and B cells in gonadal adipose tissue increased with age, and a cluster of B cells highly expressing immunoglobulin J was found specifically in old mice. Moreover, the use of the scRNA-seq data sets by the researchers [108, 109] showed a certain discrepancy between the expected results and the already established theory about the expression of the aging marker p16. In the study [108], it was noted that the fraction of cells expressing p16 doubled after 24 months compared to 3 months, and the level of p16 expression also increased approximately 2-fold. However, according to the study [109], the proportion of p16-expressing cells and the average level of p16 expression did not increase during aging. This allowed to conclude both that p16-expressing senescent cells are quite rare and are likely to be lost during tissue dissociation and sequencing library creation, and that the pattern of accumulation of p16-expressing senescent cells may differ between subjects [101].

For ethical reasons, scRNA-seq analysis for human tissues has been performed only in limited quantities. Several studies [110–115] have obtained data for the creation of aging cell atlases for muscle, pancreas, brain, retina, and blood cells. A study [116] using scRNA-seq on human lung tissue was able to show a relationship between senescent cell populations and age-related progression of pulmonary fibrosis, despite the poor representation of classical senescent markers determined by bulk RNA-seq. These data led to the conclusion that *in vivo* human senescent cells may have a different transcriptomic signature from senescent cells *in vitro* and the use of single-cell spatial transcriptomics to study

different tissues longitudinally may help to expand the understanding of the systemic effects of senescent cells [117].

Diagnostics and clinical research

The use of scRNA-seq technology paired with machine learning is a powerful tool for creating complex diagnostic systems for various diseases. For example, in the study of systemic lupus erythematosus [118], a machine learning-based pipeline was presented that was able to compare hundreds of single-cell proteome and transcriptome data points and identify several working combinations of biomarkers for diagnosis and further monitoring of the disease.

A study [119] devoted to postmenopausal osteoporosis also undertook solving the problem of discovering and screening new biomarkers for the disease, as well as attempts to identify new therapeutic targets by combining scRNA-seq and bulk RNA-seq technologies. Three potential biomarkers were identified and a correlation with the effectiveness of several potential drugs for treatment was established. These data were used for early diagnosis and targeted treatment of osteoporosis.

Another study [120] using a combination of scRNA-seq and bulk RNA-seq technologies aimed at finding biomarkers and developing methods for diagnosing sepsis. A specific biomarker has been identified that demonstrates diagnostic and prognostic value in sepsis and has been nominated for potential use in the treatment of this pathology. Single-cell sequencing is widely used to measure the clinical efficacy and safety of new drugs in clinical trials. Single-cell sequencing can be used to study dynamic regulatory networks and identify heterogeneous cellular behavior in response to different chemotherapy or radiation in cell lines or tumor samples such as esophageal squamous cell carcinoma [121]. As an example, a study [122] described the sci-Plex method used to decipher transcriptomic changes and their underlying mechanisms in millions of malignant cells in response to drug therapy.

Conclusion

The use of the scRNA-seq method allows to obtain sequencing data with greater accuracy, volume and quality. This opens up a wide field to conduct a detailed study of biological processes occurring in the central and peripheral organs of the immune system, inflammatory and tumor processes, as well as cellular aging processes, which is already confirmed by examples of the conducted studies.

In our opinion, mastering this method is one of the current professional challenges for domestic research teams. Tackling such a challenge will require increasing the level of technical equipment, gaining experience in using the current and previous versions of the technology — bulk RNA-seq / NGS, and studying modern bioinformatics tools for processing and interpreting data, which in turn implies the development of competencies in the field of immunology and biology, as well as the study and implementation of programming languages in practice.

Based on the scientific examples presented in this review, it can be concluded that the development and successful application of the scRNA-seq method in scientific and clinical practice will become the key to a wide range of future discoveries and successful accurate personalized diagnostics and healthcare.

References / Список литературы

1. Hatton IA, Galbraith ED, Merleau NSC, Miettinen TP, Smith BM, Shander JA. The human cell count and size distribution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2023;120(39). doi:10.1073/pnas.2303077120
2. Pareek CS, Smoczynski R, Tretyn A. Sequencing technologies and genome sequencing. *Journal of Applied Genetics*. 2011;52(4):413–435. doi:10.1007/s13353-011-0057-x
3. Hu T, Chitnis N, Monos D, Dinh A. Next-generation sequencing technologies: An overview. *Human Immunology*. 2021;82(11):801–811. doi:10.1016/j.humimm.2021.02.012
4. Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of Molecular Biology*. 1975;94(3):441–448. doi:10.1016/0022-2836(75)90213-2
5. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1977;74(12):5463–5467. doi:10.1073/pnas.74.12.5463
6. Thermo Fisher Scientific [Internet]. Ion Torrent Next-Generation Sequencing Instruments [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.thermofisher.com/ru/ru/home/life-science/sequencing/next-generation-sequencing/ion-torrent-next-generation-sequencing-workflow/ion-torrent-next-generation-sequencing-run-sequence.html>

7. Merriman B, Rothberg JM. Progress in Ion Torrent semiconductor chip based sequencing. *Electrophoresis*. 2012;33(23):3397–3417. doi:10.1002/elps.201200424
8. Illumina [Internet]. Explore Illumina sequencing technology [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.illumina.com/science/technology/next-generation-sequencing/sequencing-technology.html>
9. Illumina [Internet]. Bringing next-generation sequencing to clinical labs [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.illumina.com/systems/ivd-instruments.html>
10. BGI/MGI [Internet]. Introduction to MGI sequencing technology [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://en.mgi-tech.com/products/resources>
11. BGI/MGI [Internet]. Sequencer Products. Platforms [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://en.genomics.cn/en-sequencplatform.html>
12. PacBio [Internet]. Introducing the Sequel System: The Scalable Platform for SMRT Sequencing [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.pacb.com/blog/introducing-the-sequel-system-the-scalable-platform-for-smrt-sequencing/>
13. PacBio [Internet]. Human genomics solutions [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.pacb.com/human-genomics/>
14. ONT [Internet]. About [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://nanoporetech.com/about>
15. Jain M, Olsen HE, Paten B, Akeson M. The Oxford Nanopore MinION: delivery of nanopore sequencing to the genomics community. *Genome Biology*. 2016;17(1). doi:10.1186/s13059-016-1103-0
16. Wang ET, Sandberg R, Luo S, Khrebukova I, Zhang L, Mayr C, Kingsmore SF, Schroth GP, Burge CB. Alternative isoform regulation in human tissue transcriptomes. *Nature*. 2008;456(7221):470–476. doi:10.1038/nature07509
17. Cacchiarelli D, Trapnell C, Ziller MJ, et al. Integrative analyses of human reprogramming reveal dynamic nature of induced pluripotency. *Cell*. 2015;162(2):412–424. doi:10.1016/j.cell.2015.06.016
18. Mitelman F, Johansson B, Mertens F. The impact of translocations and gene fusions on cancer causation. *Nature Reviews Cancer*. 2007;7(4):233–245. doi:10.1038/nrc2091
19. Trapnell C. Defining cell types and states with single-cell genomics. *Genome Research*. 2015;25(10):1491–1498. doi:10.1101/gr.190595.115
20. Plasschaert LW, Žilionis R, Choo-Wing R, Savova V, Knehr J, Roma G, Klein AM, Jaffe AB. A single-cell atlas of the airway epithelium reveals the CFTR-rich pulmonary ionocyte. *Nature*. 2018;560(7718):377–381. doi:10.1038/s41586-018-0394-6
21. Suo S, Zhu Q, Saadatpour A, Fei L, Guo G, Yuan GC. Revealing the critical regulators of cell identity in the Mouse cell Atlas. *Cell Reports*. 2018;25(6):1436–1445.e3. doi:10.1016/j.celrep.2018.10.045
22. Velasco S, Kedaigle AJ, Simmons SK, et al. Individual brain organoids reproducibly form cell diversity of the human cerebral cortex. *Nature*. 2019;570(7762):523–527. doi:10.1038/s41586-019-1289-x
23. Fischer DS, Fiedler AK, Kernfeld EM, Genda RMJ, Bastidas-Ponce A, Bakhti M, Lickert H, Hasenauer J, Maehr R, Theis F. Inferring population dynamics from single-cell RNA-sequencing time series data. *Nature Biotechnology*. 2019;37(4):461–468. doi:10.1038/s41587-019-0088-0
24. Liu Z, Wang L, Welch JD, et al. Single-cell transcriptomics reconstructs fate conversion from fibroblast to cardiomyocyte. *Nature*. 2017;551(7678):100–104. doi:10.1038/nature24454
25. Cacchiarelli D, Qiu X, Srivatsan S, et al. Aligning Single-Cell developmental and reprogramming trajectories identifies molecular determinants of myogenic reprogramming outcome. *Cell Systems*. 2018;7(3):258–268.e3. doi:10.1016/j.cels.2018.07.006
26. Van Dijk D, Sharma R, Nainys J, et al. Recovering Gene Interactions from Single-Cell Data Using Data Diffusion. *Cell*. 2018;174(3):716–729.e27. doi:10.1016/j.cell.2018.05.061
27. Hayashi T, Ozaki H, Sasagawa Y, Umeda M, Danno H, Nikaido I. Single-cell full-length total RNA sequencing uncovers dynamics of recursive splicing and enhancer RNAs. *Nature Communications*. 2018;9(1). doi:10.1038/s41467-018-02866-0
28. Savas P, Virassamy B, Ye C. Single-cell profiling of breast cancer T cells reveals a tissue-resident memory subset associated with improved prognosis. *Nature Medicine*. 2018;24(7):986–993. doi:10.1038/s41591-018-0078-7
29. Moghe I, Loupy A, Solez K. The Human Cell Atlas Project by the numbers: Relationship to the Banff Classification. *American Journal of Transplantation*. 2018;18(7):1830. doi:10.1111/ajt.14757
30. Tang F, Barbacioru C, Wang Y, et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. *Nature Methods*. 2009;6(5):377–382. doi:10.1038/nmeth.1315
31. Perik-Zavodskaja OYu, Perik-Zavodskii RYu, Sennikov SV. Innovative approaches in immunology: single cell multi-omics and spatial transcriptomics. *Immunologiya*. 2024;45(4):414–426. doi:10.3302/9/1816-2134-2024-45-4-414-426 (In Russian). [Перик-Заводская О.Ю., Перик-Заводский Р.Ю., Сенников С.В. Инновационные подходы в иммунологии: мультиомика единичных клеток и пространственная транскриптомика // Иммунология. 2024; 45 (4): 414–426 DOI: <https://doi.org/10.3302/9/1816-2134-2024-45-4-414-426>]
32. Hedlund E, Deng Q. Single-cell RNA sequencing: Technical advancements and biological applications. *Molecular Aspects of Medicine*. 2017;59:36–46. doi:10.1016/j.mam.2017.07.003
33. Hwang B, Lee JH, Bang D. Single-cell RNA sequencing technologies and bioinformatics pipelines. *Experimental & Molecular Medicine*. 2018;50(8):1–14. doi:10.1038/s12276-018-0071-8
34. Ziegenhain C, Vieth B, Parekh S, Reinis B, Guillaumont-Adkins A, Smets M, Leonhards H, Heyn H, Hellmann I, Enard W. Comparative analysis of Single-Cell RNA sequencing Methods. *Molecular Cell*. 2017;65(4):631–643.e4. doi:10.1016/j.molcel.2017.01.023
35. Sanz E, Yang L, Su T, Morris DR, McKnight GS, Amieux PS. Cell-type-specific isolation of ribosome-associated mRNA from complex tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(33):13939–13944. doi:10.1073/pnas.0907143106
36. Zeb Q, Wang C, Shafiq S, Liu L. An overview of Single-Cell isolation techniques. In: *Elsevier eBooks*; 2019:101–135. doi:10.1016/b978-0-12-814919-5.00006-3
37. Macosko EZ, Basu A, Satija R. Highly parallel genome-wide expression profiling of individual cells using nanoliter droplets. *Cell*. 2015;161(5):1202–1214. doi:10.1016/j.cell.2015.05.002
38. Islam S, Zeisel A, Joost S, La Manno G, Zajac P, Kasper M, Lönnerberg P, Linnarsson S. Quantitative single-cell RNA-seq with unique molecular identifiers. *Nature Methods*. 2013;11(2):163–166. doi:10.1038/nmeth.2772
39. Senabouth A, Andersen S, Shi Q, et al. Comparative performance of the BGI and Illumina sequencing technology for single-cell RNA-sequencing. *NAR Genomics and Bioinformatics*. 2020;2(2). doi:10.1093/nargab/lqaa034
40. Stegle O, Teichmann SA, Marioni JC. Computational and analytical challenges in single-cell transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*. 2015;16(3):133–145. doi:10.1038/nrg3833
41. Lähnemann D, Köster J, Szczurek E, et al. Eleven grand challenges in single-cell data science. *Genome Biology*. 2020;21(1). doi:10.1186/s13059-020-1926-6
42. scRNA-tools [Internet]. scRNA-tools page [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.scrna-tools.org>
43. Luecken MD, Theis FJ. Current best practices in single cell RNA seq analysis: a tutorial. *Molecular Systems Biology*. 2019;15(6). doi:10.15252/msb.20188746
44. Neu KE, Tang Q, Wilson PC, Khan AA. Single-Cell Genomics: Approaches and utility in Immunology. *Trends in Immunology*. 2017;38(2):140–149. doi:10.1016/j.it.2016.12.001
45. Slovin S, Carissimo A, Panariello F, Grimaldi A, Bouché V, Gambardella G, Cacchiarelli D. Single-Cell RNA sequencing Analysis: A Step-by-Step Overview. *Methods in Molecular Biology*. January 2021:343–365. doi:10.1007/978-1-0716-1307-8_19

46. Butler A, Hoffman P, Smibert P, Papalexi E, Satija R. Integrating single-cell transcriptomic data across different conditions, technologies, and species. *Nature Biotechnology*. 2018;36(5):411–420. doi:10.1038/nbt.4096
47. Wolf FA, Angerer P, Theis FJ. SCANPY: large-scale single-cell gene expression data analysis. *Genome Biology*. 2018;19(1). doi:10.1186/s13059-017-1382-0
48. Trapnell C, Cacchiarelli D, Grimsby J, Pokharel P, Li S, Morse M, Lennon NJ, Livak KJ, Mikkelsen TS, Rinn JL. The dynamics and regulators of cell fate decisions are revealed by pseudotemporal ordering of single cells. *Nature Biotechnology*. 2014;32(4):381–386. doi:10.1038/nbt.2859
49. Cao J, Spielmann M, Qiu X. The single-cell transcriptional landscape of mammalian organogenesis. *Nature*. 2019;566(7745):496–502. doi:10.1038/s41586-019-0969-x
50. Gambardella G, Di Bernardo D. A tool for visualization and analysis of Single-Cell RNA-Seq data based on text mining. *Frontiers in Genetics*. 2019;10. doi:10.3389/fgene.2019.00734
51. Github [Internet]. scRNA-seq chapter [Accessed July 31, 2025]. Available from: https://github.com/gambalab/scRNAseq_chapter
52. Goetz JJ, Trimarchi JM. Transcriptome sequencing of single cells with Smart-Seq. *Nature Biotechnology*. 2012;30(8):763–765. doi:10.1038/nbt.2325
53. Picelli S, Björklund ÅK, Faridani OR, Sagasser S, Winberg G, Sandberg R. Smart-seq2 for sensitive full-length transcriptome profiling in single cells. *Nature Methods*. 2013;10(11):1096–1098. doi:10.1038/nmeth.2639
54. Sheng K, Cao W, Niu Y, Deng Q, Zong C. Effective detection of variation in single-cell transcriptomes using MATQ-seq. *Nature Methods*. 2017;14(3):267–270. doi:10.1038/nmeth.4145
55. Hashimshony T, Wagner F, Sher N, Yanai I. CEL-SEQ: Single-Cell RNA-Seq by multiplexed linear amplification. *Cell Reports*. 2012;2(3):666–673. doi:10.1016/j.celrep.2012.08.003
56. Jaitin DA, Kenigsberg E, Keren-Shaul H. Massively Parallel Single-Cell RNA-Seq for Marker-Free Decomposition of Tissues into Cell Types. *Science*. 2014;343(6172):776–779. doi:10.1126/science.1247651
57. Xin Y, Kim J, Ni M, et al. Use of the Fluidigm C1 platform for RNA sequencing of single mouse pancreatic islet cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016;113(12):3293–3298. doi:10.1073/pnas.1602306113
58. Gierahn TM, Wadsworth MH, Hughes TK, Bryson BD, Butler A, Satija R, Fortune S, Love JC, Shalek AK. Seq-Well: portable, low-cost RNA sequencing of single cells at high throughput. *Nature Methods*. 2017;14(4):395–398. doi:10.1038/nmeth.4179
59. Klein AM, Mazutis L, Akartuna I, Tallapragada N, Veres A, Li V, Peshkin L, Weitz DA, Kirschner MW. Droplet barcoding for Single-Cell transcriptomics applied to embryonic stem cells. *Cell*. 2015;161(5):1187–1201. doi:10.1016/j.cell.2015.04.044
60. Zheng GXY, Terry JM, Belgrader P. Massively parallel digital transcriptional profiling of single cells. *Nature Communications*. 2017;8(1). doi:10.1038/ncomms14049
61. Liu C, Wu T, Fan F, et al. A portable and cost-effective microfluidic system for massively parallel single-cell transcriptome profiling. *bioRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*. October 2019. doi:10.1101/818450
62. Takara Bio [Internet]. SMART-Seq mRNA Single Cell LP and SMART-Seq mRNA Single Cell [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.takarabio.com/products/next-generation-sequencing/rna-seq/mrna-seq/full-length-mrna-seq/smart-seq-mrna-single-cell-lp-and-smart-seq-mrna-single-cell>
63. BD Bioscience [Internet]. BD Rhapsody [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.bdbiosciences.com/en-us/products/instruments/single-cell-multiomics-systems/rhapsody>
64. Scale Bioscience [Internet]. QuantumScale Single Cell RNA [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://scale.bio/single-cell-rna-sequencing-kit/>
65. Singleron [Internet]. Single Cell RNA Sequencing [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://singleron.bio/single-cell-sequencing-solutions/>
66. 10X Genomics [Internet]. Chromium Single Cell [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.10xgenomics.com/platforms/chromium>
67. BGI/MGI [Internet]. Single Cell RNA-Seq [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.bgi.com/us/high-throughput-single-cell-rna-seq>
68. BIO-RAD [Internet]. ddSEQ Single-Cell 3' RNA-Seq & Omniton Analysis Software [Accessed July 31, 2025]. Available from: <https://www.bio-rad.com/ru-ru/product/ddseq-single-cell-3-rna-seq-kit-omniton-analysis-software?ID=b4738e36-858d-e6a0-61d9-8d96d3d521b8>
69. Gao C, Zhang M, Chen L. The comparison of two single-cell sequencing platforms: BD Rhapsody and 10X Genomics Chromium. *Current Genomics*. 2020;21(8):602–609. doi:10.2174/1389202921999200625220812
70. Lei Y, Tang R, Xu J, Wang W, Zhang B, Liu J, Yu X, Shi S. Applications of single-cell sequencing in cancer research: progress and perspectives. *Journal of Hematology & Oncology*. 2021;14(1). doi:10.1186/s13045-021-01105-2
71. Wu J, Xiao Y, Sun J. A single-cell survey of cellular hierarchy in acute myeloid leukemia. *Journal of Hematology & Oncology*. 2020;13(1). doi:10.1186/s13045-020-00941-y
72. Rozenblatt-Rosen O, Regev A, Oberdoerffer P, et al. The Human Tumor Atlas Network: Charting Tumor Transitions across Space and Time at Single-Cell Resolution. *Cell*. 2020;181(2):236–249. doi:10.1016/j.cell.2020.03.053
73. Chen Z, Zhou L, Liu L, Hou Y, Xiong M, Yang Y, Hu J, Chen K. Single-cell RNA sequencing highlights the role of inflammatory cancer-associated fibroblasts in bladder urothelial carcinoma. *Nature Communications*. 2020;11(1). doi:10.1038/s41467-020-18916-5
74. Sinjab A, Han G, Trekitkarnmongkol W. Resolving the spatial and cellular architecture of lung adenocarcinoma by multi-region Single-Cell sequencing. *Cancer Discovery*. 2021;11(10):2506–2523. doi:10.1158/2159-8290.cd-20-1285
75. Pal B, Chen Y, Vaillant F. A single cell RNA expression atlas of normal, preneoplastic and tumorigenic states in the human breast. *The EMBO Journal*. 2021;40(11). doi:10.15252/embj.2020107333
76. Wagner J, Rapsomaniki MA, Chevrier S. A Single-Cell atlas of the tumor and immune ecosystem of human breast cancer. *Cell*. 2019;177(5):1330–1345. doi:10.1016/j.cell.2019.03.005
77. Hu Q, Hong Y, Qi P, et al. Atlas of breast cancer infiltrated B-lymphocytes revealed by paired single-cell RNA-sequencing and antigen receptor profiling. *Nature Communications*. 2021;12(1). doi:10.1038/s41467-021-22300-2
78. Mathewson ND, Ashenberg O, Tirosh I. Inhibitory CD161 receptor identified in glioma-infiltrating T cells by single-cell analysis. *Cell*. 2021;184(5):1281–1298.e26. doi:10.1016/j.cell.2021.01.022
79. Zheng Y, Chen Z, Han Y, et al. Immune suppressive landscape in the human esophageal squamous cell carcinoma microenvironment. *Nature Communications*. 2020;11(1). doi:10.1038/s41467-020-20019-0
80. Yuan H, Yan M, Zhang G. CancerSEA: a cancer single-cell state atlas. *Nucleic Acids Research*. 2018;47(D1): D900–D908. doi:10.1093/nar/gky939
81. Pritykin Y, Van Der Veken J, Pine AR, Zhong Y, Sahin M, Mazutis L, Pe'er D, Rudensky AY, Leslie CS. A unified atlas of CD8 T cell dysfunctional states in cancer and infection. *Molecular Cell*. 2021;81(11):2477–2493.e10. doi:10.1016/j.molcel.2021.03.045
82. Cheng S, Li Z, Gao R. A pan-cancer single-cell transcriptional atlas of tumor infiltrating myeloid cells. *Cell*. 2021;184(3):792–809.e23. doi:10.1016/j.cell.2021.01.010
83. Marcu A, Bichmann L, Kuchenbecker L, et al. HLA Ligand Atlas: a benign reference of HLA-presented peptides to improve T-cell-based cancer immunotherapy. *Journal for Immunotherapy of Cancer*. 2021;9(4): e002071. doi:10.1136/jitc-2020-002071
84. Buechler MB, Pradhan RN, Krishnamurthy AT. Cross-tissue organization of the fibroblast lineage. *Nature*. 2021;593(7860):575–579. doi:10.1038/s41586-021-03549-5
85. Liudahl SM, Betts CB, Sivagnanam S, et al. Leukocyte Heterogeneity in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Phenotypic and Spatial Features Associated with Clinical Outcome. *Cancer Discovery*. 2021;11(8):2014–2031. doi:10.1158/2159-8290.cd-20-0841

86. Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. *Experimental Biology and Medicine*. 1941;47(2):200–202. doi:10.3181/00379727-47-13084p
87. Gall JG, Pardue ML. Formation and detection of rna-dna hybrid molecules in cytological preparations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1969;63(2):378–383. doi:10.1073/pnas.63.2.378
88. Geng S, Wang J, Zhang X, et al. Single-cell RNA sequencing reveals chemokine self-feeding of myeloma cells promotes extramedullary metastasis. *FEBS Letters*. 2019;594(3):452–465. doi:10.1002/1873-3468.13623
89. Jackson HW, Fischer JR, Zanotelli VRT, et al. The single-cell pathology landscape of breast cancer. *Nature*. 2020;578(7796):615–620. doi:10.1038/s41586-019-1876-x
90. Moncada R, Barkley D, Wagner F, Chiodin M, Devlin JC, Baron M, Hajdu CH, Simeone DM, Yanai I. Integrating microarray-based spatial transcriptomics and single-cell RNA-seq reveals tissue architecture in pancreatic ductal adenocarcinomas. *Nature Biotechnology*. 2020;38(3):333–342. doi:10.1038/s41587-019-0392-8
91. Ståhl PL, Salmén F, Vickovic S. Visualization and analysis of gene expression in tissue sections by spatial transcriptomics. *Science*. 2016;353(6294):78–82. doi:10.1126/science.aaf2403
92. Li J, Wang R, Zhou X, et al. Genomic and transcriptomic profiling of carcinogenesis in patients with familial adenomatous polyposis. *Gut*. 2019;69(7):1283–1293. doi:10.1136/gutjnl-2019-319438
93. Praktijn SD, Obermayer B, Zhu Q, Fang L, Liu H, Quinn H, Stoeckius M, Kocks C, Birchmeier W, Rajewsky N. Tracing tumorigenesis in a solid tumor model at single-cell resolution. *Nature Communications*. 2020;11(1). doi:10.1038/s41467-020-14777-0
94. Chen YC, Sahoo S, Brien R. Single-cell RNA-sequencing of migratory breast cancer cells: discovering genes associated with cancer metastasis. *The Analyst*. 2019;144(24):7296–7309. doi:10.1039/c9an01358j
95. Wouters J, Kalender-Atak Z, Minnoye L. Robust gene expression programs underlie recurrent cell states and phenotype switching in melanoma. *Nature Cell Biology*. 2020;22(8):986–998. doi:10.1038/s41556-020-0547-3
96. Cook DP, Vanderhyden BC. Ovarian cancer and the evolution of subtype classifications using transcriptional profiling†. *Biology of Reproduction*. 2019;101(3):645–658. doi:10.1093/biolre/ioz099
97. Liu Y, Ye G, Huang L, Zhang C, Sheng Y, Wu B, Han L, Wu C, Dong B, Qi Y. Single-cell transcriptome analysis demonstrates inter-patient and intra-tumor heterogeneity in primary and metastatic lung adenocarcinoma. *Aging*. 2020;12(21):21559–21581. doi:10.18632/aging.103945
98. Zhang M, Hu S, Min M, Ni Y, Lu Z, Sun X, Wu J, Liu B, Ying X, Liu Y. Dissecting transcriptional heterogeneity in primary gastric adenocarcinoma by single cell RNA sequencing. *Gut*. 2020;70(3):464–475. doi:10.1136/gutjnl-2019-320368
99. Peng J, Sun BF, Chen CY, et al. Single-cell RNA-seq highlights intra-tumoral heterogeneity and malignant progression in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cell Research*. 2019;29(9):725–738. doi:10.1038/s41422-019-0195-y
100. Kim N, Kim HK, Lee K. Single-cell RNA sequencing demonstrates the molecular and cellular reprogramming of metastatic lung adenocarcinoma. *Nature Communications*. 2020;11(1). doi:10.1038/s41467-020-16164-1
101. Kim S, Kim C. Transcriptomic Analysis of Cellular Senescence: One Step Closer to Senescence Atlas. *Molecules and Cells*. 2021;44(3):136–145. doi:10.14348/molcells.2021.2239
102. Hernandez-Segura A, De Jong TV, Melov S, Guryev V, Campisi J, Demaria M. Unmasking transcriptional heterogeneity in senescent cells. *Current Biology*. 2017;27(17):2652–2660.e4. doi:10.1016/j.cub.2017.07.033
103. Casella G, Munk R, Kim KM, Piao Y, De S, Abdelmohsen K, Gorospe M. Transcriptome signature of cellular senescence. *Nucleic Acids Research*. 2019;47(14):7294–7305. doi:10.1093/nar/gkz555
104. Zhou Q, Wan Q, Jiang Y, Liu J, Qiang L, Sun L. A Landscape of Murine Long Non-Coding RNAs Reveals the Leading Transcriptome Alterations in Adipose Tissue during Aging. *Cell Reports*. 2020;31(8):107694. doi:10.1016/j.celrep.2020.107694
105. Ashapkin VV, Kutueva LI, Vanyushin BF. Aging as an epigenetic phenomenon. *Current Genomics*. 2017;18(5). doi:10.2174/1389202918666170412112130
106. Biran A, Zada L, Karam PA, Vadai E, Roitman L, Ovadya Y, Porat Z, Krizhanovsky V. Quantitative identification of senescent cells in aging and disease. *Aging Cell*. 2017;16(4):661–671. doi:10.1111/ace.12592
107. Lafzi A, Moutinho C, Picelli S, Heyn H. Tutorial: guidelines for the experimental design of single-cell RNA sequencing studies. *Nature Protocols*. 2018;13(12):2742–2757. doi:10.1038/s41596-018-0073-y
108. Almanzar N, Antony J, Baghel AS. A single-cell transcriptomic atlas characterizes ageing tissues in the mouse. *Nature*. 2020;583(7817):590–595. doi:10.1038/s41586-020-2496-1
109. Kimmel JC, Penland L, Rubinstein ND, Hendrickson DG, Kelley DR, Rosenthal AZ. Murine single-cell RNA-seq reveals cell-identity- and tissue-specific trajectories of aging. *Genome Research*. 2019;29(12):2088–2103. doi:10.1101/gr.253880.119
110. Enge M, Arda HE, Mignardi M, Beausang J, Bottino R, Kim SK, Quake SR. Single-Cell analysis of human pancreas reveals transcriptional signatures of aging and somatic mutation patterns. *Cell*. 2017;171(2):321–330. e14. doi:10.1016/j.cell.2017.09.004
111. Hammond TR, Dufort C, Dissing-Olesen L, et al. Single-Cell RNA Sequencing of Microglia throughout the Mouse Lifespan and in the Injured Brain Reveals Complex Cell-State Changes. *Immunity*. 2018;50(1):253–271. e6. doi:10.1016/j.immuni.2018.11.004
112. Yi W, Lu Y, Zhong S. A single-cell transcriptome atlas of the aging human and macaque retina. *bioRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*. July 2020. doi:10.1101/2020.07.17.207977
113. Zheng Y, Liu X, Le W. A human circulating immune cell landscape in aging and COVID-19. *Protein & Cell*. 2020;11(10):740–770. doi:10.1007/s13238-020-00762-2
114. De Micheli AJ, Spector JA, Elemento O, Cosgrove BD. A reference single-cell transcriptomic atlas of human skeletal muscle tissue reveals bifurcated muscle stem cell populations. *Skeletal Muscle*. 2020;10(1). doi:10.1186/s13395-020-00236-3
115. Zou Z, Long X, Zhao Q. A Single-Cell Transcriptomic atlas of Human skin aging. *Developmental Cell*. 2020;56(3):383–397.e8. doi:10.1016/j.devcel.2020.11.002
116. Reyfman PA, Walter JM, Joshi N. Single-Cell Transcriptomic Analysis of Human Lung Provides Insights into the Pathobiology of Pulmonary Fibrosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2018;199(12):1517–1536. doi:10.1164/rccm.201712-2410oc
117. Roy AL, Sierra F, Howcroft K, Singer DS, Sharpless N, Hodes RJ, Wilder EL, Anderson JM. A blueprint for characterizing senescence. *Cell*. 2020;183(5):1143–1146. doi:10.1016/j.cell.2020.10.032
118. Li Y, Ma C, Liao S. Combined proteomics and single cell RNA-sequencing analysis to identify biomarkers of disease diagnosis and disease exacerbation for systemic lupus erythematosus. *Frontiers in Immunology*. 2022;13. doi:10.3389/fimmu.2022.969509
119. Wang H, Peng C, Hu G, Chen W, Hu Y, Pi H. Integrated single-cell RNA-seq and bulk RNA-seq identify diagnostic biomarkers for postmenopausal osteoporosis. *Current Medicinal Chemistry*. 2024;31. doi:10.2174/010929867334334420930054414
120. Li J, Zhou M, Feng JQ, Hong SM, Yang SY, Zhi LX, Lin WY, Zhu C, Yu YT, Lu LJ. Bulk RNA sequencing with integrated Single-Cell RNA sequencing identifies BCL2A1 as a potential diagnostic and prognostic biomarker for sepsis. *Frontiers in Public Health*. 2022;10. doi:10.3389/fpubh.2022.937303
121. Yang L, Zhang X, Hou Q, Huang M, Zhang H, Jiang Z, Yue J, Wu S. Single-cell RNA-seq of esophageal squamous cell carcinoma cell line with fractionated irradiation reveals radioresistant gene expression patterns. *BMC Genomics*. 2019;20(1). doi:10.1186/s12864-019-5970-0
122. Srivatsan SR, McFaline-Figueroa JL, Ramani V. Massively multiplex chemical transcriptomics at single-cell resolution. *Science*. 2019;367(6473):45–51. doi:10.1126/science.aax6234

Секвенирование РНК единичных клеток: современные подходы и достижения

А.Е. Гусев , П.В. Чернов , Н.А. Дмитриев , И.А. Кофиади  

Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства,
г. Москва, Российская Федерация
 kofiadi@mail.ru

Аннотация. Актуальность. Метод секвенирования РНК единичных клеток (scRNA-seq) является современным подходом к изучению разнообразия и неоднородности транскриптов РНК в отдельных клетках, а также к выявлению состава различных типов клеток и функций в организмах, органах и тканях. Основанный на методе NGS (секвенирование нового поколения) метод scRNA-seq предоставляет огромный объем информации при глубоком клеточном разрешении в различных областях, позволяя делать новые открытия в понимании состава и паттернов взаимодействия отдельных типов клеток в организме человека, модельных животных и растений. Несмотря на активное развитие, оптимизацию и автоматизацию в течение последних 15 лет по всему миру, в нашей стране метод scRNA-seq является относительно новым и применяется сравнительно недавно. Задача освоения и успешного внедрения в практику данного метода актуальна и критична — метод является мощным инструментом для глубокого анализа и диагностики, о чем свидетельствуют результаты исследований, в которых он применялся. В обзоре представлены основные принципы и шаги реализации метода scRNA-seq как в разрезе технической реализации и пробоподготовки в виде надстройки над классическим методом NGS, так и в усложнении и расширении процесса обработки полученных данных, применения новых алгоритмов и баз данных. Рассмотрены уже имеющиеся на рынке коммерчески доступные технологий scRNA-seq и технологии, описанные в научных источниках, послужившие им в качестве прототипов и альтернатив. Представлены примеры и результаты использования таких технологий в различных областях науки и медицины таких как онкология, сенесценция, диагностика и клинические исследования. Выводы. Разработка и успешное применение метода scRNA-seq в научной и клинической практике станет залогом широкого спектра будущих открытий и основой персонализированной диагностики и здравоохранения.

Ключевые слова: секвенирование, РНК, секвенирование нового поколения (NGS), секвенирование единичных клеток (sc-seq, scRNA-seq), клеточная гетерогенность

Информация о финансировании. Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2030 годы (соглашение № 15.ЦГИМУ.25.3.3).

Вклад авторов. Сбор и анализ литературы, написание статьи — Гусев А.Е.; анализ литературы, написание статьи — Чернов П.В.; анализ литературы, редактирование статьи — Дмитриев Н.А.; анализ литературы, написание статьи, научное редактирование — Кофиади И.А. Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 27.08.2025. Принята 25.09.2025.

Для цитирования: Gusev A.E., Chernov P.V., Dmitriev N.A., Kofiadi I.A. Single cell RNA sequencing: modern approaches and achievements // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025. Т. 29. № 4. С. 421–435. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-421-435. EDN: AAFUKT

Corresponding author: Ilya Andreevich Kofiadi — Corresponding Member of RAS, Dr. Sci., Head of Lab. of Molecular Immunogenetics of NRC Institute of Immunology, FMBA of Russia, 115522, Kashirskoe hw., 24, Moscow, Russian Federation; Prof. of the Immunology Chair, MBF of N.I. Pirogov RNRMU of the MOH of Russia, 117513, Ostrovityanova st., 1, Moscow, Russia Federation. E-mail: kofiadi@mail.ru
Gusev A.E. ORCID 0009-0002-5810-098X
Chernov P.V. ORCID 0009-0005-0642-8723
Dmitriev N.A. ORCID 0009-0002-8381-8512
Kofiadi I.A. ORCID 0000-0001-9280-8282

Ответственный за переписку: Кофиади Илья Андреевич — член-корреспондент РАН, д-р биол. наук, руководитель Референс-центра ФГБУ “ГНЦ Институт иммунологии” ФМБА России, 115522, Российская Федерация, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24.; проф. каф. иммунологии МБФ, ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет), 117513, Российская Федерация, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1. E-mail: kofiadi@mail.ru
Гусев А.Е. SPIN 4385-0589, ORCID 0009-0002-5810-098X
Чернов П.В. ORCID 0009-0005-0642-8723
Дмитриев Н.А. ORCID 0009-0002-8381-8512
Кофиади И.А. SPIN 5730-0925, ORCID 0000-0001-9280-8282

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-436-453

EDN AAGDLC

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCHНейропротективное действие внеклеточных везикул,
полученных из глиальных производных человека на модели
глутаматной эксайтотоксичностиМ.О. Шеденкова¹  , А.А. Гурьянова² , А.К. Судьина¹ , Е.П. Гугучкин² ,
Е.А. Карпулевич² , Т.Х. Фатхудинов³ , Д.В. Гольдштейн¹ , Д.И. Салихова¹ ¹ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. Н.П. Бочкова», г. Москва, Российская Федерация²Институт системного программирования им. В.П. Иванникова РАН, г. Москва, Российская Федерация³НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «РНЦХ им. акад. Б.В. Петровского», г. Москва, Российская Федерация margarita.shedenkova@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* Современные исследования в области биомедицины уделяют значительное внимание разработке терапевтических препаратов на основе внеклеточных везикул, чье разнообразие определяется как источниками получения, так и возможностью направленной модификации. В представленной работе впервые проведено транскриптомное профилирование первичной культуры кортикальных нейронов при воздействии внеклеточных везикул, полученных от глиальных клеток, при глутаматной эксайтотоксичности с целью выявления дифференциально экспрессируемых генов. *Материалы и методы.* Внеклеточные везикулы были получены из кондиционированной среды глиальных клеток-предшественников человека с помощью ультрацентрифугирования. Модель глутаматной эксайтотоксичности проводили на первичной культуре кортикальных нейронов крыс (P0) при добавлении 100 мкМ глутамата. Секвенирование подготовленных библиотек проводили на платформе NextSeq 1000 (Illumina, США) с использованием набора NextSeq 1000/2000 P2 Reagents kit (200 Cycles) v3, дополненного 2 % Phix (Illumina) в качестве внутреннего контроля. Критерием статистической значимости изменения экспрессии гена между группами считался FDR <0.05. *Результаты и обсуждение.* Транскриптомный анализ показал, что добавление внеклеточных везикул при глутаматной эксайтотоксичности приводило к повышенной экспрессии 190 генов, и к пониженной экспрессии 309 генов (p-value < 0,05 и |FC| < 1,5). Анализ генов с помощью базы данных Gene Ontology показал, что гены с повышенной экспрессией достоверно классифицировались по биологическим процессам. Из наиболее представленных были: регенерация, реорганизация внеклеточного матрикса и цитоскелета, поддержание гомеостаза, активация PI3K-Akt-пути и ответ на клеточный стресс. Гены с пониженной

© Шеденкова М.О., Гурьянова А.А., Судьина А.К., Гугучкин Е.П., Карпулевич Е.А., Фатхудинов Т.Х.,
Гольдштейн Д.В., Салихова Д.И., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

экспрессией достоверно классифицировались по группам: кальциевый транспорт, регуляция отростков нейронов, апоптоз, глутаматергический синапс. Эти данные могут свидетельствовать о том, что внеклеточные везикулы запускают процессы выживания в нервных клетках при воздействии глутамата и ингибируют пути, связанные с поступлением кальция и глутамата в клетки. **Выводы.** Внеклеточные везикулы усиливают экспрессию генов, связанных с выживанием, и ингибируют гены, отвечающие за кальциевый транспорт и апоптоз. Результаты исследования свидетельствуют о перспективности применения внеклеточных везикул глиального происхождения в качестве основы для разработки новых терапевтических подходов к лечению неврологических заболеваний.

Ключевые слова: внеклеточные везикулы, глутаматная эксайтотоксичность, транскриптомный анализ, глиальные клетки-предшественники, иПСК

Информация о финансировании. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации КБК: 075 0110 47 2 U8 70440 621. Код научной темы: FSSF-2025-0004.

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования — Д.И. Салихова, Т.Х. Фатхудинов, Д.В. Гольдштейн; эксперимент — М.О. Шеденкова, А.К. Судьина; анализ данных — М.О. Шеденкова, А.А. Гурьянова, Е.П. Гугучкин, Е.А. Карпулевич, подготовка текста статьи — М.О. Шеденкова; научное редактирование текста — Д.И. Салихова. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Исследование одобрено Институциональным этическим комитетом Медико-генетического научного центра (Протокол № 2019-2/3 от 13 октября 2020 г.). Эксперименты на животных проводились в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом (ESF) и Декларацией о гуманном обращении с животными, а также в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении лабораторной практики». Уход за животными, их разведение и экспериментальные процедуры проводились в соответствии с требованиями Этического комитета Научно-исследовательского института морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского». Протокол № 38(14) от 31.05.2022.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию. Каждый участник исследования представил добровольное письменное информированное согласие на участие в исследовании и публикацию, подписанное после разъяснения потенциальных рисков и преимуществ, а также характера предстоящего исследования. У пациента было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), обработку персональных данных и согласие на публикацию.

Поступила 22.09.2025. Принята 16.10.2025.

Для цитирования: Шеденкова М.О., Гурьянова А.А., Судьина А.К., Гугучкин Е.П., Карпулевич Е.А., Фатхудинов Т.Х., Гольдштейн Д.В., Салихова Д.И. Нейропротективное действие внеклеточных везикул, полученных из глиальных производных человека на модели глутаматной эксайтотоксичности // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025. Т. 29. № 4. С. 436–453. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-436-453. EDN: AAGDLC

Neuroprotective effect of extracellular vesicles obtained from human glial derivatives on the model of glutamate excitotoxicity

Margarita Shedenkova¹  , Anastasiia Gurianova² , Anastasia Sudina¹ , Egor Guguchin² ,
Evgeny Karpulevich² , Timur Fatkhudinov³ , Dmitry Goldstein¹ , Diana Salikhova¹ 

¹Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russian Federation

²Institute for System Programming, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

³Avtsyn Research Institute of Human Morphology of FSBSI «Petrovsky National Research Centre of Surgery», Moscow, Russian Federation

 margarita.shedenkova@gmail.com

Abstract. *Relevance.* Modern research in the field of biomedicine leads to the development of therapeutic drugs based on extracellular vesicles, which are defined as sources of production, as well as targeted modification. In the presented work, for the first time, transcriptome profiling of primary culture of cortical neurons under the influence of extracellular vesicles obtained from glial cells during glutamate excitotoxicity was carried out in order to determine differentially expressed genes. *Materials and Methods.* Extracellular vesicles were obtained from the conditioned medium of human glial progenitor cells using ultracentrifugation. Model of glutamate excitotoxicity, distributed on the first cultured cortical neurons of cells (P0) with the addition of 100 μ M glutamate. Sequencing of prepared libraries of electronic technologies on the NextSeq 1000 platform (Illumina, USA) using the NextSeq 1000/2000 P2 (200 cycles) v3 reagent kit supplemented with 2 % Phix (Illumina) as an internal control. The criterion for statistical innovation of gene expression change between officially recognized FDR < 0.05. *Results and Discussion.* Transcriptome analysis showed that the addition of extracellular vesicles during glutamate excitotoxicity leads to increased expression of 190 genes and decreased expression of 309 genes (p value < 0.05 and |FC| < 1.5). Gene analysis using the Gene Ontology database showed that genes with increased expression are consistently classified by biological processes. The most represented were: regeneration, reorganization of the extracellular matrix and cytoskeleton, maintenance of homeostasis, activation of the PI3K-Akt pathway and response to cellular stress. Genes with reduced expression were consistently classified into groups: calcium transport, regulation of neuronal processes, apoptosis, glutathergic synapse. These data can indicate that. Extracellular vesicles trigger survival processes in nerve cells when exposed to glutamate and inhibit pathways associated with the entry of substances and glutamate into the cell. *Conclusions.* Extracellular vesicles enhance the expression of genes with survival and inhibit genes, resulting in calcium transport and apoptosis. The results of the study show the promise of using extracellular vesicles of glial origin as a basis for developing new therapeutic approaches to individual neurological diseases.

Keywords: extracellular vesicles, glutamate excitotoxicity, transcriptome analysis, glial progenitor cells, iPSCs

Funding. The work is supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, budget classification code: 075 0110 47 2 U8 70440 621. Scientific topic code: FSSF-2025-0004.

Author contributions. Study idea and design — D.I. Salikhova, T. Kh. Fatkhudinov, D.V. Goldstein; experiment — M.O. Shedenkova, A.K. Sudina; data analysis — M.O. Shedenkova, A.A. Guryanova, E.P. Guguchin, E.A. Karpulevich, article preparation — M.O. Shedenkova; scientific editing of the text — D.I. Salikhova. All authors made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the manuscript, read, and approved the final version before publication.

Conflict of interest statement. The authors declare that they have no conflicts of interest.

Ethics approval. The protocol was approved by this Institutional Institutional Review Board of the Medical Genetics Research Center (Protocol No. 2019-2/3 dated October 13, 2020). Animal experiments are conducted in accordance with these principles and regulations, the Foundation's preferred low standards (ESF) and the Declaration on Humane Animal Nutrition, as well as

in accordance with the Order of the Ministry of Health and Social Development of Russia dated August 23, 2010 No. 708n “On approval of laboratory practice”. Animal care, breeding and experimental procedures are carried out in accordance with the requirements of the Ethics Committee of the A.P. Avtsyn Research Institute of Human Morphology of the B.V. Petrovsky Russian Scientific Center of Surgery. Protocol No. 38 (14) dated May 31, 2022.

Acknowledgments — not applicable.

Consent for publication. Each study participant provided voluntary written informed consent to participate in the study and publication, signed after explanation of the potential risks and benefits, as well as the nature of the upcoming study. Voluntary written consent was obtained from the patients for the investigation and publication of relevant medical information according to WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013

Received 22.09.2024. Accepted 16.10.2025.

For citation: Shedenkova MO, Gurianova AA, Sudina AK, Guguchin EP, Karpulevich EA, Fatkhudinov TKh, Goldstein DV, Salikhova DI. Neuroprotective effect of extracellular vesicles obtained from human glial derivatives on the model of glutamate excitotoxicity. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):436–453. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-436-453. EDN: AAGDLC

Введение

Неврологические расстройства относятся к числу ключевых факторов, снижающих продолжительность и качество жизни пациентов. Их этиология, патофизиологические механизмы и клинические последствия крайне разнообразны. Многие из этих патологий связаны с нарушением гомеостаза глутамата — одного из основных возбуждающих нейромедиаторов ЦНС, играющего центральную роль в процессах нейротрансмиссии [1]. Помимо участия в синаптической передаче глутамат вовлечен в механизмы синаптической пластичности, что определяет его значение в когнитивных функциях, включая обучение и память. Важную роль в его действии играют метаболиты глутаматные рецепторы, расположенные на мембранах нейронов и способные активировать внутриклеточные сигнальные каскады. Через эти механизмы глутамат регулирует рост аксонов, синаптическую пластичность, а также процессы, зависящие от кальциевого сигналинга, такие как апоптоз [2]. Нарушение баланса данного нейромедиатора приводит к когнитивным расстройствам и структурным повреждениям нервной ткани, вплоть до локального некроза [3]. Дисрегуляция глутаматергической системы наблюдается при ряде заболеваний ЦНС, включая болезнь Альцгеймера, ишемический инсульт и боковой амиотрофический склероз [4].

Несмотря на существование широкого спектра фармакологических препаратов и терапевтических подходов, направленных на предотвращение нейротоксического действия избыточных концентраций глутамата, разработка новых эффективных нейропротекторных средств остается важной научно-практической задачей. Внеклеточные везикулы (ВВ) в настоящее время рассматриваются как перспективный инструмент регенеративной медицины, представляющий новый класс мультитаргетных терапевтических агентов [5]. Их поливалентное действие реализуется за счет транспорта специфического молекулярного комплекса (карго), включающего белки, нуклеиновые кислоты, пептиды и метаболиты. Ключевыми преимуществами ВВ являются: стабильность в биологических жидкостях (кровь, лимфа, тканевая жидкость), обеспечиваемая билипидной мембраной; способность к специфическому взаимодействию с клетками-мишенями через мембранные рецепторы; возможность преодоления гематоэнцефалического барьера. Эти уникальные свойства определяют значительный терапевтический потенциал ВВ для патогенетической терапии нейродегенеративных заболеваний и восстановления функций нервной системы [6].

На основании этих данных целью работы было проанализировать основные сигнальные факторы

и пути, способствующих нейропротекции внеклеточных везикул, полученных из глиальных производных индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК) человека, на модели глутаматной эксайтотоксичности с помощью транскриптомного анализа.

Материалы и методы

Получение внеклеточных везикул глиальных клеток-предшественников

Культуры глиальных клеток-предшественников (ГКП), использованные для получения препарата ВВ, были получены ранее от здорового донора путем дифференцировки иПСК в глиальном направлении [7]. ГКП культивировали до достижения 15–17 пассажа и монослоя в среде DMEM/F12 (ПанЭко, Россия) с добавлением: 1 % добавки N2 (ПанЭко, Россия), 1 % фетальной бычьей сыворотки (Gibco, США), 1 мМ глутамина (ПанЭко, Россия), 50 ед/мл пенициллин-стрептомицина (ПанЭко, Россия), 20 нг/мл EGF (Peprotech, США), 20 нг/мл CNTF (Peprotech, США), после чего данную среду отбирали и проводили дальнейшее культивирование в среде выше указанного состава, но без добавления сыворотки в течение 24 часов. Далее собранную среду центрифугировали при 10.000g, 30 минут для осаждения апоптотических телец, а затем при 108.000g 1,5 часа дважды. Полученный осадок анализировали с помощью методики, описанной ранее [8]. Готовые препараты ВВ хранили при температуре –80 °С.

Получение нейроглиальной культуры и постановка глутаматной эксайтотоксичности *in vitro*.

Постановку модели глутаматной эксайтотоксичности производили на нейроглиальных первичных культурах коры головного мозга из новорожденных крысят (P0), как указано в методике [9]. Кратко, культивирование производилось в среде следующего состава: Neurobasal (Gibco, США) с добавлением 1 мМ глутамин (ПанЭко, Россия), 50 ед/мл пенициллин-стрептомицина (ПанЭко, Россия) и B27-supplement (Gibco, США). На 10-е сутки производили добавку препаратов ВВ-ГКП в какой концентрации 10 мкг/мл. На следующий день осуществляли постановку модели глутаматной

эксайтотоксичности. Для постановки модели были использованы следующие растворы: фосфатно-солевой буфер без Ca^{2+} и Mg^{2+} (ПанЭко, Россия), который использовали для промывки культур, глутаматный раствор (100 мкМ глутамата, 140 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 10 мМ глицин, 2 мМ CaCl_2 , 5 мМ глюкоза, 20 мМ HEPES) и кальциевый раствор (140 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 10 мМ глицин, 2 мМ MgCl_2 , 2 мМ CaCl_2 , 5 мМ глюкоза, 20 мМ HEPES). Этапы постановки модели: после промывки клеток от среды культивирования производилась смена раствора на кальциевый раствор, в случае контрольной группы, и на глутаматный раствор в экспериментальных группах, в которых клетки культивировались 1 час. Затем культуры дважды промывались фосфатно-солевой буфер без Ca^{2+} и Mg^{2+} , после чего возвращалась исходная среда культивирования, отобранная ранее.

Транскриптомный анализ. Сбор и очистка тотальной мРНК

С целью исследования внутриклеточных путей, активирующихся в присутствии внеклеточных везикул глиальных клеток-предшественников (ВВ-ГКП) на модели глутаматной эксайтотоксичности, производился анализ тотальной РНК с помощью транскриптомного анализа. Для этого культурам за сутки до постановки модели добавлялись препараты ВВ-ГКП. На следующий день культурам добавлялся глутамат, как ранее было указано в методике. После инкубации с глутаматом культуры инкубировали 4 часа в культуральной среде, после чего производили сбор тотальной РНК с помощью набора RNeasy Plus Mini Kit (Qiagen, Германия) согласно инструкциям производителя. Хранение и транспортировку образцов производили на –80 °С.

Полученные образцы тотальной РНК сначала обрабатывали с помощью набора Turbo DNA-Free Kit (Thermo Fisher Scientific) в объеме 50 мкл, а затем очищали с помощью Agencourt RNAClean XP (Beckman Coulter, США) в соответствии с инструкциями производителя. Общее количество РНК измеряли с помощью набора Quant-iT Ribogreen RNA assay kit (ThermoFisher Scientific), а качество

выделенной РНК проверяли с помощью биоанализатора Agilent на чипах Agilent RNA 6000 Pico Chips (Agilent Technologies, США).

Подготовка транскриптомных библиотек и секвенирование РНК

Для приготовления транскриптомных библиотек в качестве исходного материала брали 250 нг тотальной РНК. Библиотеки РНК готовили с помощью модуля магнитной изоляции поли(А) мРНК NEBNext и набора KAPA RNA Hyper Kit (Roche, Швейцария) в соответствии с протоколом производителя. Затем проводили очистку РНК с помощью набора RNA Clean XP (Beckman Coulter, Brea, США) и окончательную очистку библиотек с помощью магнитных бусин Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Brea, США). Распределение библиотек по размерам и их качество оценивали с помощью набора Agilent High Sensitivity DNA kit (Agilent Technologies, США), а концентрацию библиотек определяли с помощью набора Quant-iT DNA Assay Kit, High Sensitivity (Thermo Fisher Scientific, США). После этого библиотеки эквимольно объединяли и разводили до конечной концентрации 750 пМ. Секвенирование подготовленных библиотек проводили на платформе NextSeq 1000 (Illumina, США) с использованием набора NextSeq 1000/2000 P2 Reagents kit (200 Cycles) v3, дополненного 2 % Phix (Illumina) в качестве внутреннего контроля.

Биоинформатическая обработка данных секвенирования

Контроль качества и экспрессионный анализ

Первичный контроль качества прочтений производился с помощью утилиты FastQC [10]. Удаление участков низкого качества чтения и технических адаптеров производилось с использованием утилиты Trimmomatic [11]; прочтения дополнительно обрабатывались утилитой Cutadapt с параметром nextseq-trim 20.

Для количественной оценки уровня экспрессии генов использовалась утилита Salmon (mapping-based mode) [12]. В качестве референсного транскриптома *R. norvegicus* использовался набор полный

транскриптов для версии генома rn6 по данным базы ENSEMBL версии 106. При построении индекса референсного транскриптома нуклеотидная последовательность генома была использована в качестве decoy-последовательности для того, чтобы избежать ошибочного приписывания прочтений транскриптам. Уровни экспрессии генов рассчитывались на основании значений экспрессии отдельных транскриптов этих генов с помощью R-пакета tximport [13]. Для оценки дифференциальной экспрессии генов между группами был использован R-пакет edgeR, в качестве статистического теста был выбран glmLRT [14]. Критерием статистической значимости изменения экспрессии гена между группами считался $FDR < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Транскриптомный анализ нейроглиальных культур на модели глутаматной эксайтотоксичности

Добавление глутамата к культурам кортикальных нейронов приводило к изменению дифференциальной экспрессии у 1269 генов, из которых у 969 генов была повышена экспрессия в контрольных культурах, а у 300 генов была повышенная экспрессия в культурах с добавлением глутамата ($p\text{-value} < 0,05$ и $|FC| < 1,5$). Далее проводили анализ дифференциально экспрессированных генов, с помощью их классификации по биологическим процессам и по сигнальным путям.

Анализ генов с повышенной экспрессией в контрольной группе с помощью базы данных Gene Ontology показал, что гены достоверно группировались по категориям Биологических процессов.

Из наиболее обогащенных, были выделены категории биологических путей, связанные с работой синапса, удлинению аксонов и развитием дендритного дерева: аксоногенез (94 гена, среди которых можно выделить: Trpv2, Nell2 — данные белки обнаруживаются в аксональном конусе и отвечают за навигацию роста аксона, Rtn4rl1 — активный участник регенерации аксонов, Ptpgo — удлинение аксонов

и разветвление отростков в ответ на BDNF, Robo2 — белок Robo-сигналинга, отвечающих за удлинение аксонов, а также гены семейства ephrins Epha4, Ephb6, Ephx4 [16–20]); регуляция структуры или активности синапсов (82 гена: Snap25 — белок синаптовезикул; Dlg4, Arhgap33 — отвечают за пластичность синапсов и контроль структуры [21–23]); развитие дендритов (59 генов: Kidins220, Celsr2, Bcl11a — гены формирования дендритов [24–26]) и транспорт нейромедиаторов (63 гена: Nos1 — синтетаза оксида азота (NO), который действует как сигнальный мессенджер в различных нейронных процессах; Slc17a6, Slc17a7 — глутаматный транспортер; Slc2a3, Slc2a6 — транспортер глюкозы, Stxbp5 — регулятор экзоцитоза нейротрансмиттеров [27, 28]), что

может говорить о поддержании нейротрансмиттерной передачи в нейроглиальной культуре, а также о росте и развитии нейритов (рисунок 1).

Также наиболее активируемые биологические процессы можно разделить на несколько групп: регуляция нейрональной синаптической пластичности (27 генов: *Syp* — модулирует работу синапса, который контролирует слияние везикул и экзоцитоз нейротрансмиттеров, *Rasgrf1* — белок сигнального пути Ras, который отвечает за реакцию на приток кальция на постсинаптической мембране [29, 30]); сигнальный путь рецептора глутамата (19 генов: *Gria4*, *Gria1* — субъединицы глутаматного рецептора; *Grin1*, *Grin2d* — гены субъединиц NMDA-рецептора,

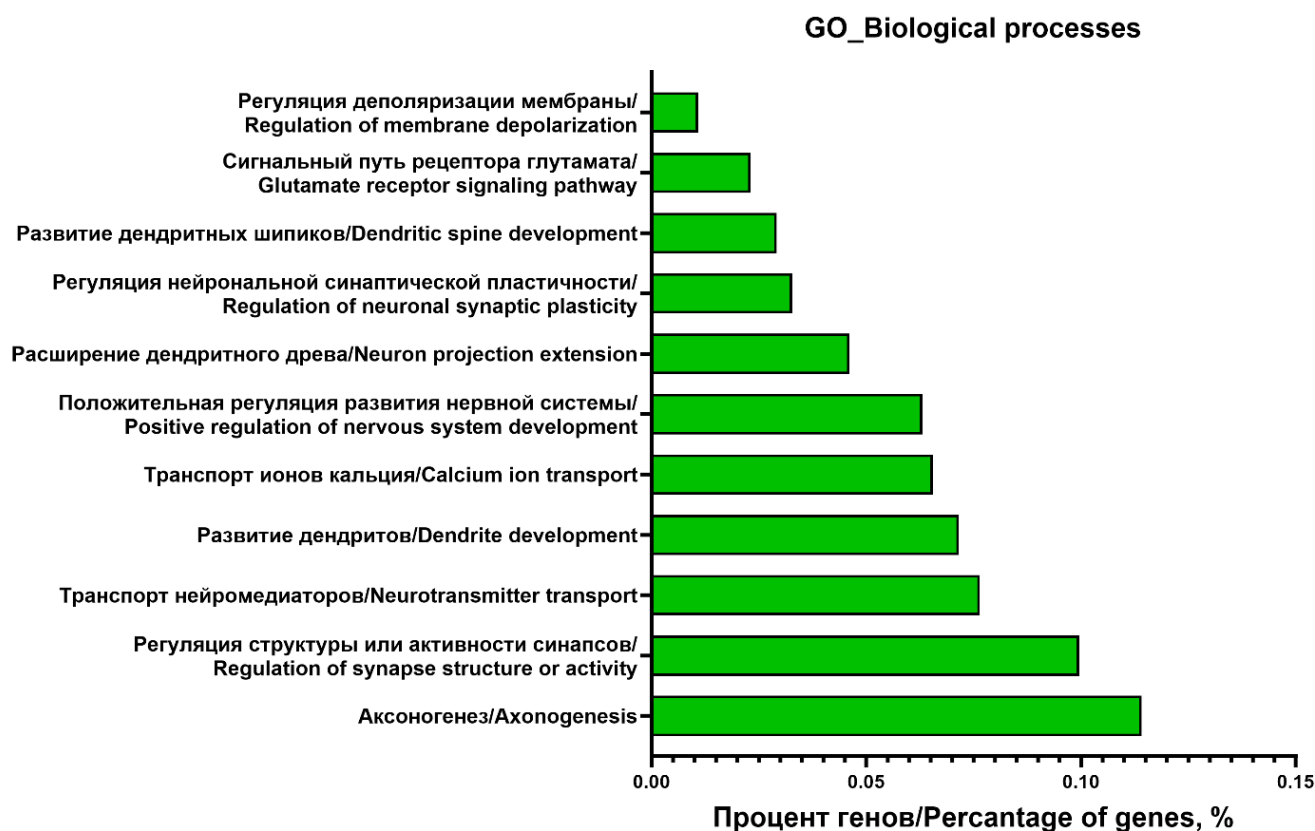


Рис. 1. Результаты классификации генов с повышенной экспрессией в контрольной группе с помощью базы данных Gene Ontology. По оси X указано процент генов, по оси Y выбранные биологические процессы

Fig. 1. Results of classification of genes with increased expression in the control group using the Gene Ontology database. The x-axis shows the percentage of genes, and the y-axis shows the selected biological processes

реагирующие на глутамат [31, 32]), и регуляция деполяризации мембраны (9 генов: *Camk1g*, *Camk2a*, *Camk2b*, *Camk2d*, *Camkk1* — гены Ca^{2+} /кальмодулин зависимые протеин киназы, которые отвечают за ответную реакцию деполяризации мембраны [33, 34]); поддержание гомеостаза и регуляция концентрации ионов кальция — транспорт ионов кальция (54 генов: *Atp2b2*, *Atp2b3*, *Atp2b4* — АТФаза плазматической мембраны, транспортирующая Ca^{2+} (PMCA2), играет решающую роль в нейронах, регулируя концентрацию ионов кальция), позитивная регуляция развития нервной ткани — (52 гена: *Foxg1*, *Bcl11a* — участвуют в развитии нейронов [35]) и пути связанные с ростом и развитием аксонов и дендритов — расширение дендритного дерева (38 генов) и развитие дендритных шипиков (24 генов) (рисунок 1).

Также ДЭГ были классифицированы по сигнальным путям с помощью базы данных KEGG.

Были обнаружены следующие сигнальные пути: направление роста аксонов (40 генов, среди которых, *Neo1*, *Pak6*, *Dpysl5*), кальциевый сигнальный путь (32 гена: *Cacna1b*, *Camk1g*, *Camk2d*, *Camk1d*, *Camk2a*), сАМР сигнальный путь (36 генов), сигнальный путь MAPK (33 гена: *Mapk10*, *Ptprr*, *Rasgrf1*, *Map3k12*), глутаматергический синапс (30 генов, например, *Grik2*, *Grik5*, *Grin2d*), фокальная адгезия (14 генов, например, *Itga3*, *Lamb1*, *Prkcg*), долговременная потенция (13 генов, например, *Itp1*, *Grin2b*, *Mapk3*, *Prkcg*, *Adcy1*) и апелиновый сигнальный путь (10 генов) (рисунок 2).

После анализа и классификации генов, чья экспрессия была повышена в контрольной группе, были найдены и проанализированы гены, чья экспрессия была повышена в группе с добавлением глутамата. Обнаруженные 300 генов были классифицированы по категориям биологических процессов и сигнальных путей.

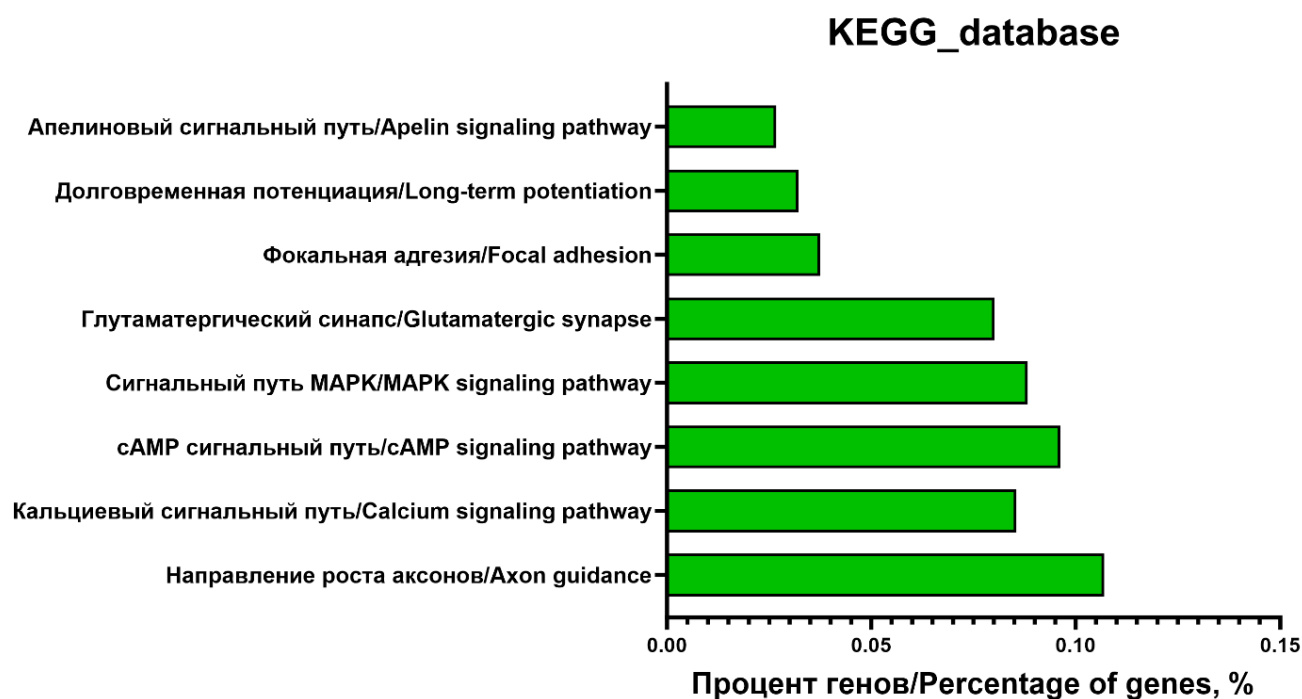


Рис. 2. Результаты классификации генов, чья экспрессия была повышена в контрольной группе с помощью базы данных KEGG database. По оси X указано процент генов, по оси Y выбранные сигнальные пути

Fig. 2. Results of classification of genes whose expression was increased in the control group using the KEGG database. The X-axis shows the percentage of genes, and the Y-axis shows the selected signaling pathways

При классификации генов по биологическим процессам с помощью базы данных Gene Ontology были обнаружены категории, которые отвечали за активацию путей, связанных с защитными процессами клетки на токсическое действие глутамата, такие как: ответ на гипоксию (28 генов: *Hmox1* — белок, активирующийся в ответ на гипоксию; *Pmaip1* — проапоптотический белок, ингибирующий антиапоптотический белок *Mlc-1* [36]); клеточный ответ на химический стресс (24 гена: *LIF* — активатор путей выживания клеток, *Fos* — является маркером реакции клеток на стресс, *Hsp90b1* — белок теплового шока, реагирующий на накопление неправильно свернутых белков [37–39]); клеточный ответ на окислительный стресс (16 генов: *Gadd45b*, *Gadd45g* — гены, активирующиеся на разные типы стресса, такие как повреждение ДНК активными формами кислорода [40, 41]); клеточный ответ на активные формы кислорода (14 генов: *Nfe2l2* — ген белка, который нейтрализует активные формы кислорода, тем самым защищая клетки [42]); ответ на стресс эндоплазматического ретикула (11 генов: *Dnajc3*, *Pdia4* — активируется на стресс ЭПР [43, 44]). Все эти пути свидетельствуют об активации внутри нейронов механизмов, отвечающих за внутриклеточный ответ на стресс и на нарушение гомеостаза нейронов. Также были обнаружены пути программированной клеточной гибели — регуляция апоптотического сигнального пути (20 генов: *Anxa1*, *Apob* — их экспрессия усиливается во время апоптоза [45, 46]). Кроме того, были выделены категории, связанные с регенерацией и восстановлением — заживление ран (36 генов: *Cdkn1a*, *Csrp1* — ген, активирующийся в ответ на повреждение клетки и стимулирующий ее восстановление, *Nrg1* — активно участвует в развитии нейронов и в восстановлении работы синапсов [47–49]). Наличие этих процессов свидетельствует о том, что клетки при токсическом воздействии глутамата запускают процессы, связанные с восстановлением и выживанием. Так как был обнаружен процесс заживления ран вместе с ним были идентифицированы процессы, отвечающие за клеточную адгезию, а также реорганизацию межклеточного пространства нейроглиальной куль-

туры — регуляция межклеточной адгезии (23 гена: *Sdc4* — ген, отвечающий за межклеточную адгезию и миграцию [50]); организация внеклеточной структуры (21 ген: *Has2* — синтез гиалуроновых нитей, *Piezo1* — ген механотрансдукции, активирующийся при адгезии нейронов [51, 52]) (рисунок 3).

Анализ генов с помощью KEGG database показал активацию сигнальных путей, связанных с клеточной гибелью — Апоптоз (9 генов, среди которых: *Fos*, *Ripk1*, *Pmaip1*), выживанием — сигнальный путь PI3K-Akt (12 генов, такие как, *Cdkn1a*, *Nr4a1*, *Atf4*), сигнальный путь NF-κB (7 генов, такие как, *Ripk1*, *Nfkb2*) и сигнальный путь JAK-STAT (8 генов, например, *Lif*, *Il4r*, *Stat3*), ответ на разные типы стресса — сигнальный путь TNF (8 генов), сигнальный путь HIF-1 (8 генов, например, *Hmox1*, *Stat3*) и сигнальный путь p53 (5 генов: *Cdkn1a*, *Serpine1*, *Pmaip1*) (рисунок 4).

Анализ дифференциальной экспрессии генов при добавлении культурам внеклеточных везикул на фоне действия глутамата

Инкубация с внеклеточными везикулами приводила к изменению дифференциальной экспрессии 499 генов, из которых 190 генов были с повышенной экспрессией в группе с добавлением ВВ-ГКП и 309 генов — с пониженной экспрессией ($p\text{-value} < 0,05$ и $|FC| < 1,5$).

Анализ с помощью базы данных Gene Ontology показал, что гены с повышенной экспрессией в группе с добавлением ВВ-ГКП достоверно классифицировались по группам Биологических процессов. Из наиболее представленных были выделены следующие категории биологических путей: регенерация, реорганизация внеклеточного матрикса и цитоскелета, поддержание гомеостаза и ответ на клеточный стресс. Так к регенерации можно отнести: заживление ран (18 генов: *Timp1*, *Anxa2*, и другие), передача сигнала фосфатидилинозитол-3-киназой/протеинкиназой B (10 генов: *Fgr* — тирозин киназа, которая активирует NF-κB and ERK1/2 pathways, *Txn1* — тиоредоксин, который работает как антиоксидант, тем самым защищает от окислительного стресса [53]); регенерация (8 генов: *Anxa1* — аннексин 1, который,

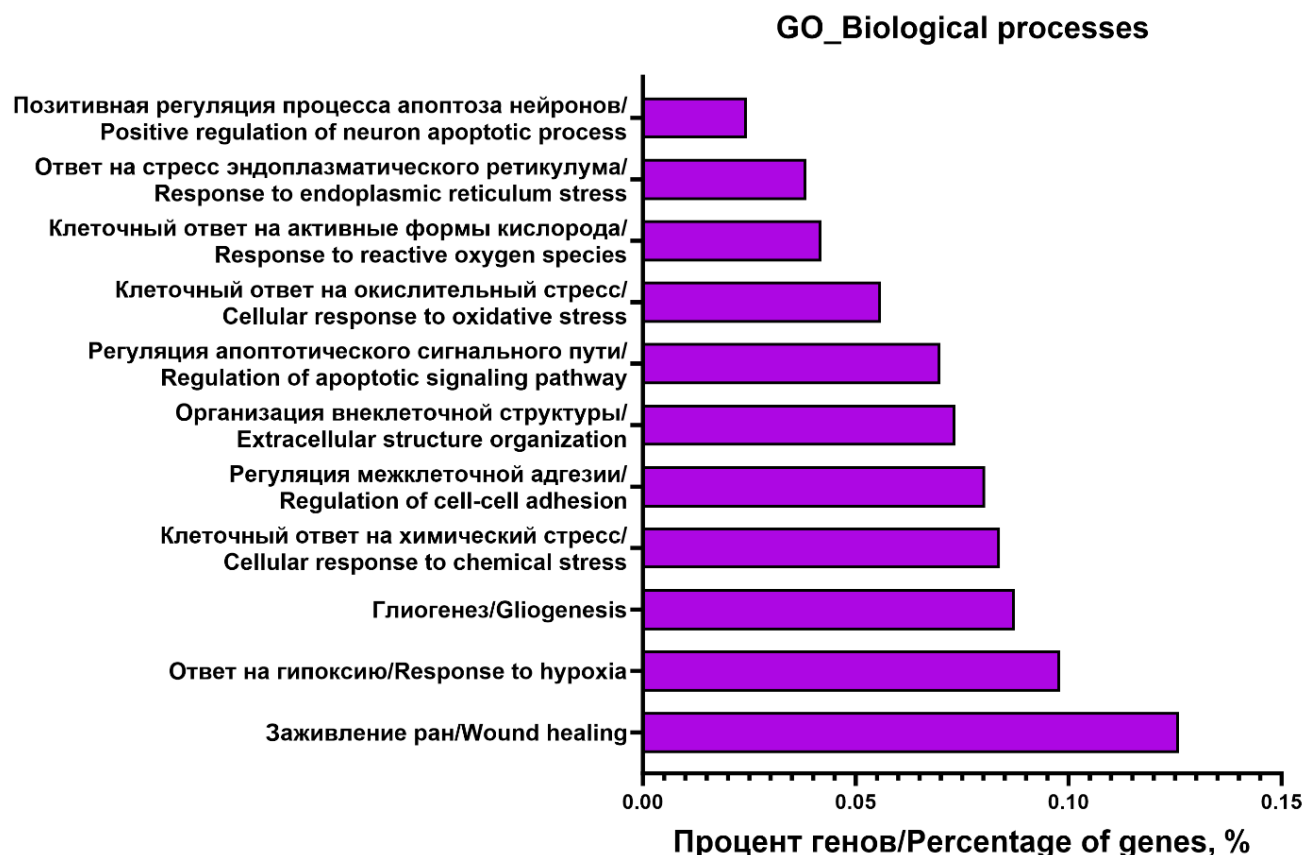


Рис. 3. Результаты классификации генов с повышенной экспрессией в группе с добавлением глутамата с помощью базы данных Gene Ontology Biological processes. По оси X указано процент генов, по оси Y выбранные Biological processes

Fig. 3. Results of classification of genes with increased expression in the glutamate-added group using the Gene Ontology Biological Processes database. The x-axis shows the percentage of genes, and the y-axis shows the selected Biological Processes genes

связываясь со своими рецепторами, активирует пути защиты [54]) и регуляция аксоногенеза (5 генов: *Metn*, отвечающий за удлинение аксонов [55]). В категории внеклеточный матрикс и цитоскелет можно выделить следующие подкатегории: организация внеклеточного матрикса (14 генов: *Adamts7* — металлопротеиназа, которая может разрушать компоненты внеклеточного матрикса, *Vwa1* — активно экспрессируется на концах нейритов и взаимодействует с внеклеточным матриксом [56, 57]); организация активного цитоскелета (9 генов, например *Arcp1b* — белок, отвечающий

за разветвленность актинового цитоскелета и тем самым за разветвленность нейритов [58]).

Также в категории ответ на стресс можно выделить: ответ на активные формы кислорода (10 генов, такие как *Nptxr* — пентраксин, который контролирует формирование синапса и поступление ионов внутрь нейронов; *Pex5* — ген, участвующий в формировании пероксисомах [59]); ответ на перекись водорода (7 генов) и ответ на повреждение аксона (5 генов, например *Spp1*, который связан с выживанием клеток и реорганизацией аксона при повреждении [60]).

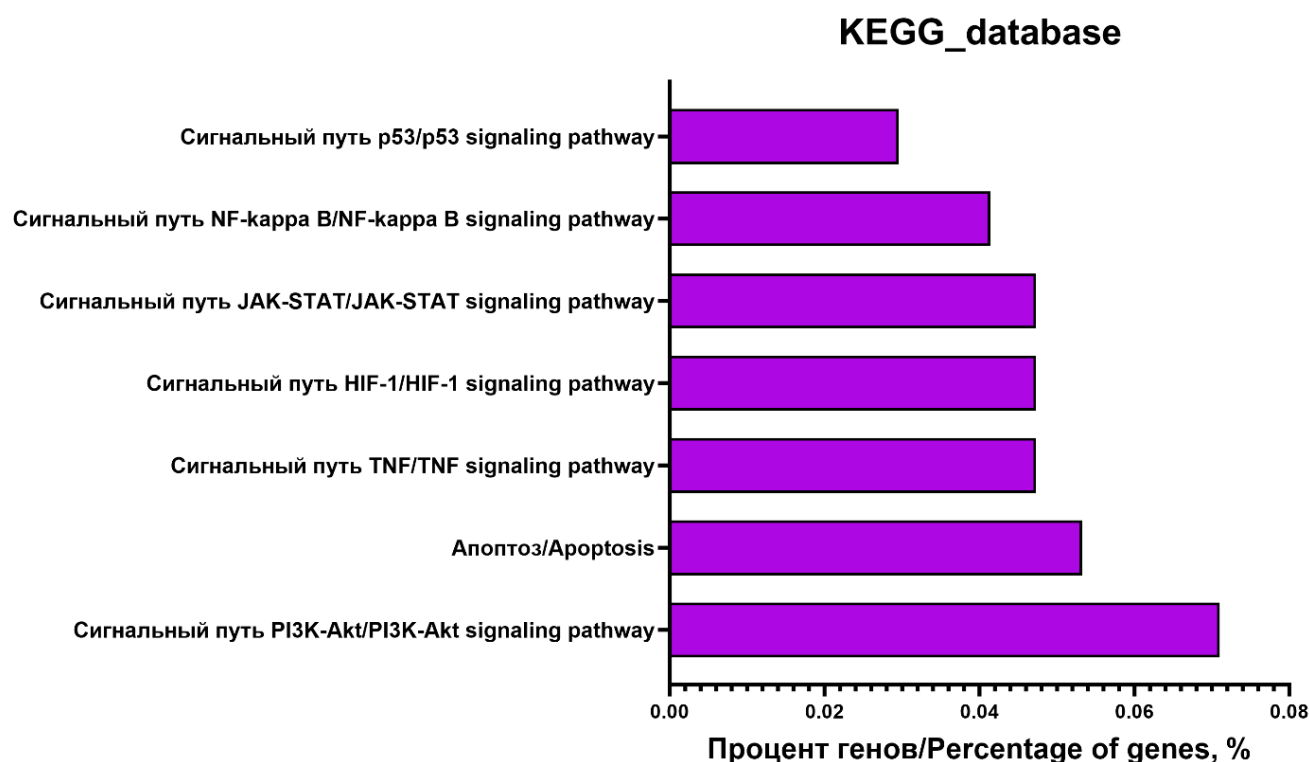


Рис. 4. Результаты классификации генов, чья экспрессия выше в группе с добавлением глутамата с помощью базы данных KEGG database. По оси X указано процент генов, по оси Y выбранные сигнальные пути

Fig. 4. Results of classification of genes whose expression is higher in the glutamate-supplemented group using the KEGG database. The percentage of genes is shown on the X-axis, and the selected signaling pathways are shown on the Y-axis

Последней категорией процессов, которые удалось идентифицировать, было поддержание внутриклеточного гомеостаза, к которой удалось отнести следующие процессы: регуляция транспорта ионов металлов (12 генов: *Tesc* — контролирует поступление ионов металлов внутрь нейронов, особенно ионов кальция, связываясь с ним, *Kcnp2* — потенциал-зависимый канал для иона калия, *Fxyd5* — регулирует работу Na^+/K^+ -ATPase [61-63]); положительная регуляция секреции клеткой (8 генов); секреция пептидных гормонов (7 генов: *Rbp4* — участвует в транспорте ретиноевой кислоты, *Нру* — нейропептид, необходимый для выживания нейронов [64, 65]) и регуляция деполяризации мембраны (3 гена) (рисунок 5А).

Однако, анализируя пути, в которые группировались гены, чья экспрессия была ниже в группе с добавлением ВВ-ГКП, можно увидеть процессы,

связанные с физиологией нейронов: аксоногенез (24 гена: *Ttc3*, *Vangl2*, *Nfib* — ингибирование появления нейритов и удлинение аксонов, *Mapt* — ген белка, отвечающего за транспорт в аксонах и дендритах [66–69]); регуляция клеточного ответа на стресс (20 генов: *Tmem33* — это индуцируемая стрессом ЭПР молекула, которая модулирует каскад сигналов ответа на развернутый белок, приводящий к апоптозу, *Nfe2l1* — еще один ген, активирующийся стрессом ЭПР, *Foxo1* — один из ключевых генов ответа на окислительный стресс [70–72]); развитие дендритов (19 генов: *Mef2c* — ген белка, который регулирует формирование дендритных шипиков, который стимулирует элиминацию шипиков во время эксайтотоксичности [73]); регуляция организации синапсов (18 генов: *Tnik*, *Zfp804a*, *Tanc2* — гены, отвечающий за регуляцию структуры и функции синапсов [74–76]); транспорт ионов кальция (18 ге-

нов: *Casna1c*, *Casna1d*, *Casna2d1*, *Ryr2* — гены ионных транспортеров, контролирующих транспорт ионов кальция внутрь цитоплазмы нейронов); актин-опосредованное сокращение клеток (8 генов: *Limch1*, *Pde4d* [77]); негативная регуляция экспрессии генов

(10 генов); организация дендритного дерева (11 генов); транспорт ионов кальция в цитозоль (5 генов); регуляция высвобождения ионов кальция в цитозоль саркоплазматическим ретикулумом (4 гена) (рисунок 5Б).

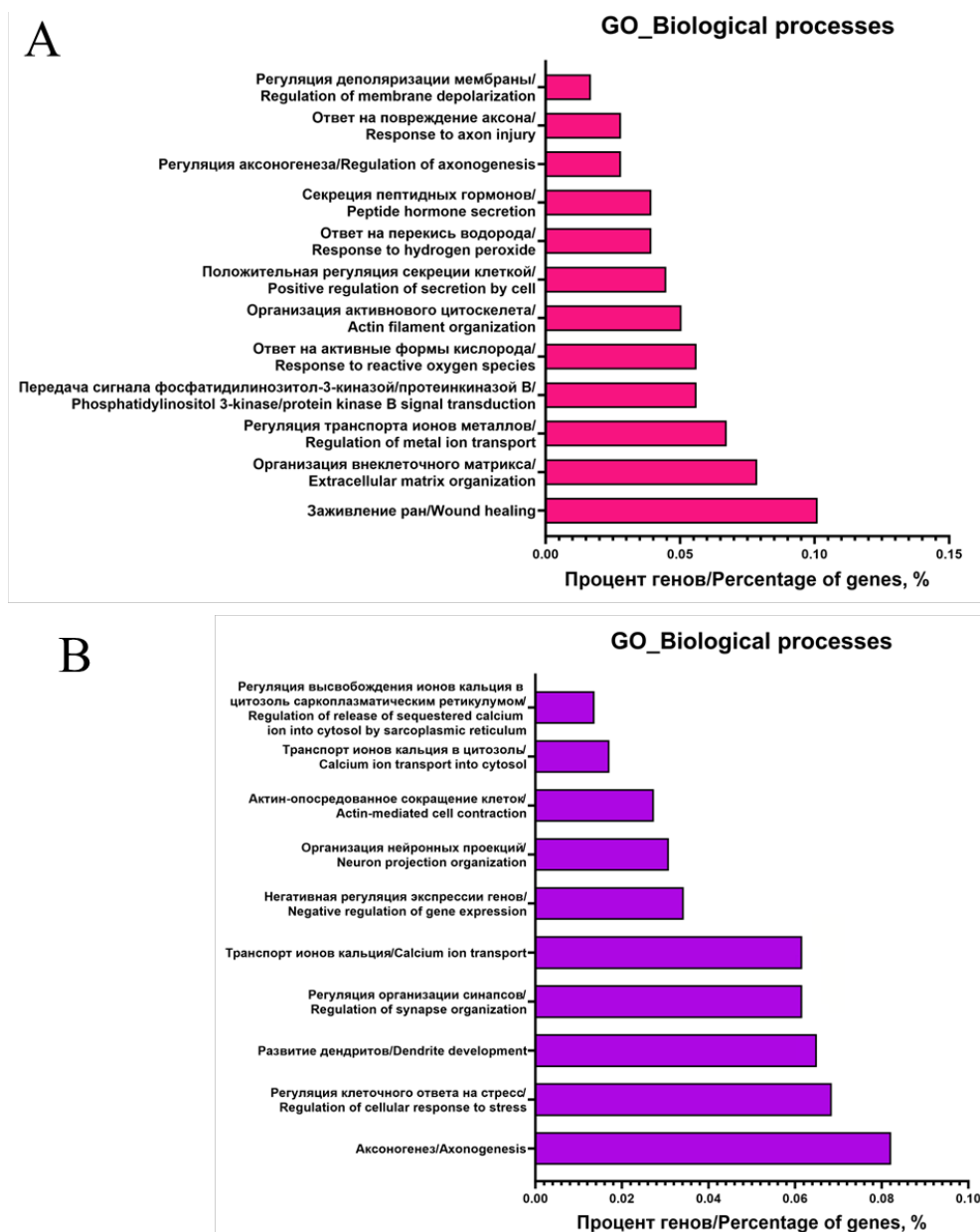


Рис. 5. Результаты классификации генов, чья экспрессия была повышена (А) и понижена (В) в группе с добавлением ВВ-ГКП с помощью базы данных Gene Ontology. По оси Х указано число генов, по оси Y выбранные сигнальные пути

Fig. 5. Results of classification of genes whose expression was increased (A) and decreased (B) in the group with the addition of BB-GKP using the Gene Ontology database. The number of genes is indicated on the X-axis, and the selected signaling pathways are shown on the Y-axis

Для более глубокого анализа процессов, как и в предыдущем эксперименте мы с помощью KEGG database классифицировали генов по сигнальным путям. Гены с повышенной экспрессией достоверно классифицировались по следующим путям: Фокальная адгезия (7 генов, например, *Myl9*, *Spp1*, *Thbs4*), Сигнальный путь PI3K-Akt (7 генов, такие как, *Pck2*, *Fn1*), Фагосома (5 генов, например: *Sec61b*) и Регуляция актинового цитоскелета (5 генов, такие как: *Arpc1b*, *Rras*) (рисунок 6А). Гены с пониженной экспрессией тоже достоверно группировались по категориям сигнальных путей, таких как: Сигнальный путь MAPK (13 генов: *Map4k4*, *Ppp3ca*, *Cacna1d*, *Cacna2d1*), Кальциевый сигнальный путь (11 генов: *Atp2b4*, *Atp2b1*, *Plcb1*, *Ryr2*, *Camk4*), Клеточное старение (8 генов: *RT1-S3*, *Tgfb2*, *Rbl1*, *Hipk2*), Наведение аксонов (7 генов: *Srgap1*, *Pak3*, *Ephb1*, *Ppp3ca*, *Sema5a*, *Cxcl12*), Долговременная потенция (6 генов) и Глутаматергический синапс (5 генов: *Plcb1*, *Prkacb*, *Ppp3ca*) (рисунок 6Б).

Эксайтотоксичность представляет собой ключевой патогенетический механизм повреждения нервной ткани при различных неврологических патологиях. Исследование глутамат-опосредованной эксайтотоксичности имеет принципиальное значение для понимания патогенеза этих заболеваний

и разработки новых терапевтических стратегий. Глутамат как основной возбуждающий нейромедиатор ЦНС при избыточном накоплении вызывает необратимые повреждения нейронов. В процессе синаптической передачи глутамат высвобождается в синаптическую щель и связывается со специфическими рецепторами постсинаптической мембраны. Активация этих рецепторов приводит к: усилению поступления ионов кальция и натрия в цитозоль, деполяризации мембраны и передаче электрического сигнала. Эти процессы стимулируют: активацию внутриклеточных сигнальных каскадов, которые влияют на изменения внутриклеточного гомеостаза. Патологическое накопление глутамата вызывает гиперстимуляцию рецепторов (феномен эксайтотоксичности), что приводит к: критическому повышению внутриклеточного Ca^{2+} , дисфункции митохондрий, окислительному стрессу, активации стресса эндоплазматического ретикулума, что приводит к запуску апоптоза. Эти нарушения в итоге приводят к необратимой гибели нейронов, что определяет центральную роль эксайтотоксичности в патогенезе нейродегенеративных заболеваний. Это согласуется с полученными данными транскриптомного анализа, которые показали, что глутамат запускает внутри нейронов пути, связанные с активацией и регуляцией

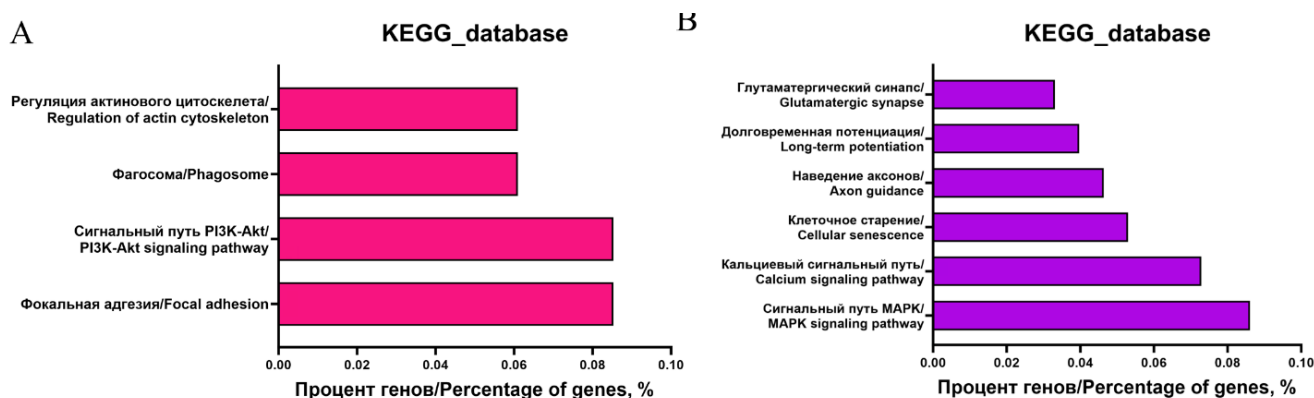


Рис. 6. Результаты классификации генов, чья экспрессия была повышена (А) и понижена (Б) в группе с добавлением ВВ-ГКП с помощью базы данных KEGG database. По оси Х указано число генов, по оси Y выбранные сигнальные пути

Fig. 6. Results of classification of genes whose expression was increased (A) and decreased (B) in the group with the addition of BB-GKP using the KEGG database. The number of genes is indicated on the X-axis, and the selected signaling pathways are indicated on the Y-axis

апоптоза, а также реакцию на клеточный стресс, вызванный активными формами кислорода и нарушением работы эндоплазматического ретикулюма, что согласуется с общеизвестными данными [78]. Также глутамат запускает глиогенез, так как астроциты способствуют защите нейронов при глутаматной эксайтотоксичности, активно поглощая избыток глутамата из внеклеточного пространства [79]. Также есть активация таких путей, как сигнальный путь PI3K-Akt, сигнальный путь NF-каппа В и сигнальный путь JAK-STAT, что свидетельствует о стимулировании защитных механизмов в нервных клетках.

Глиальные клетки, составляющие большинство клеток центральной нервной системы человека, играют ключевую роль в поддержании ее нормального функционирования. Эти клетки обеспечивают комплексное регулирование деятельности ЦНС через выполнение метаболических, структурных и гомеостатических функций, включая контроль синаптической передачи, поддержание нейронального гомеостаза и регуляцию гематоэнцефалического барьера. Важнейшей особенностью глии является их способность осуществлять нейропротекторное действие как посредством прямого межклеточного взаимодействия, так и через паракринные механизмы, реализуемые путем секреции внеклеточных везикул, цитокинов и других сигнальных молекул. Данные механизмы обеспечивают регуляцию нейрональной активности и защиту нервной ткани от повреждающих воздействий.

Уже довольно давно ведутся исследования нейропротекторного свойства внеклеточных везикул, полученных из разных источников, в том числе от нейральных стволовых клеток человека, нейральных клеток-предшественников человека, астроцитов, олигодендроцитов. Особое внимание привлекают внеклеточные везикулы, полученные из астроцитов (ABV), так как есть большое количество исследований об их влиянии на гомеостаз нервной ткани. Так в них обнаруживаются белки FGF-2 и VEGF, стимулирующие: регенерацию тканей, выживание и дифференцировку клеток, за счет активации сигнального пути PI3K-Akt [80]. Также

есть данные о содержании в ABV белков теплового шока, которые влияют на корректное сворачивание белков и ингибирование внутриклеточного стресса [81]. Есть исследования, согласно которым астроцитарные BV стимулируют активацию сигнальных путей NF-κB и HIF-1α в клетках нервной ткани *in vivo*, которые отвечают за реакцию нервных клеток на окислительный стресс, гипоксию и реактивные формы кислорода [82]. Есть исследования, что ABV влияют на рост отростков нейронов и направление роста аксонов, а также на нейронную активность и синаптическую передачу [83-84].

В ходе транскриптомного анализа с помощью базы данных KEGG при сравнении генов в можно увидеть, что BV в присутствии глутамата повышают дифференциальную экспрессию генов, связанных с активацией PI3K-Akt сигнального пути, который активирует нейропротекторные и регенеративные процессы. Поэтому среди групп, полученных при классификации генов с повышенной экспрессией в группе с добавлением BV-ГКП, с помощью базы данных Gene Ontology, выделяются следующие биологические процессы: заживление раны, ответ на повреждение аксонов, реакция на клеточный стресс, вызванный активными формами кислорода и гипоксией, а также контроль деполяризации мембраны и транспорта ионов металлов. Однако при этом BV в присутствии глутамата снижают дифференциальную экспрессию генов, отвечающих за развитие дендритного дерева, удлинение аксонов, организацию синапсов, что может быть связано со стимуляцией путей выживания нейронов. Есть данные, что при определенных условиях, особенно в процессах, связанных с выживанием, нейроны могут подавлять формирование отростков. Это подавление не является общим подавлением развития дендритов и аксонов, а представляет собой специфический механизм, определяющий приоритет выживания в условиях ограниченных ресурсов или стресса [85]. Кроме того, BV снижают экспрессию генов, отвечающих за поступление ионов кальция в цитозоль как из внеклеточного пространства, так и из эндоплазматического ретикулюма, а также ингибируют формирование глутаматергического

синапса и долговременную потенцию, что также является защитным механизмом от гиперстимуляцией глутаматом [86].

Ограничением данного исследования является использование в экспериментах и анализе препарата ВВ-ГКП, полученных от одного донора.

Изучение механизмов нейропротекции ВВ, полученных от различных клеточных источников, остаются актуальной задачей современной клеточной биологии и нейробиологии. При этом уже полученные данные позволяют утверждать, что ВВ имеют ряд преимуществ перед другими терапевтическими агентами благодаря их мультитаргетности и способности активировать множество внутриклеточных путей. Дальнейшее изучение механизмов их воздействия на нервные клетки может привести к созданию нового эффективного терапевтического агента для лечения неврологических заболеваний.

Выводы

Полученные данные свидетельствуют о том, что ВВ, продуцируемые глиальными предшественниками, полученными из иПСК человека, стимулируют нейропротекцию, с помощью активации путей, связанных с ответом на клеточный стресс, ингибированием поступления ионов кальция в цитозоль, а также активацию путей выживания, таких как PI3K-Akt сигнальный путь. Использование данного терапевтического агента позволило бы частично нивелировать последствия патологической эксайтотоксичности глутамата, тем самым способствовать более эффективному лечению нейродегенеративных заболеваний.

Список литературы / References

- McEntee WJ, Crook TH. Glutamate: its role in learning, memory, and the aging brain. *Psychopharmacology (Berl)*. 1993;111(4). doi:10.1007/BF02253527
- Niswender CM, Conn PJ. Metabotropic glutamate receptors: Physiology, pharmacology, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2010;50. doi:10.1146/annurev.pharmtox.011008.145533
- Lau A, Tymianski M. Glutamate receptors, neurotoxicity and neurodegeneration. *Pharmacol Arch*. 2010;460(2). doi:10.1007/s00424-010-0809-1
- Miladinovic T, Nashed MG, Singh G. Overview of glutamatergic dysregulation in central pathologies. *Biomolecules*. 2015;5(4). doi:10.3390/biom5043112
- Kumar MA, Baba SK, Sadida HQ, Marzooqi S Al, Jerobin J, Altemani FH, Algehainy N, Alanazi MA, Abou-Samra AB, Kumar R, Al-Shabeeb Akil AS, Macha MA, Mir R, Bhat AA. Extracellular vesicles as tools and targets in therapy for diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2024;9(1). doi:10.1038/s41392-024-01735-1
- Cecchin R, Troyer Z, Witwer K, Morris K V. Extracellular vesicles: The next generation in gene therapy delivery. *Molecular Therapy*. 2023;31(5). doi:10.1016/j.ymthe.2023.01.021
- Salikhova D, Bukharova T, Cherkashova E, Namestnikova D, Leonov G, Nikitina M, Gubskiy I, Akopyan G, Elchaninov A, Midiber K, Bulatenco N, Mokrousova V, Makarov A, Yarygin K, Chekhonin V, Mikhaleva L, Fatkhudinov T, Goldshtein D. Therapeutic effects of hpsc-derived glial and neuronal progenitor cells-conditioned medium in experimental ischemic stroke in rats. *Int J Mol Sci*. 2021;22(9). doi:10.3390/ijms22094694
- Turovsky EA, Golovicheva V V., Varlamova EG, Danilina TI, Goryunov K V., Shevtsova YA, Pevzner IB, Zorova LD, Babenko VA, Evtushenko EA, Zharikova AA, Khutorenko AA, Kovalchuk SI, Plotnikov EY, Zorov DB, Sukhikh GT, Silachev DN. Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles afford neuroprotection by modulating PI3K/AKT pathway and calcium oscillations. *Int J Biol Sci*. 2022;18(14). doi:10.7150/ijbs.73747
- Bakaeva Z, Lizunova N, Tarzhanov I, Boyarkin D, Petrichuk S, Pinelis V, Fisenko A, Tuzikov A, Sharipov R, Surin A. Lipopolysaccharide from *E. coli* Increases Glutamate-Induced Disturbances of Calcium Homeostasis, the Functional State of Mitochondria, and the Death of Cultured Cortical Neurons. *Front Mol Neurosci*. 2022;14. doi:10.3389/fnmol.2021.811171
- Andrews S, others. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. 2010. <https://www.BioinformaticsBabrahamAcUk/Projects/Fastqc/>. Published online 2019.
- Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014;30(15):2114-2120. doi:10.1093/bioinformatics/btu170
- Patro R, Duggal G, Love MI, Irizarry RA, Kingsford C. Salmon provides fast and bias-aware quantification of transcript expression. *Nat Methods*. 2017;14(4). doi:10.1038/nmeth.4197
- Soneson C, Love MI, Robinson MD. Differential analyses for RNA-seq: transcript-level estimates improve gene-level inferences. *F1000Res*. 2015;4. doi:10.12688/f1000research.7563.1
- Robinson MD, McCarthy DJ, Smyth GK. edgeR: A Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. *Bioinformatics*. 2009;26(1). doi:10.1093/bioinformatics/btp616
- Mihelc EM, Siepe DH, Chakraborty A, Kalocsay M, Moiseenkova-Bell V. Exploring the role of TRPV2 in neuronal development. *Biophys J*. 2024;123(3). doi:10.1016/j.bpj.2023.11.2380
- Kim TH, Lee HK, Seo IA, Bae HR, Suh DJ, Wu J, Rao Y, Hwang KG, Park HT. Netrin induces down-regulation of its receptor, Deleted in Colorectal Cancer, through the ubiquitin-proteasome pathway in the embryonic cortical neuron. *J Neurochem*. 2005;95(1). doi:10.1111/j.1471-4159.2005.03314.x
- Wang J, Miao Y, Wicklein R, Sun Z, Wang J, Jude KM, Fernandes RA, Merrill SA, Wernig M, Garcia KC, Südhof TC. RTN4/NoGo-receptor binding to BAI adhesion-GPCRs regulates neuronal development. *Cell*. 2021;184(24). doi:10.1016/j.cell.2021.10.016
- Gatto G, Dudanova I, Suetterlin P, Davies AM, Drescher U, Bixby JL, Klein R. Protein tyrosine phosphatase receptor type O inhibits trigeminal axon growth and branching by repressing TrkB and ret signaling. *Ann Intern Med*. 2013;158(6). doi:10.1523/JNEUROSCI.4707-12.2013
- Kim M, Roesener AP, Mendonca PRF, Mastick GS. Robo1 and Robo2 have distinct roles in pioneer longitudinal axon guidance. *Dev Biol*. 2011;358(1). doi:10.1016/j.ydbio.2011.07.025
- Zhao J, Cooper LT, Boyd AW, Bartlett PF. Decreased signalling of EphA4 improves functional performance and motor neuron survival in the SOD1G93A ALS mouse model. *Sci Rep*. 2018;8(1). doi:10.1038/s41598-018-29845-1

21. Yang H, Zhang M, Shi J, Zhou Y, Wan Z, Wang Y, Wan Y, Li J, Wang Z, Fei J. Brain-Specific SNAP-25 Deletion Leads to Elevated Extracellular Glutamate Level and Schizophrenia-Like Behavior in Mice. *Neural Plast*. 2017;2017. doi:10.1155/2017/4526417
22. Schuster S, Rivalan M, Strauss U, Stoenica L, Trimbuch T, Rademacher N, Parthasarathy S, Lajkó D, Rosenmund C, Shoichet SA, Winter Y, Tarabykin V, Rosário M. NOMA-GAP/ARHGAP33 regulates synapse development and autistic-like behavior in the mouse. *Mol Psychiatry*. 2015;20(9). doi:10.1038/mp.2015.42
23. Feyder M, Karlsson RM, Mathur P, Lyman M, Bock R, Momenan R, Munasinghe J, Scattoni ML, Ihne J, Camp M, Graybeal C, Strathdee D, Begg A, Alvarez VA, Kirsch P, Rietschel M, Cichon S, Walter H, Meyer-Lindenberg A, Grant SGN, Holmes A. Association of mouse Dlg4 (PSD-95) gene deletion and human DLG4 gene variation with phenotypes relevant to autism spectrum disorders and Williams' syndrome. *American Journal of Psychiatry*. 2010;167(12). doi:10.1176/appi.ajp.2010.10040484
24. Tolve M, Ulusoy A, Patikas N, Islam KUS, Bodea GO, Öztürk E, Broske B, Mentani A, Wagener A, van Loo KMJ, Britsch S, Liu P, Khaled WT, Metzakopian E, Baader SL, Di Monte DA, Blaess S. The transcription factor BCL11A defines distinct subsets of midbrain dopaminergic neurons. *Cell Rep*. 2021;36(11). doi:10.1016/j.celrep.2021.109697
25. Chen B, Wang L, Li X, Shi Z, Duan J, Wei JA, Li C, Pang C, Wang D, Zhang K, Chen H, Na W, Zhang L, So KF, Zhou L, Jiang B, Yuan TF, Qu Y. Celsr2 regulates NMDA receptors and dendritic homeostasis in dorsal CA1 to enable social memory. *Mol Psychiatry*. 2024;29(6). doi:10.1038/s41380-022-01664-x
26. del Puerto A, Lopez-Fonseca C, Simón-García A, Martí-Prado B, Barrios-Muñoz AL, Pose-Utrilla J, López-Menéndez C, Alcover-Sanchez B, Cesca F, Schiavo G, Campanero MR, Fariñas I, Iglesias T, Porlan E. Kidins220 sets the threshold for survival of neural stem cells and progenitors to sustain adult neurogenesis. *Cell Death Dis*. 2023;14(8). doi:10.1038/s41419-023-05995-7
27. Chang T, Zhang M, Zhu J, Wang H, Li C, Cong, Wu K, Zhang Z, Jiang Y, Hong, Wang F, Wang H, Tian, Wang XC, Liu Y. Simulated vestibular spatial disorientation mouse model under coupled rotation revealing potential involvement of Slc17a6. *iScience*. 2023;26(12). doi:10.1016/j.isci.2023.108498
28. Shen W, Kilander MBC, Bridi MS, Frei JA, Niescier RF, Huang S, Lin YC. Tomosyn regulates the small RhoA GTPase to control the dendritic stability of neurons and the surface expression of AMPA receptors. *J Neurosci Res*. 2020;98(6). doi:10.1002/jnr.24608
29. Harper CB, Mancini GMS, van Slegtenhorst M, Cousin MA. Altered synaptobrevin-II trafficking in neurons expressing a synaptophysin mutation associated with a severe neurodevelopmental disorder. *Neurobiol Dis*. 2017;108. doi:10.1016/j.nbd.2017.08.021
30. Feig LA. Regulation of neuronal function by Ras-GRF exchange factors. *Genes Cancer*. 2011;2(3). doi:10.1177/1947601911408077
31. Itoh M, Okuno H, Yamada D, Yamashita M, Abe M, Natsume R, Kaizuka T, Sakimura K, Hoshino M, Mishina M, Wada K, Sekiguchi M, Hayashi T. Perturbed expression pattern of the immediate early gene Arc in the dentate gyrus of GluA1 C-terminal palmitoylation-deficient mice. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2019;39(1). doi:10.1002/npr.12044
32. Ragnarsson L, Zhang Z, Das SS, Tran P, Andersson Å, des Portes V, Desmettre Altuzarra C, Remerand G, Labalme A, Chatron N, Sanlaville D, Lesca G, Anggono V, Vetter I, Keramidias A. GRIN1 variants associated with neurodevelopmental disorders reveal channel gating pathomechanisms. *Epilepsia*. 2023;64(12). doi:10.1111/epi.17776
33. Piechota M, Skupio U, Borczyk M, Ziółkowska B, Gołda S, Szumiec Ł, Szklarczyk-Smolana K, Bilecki W, Rodriguez Parkitna JM, Korostyński M. Glucocorticoid-Regulated Kinase CAMK1γ in the Central Amygdala Controls Anxiety-like Behavior in Mice. *Int J Mol Sci*. 2022;23(20). doi:10.3390/ijms232012328
34. Mohanan AG, Gunasekaran S, Jacob RS, Omkumar R V. Role of Ca²⁺/Calmodulin-Dependent Protein Kinase Type II in Mediating Function and Dysfunction at Glutamatergic Synapses. *Front Mol Neurosci*. 2022;15. doi:10.3389/fnmol.2022.855752
35. Simon R, Wiegreffe C, Britsch S. Bcl11 Transcription Factors Regulate Cortical Development and Function. *Front Mol Neurosci*. 2020;13. doi:10.3389/fnmol.2020.00051
36. Li H, Liu B, Lian L, Zhou J, Xiang S, Zhai Y, Chen Y, Ma X, Wu W, Hou L. High dose expression of heme oxygenase-1 induces retinal degeneration through ER stress-related DDIT3. *Mol Neurodegener*. 2021;16(1). doi:10.1186/s13024-021-00437-4
37. Gadiant RA, Lein P, Higgins D, Patterson PH. Effect of leukemia inhibitory factor (LIF) on the morphology and survival of cultured hippocampal neurons and glial cells. *Brain Res*. 1998;798(1-2). doi:10.1016/S0006-8993(98)00236-4
38. Joo JY, Schaukowitch K, Farbiak L, Kilaru G, Kim TK. Stimulus-specific combinatorial functionality of neuronal c-fos enhancers. *Nat Neurosci*. 2015;19(1). doi:10.1038/nn.4170
39. Huang X, Zhang W, Yang N, Zhang Y, Qin T, Ruan H, et al. Identification of HSP90B1 in pan-cancer hallmarks to aid development of a potential therapeutic target. *Mol Cancer*. 2024;23(1). doi:10.1186/s12943-023-01920-w
40. Huang M, Wang J, Liu W, Zhou H. Advances in the role of the GADD45 family in neurodevelopmental, neurodegenerative, and neuropsychiatric disorders. *Front Neurosci*. 2024;18. doi:10.3389/fnins.2024.1349409
41. Labonté B, Jeong YH, Parise E, Issler O, Fatma M, Engmann O, Cho KA, Neve R, Nestler EJ, Koo JW. Gadd45b mediates depressive-like role through DNA demethylation. *Sci Rep*. 2019;9(1). doi:10.1038/s41598-019-40844-8
42. Levings DC, Pathak SS, Yang YM, Slattery M. Limited expression of Nrf2 in neurons across the central nervous system. *Redox Biol*. 2023;65. doi:10.1016/j.redox.2023.102830
43. Lytrivi M, Senée V, Salpea P, Fantuzzi F, Philippi A, Abdulkarim B, Sawatani T, Marín-Cañás S, Pachera N, Degavre A, Singh P, Derbois C, Lechner D, Ladière L, Igoillo-Esteve M, Cosentino C, Marselli L, Deleuze JF, Marchetti P, Eizirik DL, Nicolino M, Chaussenot A, Julier C, Cnop M. DNAJC3 deficiency induces β-cell mitochondrial apoptosis and causes syndromic young-onset diabetes. *Eur J Endocrinol*. 2021;184(3). doi:10.1530/EJE-20-0636
44. Kang L, Wang D, Shen T, Liu X, Dai B, Zhou D, Shen H, Gong J, Li G, Hu Y, Wang P, Mi X, Zhang Y, Tan X. PDIA4 confers resistance to ferroptosis via induction of ATF4/SLC7A11 in renal cell carcinoma. *Cell Death Dis*. 2023;14(3). doi:10.1038/s41419-023-05719-x
45. Ousingawat J, Wanitchakool P, Kmit A, Romao AM, Jantarajit W, Schreiber R, Kunzelmann K. Anoctamin 6 mediates effects essential for innate immunity downstream of P2X7 receptors in macrophages. *Nat Commun*. 2015;6. doi:10.1038/ncomms7245
46. Xia Q, Li X, Zhou H, Zheng L, Shi J. S100A11 protects against neuronal cell apoptosis induced by cerebral ischemia via inhibiting the nuclear translocation of annexin A1 article. *Cell Death Dis*. 2018;9(6). doi:10.1038/s41419-018-0686-7
47. Knierim E, Hirata H, Wolf NI, Morales-Gonzalez S, Schottmann G, Tanaka Y, Rudnik-Schöneborn S, Orgeur M, Zerres K, Vogt S, Van Riesen A, Gill E, Seifert F, Zwirner A, Kirschner J, Goebel HH, Hübner C, Stricker S, Meierhofer D, Stenzel W, Schuelke M. Mutations in Subunits of the Activating Signal Cointegrator 1 Complex Are Associated with Prenatal Spinal Muscular Atrophy and Congenital Bone Fractures. *Am J Hum Genet*. 2016;98(3). doi:10.1016/j.ajhg.2016.01.006
48. Marqués-Torrejón MÁ, Porlan E, Banito A, Gómez-Ibarlucea E, Lopez-Contreras AJ, Fernández-Capetillo Ó, Vidal A, Gil J, Torres J, Fariñas I. Cyclin-dependent kinase inhibitor p21 controls adult neural stem cell expansion by regulating Sox2 gene expression. *Cell Stem Cell*. 2013;12(1). doi:10.1016/j.stem.2012.12.001
49. Ting AK, Chen Y, Wen L, Yin DM, Shen C, Tao Y, Liu X, Xiong WC, Mei L. Neuregulin 1 promotes excitatory synapse development and function in GABAergic interneurons. *Journal of Neuroscience*. 2011;31(1). doi:10.1523/JNEUROSCI.2538-10.2011
50. Escobedo N, Contreras O, Muñoz R, Farías M, Carrasco H, Hill C, Tran U, Pryor SE, Wessely O, Copp AJ, Larraín J. Syndecan 4 interacts

genetically with Vangl2 to regulate neural tube closure and planar cell polarity. *Development (Cambridge)*. 2013;140(14). doi:10.1242/dev.091173

51. Fowke TM, Karunasinghe RN, Bai JZ, Jordan S, Gunn AJ, Dean JM. Hyaluronan synthesis by developing cortical neurons in vitro. *Sci Rep*. 2017;7. doi:10.1038/srep44135

52. Zhu J, Xian Q, Hou X, Wong KF, Zhu T, Chen Z, He D, Kala S, Murugappan S, Jing J, Wu Y, Zhao X, Li D, Guo J, Qiu Z, Sun L. The mechanosensitive ion channel Piezo1 contributes to ultrasound neuromodulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023;120(118). doi:10.1073/pnas.2300291120

53. Huang T, Fu G, Gao J, Zhang Y, Cai W, Wu S, Jia S, Xia S, Bachmann T, Bekker A, Tao YX. Fgr contributes to hemorrhage-induced thalamic pain by activating NF- κ B/ ERK1/2 pathways. *JCI Insight*. 2020;5(20). doi:10.1172/jci.insight.139987

54. Wang A, Zhang H, Li X, Zhao Y. Annexin A1 in the nervous and ocular systems. *Neural Regen Res*. 2024;19(3). doi:10.4103/1673-5374.380882

55. Zheng SL, Li ZY, Song J, Liu JM, Miao CY. Metnl: A secreted protein with new emerging functions. *Acta Pharmacol Sin*. 2016;37(5). doi:10.1038/aps.2016.9

56. Iwanicka J, Balcerzyk-Matić A, Iwanicki T, Mizia-Stec K, Bańka P, Filipecki A, Gawron K, Jarosz A, Nowak T, Krauze J, Niemiec P. The Association of ADAMTS7 Gene Polymorphisms with the Risk of Coronary Artery Disease Occurrence and Cardiovascular Survival in the Polish Population: A Case-Control and a Prospective Cohort Study. *Int J Mol Sci*. 2024;25(4). doi:10.3390/ijms25042274

57. Pagnamenta AT, Kaiyrzhanov R, Zou Y, Da'as SI, Maroofian R, Donkervoort S, Dominik N, Lauffer M, Ferla MP, Orioli A, et al. An ancestral 10-bp repeat expansion in VWA1 causes recessive hereditary motor neuropathy. *Brain*. 2021;144(2). doi:10.1093/brain/awaa420

58. Konietzny A, Bär J, Mikhaylova M. Dendritic actin cytoskeleton: Structure, functions, and regulations. *Front Cell Neurosci*. 2017;11. doi:10.3389/fncel.2017.00147

59. Uzor NE, Scheihing DM, Kim GS, Moruno-Manchon JF, Zhu L, Reynolds CR, Stephenson JM, Holmes A, McCullough LD, Tsvetkov AS. Aging lowers PEX5 levels in cortical neurons in male and female mouse brains. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2020;107. doi:10.1016/j.mcn.2020.103536

60. Mohammadzadeh P, Amberg GC. AXL/Gas6 signaling mechanisms in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14. doi:10.3389/fendo.2023.1212104

61. Kolobynina KG, Solovyova V V., Levay K, Rizvanov AA, Slepak VZ. Emerging roles of the single EF-hand Ca²⁺ sensor tescalcin in the regulation of gene expression, cell growth and differentiation. *J Cell Sci*. 2016;129(19). doi:10.1242/jcs.191486

62. Wu LY, Song YJ, Zhang CL, Liu J. KV Channel-Interacting Proteins in the Neurological and Cardiovascular Systems: An Updated Review. *Cells*. 2023;12(14). doi:10.3390/cells12141894

63. Godiv IL. FXYD5: Na⁺/K⁺-ATPase regulator in health and disease. *Front Cell Dev Biol*. 2016;4(MAR). doi:10.3389/fcell.2016.00026

64. Shen J, Shi D, Suzuki T, Xia Z, Zhang H, Araki K, Wakana S, Takeda N, Yamamura KI, Jin S, Li Z. Severe ocular phenotypes in Rbp4-deficient mice in the C57BL/6 genetic background. *Laboratory Investigation*. 2016;96(6). doi:10.1038/labinvest.2016.39

65. Reichmann F, Holzer P. Neuropeptide Y: A stressful review. *Neuropeptides*. 2016;55. doi:10.1016/j.npep.2015.09.008

66. Rolando C, Erni A, Grison A, Beattie R, Engler A, Gokhale PJ, Milo M, Wegleiter T, Jessberger S, Taylor V. Multipotency of Adult Hippocampal NSCs In Vivo Is Restricted by Drosha/NFIB. *Cell Stem Cell*. 2016;19(5). doi:10.1016/j.stem.2016.07.003

67. Carvalho SDS, Moreau MM, Hien YE, Garcia M, Aubailly N, Henderson DJ, Studer V, Sans N, Thoumine O, Montcouquiol M. Vangl2 acts at the interface between actin and N-cadherin to modulate mammalian neuronal outgrowth. *Elife*. 2020;9. doi:10.7554/eLife.51822

68. Cukier HN, Duarte CL, Laverde-Paz MJ, Simon SA, Van Booven DJ, Miyares AT, Whitehead PL, Hamilton-Nelson KL, Adams LD, Carney RM, Cuccaro ML, Vance JM, Pericak-Vance MA, Griswold AJ, Dykxhoorn DM. An Alzheimer's disease risk variant in TTC3 modifies the actin cytoskeleton

organization and the PI3K-Akt signaling pathway in iPSC-derived forebrain neurons. *Neurobiol Aging*. 2023;131. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2023.07.007

69. Strang KH, Golde TE, Giasson BI. MAPT mutations, tauopathy, and mechanisms of neurodegeneration. *Laboratory Investigation*. 2019;99(7). doi:10.1038/s41374-019-0197-x

70. Sakabe I, Hu R, Jin L, Clarke R, Kasid UN. TMEM33: a new stress-inducible endoplasmic reticulum transmembrane protein and modulator of the unfolded protein response signaling. *Breast Cancer Res Treat*. 2015;153(2). doi:10.1007/s10549-015-3536-7

71. Łuczyńska K, Zhang Z, Pietras T, Zhang Y, Taniguchi H. NFE2L1/Nrf1 serves as a potential therapeutic target for neurodegenerative diseases. *Redox Biol*. 2024;69. doi:10.1016/j.redox.2023.103003

72. Santo EE, Paik J. FOXO in Neural Cells and Diseases of the Nervous System. In: *Current Topics in Developmental Biology*. Vol 127.; 2018. doi:10.1016/bs.ctdb.2017.10.002

73. Zhang Z, Zhao Y. Progress on the roles of MEF2C in neuropsychiatric diseases. *Mol Brain*. 2022;15(1). doi:10.1186/s13041-021-00892-6

74. Guo H, Bettella E, Marcogliese PC, Zhao R, Andrews JC, Nowakowski TJ, Gillentine MA, Hoekzema K, Wang T, Wu H, et al. Disruptive mutations in TANC2 define a neurodevelopmental syndrome associated with psychiatric disorders. *Nat Commun*. 2019;10(1). doi:10.1038/s41467-019-12435-8

75. Aabdien A, Sichlinger L, Borgel Z, Jones MR, Waston IA, Gafford NJF, Raval P, Tanangonan L, Powell TR, Duarte RRR, Srivastava DP. Schizophrenia risk proteins ZNF804A and NT5C2 interact in cortical neurons. *European Journal of Neuroscience*. 2024;59(8). doi:10.1111/ejn.16254

76. Hussain NK, Hsin H, Haganir RL, Sheng M. MINK and TNIK differentially act on Rap2-mediated signal transduction to regulate neuronal structure and AMPA receptor function. *Journal of Neuroscience*. 2010;30(44). doi:10.1523/JNEUROSCI.4124-10.2010

77. Baumgärtel K, Green A, Hornberger D, Lapira J, Rex C, Wheeler DG, Peters M. PDE4D regulates Spine Plasticity and Memory in the Retrosplenial Cortex. *Sci Rep*. 2018;8(1). doi:10.1038/s41598-018-22193-0

78. Kritis AA, Stamoula EG, Paniskaki KA, Vavilis TD. Researching glutamate — induced cytotoxicity in different cell lines: A comparative/collective analysis/study. *Front Cell Neurosci*. 2015;9. doi:10.3389/fncel.2015.00091

79. Mahmoud S, Gharagozloo M, Simard C, Gris D. Astrocytes maintain glutamate homeostasis in the CNS by controlling the balance between glutamate uptake and release. *Cells*. 2019;8(2). doi:10.3390/cells8020184

80. Proia P, Schiera G, Mineo M, Ingrassia AMR, Santoro G, Savettieri G, Di Liegro I. Astrocytes shed extracellular vesicles that contain fibroblast growth factor-2 and vascular endothelial growth factor. *Int J Mol Med*. 2008;21(1). doi:10.3892/ijmm.21.1.63

81. Taylor AR, Robinson MB, Gifondorwa DJ, Tytell M, Milligan CE. Regulation of heat shock protein 70 release in astrocytes: Role of signaling kinases. *Dev Neurobiol*. 2007;67(13). doi:10.1002/dneu.20559

82. Montecchi T, Shaba E, De Tommaso D, Di Giuseppe F, Angelucci S, Bini L, Landi C, Baldari CT, Ulivieri C. Differential proteomic analysis of astrocytes and astrocytes-derived extracellular vesicles from control and rai knockout mice: insights into the mechanisms of neuroprotection. *Int J Mol Sci*. 2021;22(15). doi:10.3390/ijms22157933

83. Patel MR, Weaver AM. Astrocyte-derived small extracellular vesicles promote synapse formation via fibulin-2-mediated TGF- β signaling. *Cell Rep*. 2021;34(10). doi:10.1016/j.celrep.2021.108829

84. You Y, Borgmann K, Edara VV, Stacy S, Ghorpade A, Ikezu T. Activated human astrocyte-derived extracellular vesicles modulate neuronal uptake, differentiation and firing. *J Extracell Vesicles*. 2020;9(1). doi:10.1080/20013078.2019.1706801

85. Krishnan A, Areti A, Komirishetty P, Chandrasekhar A, Cheng C, Zochodne DW. Survival of compromised adult sensory neurons involves macrovesicular formation. *Cell Death Discov*. 2022;8(1). doi:10.1038/s41420-022-01247-3

86. Vaillant AR, Zanassi P, Walsh GS, Aumont A, Alonso A, Miller FD. Signaling mechanisms underlying reversible activity-dependent dendrite formation. *Neuron*. 2002;34(6). doi:10.1016/S0896-6273(02)00717-1

Ответственный за переписку: Шеденкова Маргарита Олеговна — младший научный сотрудник Медико-генетического научного центра имени академика Н.П. Бочкова, 115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1, E-mail: margarita.shedenkova@gmail.com

Шеденкова М.О. SPIN 3390-4201, ORCID 0000-0001-7415-1520

Гурьянова А.А. ORCID 0000-0002-6589-2164

Судьина А.К. SPIN 5225-7878 ORCID 0000-0003-3531-7684

Гугучкин Е.П. ORCID 0000-0001-7885-9892

Карпулевич Е.А. SPIN 8064-2794, ORCID 0000-0002-6771-2163

Фатхудинов Т.Х. SPIN 7919-8430, ORCID 0000-0002-6498-5764

Гольдштейн Д.В. SPIN 7714-9099, ORCID 0000-0003-2438-1605

Салихова Д.И. SPIN 1436-5027, ORCID 0000-0001-7842-7635

Corresponding author: Shedenkova Margarita — Junior Researcher, Research Centre for Medical Genetics, 115522, Moscow, 1 Moskvorechye St, Russian Federation, E-mail: margarita.shedenkova@gmail.com

Shedenkova M.O. ORCID 0000-0001-7415-1520

Gurianova A.A. ORCID 0000-0002-6589-2164

Sudina A.K. ORCID 0000-0003-3531-7684

Guguchin E.P. ORCID 0000-0001-7885-9892

Karpulevich E.A ORCID 0000-0002-6771-2163

Fatkhudinov T. Kh. ORCID 0000-0002-6498-5764

Goldstein D.V. ORCID 0000-0003-2438-1605

Salikhova D.I. ORCID 0000-0001-7842-7635

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-454-469

EDN ADMYUS

ОБЗОР
REVIEW

Biological and psychological approach to familial hypercholesterolemia

Leyla V. Tskhovrebova^{1,3}  , Anna V. Aghajanyan¹ ,
Diana D. Bekoeva² , Sergey V. Kurevlev¹ 

¹RUDN University, Moscow, Russian Federation

²Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

³Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine, Moscow, Russian Federation

 tskhovrebova-lv@rudn.ru

Abstract. Relevance. Familial hypercholesterolemia (FH) is a monogenic hereditary disorder characterized by impaired lipid metabolism. The prevalence of FH in the general population averages 0.32% (95% CI: 0.26–0.39%). The disease can have both autosomal dominant and autosomal recessive inheritance patterns. Eight FH phenotypes associated with mutations in the *LDLRAP1*, *PCSK9*, *APOA2*, *APOB*, *GHR*, *GSBS*, *EPHX2*, and *LDLR* genes are known, which can lead to early manifestation of the pathology. The aim of this review is to comprehensively analyze current literature data on the molecular genetics, biological, and psychological aspects of FH. Analysis of signaling pathways in FH revealed three clusters of genes and their encoded proteins responsible for the following processes: assembly, remodeling, and clearance of plasma lipoproteins (genes: *LDLR*, *LDLRAP1*, *VLDLR*, *NPC1L1*, *APOC1*, *LPA*, *CETP*, *MTTP*, *APOB*, *PCSK9*); cholesterol metabolism (gene: *PPP1R17*); regulation of plasma lipoprotein particle levels (gene: *ANGPTL3*). The proteins PCSK9, APOB, and MTTP were identified as key elements (central hubs) of these metabolic networks. The PPP1R17 protein is involved in the mechanisms of long-term depression, a form of synaptic plasticity. Furthermore, the literature describes an association of FH with five other genes: *ABCG5*, *ABCG8*, *STAP1*, *CYP7A1*, *LIPA*, and *PNPLA5*. **Conclusion.** Thus, for the early diagnosis and effective management of patients with FH, it is necessary to consider not only the expanded spectrum of associated genes and proteins but also the psychological state of patients, particularly their levels of anxiety, depression, and stress.

Keywords: familial hypercholesterolemia, associated genes, proteins, metabolic pathways, anxiety, stress, depression

Funding. The work had no financial support.

Author contributions. L.V. Tskhovrebova — conception and writing the final manuscript text; A.V. Aghajanyan — scientific proofreading, final approval of the version for publication; S.V. Kurevlev — analysis of literature, writing the manuscript;

© Tskhovrebova L.V., Aghajanyan A.V., Bekoeva D.D., Kurevlev S.V., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

D.D. Bekoeva—reviewing the manuscript. All authors have made significant contributions to the manuscript preparation, read, and approved final version before publication.

Conflicts of interest statement. The authors declare no conflicts of interest.

Ethics approval — not applicable.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 21.09.2024. Accepted 26.10.2024.

For citation: Tskhovrebova LV, Aghajanyan AV, Bekoeva DD, Kurevlev SV. Biological and psychological approach to familial hypercholesterolemia. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):454–469. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-454-469. EDN: ADMYUS

Introduction

The comprehensive study of biological, molecular-genetic, psychological, and social aspects of hereditary cardiovascular diseases (CVD) remains a critical challenge in modern theoretical and practical biology and medicine. Cardiovascular diseases are the leading cause of morbidity worldwide, surpassing all other pathologies. Among these, multifactorial or polygenic disorders, such as ischemic heart disease, atherosclerosis, arterial hypertension, and others, are the most prevalent. Both hereditary predisposition and lifestyle factors play significant roles in the development and progression of these diseases. Key lifestyle risk factors include tobacco use, unhealthy diet and obesity, physical inactivity, excessive alcohol consumption, and chronic stress [1]. Additionally, conditions such as elevated blood pressure, diabetes, and hyperlipidemia serve as major contributors to CVD. Psychological and social factors, including chronic stress, anxiety, depression, and personality types (e.g., Type A behavior pattern), disrupt neurohumoral regulation and elevate cortisol and catecholamine levels [2]. These physiological changes contribute to the development of hypertension, arrhythmias, and the progression of atherosclerosis.

In addition to numerous multifactorial cardiovascular diseases, there exist a significant number of monogenic disorders affecting the cardiovascular

system. The cause of these hereditary syndromes is the expression of a mutation in an associated gene. These inherited syndromes most commonly follow Mendelian inheritance patterns. One of the most prevalent hereditary cardiovascular pathologies is familial hypercholesterolemia (FH). The inheritance pattern can be either autosomal dominant or, less commonly, autosomal recessive.

For all index cases/probands, genetic testing is recommended to identify the disease-causing DNA variant. This enables accurate diagnosis, risk assessment, and personalized treatment strategies for patients and their families.

The autosomal dominant inheritance pattern of FH was first described by the Norwegian physician Carl Müller in 1938 [3]. In the early 1970s and 1980s, Dr. Joseph Goldstein and Dr. Michael Brown investigated the genetic cause of FH. Their research focused on the process of low-density lipoprotein (LDL) binding to its receptor and the metabolic consequences of impaired binding, which was identified as the primary mechanism underlying FH [4]. For their discovery of the LDL receptor (LDL-R) and its role in lipoprotein metabolism, they were awarded the Nobel Prize in Medicine in 1985.

The prevalence of FH in the general population is approximately 1:313 [5], highlighting its significance as a common genetic disorder requiring widespread

screening and management. If an individual has biallelic (homozygous or compound heterozygous) pathogenic variants in one of these three genes — a condition known as homozygous FH — the symptoms are more severe and appear at an earlier age [6].

In modern psychology, two primary approaches to CVD prevention are recognized globally. The first, and historically earlier approach, has become the more conventional one. It targets prevention by influencing the professional, social, and psychological factors that contribute to CVD development. This model relies on objective data regarding an individual's vocational training and education — data that can be verified through testing, examinations, or other documentation. The core premise is that these factors significantly impact the disease course and are key contributors to poor patient adherence to treatment. The second approach is termed the competency-based model. It is founded on the novel concept of “competence,” which describes a high level of professional capability in both healthcare providers and patients. Within this framework, disease prevention is linked to inherent personal factors, such as a genetic predisposition to conditions like hypercholesterolemia. These factors are more challenging to formalize and assess compared to the verifiable qualifications emphasized in the first approach.

Very recently, a targeted therapy addressing the disease's pathogenesis has been developed. Two effective strategies for reducing LDL levels have emerged:

suppressing the synthesis of lipoproteins in the liver by blocking the expression of apolipoprotein B and inhibiting the activity of the microsomal triglyceride transfer protein (MTP) [7].

According to the recommendations of the European Atherosclerosis Society, cholesterol screening should be performed for all individuals in the population before they reach the age of 20. In cases of a family history of FH or early-onset CHD, measurement of serum total cholesterol should be initiated from the age of 2 years [8].

The aim of our research is to analyze the molecular genetics and psychosocial features of FH.

Etiology and pathogenesis of familial hypercholesterolemia

HYPERCHOLESTEROLEMIA, FAMILIAL, 1; FHCL1 (OMIM # 143890 (Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders) — is a monogenic hereditary disease. Other associated clinical features include hyperbetalipoproteinemia, tuberous xanthoma, and tendon xanthoma. A mutation in one of the genes associated with FH is the underlying cause of the disease, which most often manifests at a young age. Furthermore, the mutation can be inherited in an autosomal dominant pattern or, much less frequently, in an autosomal recessive pattern. Table 1 presents the phenotypes, their associated genes, and the inheritance patterns of these syndromes.

It is known that the pathogenetic basis of the clinical manifestations of FH is atherosclerosis, which results from high concentrations of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C). In the small intestine, under the influence of bile acids and pancreatic lipase, dietary fats are emulsified and hydrolyzed. They are then packaged into chylomicrons, whose primary apolipoprotein is apoB-48. Through the action of lipoprotein lipase, which is activated by apolipoprotein C-II (apoC-II), chylomicrons are broken down into triglycerides (TG) and remnant particles. The apoC-II is then transferred back to high-density lipoprotein (HDL).

The remnant particles are taken up by the liver via receptor-mediated interaction and hydrolyzed, releasing free cholesterol. Endogenous cholesterol synthesis occurs primarily in the liver. The liver is also the main site for the receptor-mediated catabolism of LDL-C. LDL receptors located on hepatocytes remove LDL-C from the bloodstream by binding to LDL particles. The resulting complex, through interaction with the LDL receptor adapter protein (LDLRAP1), enters the cell via endocytosis and is directed to the lysosome, where the LDL particles are degraded.

The binding of PCSK9 to the LDL receptor on the hepatocyte surface promotes the degradation of the receptor, preventing its recycling back to the cell membrane [9].

Table 1

Relationship between Phenotype and Genes Associated with Familial hypercholesterolemia (OMIM data)

Nº	Phenotype	PhenotypeMIM number	Inheritance	Gene	Gene name	Aliases	GeneMIM number	Locus
1	Hypercholesterolemia, familial, 4	603813	AR	<i>LDLRAP1</i>	Low density lipoprotein receptor adaptor protein 1	<i>ARH, FHCB2, FHCB1, FHCL4</i>	605747	1p36.11
2	Low density lipoprotein cholesterol level QTL 1	603776	AD	<i>PCSK9</i>	Proprotein convertase, subtilisin/kexin-type,9	<i>NARC1, HCHOLA3, FH3, LDLCQ1, FHCL3</i>	607786	1p32.3
	Hypercholesterolemia, familial, 3							
3	Hypercholesterolemia, familial, modifier of	143810	AD, AR	<i>APOA2</i>	Apolipoprotein A-II	<i>ApoA-II</i>	107670	1q23.3
	Apolipoprotein A-II deficiency							
4	Hypercholesterolemia, familial, 2	144010	AD	<i>APOB</i>	Apolipoprotein B (including Ag(x) antigen)	<i>FLDB, LDLCQ4 FCHL2</i>	107730	2p24.1
	Hypobetalipoproteinemia	615558	AR					
5	Hypercholesterolemia, familial, modifier of	143890	AD, AR	<i>GHR</i>	Growth hormone receptor	<i>GHIP</i>	600946	5p13.1
	Growth hormone insensitivity, partial	604271	AD					
	Increased responsiveness to growth hormone	604271	AD					
	Laron dwarfism	262500	AR					
6	Hypercholesterolemia, susceptibility to	143890	AD, AR	<i>GSBS</i>	G-substrate	<i>PPP1R17</i>	604088	7p14.3
7	Hypercholesterolemia, familial, due to LDLR defect, modifier of	143890	AD, AR	<i>EPHX2</i>	Epoxide hydrolase 2, cytoplasmic	<i>ABHD20 SEH</i>	132811	8p21.2
8	Hypercholesterolemia, familial, 1	143890	AD, AR	<i>LDLR</i>	Low density lipoprotein receptor	<i>FHCL1, FHC, FH, LDLCQ2</i>	606945	19p13.2

FH is classified as a disorder of lipid metabolism. It is characterized by impaired metabolism of LDL particles, leading to elevated levels of LDL-C in the blood. This abnormal accumulation of lipids facilitates their infiltration into the arterial walls. Consequently, cholesterol plaques (atherosclerotic lesions) form, which impair blood circulation and lead to atherosclerosis. This condition, in turn, is a primary cause of myocardial infarctions and strokes.

The main causes of dyslipidemia include hormonal disorders, cholecystitis, pancreatitis, an unbalanced diet, a sedentary lifestyle, smoking, and alcohol consumption, among others. However, a hereditary factor plays a crucial role in the pathogenesis of FH. The presence of a mutation in one of the genes involved in lipoprotein metabolism results either in insufficient clearance of LDL-C from the bloodstream or in increased degradation of the LDL receptor. Individuals with FH are considered to be at high risk for developing cardiovascular complications [8–11].

FH often remains asymptomatic for many years. The most common associated pathology is the development of ischemic heart disease (atherosclerosis of the coronary arteries). Cerebral vessels can also be affected, which may lead to transient ischemic attacks or stroke. Individuals with FH are also at risk for sudden cardiac death.

In some cases, patients with FH may exhibit external signs such as xanthomas — benign, yellowish-white, doughy-consistency skin growths — and corneal arcus (a white or grayish-white ring of lipid deposits around the cornea).

The condition is characterized not only by an elevated level of total serum cholesterol, which was the first factor recognized as responsible for the initiation and progression of atherosclerosis and its complications, but also by high levels of TG, elevated levels of LDL-C, and reduced levels of HDL-C [12].

Family history is a cornerstone of FH diagnosis due to its autosomal dominant inheritance pattern. A first-degree relative (parent, sibling, or child) with known coronary artery disease (e.g., heart attack, angina) or other vascular disease (e.g., stroke, peripheral artery disease) at an early age (typically <55 years for men

and <60 years for women), with physical signs like tendon xanthomas. The patient's own history of premature atherosclerosis is a strong indicator. Documented evidence of CAD (e.g., heart attack, revascularization procedure like stent or bypass) at a young age. A physical exam can reveal visible signs of long-term, severe cholesterol elevation. Tendon Xanthomas: These are nodular, cholesterol-rich deposits in the tendons, most commonly observed in the Achilles tendons and the knuckles of the hands. They are a pathognomonic sign of FH. Arcus Cornealis: A white or grayish ring around the cornea of the eye. While it can be a normal sign of aging (arcus senilis), its appearance in a person under 45 years of age is a significant suggestive sign of FH.

The measurement of LDL-C is critical. The higher the level, the more likely the diagnosis of FH, especially in the absence of secondary causes. Levels are interpreted in the context of age and pre-treatment status. The following table illustrates how LDL-C levels are typically scored in diagnostic criteria like the DLCN: very strong evidence for Definite FH: LDL-C level >8.5 mmol/L.

The underlying cause of the clinical signs is the excessively high level of LDL-C in the blood. These lipoproteins infiltrate the artery walls, where they are engulfed by immune cells called macrophages. The macrophages, overloaded with cholesterol, become “foamy cells,” which are the primary building blocks of atherosclerotic lesions (plaques) that narrow arteries and cause cardiovascular disease [11]. By combining the findings from all these domains into a scoring system, a clinician can reach a final diagnosis: Definite FH: Typically (DLCN), presence of a pathogenic genetic mutation, or tendon xanthomas in the patient or a relative, probable FH, unlikely FH. This structured approach ensures an accurate diagnosis, which is essential for initiating aggressive treatment and conducting family screening (cascade testing).

Epidemiology of FH

The conducted meta-analysis of 44 studies, encompassing a total of 10,921,310 subjects (of which 33,036 had FH), established the pooled prevalence

of familial hypercholesterolemia at 0.32% (95% CI: 0.26–0.39%) in the general population. No significant differences were found in prevalence estimates when using genetic diagnostic methods compared to clinical ones. A critical limitation is the lack of data on FH prevalence for 178 countries (91% of the total), which underscores the necessity for further epidemiological research on a global scale [13] (Figure 1).

One of the leading risk factors for the development of cardiovascular diseases is hyperlipidemia. According to data from the ESSE-RF epidemiological study, which included 13 regions from various parts of the Russian Federation, up to 60% of men and women in the Russian population have hypercholesterolemia LDL-C level of more than 3 mmol/L or a total cholesterol (TC) level of more than 5 mmol/L. The prevalence of elevated total cholesterol levels in the Russian regions was higher than in the USA; this difference was even more pronounced for LDL-C levels, which in the Russian regions were more than twice as high as the corresponding figure in the US population [14].

Among the causes of mortality in Russia, as in most developed countries, CVD hold the leading position. CVD account for 18.8% of the overall disease structure, ranking first. Among the working-age population, CVD account for more than a third of all deaths. The mortality

rate from CVD among men exceeds that among women by 4.7 times overall, by 7.2 times for ischemic heart disease (IHD), by 9.1 times for myocardial infarction, and by 3.4 times for cerebrovascular diseases [15].

The most dangerous CVD leading to fatal outcomes are IHD, including myocardial infarction, cerebrovascular diseases, and hypertensive disease. 60% of cardiovascular mortality is attributable to risk factors: arterial hypertension, disorders of carbohydrate and lipid metabolism, obesity, smoking, excessive alcohol consumption, and low physical activity [16].

Biological aspects of FH

Characteristics Proteins Associated with FH

To date, a large number of genes associated with FH have been identified. The characteristics of a number of these genes, such as *APOA2*, *APOB*, *EPHX2*, *LDLR*, *LDLRAP1*, *GHR*, *GSBS*, *PCSK9*, are summarized in Table 1. The characteristics of the proteins associated with FH are listed below.

Apolipoprotein A-II

Apolipoprotein (apo-) A-II (*APOA2*) is the second most abundant protein of high-density lipoprotein particles. The protein is found in plasma as a monomer,

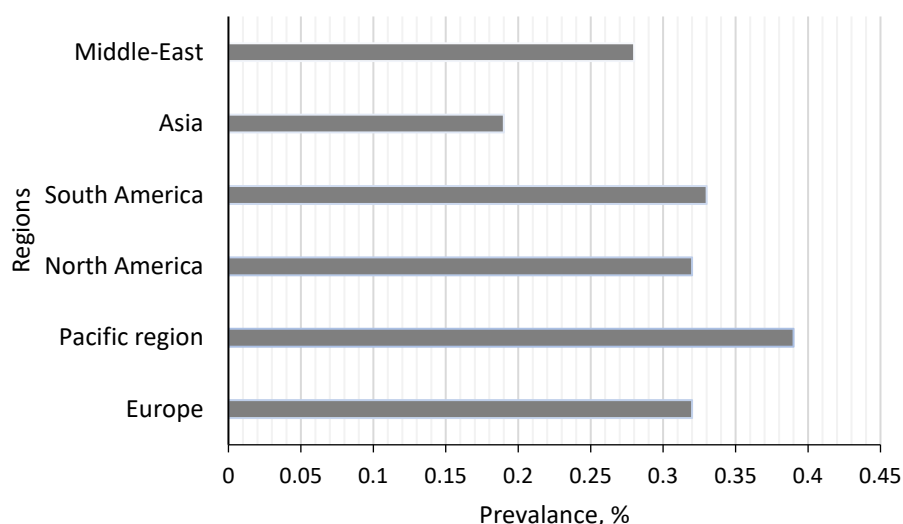


Fig. 1. FH prevalence of the different worldwide regions

homodimer, or heterodimer with apolipoprotein D. Defects in this gene can lead to a deficiency of apolipoprotein A-II or hypercholesterolemia [17].

Apolipoprotein B

It is the main apolipoprotein of chylomicrons and low-density lipoproteins (LDL) and serves as a ligand for the LDL receptor. It is found in plasma in the form of two main isoforms, apoB-48 and apoB-100: the former is synthesized exclusively in the intestine, while the latter is synthesized in the liver. The intestinal and hepatic forms of apoB are encoded by a single gene from one very long mRNA. The two isoforms share a common N-terminal sequence. Mutations in the APOB gene account for 5 to 10% of cases of familial hypercholesterolemia [18].

Epoxide Hydrolase 2

Epoxide hydrolase 2 (EPHX2) — a protein member of the epoxide hydrolase family, found in both the cytosol and peroxisomes, binds to specific epoxides and converts them into the corresponding dihydrodiols. This bifunctional enzyme has mutations in this gene associated with familial hypercholesterolemia. Alternatively spliced transcript variants have been described [19]. The C-terminal domain plays an important role in the metabolism of xenobiotics by degrading potentially toxic epoxides (by analogy). It also determines stable levels of physiological mediators.

Low density lipoprotein receptor

The low-density lipoprotein receptor (LDLR) consists of surface cell proteins involved in receptor-mediated endocytosis of specific ligands. The structure of LDLR is organized into 5 different domains, including the EGF precursor homology domain, which plays a key role in the release of lipoproteins and the recycling of receptors. The encoded protein is typically associated with the cell membrane, where it binds low-density lipoproteins/cholesterol and transports them into cells via endocytosis, entering the cell [20]. The LDL-R is a mosaic protein consisting of 839 amino acids. The most common genetic cause of FH is a mutation in the LDL-R gene *LDLR* which is primarily located

on the surface of hepatocytes and plays a key role in binding and clearing circulating LDL particles from the bloodstream [21].

Low Density Lipoprotein Receptor Adaptor Protein 1

Low Density Lipoprotein Receptor Adaptor Protein 1 (LDLRAP1) in humans is encoded by the *LDLRAP1* gene. The protein encoded by this gene is a cytosolic protein that contains a phosphotyrosine-binding (PTB) domain. The PTB domain has been found to interact with the cytoplasmic tail of the LDL-R [22]. Mutations in this gene lead to dysfunction of the LDL-R protein and cause autosomal recessive hypercholesterolemia [23].

Growth hormone receptor

Human Growth hormone receptor (GHR Protein (RP 00251)) is a transmembrane receptor for growth hormone. This receptor is integrated into the outer membrane of cells throughout the body and is most abundant in liver cells. The growth hormone receptor consists of three main parts: an extracellular region that protrudes from the cell surface, a transmembrane region that anchors the receptor to the cell membrane, and an intracellular region that transmits signals inside the cell [24]. The binding of growth hormone triggers signaling through the intracellular region of the receptor, which stimulates cell growth and division.

Protein Phosphatase 1 Regulatory Subunit 17

Protein phosphatase 1 regulatory subunit 17 is primarily found in Purkinje cells of the cerebellum, where it functions as an inhibitor of protein phosphatase. The encoded protein is a substrate for cyclic GMP-dependent protein kinase. An allele of this gene has been found that increases susceptibility to hypercholesterolemia. Two transcript variants encoding different isoforms have been identified for this gene [25].

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9

Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) is expressed in the tissues of the liver, intestine, and kidneys and accompanies specific receptors for lysosomal degradation [26]. It plays a role in cholesterol

and fatty acid metabolism. Mutations that increase the functional activity of *PCSK9* with a recessive inheritance pattern led to accelerated degradation of LDL-R, resulting in a reduced number of receptors on the cell surface and impaired capture of LDL [27]. Mutations in the *PCSK9* gene occur in less than 5% of cases of FH [28]. Alternative splicing results in the appearance of multiple transcript variants.

Signaling Pathways in FH

Figure 2 presents a diagram of signaling pathways in FH, constructed using the program [http:// string-db.org](http://string-db.org). The analysis revealed three main clusters of genes and proteins, whose brief characteristics are provided in Table 2.

The first cluster combines 10 proteins key to the processes of plasma lipoprotein assembly, remodeling, and clearance. These include the products of the *LDLR*, *LDLRAP1*, *VLDLR*, *NPC1L1*, *APOC1*, *LPA*, *CETP*,

MTTP, *APOB*, and *PCSK9* genes. It should be noted that four of these (*LDLR*, *LDLRAP1*, *APOB*, *PCSK9*) were characterized earlier in Table 1. The second cluster includes the protein PPP1R17, which is involved in cholesterol metabolism. The third cluster is represented by the protein ANGPTL3, which plays a role in regulating the level of plasma lipoprotein particles.

More detailed information on the functions of the proteins involved in the metabolic pathways in FH is summarized in Table 3. The proteins *LDLR*, *LDLRAP1*, *APOB*, and *PCSK9*, as mentioned above, are not duplicated in this table since their description was provided previously.

Figure 2 demonstrates that the protein PPP1R17 of the second cluster interacts with proteins of the first cluster via three key players: *PCSK9*, *MTTP*, and *APOB*. PPP1R17, which is primarily expressed in cerebellar Purkinje cells, functions as a protein phosphatase inhibitor and is a substrate for cGMP-dependent protein kinase. It is also actively involved in long-term

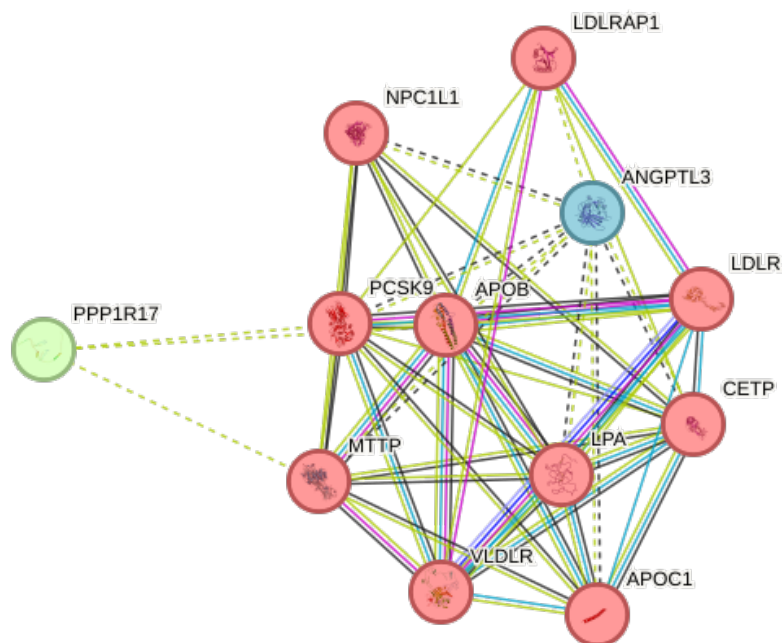


Fig. 2. Signaling pathways of FH. Three clusters: 1. Plasma lipoprotein assembly, remodeling, and clearance (in red); 2. Cholesterol metabolism (in green); 3. Regulation of plasma lipoprotein particle levels (in blue)

Table 2

Characteristics of genes involved in signaling pathways in FH					
Cluster	Name/Gene ID	Description	Gene location	Aliases	MIM
1	<i>LDLRID: 3949</i>	low density lipoprotein receptor	16q13	<i>FH, FHC, FHCL1, LDLCQ2</i>	606945
	<i>LDLRAP1ID: 26119</i>	low density lipoprotein receptor adaptor protein 1	1p36.11	<i>ARH, ARH1, ARH2, FHCB1, FHCB2, FHCL4</i>	605747
	<i>VLDLRID: 7436</i>	very low density lipoprotein receptor	9p24.2	<i>CAMRQ1, CARMQ1, CHRMQ1, VLDL-RCH, VLDLR</i>	192977
	<i>NPC1L1ID: 29881</i>	NPC1 like intracellular cholesterol transporter 1	7p13	<i>LDLCQ7, NPC11L1, SLC65A2</i>	608010
	<i>APOC1ID: 341</i>	apolipoprotein C1	19q13.32	<i>APOC1B, Apo-CI, ApoC-I, apo-CIB, apoC-IB</i>	107710
	<i>LPAID: 4018</i>	lipoprotein(a)	6q25.3-q26	<i>AK38, APOA, LP</i>	152200
	<i>CETPID: 1071</i>	cholesteryl ester transfer protein	16q13	<i>BPIFF, HDLCQ10</i>	118470
	<i>MTTPID: 4547</i>	microsomal triglyceride transfer protein	4q23	<i>ABL, MTP</i>	157147
	<i>APOBID: 338</i>	apolipoprotein B	2p24.1	<i>FCHL2, FLDB, LDLCQ4, apoB-100, apoB-48</i>	107730
	<i>PCSK9ID: 255738</i>	proprotein convertase subtilisin/ kexin type 9	1p32.3	<i>FH3, FHCL3, HCHOLA3, LDLCQ1, NARC-1, NARC1, PC9</i>	607786
2	<i>PPP1R17ID: 10842</i>	protein phosphatase 1 regulatory subunit 17	7p14.3	<i>C7orf16, GSBS</i>	604088
3	<i>ANGPTL3ID: 27329</i>	angiopoietin like 3	1p31.3	<i>ANG-5, ANGPT5, ANL3, FHBL2</i>	604774

Table 3

Characteristics of Protein Clusters Involved in Metabolic Pathways in FH		
Cluster	Proteins	Characteristics
1. Plasma lipoprotein assembly, remodeling, and clearance	LDLR	described earlier in part 1
	LDLRAP1	described earlier in part 1
	VLDLR	The Very Low-Density Lipoprotein Receptor (VLDLR) is primarily responsible for binding and internalizing VLDL particles via clathrin-mediated endocytosis, facilitating their cellular uptake. Beyond its role in lipid metabolism, the VLDLR also functions in neuronal signaling. It acts as a receptor for Reelin, and upon binding, it induces tyrosine phosphorylation of the adaptor protein Dab1, which modulates Tau protein phosphorylation and influences neuronal migration (By similarity).
	APOC1	Truncated apolipoprotein C-I (apoC-I) is a multifunctional inhibitor of lipid metabolism. It primarily functions by blocking the binding of lipoproteins to several receptors, including the low-density lipoprotein (LDL) receptor, the LDL receptor-related protein, and the very low-density lipoprotein (VLDL) receptor. This protein is found associated with both high-density lipoproteins (HDL) and triacylglycerol-rich lipoproteins in the plasma, constituting approximately 10% of VLDL protein and 2% of HDL protein. A key regulatory role of apoC-I is its function as the major plasma inhibitor of cholesteryl ester transfer protein (CETP). Furthermore, it directly interferes with cellular fatty acid uptake by binding free fatty acids, thereby reducing their intracellular esterification.
	NPC1L1	The NPC1-like intracellular cholesterol transporter 1 (NPC1L1) is a key player in maintaining cholesterol homeostasis. It is critically important for the absorption of dietary cholesterol, facilitating its uptake across the plasma membrane of intestinal enterocytes. This protein is of direct clinical significance as it is the molecular target of the drug ezetimibe, which inhibits cholesterol absorption by blocking NPC1L1. Dysfunction of NPC1L1 results in multiple lipid transport abnormalities. Beyond its primary role in cholesterol uptake, NPC1L1 appears to have a broader function in the transport and homeostasis of multiple lipids, potentially playing a critical role in regulating overall lipid metabolism. It also acts as a negative regulator of the NPC2 protein, inhibiting its expression and secretion.

Ending Table 3

Cluster	Proteins	Characteristics
1. Plasma lipoprotein assembly, remodeling, and clearance	LPA	Apolipoprotein(a) (Apo(a)) is the defining protein component of Lipoprotein(a) (Lp(a)). It exhibits serine protease activity and is capable of autolysis. A key pathophysiological function of Apo(a) is its inhibition of tissue-type plasminogen activator 1 (tPA), linking Lp(a) to both atherosclerosis and impaired fibrinolysis. Furthermore, Lp(a) may act as a ligand for the megalin/gp330 receptor. Apo(a) belongs to the plasminogen subfamily within the peptidase S1 family.
	CETP	Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP) is an enzyme that swaps fats between different cholesterol-carrying particles in the blood. It moves cholesteryl esters from “good” HDL cholesterol to “bad” VLDL cholesterol, and triglycerides in the opposite direction. This process is essential for reverse cholesterol transport, which helps clear excess cholesterol from the body. CETP is part of the BPI/LBP/Plunc protein superfamily.
	MTTP	The Microsomal Triglyceride Transfer Protein (MTTP) large subunit is critical for the production of lipoproteins containing apolipoprotein B (e.g., VLDL). It enables this by catalyzing the transport of lipids (triglycerides, cholesteryl esters, phospholipids) necessary for the particle's formation. Without functional MTTP, these lipoproteins cannot be secreted.
	APOB	described earlier in part
	PCSK9	described earlier in part 1
2. Cholesterol metabolism	PPP1R17	The Protein Phosphatase 1 Regulatory Subunit 17 (PPP1R17) functions as an inhibitor, suppressing the phosphatase activities of both protein phosphatase 1 (PP1) and protein phosphatase 2A (PP2A) complexes.
3. Regulation of plasma lipoprotein particle levels	ANGPTL3	Angiopoietin-related protein 3 (ANGPTL3) is a hepatokine that regulates lipid and glucose metabolism. A key function is to elevate plasma triglyceride (TG) levels by inhibiting the activity of lipoprotein lipase (LPL), the enzyme responsible for TG clearance. This inhibition occurs indirectly; ANGPTL3 recruits proprotein convertases PCSK6 and FURIN to LPL, leading to its cleavage and inactivation. It is also proposed to direct energy substrates to storage or oxidative tissues in response to feeding (By similarity).

depression (LTD), a form of synaptic plasticity. This interaction network suggests a potential, visually apparent link between disruptions in lipid metabolism and neurological processes like depression.

The third cluster includes the protein ANGPTL3, which shows extensive interactions with multiple proteins of the first cluster: LDLRAP1, NPC1L1, PCSK9, APOB, MTTP, LPA, APOC1, and CETP. This protein, a member of the angiopoietin-like family, is predominantly expressed in the liver and functions as a hepatokine regulating lipid and glucose metabolism. It inhibits endothelial lipase, leading to elevated plasma levels of HDL-cholesterol and phospholipids, and promotes lipolysis in adipocytes. Notably, ANGPTL3 contributes to lower plasma LDL-cholesterol levels through a pathway independent of APOE and LDLR. Mutations in its gene are associated with familial hypobetalipoproteinemia type

In conclusion, the proteins PCSK9, APOB, and MTTP can be identified as central hubs within these metabolic networks. They exhibit a high degree of connectivity within the first cluster and also serve as

critical interaction points for the regulatory proteins of the second (PPP1R17) and third (ANGPTL3) clusters, thereby positioning them as key integrators of regulatory influences on the core metabolic pathways.

Other genes and proteins associated with FH

Other genes associated with FH have been described in the literature. These include *ABCG5*, *ABCG8*, *STAP1*, *CYP7A1*, *LIPA* and *PNPLA5*. A brief description of these genes is provided in Table 4.

The characteristics of other FH-related proteins are presented below.

ATP binding cassette subfamily G member 5 and member 8

The ABC transporter superfamily includes proteins that participate in the transport of various molecules across cellular membranes. ATP binding cassette subfamily G member 5 and member 8 (*ABCG5* and *ABCG8*) consist of a magnesium-dependent ATP-binding domain at the N-terminus (containing the conserved peptide motifs Walker A and B) and a transmembrane domain that includes six trans-

Table 4

Description of other genes associated with FH

Name/Gene ID	Description	Gene location	Aliases	MIM
<i>ABCG5ID: 64240</i>	ATP Binding Cassette Subfamily G Member 5	2p21	<i>STSL; STSL2</i>	605459
<i>ABCG8ID: 64241</i>	ATP Binding Cassette Subfamily G Member 8	2p21	<i>GBD4; STSL; STSL1</i>	605460
<i>STAP1ID: 26228</i>	Signal Transducing Adaptor Family Member 1	4q13.2	<i>BRDG1; STAP-1</i>	604298
<i>CYP7A1ID: 1581</i>	Cytochrome P450 Family 7 Subfamily A Member 1	8q12.1	<i>CP7A; CYP7; CYPVII</i>	118455
<i>LIPAID: 3988</i>	Lipase A, Lysosomal Acid Type	10q23.31	<i>LAL; CESD</i>	613497
<i>PNPLA5ID: 150379</i>	Patatin Like Phospholipase Domain Containing 5	22q13.31	<i>GS2L; dJ388M5; dJ388M5.4</i>	611589

membrane helices. The protein encoded by this gene functions to prevent the entry of non-cholesterol sterols at the intestinal level, promote the excretion of cholesterol and sterols into bile, and facilitate the transport of sterols back into the intestinal lumen. It is expressed in a tissue-specific manner in the liver, intestine, and gallbladder [29].

Signal Transducing Adaptor Family Member 1

Signal Transducing Adaptor Family Member 1 (STAP1) protein, depending on alternative splicing of mRNA, consists of either 295 or 314 amino acid residues (aa) and contains several phosphorylation sites and an N-terminal proline-rich region (Pro6–Pro11). STAP1 is involved in the anti-inflammatory activation of glia and thus may contribute to apoptosis and neurodegeneration. [30]. Rare variants of CHCS can be caused by mutations in the STAP1 gene [31]. The protein encoded by this gene contains a proline-rich region. This protein is a substrate for the tyrosine-protein kinase Tec, and its interaction with the tyrosine-protein kinase Tec depends on phosphorylation. Variants of this gene are associated with autosomal dominant hypercholesterolemia (ADH) [32]. Alternative splicing results in the emergence of multiple transcript variants.

Subfamily A, family 7 of cytochrome P450

Subfamily A, family 7 of cytochrome P450 (CYP7A1) is synthesized in liver cells and functions as cholesterol 7- α monooxygenase. This endoplasmic reticulum membrane protein catalyzes the first step of the main metabolic pathway of cholesterol in the human body: the conversion of cholesterol into bile

acids by attaching a hydroxyl group at position 7- α [33]. This reaction is the primary mechanism for removing cholesterol from the body [34].

Patatin Like Phospholipase Domain Containing 5 P

Patatin Like Phospholipase Domain Containing 5 (PNLA5) patatin-like phospholipase inhibits transacylation. PNPLA5 expression is found in the brain, skin, and gallbladder, while moderate expression has been recorded in the liver [35] and adipose tissue [36]. The protein is found in the cytoplasm and is typically located on the surface of lipid droplets, which are conserved organelles composed of lipids in the form of triacylglycerols and sterol esters, enclosed in a monolayer membrane [37]. The lipids found in these droplets likely serve as an energy depot for the cell and precursors for membranes for autophagosomes. Rare variants of SGHCS may be caused by mutations in the *PNPLA5* gene.

Psychological aspects of FH

It is currently known that psychological factors influence the clinical course of CVD [38]. Potential psychological risk factors for the development of cardiovascular diseases can be divided into three groups. The first consists of negative affective states, including depression, anxiety, stress, and anger; the second includes types of behavior and personality; the third involves social factors, including socio-economic status and social support. Anxiety and depression rank third among the leading risk factors for the development of IHD. Depression in young patients is associated with a double risk, while anxiety is linked to an earlier onset

of myocardial infarction. The relationship between anxiety and hypertension is better understood today. Increased anxiety is an important risk factor for the development of cardiovascular diseases.

However, recent studies present evidence that in ischemic heart disease, anxiety may increase the risk of serious cardiac events and mortality. Genetic variants in the serotonin system are associated with depression and cardiovascular diseases [39]. Loci associated with an increased risk of depression are also linked to an increased risk of ischemic heart disease and elevated levels of total cholesterol, low-density lipoproteins, and C-reactive protein. Six loci of the genes *CD83*, *CX3CR1*, *STAT4*, *COL1A2*, and *SH2D1B* are associated with both mental disorders and IHD [40]. Prolonged exposure to stress can contribute to elevated cholesterol levels and increase the risk of cardiovascular diseases and predisposition to ischemic heart disease. A number of studies have shown that depression is often associated with endothelial dysfunction, chronic inflammatory processes in the vessel walls, and the effect of blood thickening. These factors play a significant role in the development of atherosclerosis, which, in turn, worsens the prognosis of cardiovascular diseases [41]. According to WHO assessments, depression ranks second among the ten leading diseases causing disability (after ischemic heart disease). The prevalence of depression is approximately 50% higher among women than among men [42].

Numerous studies in recent decades have shown a widespread prevalence of depression among patients with various cardiovascular diseases, such as unstable angina, acute myocardial infarction, and congestive heart failure [43, 44]. Those who have recently suffered an acute myocardial infarction are at increased risk of developing depression and mental disorders [45].

The pathophysiological mechanism of stress, like that of other psychological factors, includes an increase in blood pressure, neurohumoral excitation, and hormonal shifts [46]. Physiological responses to stress play a fundamental role in the risk of cardiovascular diseases. Corticolimbic areas of the brain are involved in regulation. Differences in regulatory pathways explain individual differences in relation to stress. In clinical practice and prevention, the psychological assessment

of real-life situations that lead to stress remains insufficiently acknowledged [47]. In the modern world, a person is constantly exposed to stress. Stress and anxiety can lead to elevated cholesterol levels, while low cholesterol levels, on the contrary, may contribute to the development of depression and anxiety disorders, as cholesterol is involved in the synthesis of serotonin, the ‘happiness hormone.’

The results of epidemiological studies in the regions of the Russian Federation show that anxiety and depressive states in cardiovascular pathology contribute to an increased frequency of complications. Numerous studies indicate that depression, anxiety, personality traits, social support, and stress significantly influence the onset, course, and prognosis of cardiovascular diseases [48, 49]. In some clinical guidelines, stress is already recognized as a preventive measure for people at high overall risk of cardiovascular diseases or with documented cardiovascular conditions. Stress in adulthood plays an important role as a trigger for disease in individuals who already have a significant number of atherosclerotic plaques and as a factor determining prognosis and outcomes in those who already have cardiovascular or cerebrovascular diseases [50, 51].

The Mendelian randomization study showed that depression may have a genetic predisposition and can influence cardiovascular diseases, such as myocardial infarction. Additionally, smoking and lipid levels may be causes of depression [52]. These data were also confirmed by the largest genome-wide association studies (GWAS) or meta-analyses of depression GWAS. The genetic correlation between depressive symptoms and blood lipid levels ranged from 10% to 31% [53].

Conclusion

Thus, when discussing the biological features of FH, it should be noted that to date, 8 genes (*LDLRAP1*, *PCSK9*, *APOA2*, *APOB*, *GHR*, *GSBS*, *EPHX2*, *LDLR*) have been identified that are closely associated with this hereditary disease and the phenotypes listed in Table 1.

Analysis of signaling pathways in FH has led to the identification of three clusters of genes and their encoded proteins. The involvement of the second cluster

protein, PPP1R17, in the mechanisms of long-term depression (LTD)—a form of synaptic plasticity — points to a potential, visually traceable link between lipid metabolism disorders and neurological processes such as depression.

The third cluster protein, ANGPTL3, a member of the angiopoietin-like protein family, is predominantly expressed in the liver and acts as a hepatokine, regulating lipid and glucose metabolism. Notably, ANGPTL3 contributes to lowering plasma LDL-C levels through a pathway independent of APOE and LDLR. Mutations in its gene are associated with familial hypobetalipoproteinemia. The proteins PCSK9, APOB, and MTP can be defined as central hubs of these metabolic networks. They serve as critically important interaction points for the regulatory proteins of the second (PPP1R17) and third (ANGPTL3) clusters, allowing them to integrate regulatory influences on core metabolic pathways.

Regarding psychological aspects, patients with FH, as with other CVDs, most frequently exhibit stress, depression, and anxiety. These conditions are often accompanied by social maladjustment.

Therefore, for the early diagnosis of individuals at risk of developing hypercholesterolemia, it is crucial to investigate a broader spectrum of genes and mandatory to consider the psychological characteristics of patients.

References / Список литературы

- Pereira C, Vogelaere P. Application of cluster analysis in prevention of coronary heart disease. *Rev Port Cardiol*. 2005;24(3):381–394.
- Orth-Gomér K. Psychosocial and behavioral aspects of cardiovascular disease prevention in men and women. *Curr Opin Psychiatry*. 2007;20(2):147–151. doi: 10.1097/YCO.0b013e32802b705e
- Malishev SA, Litvinov AV. Discovery of familial hypercholesterolemia (on the 25th anniversary of the awarding of the Nobel Prize to M.S. Brown and J. Goldstein “for the discovery concerning the regulation of cholesterol metabolism”). *Vestnik Smolensoy meditsinsoy akademii*. 2010; 171–173 (In Russian.) [Малышев С.А., Литвинов А.В. Открытие семейной гиперхолестеринемии (к 25-летию присвоения Нобелевской премии М.С. Брауну и Дж. Голдстейну “за открытие, касающееся регуляции обмена холестерина”) // Вестник Смоленской медицинской академии. 2010. С. 171–173.]
- Pshennova VS. Familial Hypercholesterolemia. *Rossiskiy meditsinskiy jurnal*. 2016; 22(5):272–276. (In Russian) [Пшеннова В.С. Семейная гиперхолестеринемия // Российский медицинский журнал. 2016. Т. 22, вып. 5. С. 272–276.]
- Beheshti SO, Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Worldwide prevalence of familial hypercholesterolemia: meta-analyses of 11 million subjects. *J Am Coll Cardiol*. 2020;75: 2553–2566. doi: 10.1016/j.jacc.2020.03.057
- Ferranti SD, Steinberger J, Ameduri R, Baker A, Gooding H, Kelly AS et al. Cardiovascular risk reduction in high-risk pediatric patients: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2019;139:603–634. doi: 10.1161/CIR.0000000000000618
- Cuchel M, Rader DJ. Microsomal transfer protein inhibition in humans. *Curr Opin Lipidol*. 2013;24(3):46–50. doi: 10.1097/MOL.0b013e32836139df
- Harada-Shiba M, Arai H, Ohmura H, Okazaki H, Sugiyama D, Tada H et al. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Adult Familial Hypercholesterolemia 2022. *J Atheroscler Thromb*. 2023;30(5):558–586. doi: 10.5551/jat.CR005
- Ezhov MV, Bazhan SS, Ershova AI, Meshkov AN, Sokolov AA, Kuharchuk VV et al. Klinicheskie rekomendacii po semeinoj giperholesterinemii. *Ateroskleroz*. 2019;15(1):58–98 (In Russian). [Ежов М.В., Бажан С.С., Ершова А.И., Мешков А.Н., Соколов А.А., Кухарчук В.В. и др. Клинические рекомендации по семейной гиперхолестеринемии. Атеросклероз. 2019. Т. 15, вып. 1. С. 58–98.]
- Feldman DI, Blaha MJ, Santos RD, Jones SR, Blumenthal RS, Toth PP et al. Recommendations for the management of patients with familial hypercholesterolemia. *Curr Atheroscler Rep*. 2015;17(1):473. doi: 10.1007/s11883-014-0473-6
- Zubieliene K, Valteryte G, Jonaitiene N, Žaliaduonyte, D.; Zabiela V. Familial Hypercholesterolemia and Its Current Diagnostics and Treatment Possibilities: A Literature Analysis. *Medicina*. 2022;58:1665. doi:10.3390/medicina58111665
- Alonso R, Argüeso R, Álvarez-Baños P, Muñiz-Grijalvo O, Diaz-Diaz JL, Mata P. Familial Hypercholesterolemia and Lipoprotein(a): Two Partners in Crime? *Current Atherosclerosis Rep*. 2022;24(6):427–434. doi: 10.1007/s11883-022-01019-5
- Metelskaya VA, Shalnova SA, Deev AD, Perova NV, Gomyranova NV, Litinskaya OA et al. An analysis of the prevalence of indicators characterizing the atherogenicity of the lipoprotein spectrum in residents of the Russian Federation (according to the ESSE-RF study). *Prophylactic medicine*. 2016;19(1):15–23. (In Russian.) [Метельская В.А., Шальнова С.А., Деев А.Д., Перова Н.В., Гомыранова Н.В., Литинская О.А. и др. Анализ распространенности показателей, характеризующих атерогенность спектра липопротеинов, у жителей Российской Федерации (по данным исследования ЭССЕ-РФ) // Профилактическая медицина. 2016. Т. 19, вып. 1. С. 15–23.]
- Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364(9438):937–952. doi: 10.1016/S0140-6736(04) 17018-9
- Shalnova SA, Conradi AO, Karpov YuA, Kontsevaya AV, Deyev AD, Kapustina AV et al. Analysis of mortality from cardiovascular disease in 12 regions of the Russian Federation, participating in the study “Epidemiology of cardiovascular disease in different regions of Russia”. *Russian Journal of Cardiology*. 2012;5:6–11. (In Russian.) [Шальнова С.А., Конради А.О., Карпов Ю.А., Концевая А.В., Деев А.Д., Капустина А.В. и др. Анализ смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в 12 регионах Российской Федерации, участвующих в исследовании “Эпидемиология Сердечно-сосудистые заболевания в разных регионах России” // Российский кардиологический журнал. 2012. Т. 5. С. 6–11.]
- Al-Allaf FA, Athar M, Abduljaleel Z, Taher MM, Khan W, Bahammam FA et al. Next generation sequencing to identify novel genetic variants causative of autosomal dominant familial hypercholesterolemia associated with increased risk of coronary heart disease. *Gene*. 2015;565(1):76–84. doi: 10.1016/j.gene.2015.03.064
- Chlebus K, Żarczyńska-Buchowiecka M, Pajkowski M, Chmara M, Tromp TR, Gruchała M. Homozygous familial hypercholesterolemia due to APOB genetic variant with unusual clinical course. *Kardiol Pol*. 2021;79(9):1030–1031. doi: 10.33963/KP.a2021.0034
- Han Y, Zhang L, Tao H, Wu J, Zhai J. Genetic analysis and management of a familial hypercholesterolemia pedigree with polygenic variants. *Case report. Medicine (Baltimore)*. 2023;102(32): 34534. doi: 10.1097/MD.00000000000034534
- Meshkov A, Ershova A, Kiseleva A, Zotova E, Sotnikova E, Petukhova A et al. The LDLR, APOB, and PCSK9 variants of index patients with familial

- hypercholesterolemia in Russia. *Genes (Basel)*. 2021;12(1):66. doi: 10.3390/genes12010066
20. Chora JR, Iacocca MA, Tichý L, Wand H, Kurtz CL, Zimmermann H et al. ClinGen Familial Hypercholesterolemia Expert Panel. The Clinical Genome Resource (ClinGen) Familial Hypercholesterolemia Variant Curation Expert Panel consensus guidelines for LDLR variant classification. *Genet Med*. 2022;24(2):293–306. doi: 10.1016/j.gim.2021.09.012
 21. Iacocca MA, Hegele RA. Recent advances in genetic testing for familial hypercholesterolemia. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2017;17:641–651. doi: 10.1080/14737159.2017.1332997
 22. Wilund KR, Yi M, Campagna. Molecular mechanisms of autosomal recessive hypercholesterolemia. *Hum. Mol. Genet.* 2003;11(24):3019–3030. doi:10.1093/hmg/11.24.3019
 23. Takada D, Ezura Y, Ono S, Iino Y, Katayama Y, Xin Y et al. Growth hormone receptor variant (L526I) modifies plasma HDL cholesterol phenotype in familial hypercholesterolemia: intra-familial association study in an eight-generation hyperlipidemic kindred. *Am J Med Genet A*. 2003;121A(2):136–140. doi: 10.1002/ajmg.a.20172
 24. Ono S, Ezura Y, Emi M, Fujita Y, Takada D, Sato K et al. A promoter SNP (–1323T>C) G-substrate gene (GSBS) correlates with hypercholesterolemia. *Journal of Human Genetics*. 2003;48(9):447–450. doi: 10.1007/s10038–003–0055-x
 25. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH Jr, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2006;354(12):1264–1272. doi: 10.1056/NEJMoa054013
 26. Dullaart RPF. PCSK9 Inhibition to Reduce Cardiovascular Events. *N Engl J Med*. 2017;376(18):1790–1791. doi: 10.1056/NEJMe1703138
 27. Mabuchi H, Nohara A, Noguchi T, Kobayashi J, Kawashiri MA, Inoue T et al. Genotypic and phenotypic features in homozygous familial hypercholesterolemia caused by proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) gain-of-function mutations. *Atherosclerosis*. 2014;236(1):54–61. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.06.005
 28. Renner O., Lütjohann D. Role of the ABCG8 19H risk allele in cholesterol absorption and gallstone disease. *BMC Gastroenterol*. 2013;13:30. doi: 10.1186/1471–230X-13–30
 29. Stoecker K., Weigelt K. Induction of STAP-1 promotes neurotoxic activation of microglia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009;379:121–126. doi: 10.1016/j.bbrc.2008.12.021
 30. Masuhara M., Nagao K., Nishikawa M., Sasaki M., Yoshimura A., Osawa M. Molecular cloning of murine STAP-1, the stem-cell-specific adaptor protein containing PH and SH2 domains. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000;268:697–703. doi: 10.1006/bbrc.2000.2223
 31. Brønne I, Kleihecke M, Reiz B, Graf E, Strom T, Wieland T et al. Systematic analysis of variants related to familial hypercholesterolemia in families with premature myocardial infarction. *Eur. J. Hum. Genet.* 2016;24:191–197. doi: 10.1038/ejhg.2015.100
 32. Qayyum F., Lauridsen B.K., Frikke-Schmidt R., Kofoed K.F., Nordestgaard B.G., Tybjaerg-Hansen A. Genetic variants in CYP7A1 and risk of myocardial infarction and symptomatic gallstone disease. *Eur. Heart J*. 2018;39:2106–2116. doi: 10.1093/eurheartj/ehy068
 33. Vlachová M, Blahová T, Lánská V, Leníček M, Piřha J, Vítek L et al. Diurnal variation in cholesterol 7 α -hydroxylase activity is determined by the –203A>C polymorphism of the CYP7A1 gene. *Croat. Med. J*. 2016;57:111–117. doi: 10.3325/cmj.2016.57.111
 34. Wilson PA, Gardner SD, Lambie NM, Commans SA, Crowther DJ. Characterization of the human patatin-like phospholipase family. *J. Lipid Res*. 2006;47:1940–1949. doi: 10.1194/jlr.M600185-JLR200
 35. Lake AC, Sun Y, Li JL, Kim JE, Johnson JW, Li D et al. Expression, regulation, and triglyceride hydrolase activity of adiponutrin family members. *J. Lipid Res*. 2005;46:2477–2487. doi: 10.1194/jlr.M500290-JLR200
 36. Murugesan S., Goldberg EB, Dou E, Brown WJ. Identification of diverse lipid droplet targeting motifs in the PNPLA family of triglyceride lipases. *PLoS ONE*. 2013;8:64950. doi: 10.1371/journal.pone.0064950
 37. Grace SL, Abbey SE, Irvine J, Shnek ZM, Stewart DE. Prospective examination of anxiety persistence and its relationship to cardiac symptoms and recurrent cardiac events. *Psychother Psychosom*. 2004;73(6):344–52. doi: 10.1159/000080387
 38. Rutledge T. Comorbid depression and anxiety symptoms as predictors of cardiovascular event. *Psychosomatic Med*. 2009;71:958–964. doi: 10.1097/PSY.0b013e3181bd6062
 39. McCaffery JM, Frasure-Smith N, Dubé MP, Thérioux P, Rouleau GA, Duan Q et al. Common genetic vulnerability to depressive symptoms and coronary artery disease: a review and development of candidate genes related to inflammation and serotonin. *Psychosom Med*. 2006;68(2):187–200. doi: 10.1097/01.psy.0000208630.79271.a0
 40. Torgersen K, Rahman Z, Bahrami S, Hindley GFL, Parker N, Frei O et al. Shared genetic loci between depression and cardiometabolic traits. *PLoS Genet*. 2022;18(5): 1010161. doi.org/10.1371/journal.pgen.1010161
 41. Contrada RJ. Psychological factors in heart surgery. *Health Psychology*. 2008;27(3):309–19. doi: 10.1037/0278–6133.27.3.309.
 42. Halilova UA, Skvortsov VV, Skvortsov KY. Depressive disorders in cardiac patients. *Meditsinskaya sestra*. 2017;7:10–21 (In Russian.) [Халилова У.А., Скворцов В.В., Скворцов К.Ю. Депрессивные расстройства у кардиологических больных//Медицинская сестра. 2017. Т. 7. С. 19–21.]
 43. Lichtman JH, Froelicher ES, Blumental JA, Carney RM, Doering LV, Frasure-Smith N et al. Depression as a risk factor for mortality after coronary artery bypass surgery. A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2014;129:1350–1369. doi:10.1161/CIR.0000000000000019
 44. Carney RM, Rich MW, Freedland KE, Saini J, Velde A, Simeone C et al. Major depressive disorder predicts cardiac events in patients with coronary artery disease. *Psychosom Med*. 1988;50(6):627–633. doi: 10.1097/00006842-198811000-00009
 45. Robert M. Depression the autonomic nervous system and coronary heart disease. *Psychosomatic Med*. 2005;67(1):29–33. doi.org/10.1097/01.psy.0000162254.61556.d5
 46. Vaccarino V, Bremner JD. Stress and cardiovascular disease: an update. *Nat Rev Cardiol*. 2024;21:603–616. doi.org/10.1038/s41569-024-01024-y
 47. Kivimäki M, Steptoe A. Effects of stress on the development and progression of cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*. 2018;15:215–229. doi.org/10.1038/nrcardio.2017.189
 48. Williams RB, Barefoot JC, Califf RM, Haney TL, Saunders WB, Pryor DB et al. Prognostic importance of social and economic resources among medically treated patients with angiographically documented coronary artery disease. *JAMA*. 1992;267:520–524.
 49. Shal’nova SA, Evstifeeva SE, Deev AD. Prevalence of anxiety and depression in different regions of the Russian Federation and its association with socio-demographic factors. *Terapevticheskij arhiv*. 2014;86(12):60–63. (in Russian) [Шальнова С.А., Евстифеева С.Е., Деев А.Д. Распространенность тревоги и депрессии в различных регионах Российской Федерации и ее ассоциации с социально-демографическими факторами//Терапевтический архив. 2014. Т. 86, вып.12. С. 60–63].
 50. Teryaeva N.B. Stress: the metabolic basis of adaptation and pathology of the cardiovascular system. *Kreativnaya kardiologia*. 2008;1:24–30. (In Russian.) [Теряева Н.Б. Стресс: метаболические основы адаптации и патология сердечно-сосудистой системы//Креативная кардиология. 2008. Т. 1. С. 24–30]
 51. Dmitrieva TB. Clinical psychiatry. *M. Geotar-Med*. 1999;602p. (In Russian.) [Дмитриева Т.Б. Клиническая психиатрия //М: ГЕОТАР-МЕД. 1999. 602с.]
 52. Li GH, Cheung CL, Chung AK, Cheung BM, Wong IC, Fok MLY et al. Evaluation of bi-directional causal association between depression and cardiovascular diseases: a Mendelian randomization study. *Psychol Med*. 2022;52(9):1765–1776. doi: 10.1017/S0033291720003566
 53. Amare AT, Schubert KO, Klingler-Hoffmann M, Cohen-Woods S, Baune BT. The genetic overlap between mood disorders and cardiometabolic diseases: a systematic review of genome wide and candidate gene studies. *Transl Psychiatry*. 2017;24(1):1007. doi: 10.1038/tp.2016.261

Биологические и психологические аспекты семейной гиперхолестеринемии

Л.В. Цховребова^{1,3}  , А.В. Агаджанян¹ , Д.Д. Бекоева² , С.В. Куревлев¹ 

¹Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

²МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Российская Федерация

³Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. акад. Ю.М. Лопухина, г. Москва, Российская Федерация
 tskhovrebova-lv@rudn.ru

Аннотация. Семейная гиперхолестеринемия (СГ) — это моногенное наследственное заболевание с нарушением метаболизма липидов. Распространенность СГ в общей популяции в среднем составляет 0,32% (95% ДИ: 0,26–0,39%). Заболевание может иметь как аутосомно-доминантный, так и аутосомно-рецессивный типы наследования. Известно 8 фенотипов СГ, связанных с мутациями в генах *LDLRAP1*, *PCSK9*, *APOA2*, *APOB*, *GHR*, *GSBS*, *EPHX2* и *LDLR*, которые могут приводить к раннему проявлению патологии. Целью данного обзора является комплексное исследование данных современной литературы по молекулярно-генетическим, биологическим и психологическим аспектам СГ. Анализ сигнальных путей при СГ выявил три кластера генов и кодируемых ими белков, ответственных за следующие процессы: сборку, ремоделирование и клиренс липопротеинов плазмы (гены: *LDLR*, *LDLRAP1*, *VLDLR*, *NPC1L1*, *APOC1*, *LPA*, *CETP*, *MTTP*, *APOB*, *PCSK9*); метаболизм холестерина (ген: *PPP1R17*); регуляцию уровня частиц липопротеинов плазмы (ген: *ANGPTL3*). Белки *PCSK9*, *APOB* и *MTTP* идентифицированы как ключевые элементы (центральные узлы) этих метаболических сетей. Белок *PPP1R17* вовлечен в механизмы долговременной депрессии, формы синаптической пластичности. Кроме того, в литературе описана ассоциация СГ с пятью другими генами: *ABCG5*, *ABCG8*, *STAP1*, *CYP7A1*, *LIPA* и *PNPLA5*. Таким образом, для ранней диагностики и эффективного ведения пациентов с СГ необходимо учитывать не только расширенный спектр ассоциированных генов и белков, но и психологическое состояние пациентов, в частности уровень их тревожности, депрессии и стресса.

Ключевые слова: семейная гиперхолестеринемия, гены, белки, метаболические пути, тревога, стресс, депрессия

Информация о финансировании: представленная работа не была финансирована.

Вклад авторов: Л.В. Цховребова — концепция и написание рукописи, А.В. Агаджанян — рецензирование рукописи; Д.Д. Бекоева — написание рукописи, С.В. Куревлев — написание рукописи, составление иллюстраций. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 21.09.2024. Принята 26.10.2024.

Для цитирования: *Tskhovrebova L.V., Aghajanyan A.V., Bekoeva D.D., Kurevlev S.V. Biological and psychological approach to familial hypercholesterolemia // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025;28(4):454-469. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-454-469. EDN: ADMYUS*

Corresponding author: Tskhovrebova L.V. — PhD, Senior lecturer of the Department of biology and general genetics Medical Institute of the RUDN University 117198, Miklukho-Maklaya str., 8,; researcher of the laboratory of cell biology Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency Moscow, Russian Federation, E-mail: tskhovrebova_lv@pfur.ru

Tskhovrebova L.V. ORCID ID 0000-0003-4685-5007

Aghajanyan A.V. ORCID ID 0000-0003-0129-1156

Bekoeva D.D. ORCID 0000-0002-0873-8080

Kurevlev S.V. ORCID ID 0009-0001-6522-1598

Ответственный за переписку: Цховребова Л.В. — к.б.н. старший преподаватель кафедры биологии и общей генетики МИ РУДН, Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8, E-mail: tskhovrebova_lv@pfur.ru

Цховребова Л.В. SPIN 1840-3676, ORCID ID 0000-0003-4685-5007

Агаджанян А.В. SPIN 2438-8880, ORCID ID 0000-0003-0129-1156

Бекоева Д.Д. SPIN 7000-7007, ORCID 0000-0002-0873-8080

Куревлев С.В. SPIN 5787-6374, ORCID ID 0009-0001-6522-1598

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-470-479

EDN AELILG

CLINICAL CASE
КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙСемейный случай синдрома Марфана:
новый вариант в гене *FBN1*

В.И. Степаненко¹  , И.Ж. Жалсанова¹ , Е.А. Фонова¹ , Д.Н. Ербунова¹ ,
С.Н. Государкина¹ , Е.Г. Равжаева¹, С.В. Фадюшина¹, А.А. Никитина¹,
Г.Н. Сеитова¹ , О.И. Климчук², В.А. Степанов¹ , Н.А. Скрябин¹ 

¹Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Российская Федерация

²ООО Биотехнологический кампус, г. Москва, Российская Федерация

 vsevolod.stepanenko@medgenetics.ru

Аннотация. Синдром Марфана — наследственное заболевание соединительной ткани, характеризующееся ярко выраженным плеiotропизмом и клинической вариабельностью. Основные проявления заболевания затрагивают три системы: скелетную, зрительную и сердечно-сосудистую. Причиной заболевания являются патогенетически значимые варианты гена, отвечающего за синтез белка фибриллин-1, который играет ключевую роль в формировании и поддержании структуры соединительной ткани (fibrillin-1 gene, *FBN1*). В данной статье мы описываем семейный случай (пробанд и его отец) с клиническими проявлениями синдрома Марфана. В результате секвенирования полного генома пробанда и отца был выявлен ранее не описанный вариант нуклеотидной последовательности с. 5782T>A, p.(Cys1928Ser) в гене *FBN1* в гетерозиготном состоянии. Таким образом, был установлен молекулярно-генетический диагноз синдром Марфана, путем обнаружения нового патогенного варианта в гене *FBN1*. **Выводы.** Постановка диагноза на клиническом и молекулярно-генетическом уровне у обоих пациентов определяет дальнейшую терапевтическую тактику и открывает возможности для своевременной первичной и вторичной профилактики заболевания в семье.

Ключевые слова: синдром Марфана, *FBN1*, наследственные заболевания соединительной ткани, секвенирование нового поколения

Информация о финансировании. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ № 075-00490-25-04 (Регистрационный номер темы 125042105351-3).

© Степаненко В.И., Жалсанова И.Ж., Фонова Е.А., Ербунова Д.Н., Государкина С.Н., Равжаева Е.Г., Фадюшина С.В., Никитина А.А., Сеитова Г.Н., Климчук О.И., Степанов В.А., Скрябин Н.А., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Вклад авторов. В.И. Степаненко — анализ полученных данных, написание текста, обзор литературы; И.Ж. Жалсанова, Е.А. Фонова — интерпретация данных NGS, редактирование текста; Д.Н. Ербунова — проведение подтверждающей диагностики (секвенирование по Сэнгеру); С.Н. Государкина — анализ и обработка биоинформатических данных NGS; Е.Г. Равжаева, С.В. Фадюшина, А.А. Никитина, Г.Н. Сеитова — сбор и анализ клинических данных; О.И. Климчук — проведение полногеномного секвенирования; В.А. Степанов, Н.А. Скрябин — концепция и дизайн исследования, редактирование текста.

Информация о конфликте интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Этическое утверждение. Проведение исследования согласовано с локальным комитетом по биомедицинской этике при Научно-исследовательском институте медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протокол № 10 от 15 февраля 2021 года).

Благодарности — неприменимо.

Информационное согласие на публикацию. У всех пациентов было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), обработку персональных данных и согласие на публикацию.

Поступила 16.10.2025. Принята 17.11.2025.

Для цитирования: Степаненко В.И., Жалсанова И.Ж., Фонова Е.А., Ербунова Д.Н., Государкина С.Н., Равжаева Е.Г., Фадюшина С.В., Никитина А.А., Сеитова Г.Н., Климчук О.И., Степанов В.А., Скрябин Н.А. Семейный случай синдрома Марфана: новый вариант в гене *FBN1* // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025. Т. 29. № 4. С. 470–479. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-470-479. EDN: AELILG

A familial case of Marfan syndrome: a novel variant in the *FBN1* gene

Vsevolod I. Stepanenko¹  , Irina ZH. Zhalsanova¹ , Elizaveta A. Fonova¹ ,
Daria N. Erburova¹ , Sofia N. Gosudarkina¹ , Ekaterina G. Ravzhaeva¹,
Svetlana V. Fadyushina¹, Anastasiya A. Nikitina¹, Gulnara N. Seitova¹ ,
Olesya I. Klimchuk², Vadim A. Stepanov¹ , Nikolay A. Skryabin¹ 

¹ Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences,
Tomsk, Russian Federation

² LLC Biotech Campus, Moscow, Russian Federation
 vsevolod.stepanenko@medgenetics.ru

Abstract. Marfan syndrome is a hereditary connective tissue disorder characterized by marked pleiotropy and clinical variability. The main disease manifestations involve three systems: skeletal, ocular, and cardiovascular. The condition is caused by pathogenic variants in the *FBN1* gene, which encodes fibrillin-1, a protein essential for the formation and maintenance of the extracellular matrix. This article describes a familial case (the proband and his father) with clinical manifestations of Marfan syndrome. Whole-genome sequencing of the proband and his father revealed a previously unreported variant, c.5782T>A,

p.(Cys1928Ser), in the *FBN1* gene. Thus, a molecular genetic diagnosis of Marfan syndrome was established by identifying this novel pathogenic variant. **Conclusion.** A confirmed diagnosis at both the clinical and molecular genetic levels in both patients determines the further therapeutic strategy and enables timely primary and secondary disease prevention within the family.

Keywords: Marfan syndrome, *FBN1*, hereditary connective tissue disorders, next-generation sequencing

Fundings: The study was carried out according to the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation № 075–00490–25–04 (Registration number 125042105351–3).

Author contributions. Stepanenko V.I. — data analysis, text writing, literature review; Zhalsanova I. Zh., Fonova E.A. — interpretation of NGS data, text editing; Erburova D.N. — confirmatory diagnostics, Sanger sequencing; Gosudarkina S.N. — analysis and processing of NGS bioinformatics data; Ravzhaeva E.G., Fadyushina S.V., Nikitina A.A., Seitova G.N. — collection and analysis of clinical data; Klimchuk O.I. — whole genome sequencing; Stepanov V.A., Skryabin N.A. — conception and design of the study, text editing.

Conflicts of interest statement. The authors declare no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics approval. The study was approved by the local biomedical ethics committee of the Research Institute of Medical Genetics at the Federal State Budgetary Scientific Institution “Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences” (Protocol № 10, 15.02.2021).

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication. Voluntary written consent was obtained from the patients for the investigation and publication of relevant medical information according to WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013.

Received 16.10.2025. Accepted 17.11.2025.

For citation: Stepanenko VI, Zhalsanova IZh, Fonova EA, Erburova DN, Gosudarkina SN, Ravzhaeva EG, Fadyushina SV, Nikitina AA, Seitova GN, Klimchuk OI, Stepanov VA, Skryabin NA. A familial case of Marfan syndrome: a novel variant in the *FBN1* gene. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):470–479. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-470-479. EDN: AELILG

Введение

Синдром Марфана представляет собой наследственное моногенное заболевание, возникающее вследствие мутаций в гене *FBN1*, ответственном за синтез белка внеклеточного матрикса фибриллина – 1. Наследование происходит по аутосомно-доминантному механизму, однако значительная часть случаев (25–30 %) является результатом новых мутаций *de novo* [1]. Распространенность заболевания составляет примерно 1 на 5000–10000 человек [2, 3], без этнических и половых различий [4]. Поскольку фибриллин-1 играет ключевую роль в формировании и функционировании соединительной ткани и влияет на сигнальный путь трансформирующего

фактора роста бета (TGF-β), заболевание носит мультисистемный характер и отличается выраженным плейотропизмом. Клиническая картина полиморфна и включает патологию сердечно-сосудистой системы (прогрессирующая дилатация аорты, расслаивающая аневризма аорты), опорно-двигательной системы (долихостеномелия, деформации грудной клетки, сколиоз) и офтальмологические нарушения (эктопия хрусталика). Потенциально жизнеугрожающие сердечно-сосудистые осложнения данного заболевания диктуют необходимость междисциплинарного ведения пациентов и своевременной диагностики, в том числе с использованием современных молекулярно-генетических методов.

Материалы и методы

В исследовании приняла участие семья по направлению от кардиолога с подозрением на синдром Марфана у сына и его отца. Исследование проводилось с соблюдением этических норм в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Было получено информированное согласие всех членов семьи на участие в эксперименте. Исследование было одобрено комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ.

Исследование генома семьи проведено в рамках совместной научно-исследовательской программы с Национальной генетической инициативой «100 000+Я» на базе ООО «Биотек кампус».

Полногеномное секвенирование проводилось на секвенаторах DNBSEQ-T7 (MGI) с помощью реагентного набора для приготовления библиотек MGIEasy FS PCR-Free Library Prep Set (MGI). Длина прочтений составила 2×150 п.н. Биоинформатический пайплайн содержит шаги очистки данных от адаптерных и низкокачественных последовательностей, с последующим картированием прочтений на референсный геном GRCh38 с помощью программы bwa mem v0.7.17. Разметка дублицированных прочтений проводилась с помощью программы GATK MarkDuplicates v4.3.0.0. Коллинг точечных вариантов проводился с помощью программы DeepVariant v4.0.0. Для каждого образца число прочтений с качеством не менее Q30 составило не менее 80 % от числа прочтений, полученных в результате секвенирования.

Для аннотирования использовалась программа Annovar. Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы базы данных OMIM, ClinVar, gnomAD v4.1.0 exomes, НРО и литературные данные.

Секвенирование по Сэнгеру было проведено в обоих направлениях в области идентифицированного варианта на образцах ДНК пробанда и его отца. Для подтверждения замены chr15:48446712A>T были использованы следующие праймеры для полимеразной цепной реакции (ПЦР): прямой (5'-CTGGTGAACCCCTAAAATGCT-3'); обратный (5'-CTCAGAATGTATCCCTCACG-3').

Результаты исследования

В Генетическую клинику НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ обратилась семья с отягощённым семейным анамнезом по отцовской линии с подозрением на диагноз «синдром Марфана» у мальчика 6 лет. В первые месяцы жизни была обнаружена асимметричная вентрикуломегалия (по данным нейросонографии и МРТ головного мозга). В возрасте 3–4 лет был отмечен быстрый рост. В возрасте 6 лет при обращении к кардиологу был поставлен диагноз: дилатация корня аорты, восходящего отдела аорты, дилатация ствола легочной артерии, пролапс митрального клапана, регургитация 1 степени, ФК I Ross. При обращении к офтальмологу был выявлен врожденный подвывих хрусталика, гиперметропия слабой степени и астигматизм гиперметропический сложный обратный правого глаза; врожденный подвывих хрусталика левого глаза. В 6 лет по данным рентгенографии грудно-поясничного отдела позвоночника: признаки S-образного сколиоза грудно-поясничного отдела позвоночника 1 степени, признаки кифоза грудного отдела позвоночника 1 степени.

Согласно Гентским критериям диагностики у пробанда диагностирован синдром Марфана (эктопия хрусталика и семейный анамнез заболевания) [5].

Согласно генеалогическому древу сходные симптомы наблюдались у отца (рисунок 1).

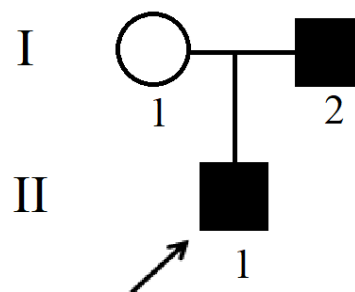


Рис. 1. Родословная пациента

Fig. 1. Patient's pedigree

Отец пробанда — мужчина, 35 лет, обратился в Генетическую клинику НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ с жалобами на снижение силы и чувствительности в левой стопе, нарушение

походки. В 29 лет было проведено оперативное лечение глаз: факоэмульсификация с имплантацией интраокулярной линзы по поводу эктопии хрусталика обоих глаз. С возраста 31 года состоит на учете у кардиолога с диагнозом врожденный порок сердца: расслаивающаяся аневризма грудного и брюшного отдела аорты с распространением расслоения на правую подключичную артерию, по поводу чего в возрасте 31 года неоднократно проводилось оперативное лечение (протезирование восходящей аорты, протезирование дуги, протезирование левой подключичной артерии, стентирование нисходящей аорты, протезирование митрального клапана, протезирование восходящей аорты и аортального клапана) в НИИ Кардиологии г. Томска. В качестве фонового заболевания было установлено: симптоматическая артериальная гипертензия 1 степени. В качестве сопутствующего заболевания было установлено: миелопатия на уровне D9 с явлением отека; нижний смешанный парализ с пlegией стопы слева, гипостезии с L2 слева. Парез голосовых связок. По КТ панаортографии в возрасте 31 года: состояние после протезирования клапана аорты — клапан в аортальной позиции, стентирования нисходящего

отдела аорты, протезирования левой подключичной артерии; протезирования митрального клапана; КТ-признаки расслоения брюшного отдела аорты; КТ-признаки расслоения правой подключичной артерии. В возрасте 31 года при консультировании офтальмологом был поставлен диагноз: миопия, артификация обоих глаз, ангиопатия сетчатки. В возрасте 33 лет спонтанный разрыв сосуда левой голени на фоне дисплазии соединительной ткани и гнойный артрит правого голеностопного сустава.

Согласно Гентским критериям диагностики у отца пробанда диагностирован синдром Марфана (аневризма аорты и эктопия хрусталика) [5].

По результатам проведенного полногеномного секвенирования у пробанда и его отца выявлен ранее не описанный вариант нуклеотидной последовательности с.5782T>A, p.(Cys1928Ser) (chr15:48446712A>T, NM_000138.5) в 47 из 66 экзонов гена *FBN1* в гетерозиготном состоянии, с глубиной покрытия 42× и 32× соответственно (рисунок 2 и 3).

Секвенирование по Сэнгеру подтвердило наличие варианта chr15:48446712A>T у пробанда и у отца (рисунок 4 и 5).

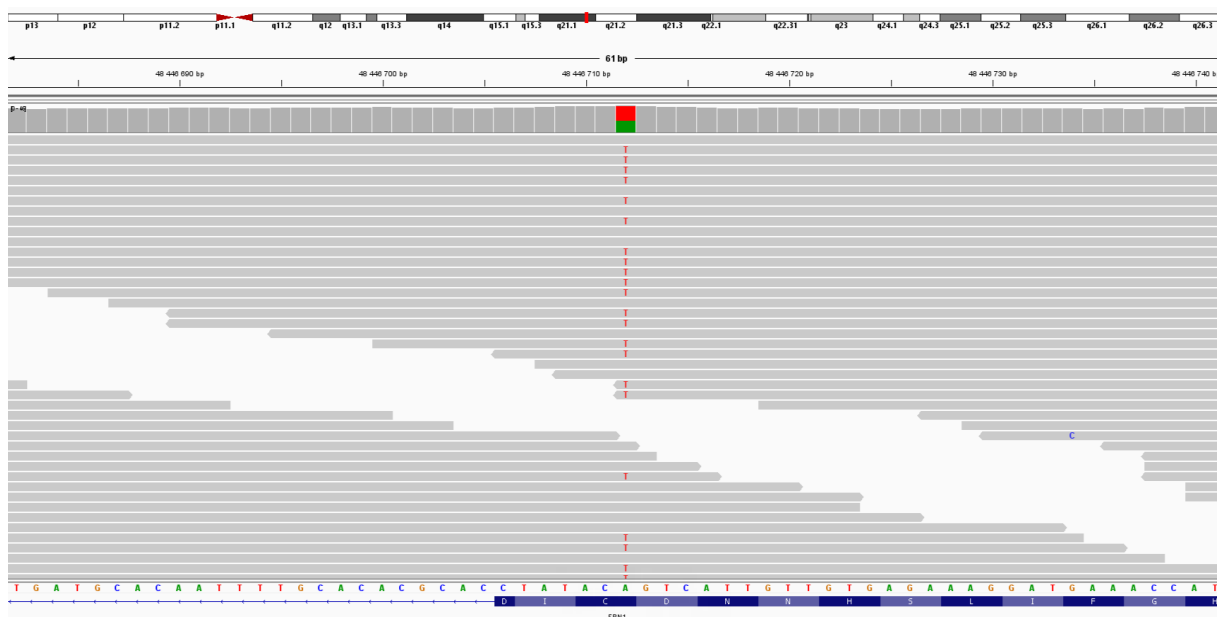


Рис. 2. NGS сиквенс пробанда (IGV browser)

Fig. 2. Proband NGS sequencing (IGV browser)

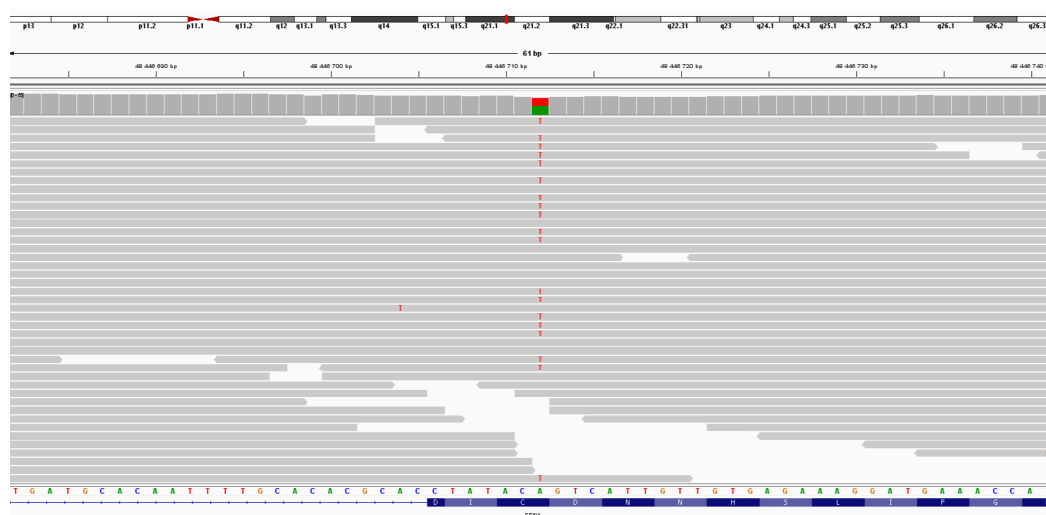


Рис. 3. NGS сиквенс отца пробанда (IGV browser)
Fig. 3. Proband's father NGS sequencing (IGV browser)

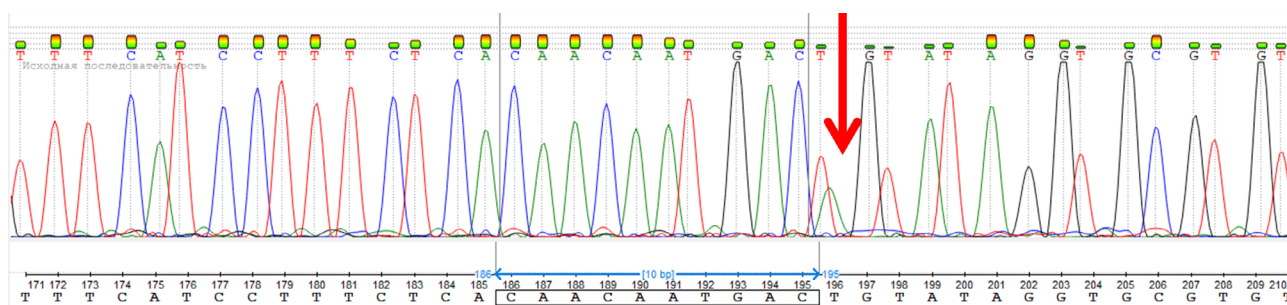


Рис. 4. Секвенирование по Сэнгеру у пробанда
Fig. 4. Proband Sanger sequencing

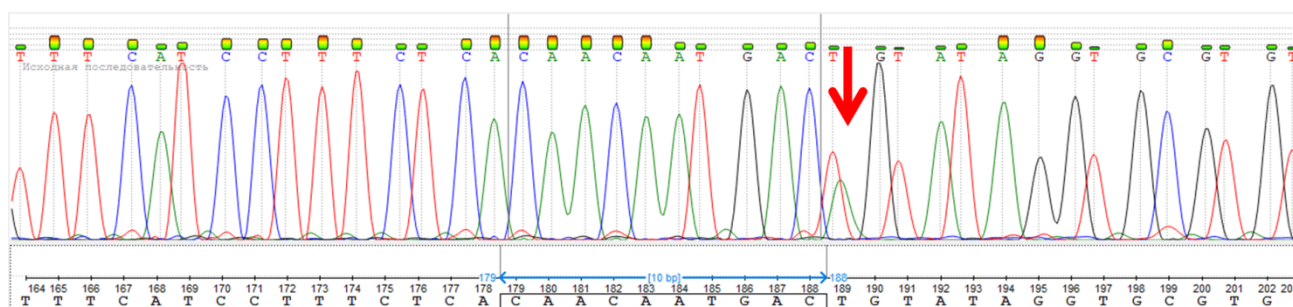


Рис. 5. Секвенирование по Сэнгеру у отца пробанда
Fig. 5. Proband's father Sanger sequencing

Обсуждение

Ген *FBN1* состоит из 237 т.п.н., содержит 66 экзонов и кодирует белок фибриллин-1, который является структурным компонентом микрофибрилл диаметром 10–12 нм внеклеточного матрикса, передающим как морфологические, так и регуляторные свойства несущим соединительным тканям [6]. Данные микрофибриллы выступают в качестве каркаса для отложения эластина в тканях легких, кровеносных сосудов и кожи. В том числе фибриллин-1 играет ключевую роль в гомеостазе тканей посредством специфических взаимодействий с такими факторами роста, как костные морфогенетические белки (the bone morphogenetic proteins — BMPs), факторы роста и дифференцировки (growth and differentiation factors — GDFs) и латентные TGF- β -связывающие белки (latent transforming growth factor-beta-binding proteins — LTBP), а также с разнообразными инте-

ринами клеточной поверхности и другими компонентами белков внеклеточного матрикса [7]. Также фибриллин-1 регулирует созревание остеобластов, контролируя биодоступность и уровень TGF-бета, а также влияя на уровень BMP. Отрицательно регулирует остеокластогенез, связывая и секвестрируя фактор дифференцировки и активации остеокластов TNFSF11 [8].

Основной патогенетический механизм развития синдрома Марфана — экспрессирующийся с патогенного аллеля дефектный белок, участвующий в формировании микрофибрилл с нарушенной структурой; либо отсутствие экспрессии белка, которое не компенсируется функционированием второго нормального аллеля.

Было проведено сравнение клинических проявлений у пробанда и его отца согласно Гентским критериям диагностики (таблица 1).

Таблица 1

Сравнение Гентских критериев и симптоматики, отмеченной у пробанда и его отца

Критерий	Пробанд	Отец
Аневризма аорты	..*	+
Эктопия хрусталика	+	+
Системное вовлечение соединительной ткани (≥ 7 баллов) (таблица 2)	+	+
Семейный анамнез	+	+
Вариант в гене <i>FBN1</i>	+	+

* — У пробанда наблюдается дилатация корня аорты, восходящего отдела аорты и дилатация ствола ЛА

Table 1

Comparison of the Ghent criteria and symptoms observed in the proband and his father

Criterion	Proband	Father
Aortic aneurysm	..*	+
Ectopia lentis	+	+
Systemic features (≥ 7 points) (Table 2)	+	+
Family history	+	+
<i>FBN1</i> gene variant	+	+

* — The proband has dilation of the aortic root, ascending aorta, and pulmonary artery dilation

Таблица 2

Сравнение системного вовлечения соединительной ткани у пробанда и его отца

Признак (баллы)	Пробанд	Отец
Признак запястья И признак большого пальца (3) / признак запястья ИЛИ признак большого пальца (1)	3	3
Деформация по типу килевой груди (pectus carinatum) (2) / воронкообразная грудь (pectus excavatum) ИЛИ асимметрия грудной клетки (1)	0	1
Деформация заднего отдела стопы (2) / простое плоскостопие (1)	1	1
Пневмоторакс (2)	0	0
Дуральная эктазия (2)	0	0
Протрузия вертлужной впадины (2)	0	0
Снижение отношения длины верхнего сегмента тела к нижнему (US/LS) И увеличение отношения размаха рук к росту И отсутствие выраженного сколиоза (1)	1	1
Сколиоз ИЛИ тораколумбальный кифоз (1)	1	1
Ограничение разгибания в локтевых суставах (1)	0	0
Характерные черты лица (наличие 3 из 5 признаков) (1) – долихоцефалия, энофтальм, антимонголоидный разрез глаз, гипоплазия скуловых костей, ретрогнатия	0	0
Стрии кожи (1)	0	0
Миопия > 3 диоптрий (1)	0	1
Пролапс митрального клапана (все типы) (1)	1	0
Всего баллов	7	8

Table 2

Comparison of systemic connective tissue involvement in the proband and his father

Features (points)	Proband	Father
Wrist AND thumb sign (3) / wrist OR thumb sign (1)	3	3
Pectus carinatum deformity (2) / pectus excavatum OR chest asymmetry (1)	0	1
Hindfoot deformity (2) / plain pes planus (1)	1	1
Pneumothorax (2)	0	0
Dural ectasia (2)	0	0
Protrusio acetabuli (2)	0	0
Reduced US/LS AND increased arm/height AND no severe scoliosis (1)	1	1
Scoliosis OR thoracolumbar kyphosis (1)	1	1
Reduced elbow extension (1)	0	0
Facial features (3 from 5 features) (1) – dolichocephaly, enophthalmos, downslanting palpebral fissures, malar hypoplasia, retrognathia	0	0
Skin striae (1)	0	0
Myopia > 3 diopters (1)	0	1
Mitral valve prolapse (all types) (1)	1	0
Total points	7	8

Согласно базе данных OMIM патогенные варианты в гене *FBN1* приводят к следующим заболеваниям с аутосомно-доминантным типом наследования: синдром Марфана (Marfan syndrome), акромикрическая дисплазия (Acromicric dysplasia), эктопия хрусталика, семейная (Ectopia lentis, familial), гелеофизическая дисплазия 2 (Geleophysic dysplasia 2), синдром липодистрофии Марфана (Marfan lipodystrophy syndrome), синдром MASS (MASS syndrome), синдром жесткой кожи (Stiff skin syndrome), синдром Вейля-Маркезани 2, доминантный (Weill-Marchesani syndrome 2, dominant) [9].

Согласно литературным данным, при миссенс-мутациях с заменой или вставкой цистеина наблюдается более высокая вероятность эктопии хрусталика [10, 11].

У обоих пациентов вариант нуклеотидной последовательности (chr15:48446712A>T) связан с заменой цистеина на серин в структуре белка фибриллина-1 (p.Cys1928Ser). Также у пробанда наблюдается подвывих хрусталика обоих глаз в возрасте 6 лет. А у его отца, в свою очередь, в возрасте 29 лет было проведено оперативное лечение (фако-эмульсификация с имплантацией интраокулярной линзы) в связи с эктопией хрусталика обоих глаз. Таким образом, клинические особенности обоих пациентов согласуются с литературными данными о повышенной частоте эктопии хрусталика при синдроме Марфана с миссенс-мутациями, связанными с заменой цистеина в структуре белка фибриллина-1.

В базе данных gnomAD v4.1.0 exomes [12] вариант не встречается. В базе данных популяционных частот генетических вариантов населения Российской Федерации вариант не встречается [13]. В базе данных ClinVar [14] вариант не описан. Согласно оценке Revel данный вариант оценивается как 0,84 балла, что соответствует средней вероятности патогенности [15]. AlphaMissense оценивает данный вариант на 1,0 балл, что соответствует сильному критерию патогенности [16]. Eve оценивает этот вариант на 0,74 балла (где 0 — наиболее доброкачественный, а 1 — наиболее патогенный) [17]. По критериям ACMG вариант

следует рассматривать как патогенный (PS1, PM1, PM2, PM5, PP2, PP3) [18, 19].

По совокупности сведений выявленный вариант нуклеотидной последовательности следует расценивать как патогенный вариант.

Выводы

Таким образом, представленный нами семейный случай синдрома Марфана вызван ранее не описанным патогенным вариантом chr15:48446712A>T, NM_000138.5, c.5782T>A, p.Cys1928Ser в гене *FBN1*. Для обоих пациентов (пробанда и его отца) установлен клинический и молекулярно-генетический диагноз, что поможет спланировать тактику дальнейшей терапии, а также своевременно начать первичную и вторичную профилактику данного наследственного заболевания в этой семье.

References / Список литературы

1. Chiu HH, Wu MH, Chen HC, Kao FY, Huang SK. Epidemiological profile of Marfan syndrome in a general population: a national database study. *Mayo Clin Proc.* 2014;89(1):34–42. doi:10.1016/j.mayocp.2013.08.022
2. Faivre L, Masurel-Paulet A, Colod-Bérout G, Callewaert BL, Child AH, Stheneur C, Binquet C, Gautier E, Chevallier B, Huet F, Loeys BL, Arbustini E, Mayer K, Arslan-Kirchner M, Kiotsekoglou A, Comeglio P, Grasso M, Halliday DJ, Bérout C, Bonithon-Kopp C, Claustres M, Robinson PN, Adès L, De Backer J, Coucke P, Francke U, De Paepe A, Boileau C, Jondeau G. Clinical and molecular study of 320 children with Marfan syndrome and related type I fibrillinopathies in a series of 1009 probands with pathogenic FBN1 mutations. *Pediatrics.* 2009;123(1):391–398. doi:10.1542/peds.2008-0703
3. Ramirez F, Dietz HC. Marfan syndrome: from molecular pathogenesis to clinical treatment. *Curr Opin Genet Dev.* 2007;17(3):252–258. doi:10.1016/j.gde.2007.04.006
4. Gonzales EA. Marfan syndrome. *J Am Acad Nurse Pract.* 2009;21(12):663–670. doi:10.1111/j.1745-7599.2009.00461.x
5. Loeys BL, Dietz HC, Braverman AC, Callewaert BL, De Backer J, Devereux RB, Hilhorst-Hofstee Y, Jondeau G, Faivre L, Milewicz DM, Pyeritz RE, Sponseller PD, Wordsworth P, De Paepe AM. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet.* 2010;47(7):476–485. doi:10.1136/jmg.2009.072785
6. Lee SS, Knott V, Jovanović J, Harlos K, Grimes JM, Choulier L, Mardon HJ, Stuart DI, Handford PA. Structure of the integrin binding fragment from fibrillin-1 gives new insights into microfibril organization. *Structure.* 2004;12(4):717–729. doi:10.1016/j.str.2004.02.023
7. Jensen SA, Handford PA. New insights into the structure, assembly and biological roles of 10–12 nm connective tissue microfibrils from fibrillin-1 studies. *Biochem J.* 2016;473(7):827–838. doi:10.1042/BJ20151108
8. Tiedemann K, Boraschi-Diaz I, Rajakumar I, Kaur J, Roughley P, Reinhardt DP, Komarova SV. Fibrillin-1 directly regulates osteoclast formation and function by a dual mechanism. *J Cell Sci.* 2013;126(Pt 18):4187–4194. doi:10.1242/jcs.127571
9. OMIM (An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders). URL: <http://www.omim.org/> (Accessed 12.10.2025, Дата доступа 12.10.2025)

10. Faivre L, Collod-Beroud G, Loeys BL, Child A, Binquet C, Gautier E, Callewaert B, Arbustini E, Mayer K, Arslan-Kirchner M, Kiotsekoglou A, Comeglio P, Marziliano N, Dietz HC, Halliday D, Beroud C, Bonithon-Kopp C, Claustres M, Muti C, Plauchu H, Robinson PN, Adès LC, Biggin A, Benetts B, Brett M, Holman KJ, De Backer J, Coucke P, Francke U, De Paepe A, Jondeau G, Boileau C. Effect of mutation type and location on clinical outcome in 1,013 probands with Marfan syndrome or related phenotypes and FBN1 mutations: an international study. *Am J Hum Genet*. 2007;81(3):454–466. doi:10.1086/520125
11. Hernández A, Zúñiga A, Valera F, Domingo D, Ontoria-Oviedo I, Marí JF, Román JA, Calvo I, Insa B, Gómez R, Cervera JV, Miralles M, Montero JA, Martínez-Dolz L, Sepúlveda P. Genotype FBN1/phenotype relationship in a cohort of patients with Marfan syndrome. *Clin Genet*. 2021;99(2):269–280. doi:10.1111/cge.13879
12. gnomAD (Genome Aggregation Database). URL: <https://gnomad.broadinstitute.org/> (Accessed 12.10.2025, Дата доступа 12.10.2025)
13. База данных популяционных частот генетических вариантов населения Российской Федерации. ФМБА России. Версия приложения 1.0.4 от 19.12.2024. Версия базы 59.1 от 03.10.2024. URL: <https://gdbpor.nir.cspfmba.ru/> (Accessed 12.10.2025, Дата доступа 12.10.2025)
14. ClinVar. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/> (Accessed 12.10.2025)
15. REVEL (Rare Exome Variant Ensemble Learner). URL: <https://sites.google.com/site/revelgenomics/> (Accessed 12.10.2025)
16. The AlphaMissense Database. URL: <https://alphamissense.hegelab.org/> (Accessed 12.10.2025)
17. EVE (Evolutionary model of Variant Effect). URL: <https://evemodel.org/> (Accessed 12.10.2025)
18. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehml HL; ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405–424. doi:10.1038/gim.2015.30
19. Ryzhkova OP, Kardymon OL, Prokhorchuk EB, Kononov FA, Maslennikov AB, Stepanov VA, Afanasiev AA, Zaklyazminskaya EV, Rebrikov DV, Savostyanov KV, Glotov AS, Kostareva AA, Pavlov AE, Golubenkov MV, Polyakov AV, Kutsev SI. Guidelines for the interpretation of human DNA sequencing data obtained by massively parallel sequencing (MPS) (2018 revision, version 2). *Medical Genetics*. 2019;18(2):3–23. doi: 10.25557/2073-7998.2019.02.3-23. (In Russian) [Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., Коновалов Ф.А., Масленников А.Б., Степанов В.А., Афанасьев А.А., Заклязьминская Е.В., Ребриков Д.В., Савостьянов К.В., Глотов А.С., Костарева А.А., Павлов А.Е., Голубенко М.В., Поляков А.В., Куцев С.И. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2) // Медицинская генетика. 2019. Т. 18. № 2. С. 3–23. doi: 10.25557/2073-7998.2019.02.3-23]

Ответственный за переписку: Степаненко Всеволод Иванович — младший научный сотрудник, лаборатория геномики орфанных болезней НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ. 634050, Томская обл., г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, д. 10. E-mail: vsevolod.stepanenko@medgenetics.ru

Степаненко В.И. ORCID 0009-0004-3030-4272

Жалсанова И.Ж. SPIN9882-3730, ORCID 0000-0001-6848-7749

Фонова Е.А. SPIN 5198-9456, ORCID 0000-0002-1338-5451

Ербунова Д.Н. ORCID 0009-0004-3444-9460

Государкина С.Н. SPIN5985-1705, ORCID 0009-0009-6823-9441

Равжаева Е.Г. SPIN1806-8157

Сейтова Г.Н. SPIN 7393-7228, ORCID 0000-0002-8421-1416

Степанов В.А. SPIN 1893-5292, ORCID 0000-0002-5166-331X

Скрябин Н.А. SPIN 3416-4105, ORCID 0000-0002-2491-3141

Corresponding author: Stepanenko Vsevolod Ivanovich — Junior Researcher, Laboratory of Genomics of Orphan Diseases, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences. 634050, Naberezhnaya reki Ushaiki St. 10, Tomsk, Russian Federation. Email: vsevolod.stepanenko@medgenetics.ru

Stepanenko V.I. ORCID:0009-0004-3030-4272

Zhalsanova I.ZH. ORCID 0000-0001-6848-7749

Fonova E.A. ORCID 0000-0002-1338-5451

Erburova D.N. ORCID 0009-0004-3444-9460

Gosudarkina S.N. ORCID 0009-0009-6823-9441

Seitova G.N. ORCID 0000-0002-8421-1416

Stepanov V.A. ORCID 0000-0002-5166-331X

Skryabin N.A. ORCID 0000-0002-2491-3141

ЦИТОЛОГИЯ CYTOLOGY

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-480-487
EDN AHVIL0

REVIEW
ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Опухолевые модели в изучении патогенеза и разработке методов лечения рака полости рта

М.С. Третьякова  , Е.А. Простакишина , Е.С. Колегова ,
Е.Л. Чойнзонов , Е.В. Денисов 

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр
Российской академии наук, г. Томск, Российская Федерация
 trremar@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Рак полости рта является одним из распространенных видов рака среди новообразований головы и шеи. Рак полости рта характеризуется плохим прогнозом, отсутствием специфических биомаркеров и высокоэффективного таргетного лечения. Для изучения патогенеза данного заболевания и разработки новых методов лечения необходимы актуальные модельные системы. Понимание молекулярных особенностей рака полости рта представляет собой один из ключевых этапов в разработке новых терапевтических стратегий. В настоящее время доступен широкий спектр биологических моделей, однако их универсальность ограничена. Экспериментальные модели для исследования рака полости рта прошли путь от клеточных культур до систем *in vivo*, которые имитируют патологические процессы и взаимодействие опухоли и стромы. В данном обзоре мы суммировали доступную информацию о современном состоянии экспериментальных систем рака полости рта. Существующие модели *in vitro* включают в себя иммортализованные и первичные клеточные линии, трехмерные модели — сфероиды и органоиды. *In vivo* системы представлены сингенными и ксеногенными моделями, иммунодефицитными, иммунокомпетентными, гуманизированными и генно-инженерными животными. Модельные системы *in vitro* эффективны в изучении биологии опухолей полости рта и оценки терапевтического агента за счет высокой воспроизводимости и скорости получения результатов. Существующие клеточные линии широко используются для фундаментальных и трансляционных исследований и являются важным звеном в доклинических испытаниях. Традиционные *in vivo* модели применяют во второй фазе доклинических исследований при разработке лекарственных средств и являются переходным этапом к дальнейшим клиническим испытаниям. *Выводы.* Несмотря на значительный прогресс в разработке различных экспериментальных моделей, каждая из них имеет свои преимущества

© Третьякова М.С., Простакишина Е.А., Колегова Е.С., Чойнзонов Е.Л., Денисов Е.В., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

и ограничения. Не существует универсальной модели, позволяющей полностью экстраполировать получаемые результаты на человеческий организм. Поэтому при планировании исследований важно тщательно подбирать наиболее подходящие биологические модели, исходя из поставленных задач.

Ключевые слова: рак полости рта, *in vitro* модель, *in vivo* модель

Информация о финансировании. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-15-00308).

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 12.02.2025. Принята 11.03.2025.

Для цитирования: Третьякова М.С., Простакишина Е.А., Колегова Е.С., Чойнзонов Е.Л., Денисов Е.В. Опухолевые модели в изучении патогенеза и разработке методов лечения рака полости рта // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025. Т. 29. № 4. С. 480–487. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-480-487. EDN: AHVILO

Tumor models in the investigation of oral cancer pathogenesis and treatment development

Maria S. Tretyakova , Elizaveta A. Prostakishina , Elena S. Kolegova ,
Evgeny L. Choinzonov , Evgeny V. Denisov 

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russian Federation

 tremar@mail.ru

Abstract. Relevance. Oral cancer is one of the most common cancers among neoplasms of the head and neck. Oral cancer is characterized by a poor prognosis, a lack of specific biomarkers and highly effective targeted treatment. Experimental model systems are needed to study oral cancer pathogenesis and develop new treatments. Understanding the molecular features of oral cancer represents one of the key steps in developing new therapeutic strategies. A wide range of biological models is currently available, but their versatility is limited. Experimental models for studying oral cancer have evolved from cell cultures to *in vivo* systems that mimic pathological processes and the tumor-stroma interactions. Here, we summarized the available information on the current state of experimental oral cancer systems. *In vitro* models include immortalized and primary cell lines, spheroids and organoids, whereas *in vivo* models are represented by syngeneic and xenogeneic models, immunocompromised, immunocompetent, humanized, and genetically engineered animals. *In vitro* models are effective in studying the biology of oral tumors and evaluating the effectiveness of therapy due to high reproducibility and speed of obtaining results. Existing cell lines are widely used for fundamental and translational research and serve as a crucial component in preclinical trials. *In vivo* models are used in phase II of preclinical research in drug development and thus represent a transitional stage to clinical trials. **Conclusion.** Despite significant progress in the development of various experimental models, each of them has its own advantages and limitations. There is no

universal model that allows for the complete extrapolation of the obtained results to the human body. Therefore, when planning research, it is crucial to select carefully the most suitable biological models based on the objectives at hand.

Keywords: oral cancer, *in vitro* model, *in vivo* model

Funding. This study was supported by the Russian Science Foundation (grant № 22-15-00308).

Author contributions. All authors have made significant contributions to the concepts, manuscript preparation, read and approved final version before publication.

Conflicts of interest statement. The author declares no conflict of interest.

Ethics approval — not applicable.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 12.02.2025. Accepted 11.03.2025.

For citation: Tretyakova MS, Prostakishina EA, Kolegova ES, Choinzonov EL, Denisov EV. Tumor models in the investigation of oral cancer pathogenesis and treatment development. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):480–487. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-480-487. EDN: AHVILO

Введение

Рак полости рта (РПР) является одним из самых распространенных видов рака среди новообразований головы и шеи и характеризуется плохим прогнозом и отсутствием специфических биомаркеров. Основными факторами риска развития РПР являются употребление табака и алкоголя, воспаление, наличие вируса папилломы человека (ВПЧ) и плоского лишая полости рта [1]. РПР считается заболеванием пожилых людей, однако в последние годы наблюдается активный рост заболеваемости в молодом возрасте [2]. Этиологические факторы, характерные для РПР в старшей возрастной категории, не всегда ассоциированы с данным заболеванием в молодом возрасте. Предполагается, что РПР у молодых пациентов является отдельной клинической формой и характеризуется специфической этиологией и патогенезом [3, 4].

Для понимания биологии развития РПР необходимы актуальные модельные системы. На сегодняшний день модели для исследования РПР прошли путь от клеточных культур до систем *in vivo*, которые имитируют патологические процессы и взаимодействия опухоли и стромы. Но все еще существует потребность в разработке новых модельных систем

для понимания молекулярных и генетических механизмов возникновения и развития РПР и оценки эффективности новых терапевтических и профилактических стратегий [5].

Получение клеточных моделей рака полости рта

Получение клеточных линий из опухолей пациентов является распространенным подходом в моделировании и изучении злокачественных новообразований. В банке ATCC (American Type Culture Collection) представлены доступные аутентифицированные иммортализованные линии опухолей миндалин (UWO37 (HPV16), HNO41), языка (UWO23, SCC-25, HNO97, HNO223, CAL 27), подчелюстной железы (A64-CLS) и карциномы полости рта (CLS-354, HNO258). Однако только половина из перечисленных клеточных линий РПР использовалась для разработки терапевтических стратегий, открытия мишеней или оценки химиочувствительности и химиорезистентности [6–12]. Модели *in vitro* позволяют провести скрининг эффективности новых противоопухолевых веществ и оценки систем доставки стандартных химиопрепаратов. Одним из примеров является

разработка новой формы доксорубицина — доксила, при скрининге которого было показано значительное снижение пролиферации клеток РПР [9]. Модельные системы *in vitro* позволяют модифицировать стандартные схемы лечения и подобрать новые. Так, на моделях *in vitro* была показана эффективность применения радиосенсибилизаторов для лучевой терапии РПР [10]. Все вышеупомянутые данные, полученные на immortalized клеточных линиях, послужили основой для дальнейших экспериментов на более сложных моделях *in vivo*.

В отличие от immortalized культур первичные линии, полученные из операционного материала, являются более релевантной моделью в виду эффективного сохранения опухолевой гетерогенности. Первичные линии эпителиальных клеток РПР получены из слизистой оболочки щеки, слизистой оболочки десны, языка, приносящих пазух и грушевидной ямки [13]. Данные модели позволяют воссоздать опухоль-стромальные взаимодействия, имитирующие микроокружение опухоли. Чаще всего первичные культуры используют для оценки эффективности новых терапевтических подходов с целью дальнейшей трансляции лечения в онкологическую практику.

При получении первичных линий РПР чаще всего используют ферментативный и эксплантационный методы. При эксплантационном методе клетки мигрируют из ткани на культуральный пластик через 48 часов после помещения в среду, тогда как при ферментативном подходе клетки из полученной суспензии адгезируют в течение 12 часов. При обоих методах выявляются как эпителиальные, так и фибробластоподобные клетки в полученной культуре. Тем не менее, ферментативный метод демонстрирует большую эффективность по выходу клеток и требует меньше времени [14].

Генетические изменения immortalized и первичных клеточных линий с помощью систем CRISPR-Cas, TALEN и siRNA позволяют изучать функциональную значимость генов, открывать новые маркеры и терапевтические мишени. Так, при РПР нокаут гена *LRP1B* при-

вел к повышенной пролиферации и миграции и способствовал развитию устойчивости к химио- и радиотерапии [6]. Нокаут *FAT1* и *CASP8* в первичной культуре РПР усилил пролиферацию и миграцию клеток, что привело к ускоренному росту первичной культуры плоскоклеточной карциномы полости рта за счет повышения пролиферации [15]. Таким образом, выявленные функциональные значения генетических нарушений являются основой в разработке лекарственных препаратов и диагностических и прогностических маркеров РПР.

Канцерогенез — это многоэтапный процесс, для изучения которого необходимы более сложные трехмерные модели *in vitro*, имитирующие ткани *in vivo*. К таким моделям относятся сфероиды, или культивируемые свободно плавающие агрегаты опухолевых клеток, и органоиды, представляющие собой миниатюрные версии органов, полученные из стволовых клеток [16]. Трехмерные модели позволяют с большей эффективностью разрабатывать и оценивать новые терапевтические решения [17–19]. Так, применение органоидов, состоящих из клеток РПР (дно рта, язык и альвеолярный отросток) и соответствующего нормального эпителия, выявило различную чувствительность на стандартные схемы лечения — химиотерапию цисплатином, карбоплатином и цетуксимабом и лучевую терапию. Ответ органоидов на воздействие химиолучевой терапии был сопоставим с реакцией пациентов на аналогичную терапию в 26% случаев. Кроме того, использование клеточных сфероидов РПР позволило выбрать новые таргетные препараты, которые в настоящий момент находятся на I и II фазах клинических испытаний: эверолимус, нирапариб, алпелисиб и вемурафениб [20].

Таким образом, модельные системы *in vitro* представляют собой эффективный инструмент для изучения биологии опухолей полости рта и оценки эффективности терапии за счет высокой воспроизводимости и скорости получения результатов.

Животные модели рака полости рта

Животные модели, как и модели *in vitro*, широко используются для исследования РПР (рисунок 1) [21–25]. Модели РПР разработаны на иммунокомпетентных и иммуносупрессивных грызунах. РПР у мышей может быть вызван трансплантацией опухолевых клеток (ксенографт или аллогraft) и химическим канцерогеном, преимущественно 4-нитрохиолин 1-оксидом [26].

Существующие клеточные линии РПР (SCC7, МОС, МОС1, МОС2) используются для разработки сингенных моделей [27–30]. Сингенные модели на иммунокомпетентных мышах позволяют провести первичный анализ фармакологических свойств тестируемых химических соединений. Для доклинических исследований используют

более сложную биологическую модель — иммуносупрессивных мышей с дальнейшей перевивкой человеческих опухолевых клеток (ксеногенные модели). Первичные и постоянные клеточные линии, трансплантированные мышам подкожно для установки гетеротопической модели, легко контролировать на предмет размера опухоли и реакции на терапевтическое воздействие [5]. Однако мыши с иммунодефицитом не могут в полной мере отражать взаимодействие опухоли с ее микроокружением из-за отсутствия полноценного иммунного ответа. Кроме того, ксенографты характеризуются высокой скоростью пролиферации клеток, что не позволяет фиксировать промежуточные стадии заболевания [5].

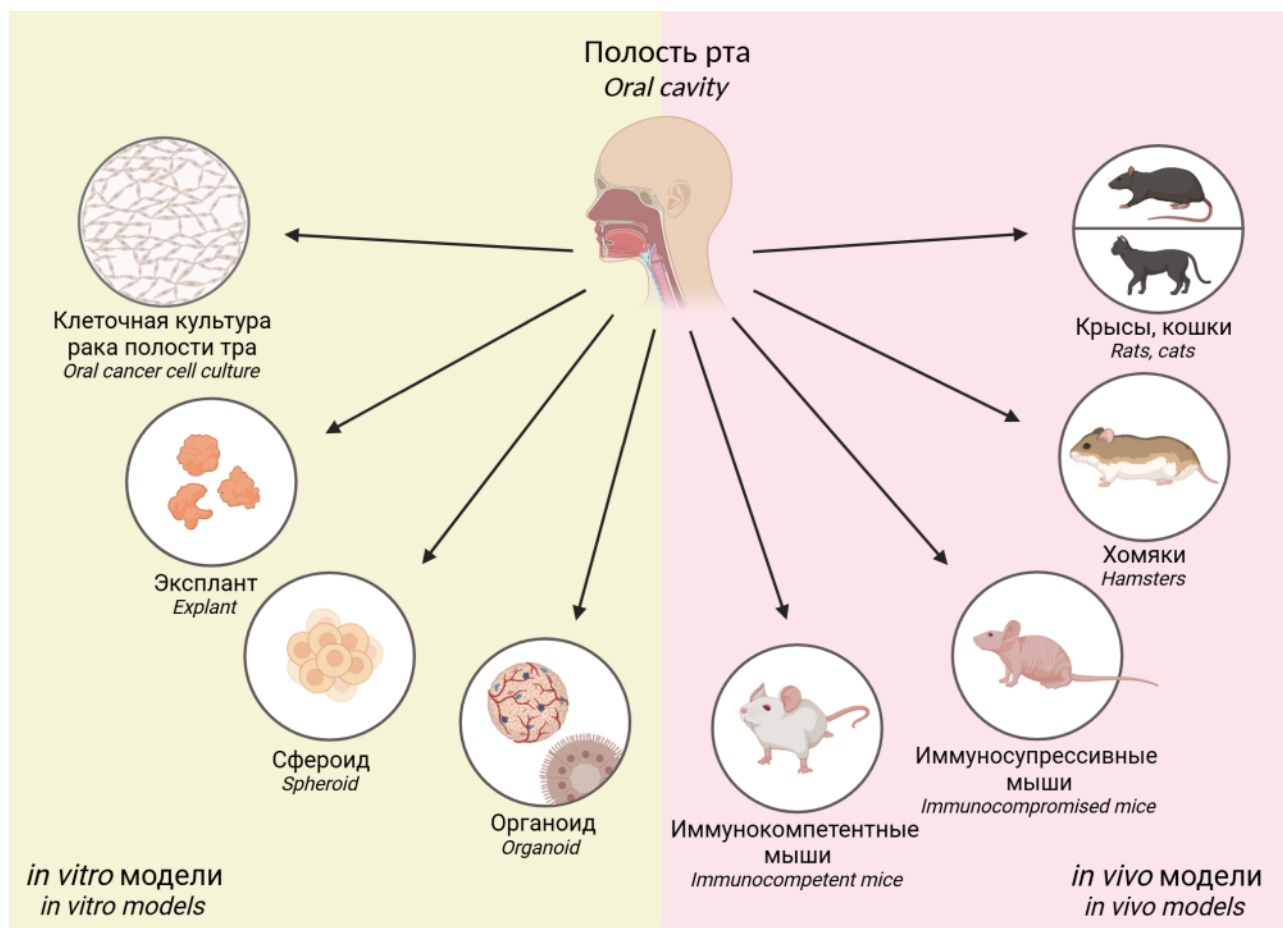


Рис. 1. Актуальные модели РПР
Fig. 1. Current models of oral cancer

При моделировании РПР *in vivo* опухолевые клетки вводят в слизистую оболочку щеки, мышцы языка или дно полости рта (ортотопическая модель) [21]. Мышиные модели РПР используются в разработке новых подходов в таргетной и иммунной терапии, оценки химиорезистентности и открытии новых мишеней [31–36]. На моделях *in vivo* показана эффективность сочетанного действия облучения и иммунотерапии, которое значительно тормозило рост опухоли и улучшало общую выживаемость мышей с ксенографтами РПР по сравнению с группой контроля [31]. Одним из примеров разработки таргетных препаратов является доклиническое исследование MEDI0641 — конъюгата антитела с лекарственным средством, нацеленного на онкофетальный антиген 5T4. Однократное введение конъюгата вызывало регрессию ксенографтов РПР у мышей [32].

В экспериментальной онкологии помимо иммуносупрессивных и иммунокомпетентных животных используют генетически модифицированных и гуманизированных мышей [37]. Генетически модифицированные мышинные модели (GEMM) получены путем индукции (нокинга) или удаления (нокаута) определенных генов [38]. С использованием GEMM изучена роль генов *PIK3CA*, *EGFR*, *TP53* и *CDK-4* в патогенезе РПР [39–41]. Тем не менее, GEMM имеют определенные ограничения из-за неконтролируемой экспрессии трансгенов и распространения опухоли за пределы ротовой полости.

Гуманизированные мыши используются в качестве трансляционных моделей во многих областях экспериментальной онкологии, включая клинические исследования, и представляют собой животных с иммунодефицитом, которым привиты иммунные человеческие клетки. Для создания функциональной иммунной системы человека используют два основных источника человеческих клеток: мононуклеары периферической крови или CD34⁺ гемопоэтические стволовые клетки. Иммунный компонент вводят внутривенно или внутрибрюшинно, и далее ортотопически прививают опухолевые клетки. Чаще всего, гуманизи-

рованных мышей используют при моделировании лейкемии из-за высокой приживаемости данных опухолевых клеток [42]. В литературе крайне редко встречаются упоминания использования гуманизированных мышей при РПР. Например, модель гуманизированных мышей с ВПЧ-ассоциированным раком языка была разработана для дальнейшей доклинической оценки эффективности терапевтических подходов ВПЧ-положительного РПР [43].

Описаны также модели РПР на крысах, хомяках и кошках [44–46]. РПР у кошек развивается спонтанно, у крыс под воздействием 4-нитрохинолин 1-оксида. Модель защечного мешка хомяка является традиционным высоковоспроизводимым подходом для поиска новых терапевтических стратегий, который был разработан еще в 50-е годы прошлого столетия [21, 46]. Канцероген 4-нитрохинолин 1-оксид наносится в растворе на поверхность слизистой оболочки защечного пространства и позволяет оценить поэтапные изменения в ряду норма — предрак — рак [47].

Таким образом, модели *in vivo* эффективны в доклинических исследованиях: лабораторные животные используются во второй фазе при разработке лекарственных средств и являются переходным этапом к клиническим испытаниям.

Выводы

Понимание молекулярных механизмов РПР имеет решающее значение в разработке новых методов лечения данного заболевания. Использование клеточных линий позволяет обнаружить новые этиологические и патогенетические факторы заболевания и провести анализ фармакологических свойств химических соединений. Модели *in vivo* эффективны в разработке новых терапевтических стратегий в лечении РПР. Тем не менее, при планировании исследований важно учитывать ограничения и недостатки моделей *in vitro* и *in vivo* и выбирать наиболее корректные, основываясь на их преимуществах и экспериментальных задачах.

References/Список литературы

1. Li Q, Dong H, Yang G, Song Y, Mou Y, Ni Y. Mouse Tumor-Bearing Models as Preclinical Study Platforms for Oral Squamous Cell Carcinoma. *Front Oncol.* 2020;10:212. doi: 10.3389/fonc.2020.00212
2. Miranda-Filho A, Bray F. Global patterns and trends in cancers of the lip, tongue and mouth. *Oral Oncol.* 2020;102:104551. doi: 10.1016/j.oraloncology.2019.104551
3. Kolegova ES, Patysheva MR, Larionova IV, Fedorova IK, Kulbakin DE, Choinzonov EL, Denisov EV. Early-onset oral cancer as a clinical entity: aetiology and pathogenesis. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2022;51(12):1497–1509. doi: 10.1016/j.ijom.2022.04.005
4. Patysheva MR, Kolegova ES, Khozyainova AA, Prostakishina EA, Korobeynikov VY, Menyailo ME, et al. The Consortium E. Pathogenesis of Oral Cancer in Young A. Revealing molecular mechanisms of early-onset tongue cancer by spatial transcriptomics. *Sci Rep.* 2024;14(1):26255. doi: 10.1038/s41598-024-76044-2
5. Luo JJ, Young CD, Zhou HM, Wang XJ. Mouse Models for Studying Oral Cancer: Impact in the Era of Cancer Immunotherapy. *J Dent Res.* 2018;97(6):683–690. doi: 10.1177/0022034518767635
6. Shaikh MH, Dawson A, Prokopec SD, Barrett JW, Y.F. Zeng P, Khan MI, et al. Loss of LRP1B expression drives acquired chemo and radio-resistance in HPV-positive head and neck cancer. *Oral Oncol.* 2023;146:106580. doi: 10.1016/j.oraloncology.2023.106580
7. Lakshmi T, Ezhilarsan D, Nagaich U, Vijayaragavan R. Acacia catechu Ethanolic Seed Extract Triggers Apoptosis of SCC-25 Cells. *Pharmacogn Mag.* 2017;13(Suppl 3):405–411. doi: 10.4103/pm.pm_458_16
8. Eloraby DAI, El-Gayar SF, El-Bolok AH, Ammar SG, El Shafei MM. In Vitro Assessment of the Cytotoxic Effect of 5-Fluorouracil, Thymoquinone and their Combination on Tongue Squamous Cell Carcinoma Cell Line. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2024;25(6):2169–2176. doi: 10.31557/apjcp.2024.25.6.2169
9. El-Hamid ESA, Gamal-Eldeen AM, Sharaf Eldeen AM. Liposome-coated nano doxorubicin induces apoptosis on oral squamous cell carcinoma CAL-27 cells. *Archives of Oral Biology.* 2019;103:47–54. doi: 10.1016/j.archoralbio.2019.05.011
10. Mentzel J, Hildebrand LS, Kuhlmann L, Fietkau R, Distel LV. Effective Radiosensitization of HNSCC Cell Lines by DNA-PKcs Inhibitor AZD7648 and PARP Inhibitors Talazoparib and Niraparib. *Int J Mol Sci.* 2024;25(11):5629. doi: 10.3390/ijms25115629
11. Dziedzic A, Kubina R, Kabała-Dzik A, Tanasiewicz M. Induction of Cell Cycle Arrest and Apoptotic Response of Head and Neck Squamous Carcinoma Cells (Detroit 562) by Caffeic Acid and Caffeic Acid Phenethyl Ester Derivative. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2017;2017(1):6793456. doi: 10.1155/2017/6793456
12. de Llobet LI, Baro M, Mesia R, Balart J. Simvastatin Enhances the Effects of Radiotherapy and Cetuximab on a Cell Line (FaDu) Derived from a Squamous Cell Carcinoma of Head and Neck. *Transl Oncol.* 2014;7(4):513–522. doi: 10.1016/j.tranon.2014.02.008
13. Dwivedi N, Gangadharan C, Pillai V, Kuriakose MA, Suresh A, Das M. Establishment and characterization of novel autologous pair cell lines from two Indian non-habitual tongue carcinoma patients. *Oncol Rep.* 2022;48(3). doi: 0.3892/or.2022.8362
14. Ganjibakhsh M, Aminshakib P, Farzaneh P, Karimi A, Fazeli SAS, Rajabi M, et al. Establishment and Characterization of Primary Cultures from Iranian Oral Squamous Cell Carcinoma Patients by Enzymatic Method and Explant Culture. *J Dent (Tehran).* 2017;14(4):191–202. doi: 10.55463/issn.1674-2974.49.9.2
15. Goldie SJ, Mulder KW, Tan DW, Lyons SK, Sims AH, Watt FM. FRMD4A upregulation in human squamous cell carcinoma promotes tumor growth and metastasis and is associated with poor prognosis. *Cancer Res.* 2012;72(13):3424–3436. doi: 10.1158/0008-5472.can-12-0423
16. Chaves P, Garrido M, Oliver J, Pérez-Ruiz E, Barragan I, Rueda-Domínguez A. Preclinical models in head and neck squamous cell carcinoma. *Br J Cancer.* 2023;128(10):1819–1827. doi: 10.1038/s41416-023-02186-1
17. Ono K, Sato K, Nakamura T, Yoshida Y, Murata S, Yoshida K, et al. Reproduction of the Antitumor Effect of Cisplatin and Cetuximab Using a Three-dimensional Spheroid Model in Oral Cancer. *Int J Med Sci.* 2022;19(8):1320–1333. doi: 10.7150/ijms.74109
18. Iannelli F, Zotti AI, Roca MS, Grumetti L, Lombardi R, Moccia T, et al. Valproic Acid Synergizes With Cisplatin and Cetuximab in vitro and in vivo in Head and Neck Cancer by Targeting the Mechanisms of Resistance. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:732. doi: 10.3389/fcell.2020.00732
19. Al-Samadi A, Poor B, Tuomainen K, Liu V, Hyttiäinen A, Suleymanova I, Mesimäki K, Wilkman T, Mäkitie A, Saavalainen P, Salo T. In vitro humanized 3D microfluidic chip for testing personalized immunotherapeutics for head and neck cancer patients. *Exp Cell Res.* 2019;383(2):111508. doi: 10.1016/j.yexcr.2019.111508
20. Driehuis E, Kolders S, Spelier S, Löhmußsaar K, Willems SM, Devriese LA, et al. Oral Mucosal Organoids as a Potential Platform for Personalized Cancer Therapy. *Cancer Discov.* 2019;9(7):852–871. doi: 10.1158/2159-8290.cd-18-1522
21. Khayatan D, Hussain A, Tebyaniyan H. Exploring animal models in oral cancer research and clinical intervention: A critical review. *Vet Med Sci.* 2023;9(4):1833–1847. doi: 10.1002/vms3.1161
22. Luo JJ, Young CD, Zhou HM, Wang XJ. Mouse Models for Studying Oral Cancer: Impact in the Era of Cancer Immunotherapy. *J Dent Res.* 2018;97(6):683–690. doi: 10.1177/0022034518767635
23. Foy JP, Tortoreau A, Caulin C, Le Texier V, Lavergne E, Thomas E, et al. The dynamics of gene expression changes in a mouse model of oral tumorigenesis may help refine prevention and treatment strategies in patients with oral cancer. *Oncotarget.* 2016;7(24):35932–35945. doi: 10.18632/oncotarget.8321
24. Demétrio de Souza França P, Guru N, Roberts S, Kossatz S, Mason C, et al. Fluorescence-guided resection of tumors in mouse models of oral cancer. *Sci Rep.* 2020;10(1):11175. doi: 10.1038/s41598-020-67958-8
25. Chen YF, Chang KW, Yang IT, Tu HF, Lin SC. Establishment of syngeneic murine model for oral cancer therapy. *Oral Oncol.* 2019;95:194–201. doi: 10.1016/j.oraloncology.2019.06.026
26. Ishida K, Tomita H, Nakashima T, Hirata A, Tanaka T, Shibata T, Hara A. Current mouse models of oral squamous cell carcinoma: Genetic and chemically induced models. *Oral Oncol.* 2017;73:16–20. doi: 10.1016/j.oraloncology.2017.07.028
27. Dong H, Su H, Chen L, Liu K, Hu H-m, Yang W, Mou Y. Immunocompetence and mechanism of the DRibble-DCs vaccine for oral squamous cell carcinoma. *Cancer Management and Research.* 2018;10:493–501. doi: 10.2147/CMAR.S155914
28. Nagaya T, Nakamura Y, Okuyama S, Ogata F, Maruoka Y, Choyke PL, Allen C, Kobayashi H. Syngeneic Mouse Models of Oral Cancer Are Effectively Targeted by Anti-CD44-Based NIR-PIT. *Molecular Cancer Research.* 2017;15(12):1667. doi: 10.1158/1541-7786.mcr-17-0333
29. Chung MK, Jung YH, Lee JK, Cho SY, Murillo-Sauca O, Uppaluri R, Shin JH, Sunwoo JB. CD271 Confers an Invasive and Metastatic Phenotype of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma through the Upregulation of Slug. *Clinical Cancer Research.* 2018;24(3):674–683. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0866
30. Judd NP, Allen CT, Winkler AE, Uppaluri R. Comparative analysis of tumor-infiltrating lymphocytes in a syngeneic mouse model of oral cancer. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2012;147(3):493–500. doi: 10.1177/0194599812442037
31. Oweida A, Lennon S, Calame D, Korpela S, Bhatia S, Sharma J, et al. Ionizing radiation sensitizes tumors to PD-L1 immune checkpoint blockade in orthotopic murine head and neck squamous cell carcinoma. *Oncoimmunology.* 2017;6(10):e1356153. doi: 10.1080/2162402x.2017.1356153
32. Kerk SA, Finkel KA, Pearson AT, Warner KA, Zhang Z, Nör F, et al. 5T4-Targeted Therapy Ablates Cancer Stem Cells and Prevents Recurrence of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Clinical Cancer Research.* 2017;23(10):2516–2527. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-16-1834

33. Fang Z, Zhao J, Xie W, Sun Q, Wang H, Qiao B. LncRNA UCA1 promotes proliferation and cisplatin resistance of oral squamous cell carcinoma by suppressing miR-184 expression. *Cancer Med*. 2017;6(12):2897–2908. doi: 10.1002/cam4.1253
34. Feng X, Luo Q, Zhang H, Wang H, Chen W, Meng G, Chen F. The role of NLRP3 inflammasome in 5-fluorouracil resistance of oral squamous cell carcinoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2017;36(1):81. doi: 10.1186/s13046-017-0553-x
35. Ozawa H, Ranaweera RS, Izumchenko E, Makarev E, Zhavoronkov A, Fertig EJ, et al. SMAD4 Loss Is Associated with Cetuximab Resistance and Induction of MAPK/JNK Activation in Head and Neck Cancer Cells. *Clinical Cancer Research*. 2017;23(17):5162–5175. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-16-1686
36. Wang Y, Zhu Y, Wang Q, Hu H, Li Z, Wang D, Zhang W, Qi B, Ye J, Wu H, Jiang H, Liu L, Yang J, Cheng J. The histone demethylase LSD1 is a novel oncogene and therapeutic target in oral cancer. *Cancer Lett*. 2016;374(1):12–21. doi: 10.1016/j.canlet.2016.02.004
37. Tretyakova MS, Bokova UA, Korobeynikova AA, Denisov EV. Experimental models of tumor growth in soft tissue sarcomas. *RUDN Journal of Medicine*. 2023;27(4):459–469. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-4-459-469. (In Russian). [Третьякова МС, Бокова УА, Коробейникова АА, Денисов ЕВ. Экспериментальные модели опухолевого роста при саркомах мягких тканей. // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2023. Вып. 4. С. 459–469. doi: 10.22363/2313-0245-2023-27-4-459-469]
38. Masood R, Hochstim C, Cervenká B, Zu S, Baniwal SK, Patel V, Kobiela A, Sinha UK. A novel orthotopic mouse model of head and neck cancer and lymph node metastasis. *Oncogenesis*. 2013;2(9): e68. doi: 10.1038/oncsis.2013.33
39. Tan MT, Wu JG, Callejas-Valera JL, Schwarz RA, Gillenwater AM, Richards-Kortum RR, Vigneswaran N. A PIK3CA transgenic mouse model with chemical carcinogen exposure mimics human oral tongue tumorigenesis. *Int J Exp Pathol*. 2020;101(1–2):45–54. doi: 10.1111/iep.12347
40. Lin YH, Yang MC, Tseng SH, Jiang R, Yang A, Farmer E, et al. Integration of Oncogenes via Sleeping Beauty as a Mouse Model of HPV16(+) Oral Tumors and Immunologic Control. *Cancer Immunol Res*. 2018;6(3):305–319. doi: 10.1158/2326-6066.cir-16-0358
41. Kalish JM, Tang XH, Scognamiglio T, Zhang T, Gudas LJ. Doxycycline-induced exogenous Bmi-1 expression enhances tumor formation in a murine model of oral squamous cell carcinoma. *Cancer Biol Ther*. 2020;21(5):400–411. doi: 10.1080/15384047.2020.1720485
42. Lysenko V, McHugh D, Behrmann L, Rochat MA, Wilk CM, Kovtonyuk L, et al. Humanised mouse models for haematopoiesis and infectious diseases. *Swiss Med Wkly*. 2017;147: w14516. doi: 10.4414/smw.2017.14516
43. Schiffers C, Zottnick S, Förster JD, Kruse S, Yang R, Wiethoff H, et al. Development of an Orthotopic HPV16-Dependent Base of Tongue Tumor Model in MHC-Humanized Mice. *Pathogens*. 2023;12(2):188. doi: 10.3390/pathogens12020188
44. Yahya F, Mohd Bakri M, Hossain MZ, Syed Abdul Rahman SN, Mohammed Alabsi A, Ramanathan A. Combination Treatment of TRPV4 Agonist with Cisplatin Promotes Vessel Normalization in an Animal Model of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(9). doi: 10.3390/medicina58091229
45. Cannon CM, Trembley JH, Kren BT, Unger GM, O’Sullivan MG, Cornax I, Modiano JF, Ahmed K. Therapeutic Targeting of Protein Kinase CK2 Gene Expression in Feline Oral Squamous Cell Carcinoma: A Naturally Occurring Large-Animal Model of Head and Neck Cancer. *Hum Gene Ther Clin Dev*. 2017;28(2):80–86. doi: 10.1089/humc.2017.008
46. Goldberg M, Manzi A, Birdi A, Laporte B, Conway P, Cantin S, Mishra V, Singh A, Pearson AT, Goldberg ER, Goldberger S, Flaum B, Hasina R, London NR, Gallia GL, Bettgowda C, Young S, Sandulache V, Melville J, Shum J, O’Neill SE, Aydin E, Zhavoronkov A, Vidal A, Soto A, Alonso MJ, Rosenberg AJ, Lingen MW, D’Cruz A, Agrawal N, Izumchenko E. A nanoengineered topical transmucosal cisplatin delivery system induces anti-tumor response in animal models and patients with oral cancer. *Nat Commun*. 2022;13(1):4829. doi: 10.1038/s41467-022-31859-3
47. Monti-Hughes A, Aromando RF, Pérez MA, Schwint A, Eltoiz ME. The hamster cheek pouch model for field cancerization studies. *Periodontology* 2000. 2015;67(1):292–311. doi: 10.1111/prd.12066

Ответственный за переписку: Третьякова Мария Сергеевна — м.н.с. лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный 5, E-mail: trremar@mail.ru.

Третьякова М.С. SPIN 5207-8330, ORCID 0000-0002-5040-931X
 Простакишина Е.А. SPIN 4517-4433, ORCID 0000-0002-1405-3723
 Колегова Е.С. SPIN 5865-1264, ORCID 0000-0001-9122-3274
 Чойнзонов Е.Л. SPIN 2240-8730, ORCID 0000-0002-3651-0665
 Денисов Е.В. SPIN 9498-5797, ORCID 0000-0003-2923-9755.

Corresponding author: Tretyakova Maria S. — Junior Researcher of Laboratory of Cancer Progression Biology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, 634009, Kooperativnyi per, 5, Tomsk, Russia, E-mail: trremar@mail.ru.

Tretyakova M.S. ORCID 0000-0002-5040-931X
 Prostakishina E.A. ORCID 0000-0002-1405-3723
 Kolegova E.S. ORCID 0000-0001-9122-3274
 Choinzonov E.L. ORCID 0000-0002-3651-0665
 Denisov E.V. ORCID 0000-0003-2923-9755



DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-488-495

EDN AJBSXR

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

ORIGINAL RESEARCH

Therapeutic activity of proinflammatory macrophages in endometriosis is driven by their antiproliferative and proapoptotic action

Daria A. Artemova^{1, 2, 3},  , Andrey V. Elchaninov^{1, 3}, , Polina A. Vishnyakova^{2, 4}, 

¹Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Federal State Budgetary Scientific Institution “Petrovsky National Research Centre of Surgery”, Moscow, Russian Federation

²Research Institute of Molecular and Cellular Medicine, RUDN University, Moscow, Russian Federation

³Petrovsky Medical University, Moscow, Russian Federation

⁴National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology Named After Academician V.I. Kulakov, Moscow, Russian Federation
 artiomova.darya@yandex.ru

Abstract: Relevance. Despite longstanding recognition of endometriosis, there’s an absence of effective treatment. Existing treatments carry significant risk, so research into cell therapy is gaining popularity. Macrophages are a promising agent. A previous study using an animal model demonstrated that introducing proinflammatory macrophages led to a significant reduction in endometriosis lesions. *The aim of the study* is to analyze the effect of macrophages with a proinflammatory phenotype introduced into an animal model on the proliferation and survival of cells in endometriosis lesions. *Materials and Methods.* A syngeneic model of endometriosis was obtained in female C57Bl/6 mice by intraperitoneal transplantation of uterine fragments from a donor mouse. RAW264.7 mouse macrophages were utilized as the cellular agent. The animals were then divided into groups: “Control” comprised mice that did not receive macrophage therapy; “Control of therapy” comprised mice that received unpolarized RAW264.7 macrophages; and “Therapy” comprised mice with endometriosis that were injected with RAW264.7 macrophages with a proinflammatory phenotype. *Results and Discussion.* Consequently, the administration of macrophages with a proinflammatory phenotype resulted in a significant decrease in the production of the proliferation marker protein Ki-67 and a significant increase in the production of effector caspase 3 in the cells of endometriosis lesions compared to the “Control” group. Concurrently, the level of production of the tumor suppressor protein p53, which is involved in the initiation of apoptosis in cells, was comparable to that in the “Control” group. This is in contrast to the group of animals that received unpolarized macrophages. *Conclusion.* We found that the anti-endometriosis activity of macrophages with a proinflammatory phenotype is associated with the fact that their introduction suppressed the proliferation of endometriosis cells and enhanced their apoptotic death through the activation of p53 and caspase 3.

© Artemova D.A., Elchaninov A.V., Vishnyakova P.A., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Keywords: endometriosis, mouse model, cell therapy, macrophages

Funding. The work was supported by the state assignment № 125050605838–9 “Development of 3D-bioresorbable scaffold for breast reconstruction”.

Author contributions. Concept and design of the study — D.A. Artemova, A.V. Elchaninov, P.A. Vishnyakova; collection, and processing of materials — D.A. Artemova; analysis of the obtained data, writing the text — D.A. Artemova, A.V. Elchaninov, P.A. Vishnyakova. All authors made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the manuscript, read, and approved the final version before publication.

Conflicts of interest statement. The authors declare that there are no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics approval. All studies were conducted in accordance with the principles of biomedical ethics formulated in the Declaration of Helsinki of 1964 and its subsequent updates and approved by the Local Ethics Committee of the Federal State Budgetary Institution “Petrovsky National Research Center for Surgery”, protocol No. 3 dated March 23, 2023.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 14.07.2024. Accepted 16.08.2025.

For citation: Artemova DA, Elchaninov AV, Vishnyakova PA. Therapeutic activity of proinflammatory macrophages in endometriosis is driven by their antiproliferative and proapoptotic action. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):488–495. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-488-495. EDN: AJBSXR

Introduction

Endometriosis, a serious disease affecting 10% of women of reproductive age, is characterized by pelvic pain and infertility, which can have a significant impact on the quality of life of patients [1, 2]. The gold standard in the treatment of endometriosis remains laparoscopic removal of lesions, but this surgical procedure is associated with risks of damage to healthy tissues and organs [3]. Furthermore, research has demonstrated that the frequency of repeat operations following surgical removal of lesions ranges from 27% to 58%, as evidenced by various data sources [4, 5]. In addition to laparoscopic removal of lesions, the administration of pharmaceuticals is also employed to alleviate pain symptoms [1]. Moreover, there have been documented cases in which the administration of drug therapy within six days following surgical excision of lesions has been shown to reduce the

risk of recurrence [4]. However, the efficacy of pharmaceutical interventions in managing the disease’s symptoms is questionable, as is their potential to induce adverse effects. These include, but are not limited to, irregular bleeding, nausea, cardiovascular complications, weight gain, and the potential for contraceptive effects [1]. In this regard, a relevant area of research is the development of minimally invasive therapies using cellular agents.

In a preceding study, an investigation was conducted on a syngeneic mouse model of endometriosis, in which it was demonstrated that the introduction of allogeneic macrophages with a proinflammatory phenotype into the animal model resulted in a significant reduction in the size and number of lesions [3].

The objective of the present study was to ascertain the mechanisms underlying this effect, specifically to evaluate the impact of introducing macrophages with

a proinflammatory phenotype on the survival of cells in endometriosis lesions and their proliferation.

Materials and methods

Syngeneic model of endometriosis

Thirty female mice of the C57Bl/6 strain, aged 4–8 weeks and weighing 18–20 g, were obtained from the Andreevka Branch of the National Center for Biomedical Technologies (NCBMT) of the Federal Medical Biological Agency (FMBA) of Russia. The animals were maintained under standard conditions, with unrestricted access to water and food for a total of 12 hours per day/night. Two weeks after acclimatization, the animals were included in the experiment. A syngeneic model of endometriosis in mice was obtained by intraperitoneal transplantation of uterine fragments using a method like that described in our previous work [3].

Therapy of animals with proinflammatory macrophages

The RAW264.7 mouse macrophage cell line (Cat. No. 186, BioCollection, Moscow, Russia) was cultured in complete RPMI-1640 medium (PanEco, Russia) with the addition of 10% fetal bovine serum (FBS) (Biowest, Brazil), L-glutamine (PanEco, Russia), and penicillin-streptomycin (PanEco, Russia) at +37 °C and 5% CO₂ in 175 cm² culture flasks (Corning Inc., USA) until a 100% confluent monolayer was achieved.

Then, to polarize macrophages toward a proinflammatory phenotype, according to the protocol presented in our previous study [3], the cells were incubated with lipopolysaccharide (LPS) isolated from *Escherichia coli* O111: B4 (Sigma-Aldrich, USA) (100 ng/ml) for 24 hours. Unpolarized macrophages were used as a control for the therapy. Three weeks after transplantation of uterine fragments, the animals were divided into three groups: “Control” — animals with endometriosis that did not receive macrophage therapy; “Therapy control” — animals with endometriosis that received unpolarized macrophages; “Therapy” — animals with endometriosis that were injected with polarized macrophages with a proin-

flammatory phenotype. After the cells were injected, the animals were removed from the experiment by overdosing them with Zoletil 100 (Virbac, France) and Xylanit (Nita-Farm, Russia) two weeks later. The study was approved by the local ethics committee of the Petrovsky National Research Center for Surgery, protocol No. 3 of March 23, 2023.

Western blot analysis

Following the removal of the animals from the experiment, the endometriosis lesions were extracted and lysed in Protein Solubilization Buffer (PSB) (Bio-Rad Laboratories, USA), which was supplemented with Complete™ Protease Inhibitor Cocktail (Roche, Switzerland), with the objective of obtaining a protein fraction. The protocol for the western blot analysis was executed in accordance with the method outlined in a previously published study [6]. The following primary antibodies were used in the staining procedure: mouse anti-GAPDH (cat. no. 5G4, clone 4G5, HyTest, Russia) (1/5000), rabbit anti-Ki-67 (ab16667, Abcam, UK) (1/1000), and mouse anti-p53 (ab154036, Abcam, UK) (1/1000). Secondary antibodies were used for detection: goat anti-rabbit IgG H&L (HRP) (ab6721, Abcam, UK) (1/5000), goat anti-mouse IgG H&L (HRP) (ab6789, Abcam, UK) (1/2000). The membranes were developed using the Novex™ ECL HRP Chemiluminescent Substrate Reagent Kit (Invitrogen, USA). The signal was detected on a Fusion FX system (Vilber Lourmat, France) using Fusion Software. The relative protein content of the sample was assessed by normalization to the signal of the control protein GAPDH.

Immunohistochemical (IHC) analysis

The extracted endometriosis lesions were preserved in liquid nitrogen, then cryosections were prepared and transferred to Superfrost Plus Microscope Slides (Thermo Fisher Scientific, USA). Prior to staining, the sections were washed with phosphate-buffered saline (PBS) (Panecho, Russia). The sections were then subjected to an overnight incubation with antibodies directed against caspase 3 (AF6311, Affinity Biosciences, China) at a concentration of 1:100. Sub-

sequently, the sections were subjected to a thorough washing process with phosphate-buffered saline (PBS). Thereafter, they were placed into an incubator with secondary antibodies that were rabbit-conjugated with Alexa Fluor 555 (AS058, ABclonal, Inc., China) at a concentration of 1/200 for a duration of one hour at ambient temperature. Subsequently, the nuclei were stained with DAPI (0.1 µg/ml). A quantitative analysis of the content of positively stained cells was performed using QuPath software, developed in the United Kingdom [7].

Statistical analysis

The statistical data processing was performed using GraphPad Prism 8 software (GraphPad Software, USA). The normality of distribution was assessed using the Shapiro-Wilk test. In the case of normal distribution, multiple comparisons of samples were performed using one-way ANOVA with Tukey's post-hoc test. In instances where the distribution was deemed to be non-normal, the non-parametric Kruskal-Wallis test was employed, followed by the Dunn's post-hoc test to identify significant differences.

The analysis was conducted using two-tailed tests and a 95% confidence interval. Statistical significance was defined as $p < 0.05$.

Results and discussion

Proinflammatory macrophages induced a decrease in cell proliferation in endometriosis lesions and supported p53 protein production in them

In established endometriosis lesions following therapy with proinflammatory macrophages, a significant decrease ($p < 0.05$) in the production of the Ki-67 proliferation marker protein was observed compared to control lesions extracted from animals not exposed to therapy (Figure 1 A, B). A parallel decline in protein production was observed in nonpolarized macrophages upon administration.

Furthermore, an assessment was conducted to determine the level of production of the stress-activated protein p53. The investigation revealed that the introduction of macrophages with a proinflammatory

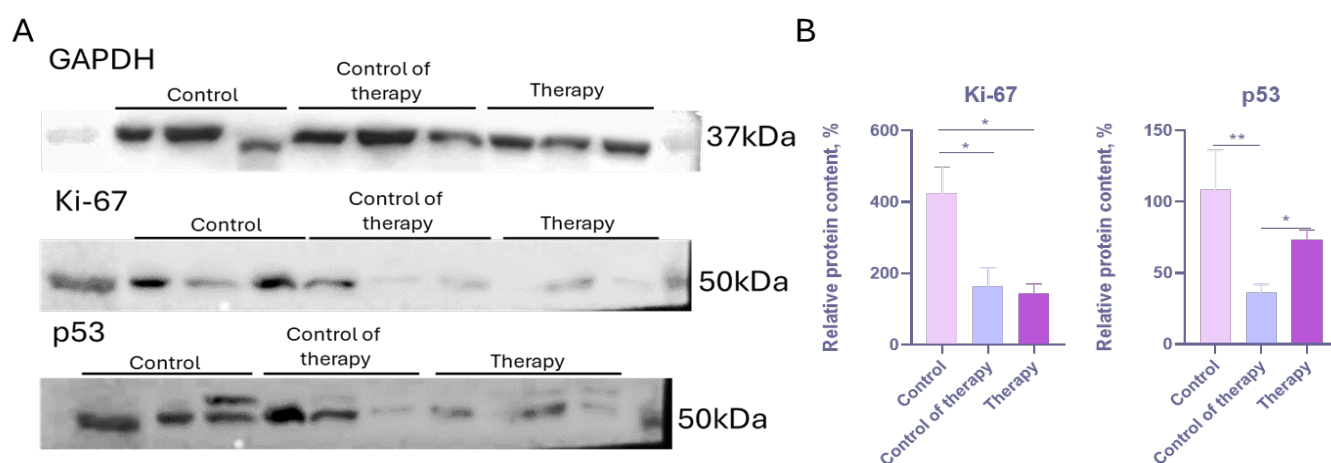


Fig. 1. A. — Western blot analysis of Ki-67, p53 proteins in endometriosis lesions in the "Control", "Control of Therapy", and "Therapy" groups. The reference protein GAPDH was used as a loading control. B — Relative levels of Ki-67, p53 proteins. Statistical analysis was performed using the non-parametric Kruskal-Wallis test with Dunn's post-hoc test (mean with SEM)

Note: * — significance of differences at $p < 0.05$; ** — significance of differences at $p < 0.005$.

phenotype did not suppress the production of p53 protein in endometriosis lesions when compared to the introduction of unpolarized macrophages as a control therapy (Figure 1 A, B).

Proinflammatory macrophages induced apoptosis in endometriosis lesions

As a consequence of the IHC analysis, it was determined that the introduction of macrophages exhibiting both a proinflammatory phenotype and an unpolarized state into animal models resulted in the activation of

effector caspase-3 production in endometriosis lesions cells (Figure 2).

A quantitative analysis of positively stained cells revealed a significant increase ($p < 0.05$ and $p < 0.005$) in the content of cells actively producing caspase 3 following the introduction of macrophages (Figure 3). Concurrently, comparable levels of caspase 3-producing cells were observed subsequent to the introduction of proinflammatory and unpolarized macrophages.

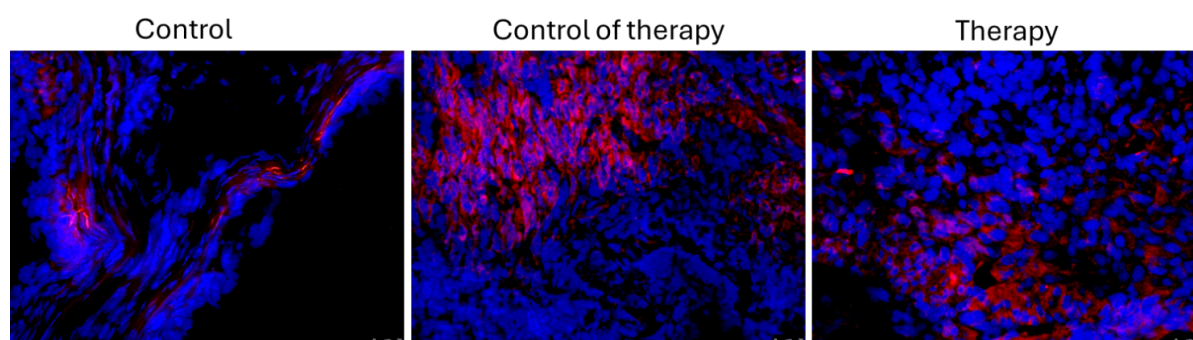


Fig. 2. A — IHC staining of endometriosis lesions against caspase 3 (red) in the “Control”, “Control of Therapy”, and “Therapy” groups. Nuclei are stained with DAPI (blue). Scale bar 25 μm

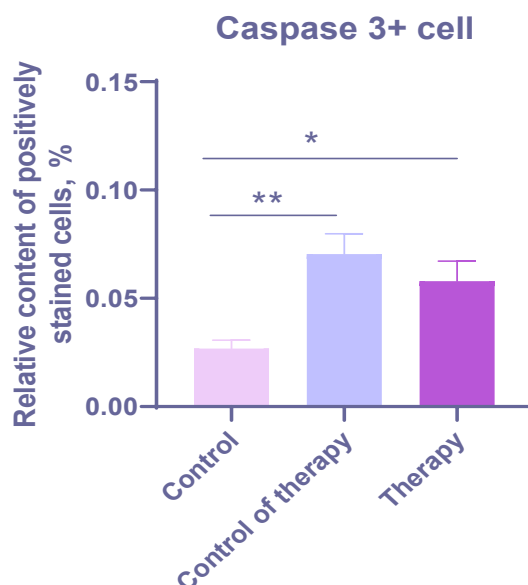


Fig. 3. Relative content of cells positively stained for caspase 3. Statistical analysis was performed using the non-parametric Kraskell-Wallis test with Dunn's post-hoc test (mean with SEM)

Note: * - significance of differences at $p < 0.05$; ** — significance of differences at $p < 0,005$.

Consequently, endometriosis manifests as a highly proliferative disease, exhibiting characteristics reminiscent of malignant neoplasms in its progression [8]. It has been demonstrated in previous studies that macrophages with a proinflammatory phenotype exhibit antitumor activity [9].

A similar therapeutic effect of proinflammatory macrophages in endometriosis has been previously studied [3]. The introduction of macrophages with a proinflammatory phenotype resulted in their migration to the lesions of endometriosis, thereby contributing to a reduction in the number and size of the lesions. Furthermore, the population of peritoneal macrophages was restored to a level corresponding to that observed in animals without endometriosis.

In this study, we sought to investigate the mechanisms by which macrophages with a proinflammatory phenotype exert an anti-endometriosis effect. Thus, we demonstrated that macrophages with a proinflammatory phenotype suppressed cell proliferation and stimulated the production of effector caspase 3, which triggers apoptosis in the cells of the lesions. Previous studies have shown that macrophages with a proinflammatory phenotype suppress proliferation and induce apoptosis in tumor cells [10].

Concurrently, our data suggest that the introduction of unpolarized macrophages into an animal model of endometriosis also led to a significant decrease in Ki-67 protein production compared to the control group, which corresponds to a decrease in cell proliferation in endometriosis lesions. Furthermore, unpolarized macrophages augmented the activation of caspase 3 production in the cells of the lesions in comparison to the control group. Consequently, the transplantation of macrophages that were not polarized towards proinflammatory activation also exerted an inhibitory effect on the growth of endometriosis lesions by suppressing cell proliferation and activating apoptosis. Consequently, unpolarized macrophages may also function as effective agents in the treatment of endometriosis.

Furthermore, it was demonstrated that the introduction of macrophages with a proinflammatory phenotype, in contrast to nonpolarized macrophages, does not result in the suppression of the production

of the stress-induced tumor suppressor protein p53. A previous study indicated that reduced levels of p53 protein production in lesions in patients are associated with a recurrent form of deep endometriosis [11]. Furthermore, a decline in the proapoptotic activity of lesions cells has been observed to be associated with a recurrent form of endometriosis.

Conclusion

In a syngeneic mouse model of endometriosis, we demonstrated that the introduction of polarized macrophages toward a proinflammatory phenotype led to the inhibition of cell proliferation in endometriosis lesions, as well as their apoptosis due to increased production of p53 and caspase 3 proteins. Moreover, unpolarized macrophages have been shown to suppress cellular proliferation in endometriosis lesions and to activate apoptosis.

References / Список литературы

1. Wang PH, Yang ST, Chang WH, Liu CH, Lee FK, Lee WL. Endometriosis: Part I. Basic concept. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2022;61(6):927–934. doi: 10.1016/J.TJOG.2022.08.002.
2. Babayeva EI, Aryutin DG, Novginov DS. Immunologic aspects of pathogenesis of endometrial disease. *RUDN Journal of Medicine*. 2016;(2):123–126. (In Russian) [Бабаева Э.И., Арютин Д.Г., Новгин Д.С. Иммунологические аспекты патогенеза эндометриальной болезни. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2016. № 2. С. 123–126.].
3. Artemova D, Vishnyakova P, Elchaninov A, Gantsova E, Sukhikh G, Fatkhudinov T. M1 macrophages as promising agents for cell therapy of endometriosis. *Heliyon*. 2024;10(16). doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e36340 doi:10.1016/j.heliyon.2024.e36340.
4. Zakhari A, Delpero E, McKeown S, Tomlinson G, Bougie O, Murji A. Endometriosis recurrence following post-operative hormonal suppression: A systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2021; 27: 96–107.
5. Revzoeva YA, Shakurova EY. Endometriosis as a Reason of Intraabdominal Bleeding in Pregnancy. Clinical Case. *RUDN Journal of Medicine*. 2019;23(3):283–289. doi: 10.22363/2313-0245-2019-23-3-283-289. (In Russian) [Ревзоева Ю.А., Шакурова Е.Ю. Эндометриоз как причина внутрибрюшного кровотечения при беременности. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2019. Т. 23. № 3. С. 283–289. doi: 10.22363/2313-0245-2019-23-3-283-289.].
6. Elchaninov A, Vishnyakova P, Lokhonina A, Kiseleva V, Menyailo E, Antonova M, Mamedov A, Arutyunyan I, Bolshakova G, Goldshtein D, Bao X, Fatkhudinov T, Sukhikh G. Spleen regeneration after subcutaneous heterotopic autotransplantation in a mouse model. *Biological Research*. 2023;56(1). doi: 10.1186/s40659-023-00427-4 doi:10.1186/s40659-023-00427-4.
7. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, Dombrowski Y, McArt DG, Dunne PD, McQuaid S, Gray RT, Murray LJ, Coleman HG, James JA, Salto-Tellez M, Hamilton PW. QuPath: Open source software for digital

pathology image analysis. *Scientific Reports*. 2017;7(1):1–7. doi: 10.1038/s41598-017-17204-5.

8. Artemova D, Vishnyakova P, Khashchenko E, Elchaninov A, Sukhikh G, Fatkhudinov T. Endometriosis and cancer: Exploring the role of macrophages. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(10):1–16. doi: 10.3390/ijms22105196.

9. Mantovani A, Allavena P, Marchesi F, Garlanda C. Macrophages as tools and targets in cancer therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2022;21(11):799–820. doi: 10.1038/s41573-022-00520-5.

10. Yuan A, Hsiao Y-J, Chen H-Y, Chen H-W, Ho C-C, Chen Y-Y, Liu Y-C, Hong T-H, Yu S-L, Chen JJW, Yang P-C. Opposite Effects of M1

and M2 Macrophage Subtypes on Lung Cancer Progression. *Scientific Reports*. 2015;5(1):14273. doi: 10.1038/srep14273.

11. Braslavskaya EP, Melkozerova OA, Chistyakova GN, Semenov YuA, Mikhelson AA. Molecular-biological mechanisms of the recurrent course of deep infiltrative endometriosis. *Practical medicine*. 2025;23(2). (In Russian) [Браславская Е.П., Мелкозерова О.А., Чистякова Г.Н., Семенов Ю.А., Михельсон А.А. Молекулярно-биологические механизмы рецидивирующего течения глубокого инфильтративного эндометриоза. *Практическая медицина*. 2025. Т. 23. № 2].

Антипролиферативное и проапоптотическое действие — терапевтическая активность провоспалительных макрофагов при эндометриозе

Д.А. Артемова^{1, 2, 3, 4}  , А.В. Ельчанинов^{1, 3} , П.А. Вишнякова^{2, 4} 

¹НИИ морфологии человека имени академика А.П. Авцына ФГБНУ «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», г. Москва, Российская Федерация

²НИИ молекулярной и клеточной медицины «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Российская Федерация

³Медицинский университет Петровского, г. Москва, Российская Федерация

⁴ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова», г. Москва, Российская Федерация

 artiomova.darya@yandex.ru

Аннотация: *Актуальность.* Эндометриоз, несмотря на длительное изучение, остается заболеванием с недостаточно эффективными и безопасными методами терапии, которые могли бы предотвратить его прогрессирование и улучшить качество жизни пациентов. Разработка новых методов лечения эндометриоза — это актуальная задача современной биомедицины. В связи с этим растет интерес к клеточной терапии, в частности к применению макрофагов. *Цель исследования* — проанализировать влияние введенных в животную модель макрофагов с провоспалительным фенотипом на пролиферацию и выживание клеток в очагах эндометриоза. *Материалы и методы.* На самках мыши линии C57Bl/6 получали сингенную модель эндометриоза путем внутрибрюшинной трансплантации фрагментов матки от мыши-донора. В качестве клеточного агента использовали мышинные макрофаги линии RAW264.7. Затем животных разделяли на группы: «Контроль» — мыши, которым не проводили терапию макрофагами; «Контроль терапии» — мыши, которым вводили неполяризованные макрофаги линии RAW264.7; «Терапия» — мыши с эндометриозом, которым вводили макрофаги линии RAW264.7 с провоспалительным фенотипом. *Результаты и обсуждение.* В результате введения макрофагов с провоспалительным фенотипом мы выявили значимое снижение продукции белка-маркера пролиферации Ki-67, а значимое увеличение продукции эффекторной каспазы 3 в клетках очагов эндометриоза по сравнению с «Контролем». При этом уровень продукции белка-супрессора опухоли p53, участвующих в запуске апоптоза в клетках, был сопоставим с таковым у группы «Контроль», в отличие от группы животных, которым вводились неполяризованные макрофаги. *Выводы.* Мы выявили, что анти-эндометриозная активность макрофагов с провоспалительным фенотипом связана с тем, что их введение в мышиную модель подавляло пролиферацию клеток эндометриоза и усиливало их апоптотическую гибель благодаря активации белков p53 и каспазы 3.

Ключевые слова: эндометриоз, мышинная модель, клеточная терапия, макрофаги

Информация о финансировании. Работа выполнена при поддержке государственного задания № 125050605838-9 «Разработка 3D – биорезорбируемого скаффолда для реконструкции молочной железы».

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования — Д.А. Артемова, А.В. Ельчанинов, П.А. Вишнякова сбор и обработка материалов — Д.А. Артемова, анализ полученных данных, написание текста — Д.А. Артемова, А.В. Ельчанинов, П.А. Вишнякова Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Этическое утверждение. Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены Локальным этическим комитетом ФГБУ «Петровский национальный научно-исследовательский центр хирургии», протокол № 3 от 23 марта 2023 г.

Информация о конфликте интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 14.07.2025. Принята 16.08.2025.

Для цитирования: Артемова Д.А., Ельчанинов А.В., Вишнякова П.А. Антипролиферативное и проапоптотическое действие — терапевтическая активность провоспалительных макрофагов при эндометриозе // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025. Т. 29. № 4. С. 488–495. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-488-495. EDN: AJBSXR

Corresponding author: Artemova Daria Artemovna — Junior researcher at the laboratory of molecular pathophysiology at the Research Institute of Molecular and Cellular Medicine, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Russian Federation, Moscow, 6 Miklukho-Maklaya Street, 117198, E-mail: artiomova.darya@yandex.ru

Artemova D.A. ORCID 0000-0002-7721-6120

Elchaninov A.V. ORCID 0000-0002-2392-4439

Vishnyakova P.A. ORCID 0000-0001-8650-8240

Ответственный за переписку: Артемова Дарья Артемовна — младший научный сотрудник лаборатории молекулярной патофизиологии НИИ Молекулярной и клеточной медицины Российского университета дружбы народов (РУДН), Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6, E-mail: artiomova.darya@yandex.ru

Артемова Д.А. SPIN 2501-6142, ORCID 0000-0002-7721-6120

Ельчанинов А.В. SPIN 5160-9029, ORCID 0000-0002-2392-4439

Вишнякова П.А. SPIN 3406-3866, ORCID 0000-0001-8650-8240



ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И ОБЩЕСТВЕННОЕ ЗДОРОВЬЕ HEALTH POLICY AND PUBLIC HEALTH

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-496-509

EDN AJDFFJ

ORIGINAL RESEARCH

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Results of a comprehensive drug addiction triptych among Moscow teenagers

Aleksey Yu. Abramov¹ , Anton O. Alekseenko^{1,2} , Evgenia A. Koshkina³ ,
Dmitry I. Kicha¹ , Victoria V. Arshinova⁴ , Lydia V. Shchepanskaya¹

¹ RUDN University, Moscow, Russian Federation

² City Clinical Hospital No. 52 of the Moscow City Health Department, Moscow, Russian Federation

³ Moscow Research and Practical Center on Addictions of the Moscow's
Department of Health Care, Moscow, Russian Federation

⁴ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

shchepanskaya_lv@pfur.ru

Abstract. Relevance. One of the objectives of the Anti-Drug Strategy of the Russian Federation until 2030, approved by the Decree of the President of the Russian Federation dated November 23, 2020 № 733, is to improve the drug situation monitoring system, increase the efficiency and objectivity of research in the field of drug control. The document also states that the legal regulation of drug trafficking and anti-drug activities should be carried out taking into account the analysis of the drug situation. Along with monitoring drug use, it is extremely important to study the situation with the use of nicotine-containing substances and alcohol (RF Government Resolution of 20.06.2011 № 485). The study of this problem among the teenage population both in Russia and abroad is of particular relevance for the socio-demographic stability of society. *The aim.* To conduct a comprehensive monitoring of the drug situation among the adolescent population of the city of Moscow. *Materials and Methods.* The data for Moscow served as the material for the comprehensive study: medical statistics of the narcological service, the results of an anonymous survey of first-year college students, pilot interviewing of experts — specialists of the Moscow drug addiction service, working in the field of prevention of addictive behavior among children and adolescents. *Results and Discussion.* A comprehensive study was conducted in the period 2016–2023. A trend of decreasing primary appeals of adolescents for drug addiction treatment was revealed, which is primarily due to a reduction in the group of alcohol consumers, despite this, in general, the situation with adolescent abuse of psychoactive substances remains serious. *Conclusion.* In connection with the obtained results, it is

© Abramov A. Yu., Alekseenko A. O., Koshkina E. A., Kicha D. I., Arshinova V. V., Shchepanskaya L. V., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

advisable to conduct further comprehensive monitoring of the drug situation among students (teenagers) and develop, on its basis, proposals for preventive measures among children, teenagers and young people, including in the educational environment.

Keywords: drug addiction service, psychoactive substances, adolescents, youth, epidemiology, prevention

Funding. The authors received no financial support for the research, authorship, and publication of this article.

Author contributions. A. Yu. Abramov — development of the idea and final approval of the version for publication; A.O. Alekseenko — writing the text of the manuscript, E.A. Koshkina — analysis of statistical material; D.I. Kicha — advisory assistance and editing of the manuscript text; V.V. Arshinova — analysis of the obtained data; L.V. Shchepanskaya — editing a draft version of an article. All authors made a significant contribution to the development of the concept, preparation of the article, read and approved the final version before publication.

Conflict of interest statement. Authors declare no conflict of interest.

Ethics approval — not applicable.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 21.06.2025. Accepted 26.07.2025.

For citation: Abramov AYu, Alekseenko AO, Koshkina EA, Kicha DI, Arshinova VV, Shchepanskaya LV. Results of a comprehensive drug addiction triptych among Moscow teenagers. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):496–509. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-496-509. EDN: AJDFJ

Introduction

One of the objectives of the Anti-Drug Strategy of the Russian Federation until 2030, approved by Decree of the President of the Russian Federation dated November 23, 2020 № . 733, is to improve the drug situation monitoring system, increase the efficiency and objectivity of research in the field of drug control, in addition, the document states that the legal regulation of drug trafficking and anti-drug activities should be carried out taking into account the analysis of the drug situation. It is important to note that the childhood and adolescence period has high risks of starting non-medical use of psychoactive substances (PAS), including alcohol and nicotine-containing products, which is a serious health risk due to the increasing risks of drug addiction [1–4].

The basis of the concept of assessing the “narco-logical situation”, in contrast to the “drug situation”, approved by the Decree of the Government of the Russian Federation of 20.06.2011 № . 485, is the paradigm of creating its multi-component structure for integrating

information on various health risk factors. The purpose of monitoring the drug situation at the local, regional and federal levels is to ensure dynamic observation of the prevalence of substance abuse and drug-related diseases. A comprehensive analysis of the dynamics of medical and social indicators most clearly reveals the negative outcomes and consequences of non-medical use of psychoactive substances [5, 6].

The use of psychoactive substances among teenagers and young people remains an acute medical and social problem both in Russia and abroad. National and international studies are regularly conducted to assess the scale of this problem and identify the main factors influencing the use of psychoactive substances. The data obtained during such studies make it possible to determine trends in the use of psychoactive substances, conduct comparative cross-country analysis, and develop modern preventive strategies and recommendations for preserving the health of the younger generation.

The main international projects in the area under study include the following works.

The WHO Health Behaviour in School-Aged Children (HBSC) study covers 44 countries in Europe and North America and is conducted every four years through a survey of 1500–4000 adolescents in each country. It aims to collect comprehensive data on adolescent health, including risk factors associated with substance use. It is important to note that Russia also participated in the project from 1990 to 2018, and according to the results of the latest study (2017–2018), the rates of alcohol and nicotine-containing substance use showed a downward trend, but the number of 15-year-olds consuming alcohol and nicotine remained high: 59% tried alcohol, 28% smoked cigarettes, and 13% used cannabis. The most pronounced increase in alcohol and nicotine consumption occurred in the 13–15 age group [6–9].

An important international study is the European School Survey Project on Alcohol and Drugs (ESPAD), in which more than 40 countries are participating, with around 100000 students taking part in the latest round of the survey, answering an anonymous questionnaire in the 2019 surveys [6]. The ESPAD project was first implemented in 1995 and was aimed at studying trends in alcohol, tobacco and drug use among students, with the frequency of the study being once every four years. It should be noted that the study was conducted in Russia as a whole in 2007, with Moscow taking part in the project in 1999, 2003 and 2011.

According to ESPAD data for 2019, there is a noticeable decrease in the prevalence of alcohol consumption among 15–16-years old. The average rate of having ever tried alcoholic beverages is 79%, with 47% of respondents reporting drinking alcohol in the last month.

Positive dynamics were also observed in relation to tobacco smoking. If in 1995, 68% of teenagers experimented with smoking at least once in their lives, then in 2019 this figure dropped to 42%. Daily smoking shows a similar downward trend from 20% in 1999 to 10% in 2019. Experts largely attribute the decrease in involvement in tobacco smoking to preventive programs, anti-drug policies, and informing young people about the dangers of tobacco.

The study also found that despite progress in reducing alcohol and tobacco use, there was a worrying rise in cannabis use. Surveys showed that 16% of students reported having tried cannabis at least once in their life, and 7% reported using cannabis in the past 30 days.

The 2019 ESPAD highlights that the increasing popularity of electronic cigarettes and vaping deserves special attention. In a number of countries, up to 40% of adolescents indicate experience of using such devices, while the level of awareness of potential health risks is generally insufficient. A similar situation is observed with regard to new psychoactive substances [10].

The new type of drug threat that the world is facing is also mentioned in various international UN reports. According to the UN Office on Drugs and Crime, the number of new psychoactive substances identified by authorities around the world in 2019 reached 950, while in 2009 the total number of new psychoactive substances identified was 166 [11].

According to the World Drug Report 2022, 5.6% of the world's population aged 15 to 64 used drugs, up 20% from a decade earlier, and cannabis remains the most commonly used drug [12].

The problem of new psychoactive substances is also acute for Russia, as evidenced by the analytical study conducted by V.V. Krizhanova, in which the author assesses the results of the implementation of the state anti-drug policy until 2020. The study noted a change in the structure of primary morbidity associated with an increase in the use of new synthetic or designer drugs among adolescents and young adults up to 39 years of age. The author concludes that over the past 20 years, there has been a trend toward a decrease in the incidence of drug-related disorders among children and adolescents under 18 years of age, however, he emphasizes that the trend toward a decrease in incidence among adolescents and young people may prove unstable [13].

In connection with the above, regular comprehensive monitoring of the drug situation among adolescents and young people remains extremely important for the timely identification of risk factors and the development of targeted preventive programs and methods. Systematic collection and analysis of data allows us to formulate effective strategies aimed at reducing the level

of substance use, strengthening the health of adolescents and young people, and creating conditions for their favorable development.

Materials and methods

1. The study material is provided by the data of the federal statistical observation form № . 37 “Information on patients suffering from alcoholism, drug addiction, toxicomania” and the federal statistical observation form № . 11 “Information on diseases with drug addiction disorders” in Moscow. The statistical research method used was the creation of dynamic series of indicators of primary incidence of mental disorders and behavioral disorders associated with the use of psychoactive substances in adolescents aged 15–17 years from 2016 to 2023, calculation of growth rates and proportional indicators of the structure of appeals by psychoactive substance groups [14–19].

Collection, creation of the database and analysis were carried out using the program Microsoft Office Excel 2016. The calculation of the growth coefficient was carried out using the formula in percentages: $\% = (B-A)/A \cdot 100$, where A = Initial value, and B = Final value.

2. The research material was the answers of first-year students of Moscow colleges during preventive examinations, taking into account their consent, to the questions of the author’s anonymous questionnaire dedicated to the study of healthy lifestyles among young people.

The questionnaire was developed on the basis of the “European School Research Project on Alcohol and Drugs in the Russian Federation”, conducted in the Russian Federation in 2007 [20] and consisted of the following thematic blocks: a) Socio-demographic questions and questions about health preservation; b) Questions related to the use of alcoholic beverages and their availability; c) Questions related to the use of nicotine and availability. The questionnaire also included a question about the availability of narcotics.

The first survey was conducted among students of Moscow medical colleges in the 2016–2017 academic

year (n=1626, of which 17% were boys and 83% were girls).

The second survey was conducted among students of the College of Architecture, Design and Reengineering in the 2022–2023 academic year (n=182, 58% boys, 42% girls).

Most respondents were minors at the time of filling out the questionnaire. Data accumulation, their subsequent adjustment, systematization and analysis were carried out in Microsoft Office Excel 2016 spreadsheets, as well as in a “Google form”.

3. The research material was based on the results of in-depth interviews with experts — specialists from the drug addiction service in Moscow, working in the field of prevention of addictive behavior among children, adolescents and young people, and having significant experience in conducting preventive examinations for the purpose of early detection of illegal use of psychoactive substances among students. The study used data from an interview script devoted to an expert assessment of the drug addiction situation among adolescents and young people in Moscow.

The interviews were conducted in the 2022–2023 academic year and involved eight respondents with more than 1000 preventive interventions: five psychiatrists-narcologists (two men, with 11 and 8 years of experience, and three women with 24, 12, and 11 years of experience) and three medical psychologists (women with 16, 7, and 5 years of experience).

Results and discussion

1. Primary incidence of drug-related disorders among adolescents aged 15–17 in Moscow for 2016–2023 according to state statistics

Due to the peculiarity of the development of drug addiction, the indicator of primary appeal (those who sought drug addiction help for the first time in their lives) is the most informative for studying current trends in the development of drug addiction disorders among adolescents.

The primary incidence rate of drug addiction disorders includes dependence syndromes on alcohol, narcotic drugs, non-narcotic drugs (other toxic substances)

and harmful use (use with harmful consequences) of all listed psychoactive substances, excluding nicotine). Over the period 2016–2023, there was a clear downward trend in the indicator from 468.8 to 196.6 per 100 thousand adolescents, the growth rate was 58% (Figure 1).

The downward trend in the primary appeals of adolescents for this can be explained by a 69% decrease in the alcohol consumption rate. Over the entire analyzed period, the share of primary appeals among adolescents with alcohol disorders prevailed and only in 2020–2021 the indicator the rate of primary treatment for alcohol disorders was almost equal to the rate of primary treatment for adolescents caused by drug and non-narcotic substance use, then in 2022 the rate of treatment for alcohol disorders increased slightly, and then decreased in 2023 to the level of 2021, and again exceeded the level of primary appeals for drugs and other psychoactive substances. The indicator of primary appeals of adolescents with drug-related disorders caused by drug use and sub-

stance abuse per 100 thousand adolescents showed a decrease of only 9%.

The syndrome of dependence on psychoactive substances in teenagers has its own peculiarity. When teenagers abuse psychoactive substances, it does not have time to form yet, and its indicators are significantly lower than the indicators of use with harmful consequences. During the analyzed period, the primary incidence rate of drug addiction increased threefold, and alcoholism increased slightly from 0.7 to 0.9 per 100 thousand adolescents, with the highest value of these two indicators observed in 2022 (Figure 2).

Over the entire analyzed period, the structure of drug consumption among adolescent users was dominated by substances belonging to the group “other drugs and their combinations”, which most likely includes new synthetic or designer drugs, with the peak in use also in 2022 (Figure 3).

It is important to note the pronounced trend of decreasing injection drug use by adolescents by 97% (Figure 4).

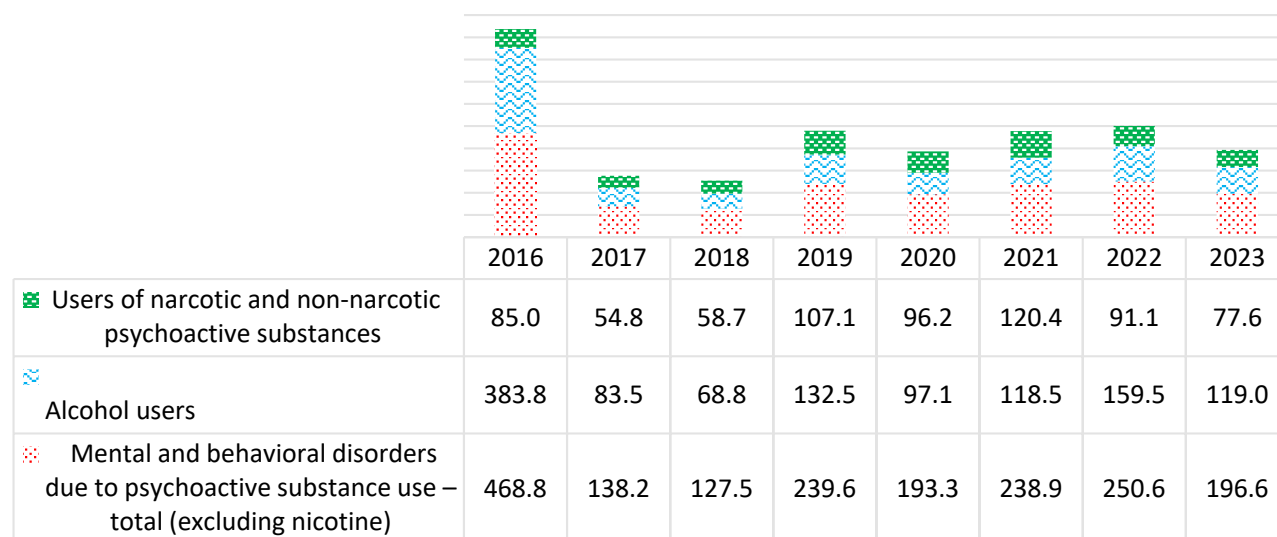


Fig. 1. The dynamics of primary incidence (total, excluding nicotine) of drug-related disorders among adolescents aged 15–17 in Moscow for 2016–2023 (per 100 thousand teenagers)

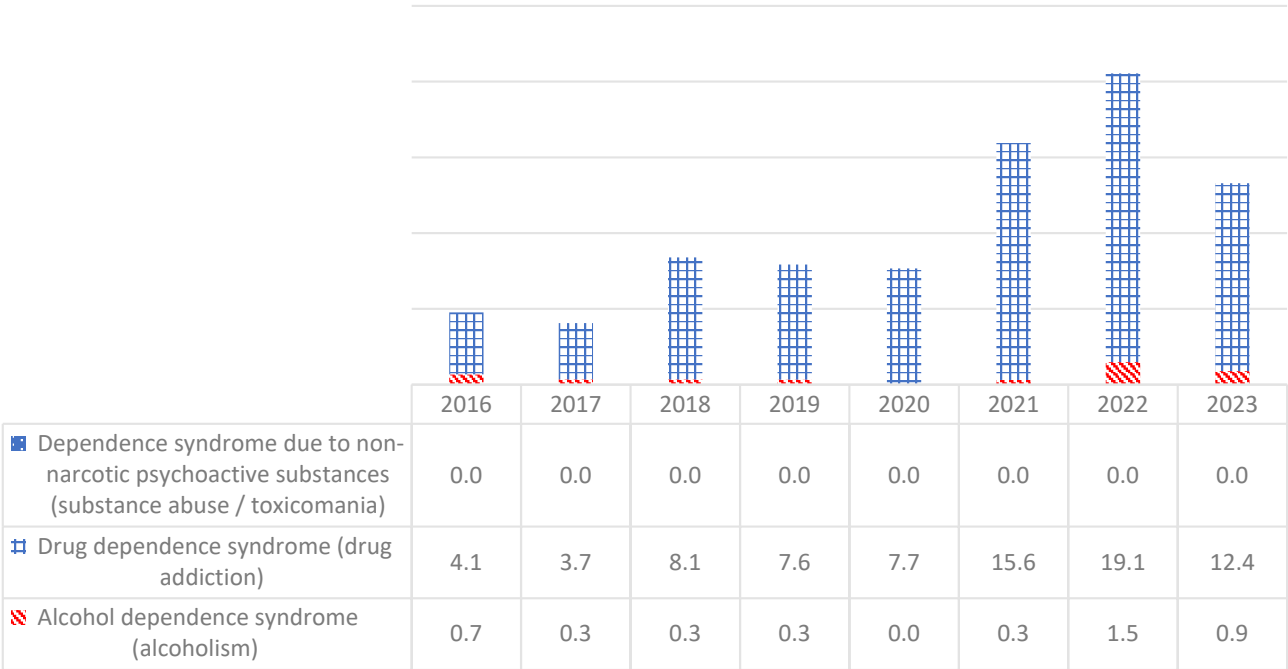


Fig. 2. The dynamics of primary appeals among adolescents aged 15–17 with addiction syndrome in Moscow for 2016–2023 (per 100 thousand teenagers)

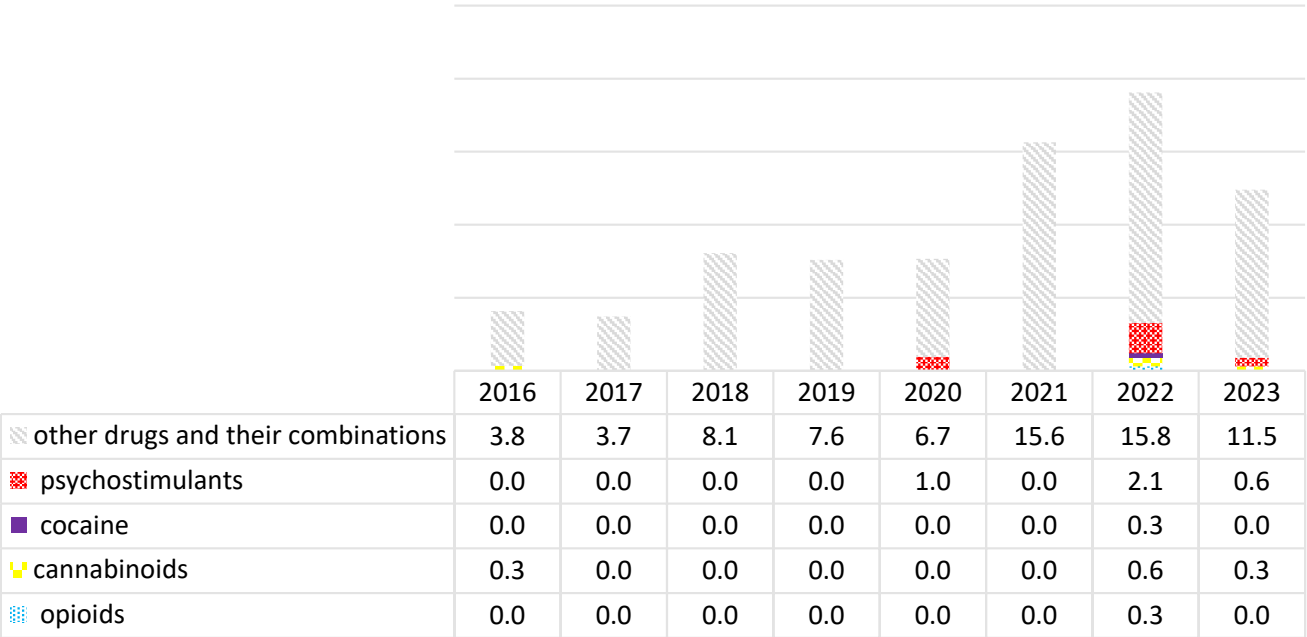


Fig. 3. Structure of primary treatment among adolescents aged 15–17 years with drug dependence syndrome (drug addiction) by types of drugs in Moscow for 2016–2023 (per 100 thousand adolescent population)

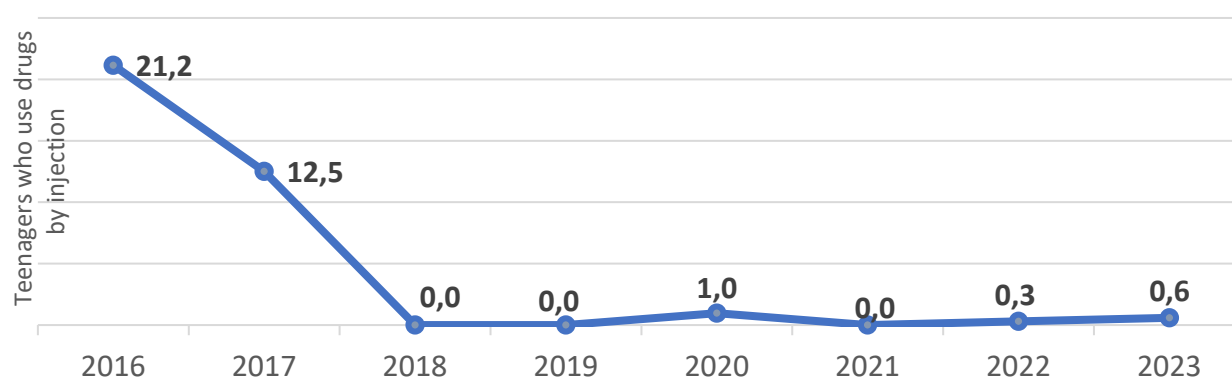


Fig. 4. The dynamics of injection drug use among adolescents aged 15–17 years out of the total number of drug users in Moscow for 2016–2023 (per 100 thousand teenagers)

At the same time, for the period 2018–2023, according to the results of preventive medical examinations for the early detection of illegal use of psychoactive substances, in accordance with the order of the Ministry of Health of Russia dated 06.10.2014 No. 581n, the use of cannabinoids was most frequently detected. It is also

important to emphasize that, over the entire analyzed period of professional examinations, the largest share of identified cases of illegal use of psychoactive substances occurred in medium-sized professional organizations (colleges), which had not yet sought specialized assistance (Table 1).

Structure of substances identified based on the results of professional medical examinations of students for 2018–2023 in Moscow (in absolute numbers)

Table 1

Parameters	2018	2019	2020	2021	2022	2023
TOTAL, including:	68	52	17	18	10	41
opioids	5	3	0	0	1	0
cannabinoids	55	43	10	0	8	25
sedatives and hypnotics	1	3	0	0	0	0
stimulants (including cocaine)	2	2	3	0	1	2
hallucinogens	0	0	0	0	0	0
other psychoactive substances (including volatile solvents)	0	0	0	0	0	14
two or more narcotic drugs and (or) psychotropic substances/	5	1	4	0	0	0

Overall, over the period 2016–2023, the majority of adolescents who sought drug addiction treatment for the first time were diagnosed with harmful use (use with harmful consequences). The largest proportion of adolescents sought treatment with harmful alcohol use, and this indicator decreased by 69% over the

analyzed period. The decrease in the rate of primary treatment for harmful drug use was less pronounced and amounted to 25%, the increase in primary treatment for harmful use of non-narcotic psychoactive substances amounted to 24% with a peak value of the indicator in 2022 (Figure 5).

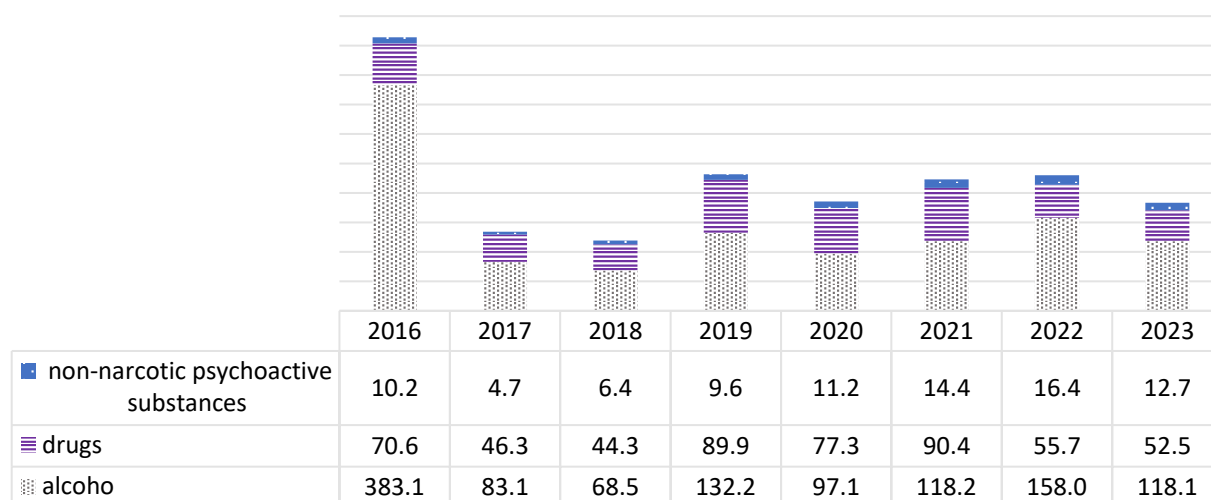


Fig. 5. The dynamics of primary incidence of drug abuse among adolescents aged 15–17 years (with harmful consequences) in Moscow in 2016–2023 (*per 100 thousand teenagers*)

2. Prevalence of use of various methods of nicotine delivery, as well as alcohol, among underage first-year students of Moscow colleges in 2017 and 2023

To study the prevalence of cigarette use, other methods of nicotine delivery, and alcohol, questions about the amount of use, age of first try, and availability of these groups of psychoactive substances and drugs were included in the corresponding section of the questionnaire.

Based on the results of an analysis of anonymous survey data from first-year college students in Moscow for 2017 and 2023, a large proportion of students were found to have experience of drinking alcohol, smoking cigarettes and e-cigarettes (vaping), including their systematic use (more than 40 times during their lifetime). It should be noted that a significant increase in the systematic use of electronic cigarettes (vaping) was observed among students in 2023, which may indicate an increase in the consumption of this group of psychoactive substances among the young population, along with the continued volume of cigarette consumption.

In both periods, the highest proportion of students had their first e-cigarette use at age 9 and younger, with a more noticeable upward trend in first e-cigarette use

among students in 2023, starting at age 9 and younger, and a marked increase from age 12.

A study of the first alcohol samples to the state of intoxication (severe intoxication) showed that among students in 2017, the upward trend in the indicator began at age 14 and peaked at age 16 and older. Among students in 2023, a marked increase in the indicator was also observed from age 14, but the peak value occurred at age 15.

A study of the availability of various psychoactive substances, including drugs, among students showed a general trend of decreasing opportunities to acquire them, however, the proportion of students who could acquire psychoactive substances if they wanted to remained high, including nasvay and drugs, which more than 1/3 of students could acquire if they wanted to in both periods.

Let us consider the survey results described in more detail.

In both 2017 and 2023, a large proportion of students with experience of smoking cigarettes was observed, while during the analyzed period of time, no significant differences were observed (43.6% and 44.2%, respectively), including in comparison with the indicator of students who smoked cigarettes 40 times or more (17.7% and 18.1%, respectively). It is important to note

that students who have had smoking experience more than 40 times require special attention, as this indicator may indicate systemic smoking and an increased risk of developing addictive behavior (Table 2).

The results of comparing the responses for the analyzed periods determined a trend of increasing consumption of electronic cigarettes (vape), as the proportion of students who smoked an electronic cigarette at least once in their lives increased from 35.7% to 46.7%, while a significant increase in the

proportion was observed among students who smoked electronic cigarettes (vape) 40 times or more from 5.4% to 24.2%.

The proportion of students who had experience using nasvay in both periods did not exceed 5%.

The proportion of students who had no experience of drinking alcohol in both periods was less than 1/3, while in 2023 the rate of drinking alcohol almost reached 70%. The rate of students who drank alcohol 40 times or more did not change significantly and averaged 14%.

Table 2

Use of various methods of nicotine and alcohol delivery among Moscow college students during their lifetime (as a percentage (%) of the entire sample of respondents in 2017 and 2023)

Method of delivery of nicotine and alcohol	2017(n=1626)	2023(n=182)	Changes 2023/2017
Cigarettes			
Used:	43,6	44,2	0,6
40 and more	17,7	18,1	0,4
Electronic cigarettes (vape)			
Used:	35,7	46,7	11
40 and more	5,4	24,2	18,8
Nasvay			
Used:	2,2	4,4	2,2
40 and more	0,5	0,5	0
Alcohol			
Used:	60,3	67,5	7,2
40 and more	14,9	13,2	-1,7

The analysis of the rate of first cigarette tries among students in 2017 and 2023 has a number of similar features: among both groups, about 4% had the experience of first tries at the age of 9 years or younger, at 12 years old in both groups there was a peak of first tries, the second peak was noted at the age of 14 years, and the third peak in both groups occurred at the age of 16 years and older (Table 3).

The indicator of the age of the first samples had its own peculiarities. It will play a role if among students in 2017 the indicator did not reach 1% until the age of 13, and the subsequent increase with the peak value of the first samples at the age of 16 and older, then among students in 2023 the indicator of the first samples of 1% was already at the age of 9 and younger. and a more

pronounced increase in the indicator has been observed since the age of 12, reaching a peak at the age of 16 and older.

The rate of the first alcohol samples before feeling intoxicated (which may already indicate a pronounced toxic effect on the body) among students in 2017 exceeded the value of 1% at the age of 12, and starting at the age of 14, there was a marked increase with a peak of 18.4% at the age of 16 and older.

Among the students of 2023, the indicator at the age of 9 and younger was already more than 1% and showed an upward trend by the age of 10, a marked increase in the indicator was observed from the age of 14 with a peak of 18% at the age of 15.

Table 3

Age of first trials of various methods of nicotine and alcohol delivery among students of Moscow colleges (as a percentage (%) of the entire sample of respondents in 2017 (n=1626) and 2023 (n=182))

Parameters	Age of first samples in years/							
	≤ 9	10	11	12	13	14	15	≥16
Cigarettes in 2017 (%)	4	2,4	1,8	4,3	3,5	7,7	7,2	13,4
Cigarettes in 2023 (%)	4,9	2,1	3,8	7,1	4,3	10,9	4,3	7,6
Electronic cigarettes (vape) in 2017 (%)	0,1	0,3	0,3	0,7	1,6	4	6,6	18,6
Electronic cigarettes (vape) in 2023 (%)	1	1	1,6	3,2	5,4	8,2	8,2	11,4
Felt alcoholic intoxication 2017 (%)	0,6	0,3	0,4	1,6	1,1	3,8	5	18,4
Felt alcoholic intoxication 2023 (%)	1,6	3,3	0,5	3,8	2,7	12	18	8,2

A study of the availability of various surfactants, including drugs, among students has identified a general trend towards an increase in the proportion of responses indicating the inability to purchase cigarettes, e-cigarettes, alcohol, and drugs (Table 4).

Despite this, among the students (2017 and 2023), there was a pronounced proportion of those who could purchase: cigarettes (80.3% and 60.3%), electronic cigarettes (78.8% and 61.4%), alcohol (77.6% and 57.0%). It is noteworthy that more than 1/3 of the respondents in both periods answered that they could purchase a product that was prohibited for sale on the territory of the Russian Federation (50.6% and 32.8%). It should also be noted that the proportion of students who replied that they could purchase drugs with similar data to ours (47% and 31.9%).

3. Expert assessment of the drug treatment situation in Moscow among adolescents and youth in the period 2022–2023.

The majority of experts assessed the drug treatment situation in Moscow by choosing the criterion “serious”, and two noted the criterion “risk of deterioration”.

According to experts, the assessment of the debut of the first surfactant samples in Moscow had the following trends: cigarettes — in the period of 8–10 years; alcohol — in the period of 10–13 and 14–15 years; drugs — in the period of 14–15 and 18 years.

According to experts, the reasons why teenagers and young people begin to abuse various surfactants are based on risk factors such as stress and the inability to overcome it, the desire to quickly get positive emotions, family traditions and destructive families, lack of affordable leisure activities, “psychological illiteracy” — a lack of understanding of their feelings, states, emotions, thoughts, lack of interpersonal skills, infantilism and adolescent maximalism.

The results of interviewing experts led to the conclusion that measures to prevent addiction among

Table 4

Availability of different delivery methods for nicotine, alcohol (bottles of strong alcoholic beverage (about 500 ml), drugs (as a percentage (%) of the entire sample of respondents in 2017 (n=1626) and 2023 (n=182))

Parameters	Cigarettes		Electronic cigarettes (vape)		Nasvay		Alcohol		Drugs	
	2017	2023	2017	2023	2017	2023	2017	2023	2017	2023
Impossible	11	26,4	9,6	25,8	21,5	39,6	11	28	28,9	44,5
Very difficult	2,6	3,3	6,4	4,9	22,1	7,6	13,4	6,5	25,7	13,7
Quite difficult	3,8	6,5	7,7	6,5	6,9	12,1	14,3	9,3	8,3	6,1
Pretty simple	25,6	20,3	26,1	15,9	8	6	18,2	18,7	5,4	5,5
Very simple	48,3	30,2	38,6	34,1	13,6	7,1	31,7	22,5	7,6	6,6
Don't know	8,6	13,2	11,6	12,6	27,9	27,5	11,4	14,8	24,1	23,6

adolescents and young people require: an increase in the number of specialized specialists and a systematic improvement of their competencies; further development of interdepartmental interaction between all subjects of prevention; standardization of preventive work; implementation of practices supported by proven effectiveness.

Results and Discussion

During the period 2016–2023, there was a decrease in the primary referral of adolescents aged 15–17 years for drug treatment to state specialized institutions in Moscow. At the same time, there was an increase in the number of adolescents who developed drug dependence syndrome, among whom the group of “other drugs and their combinations” prevailed, which may indicate an increase in the use of “new or designer drugs” among adolescents and their high narcogenicity (the ability to form addiction). This trend coincides with the UN data and the results of the analysis of Russia’s anti-drug policy until 2020 conducted by V.V. Kirzhanova [11–13]. In addition, data on the results of preventive medical examinations of students for the early detection of illicit surfactant use in Moscow showed that the most common surfactants were cannabinoids, which may also indicate the general trend of ESPAD in 2019 on the prevalence of adolescent use of cannabinoids, as well as data from the UN World Drug Report 2022 [10], that cannabis was still the most used drug. It is important to note a pronounced positive trend in the reduction of injecting drug use by adolescents, which reduces the risks of HIV and hepatitis C spreading among the young population. An anonymous survey of students showed a large proportion of the child and adolescent population with experience in using cigarettes and alcohol, as well as a marked increase in the proportion of systematic e-cigarette users in a comparison of 2017–2023 data, which confirms the trend set by ESPAD for 2019, an increase in the popularity of electronic nicotine delivery methods among children and adolescents.

It is worth noting that the results of the 2017–2023 survey on cigarette smoking at least once in a lifetime were similar to the average ESPAD for 2019 (42%),

while the rate of those who tried alcohol was less than the average ESPAD for 2019.

Attention is drawn to the continued availability of surfactants, including drugs, for adolescent youth.

The described assessment of the drug addiction situation among adolescents in Moscow for 2016–2023 confirms the conclusions made by V.V. Kirzhanova in Russia as a whole for 2010–2020 that the downward trend in drug addiction among adolescents and youth may be unstable, this also correlates with the assessment of the drug situation according to the experts interviewed [13].

Conclusion

Monitoring of the drug situation has shown the need for further development of comprehensive prevention among adolescents and youth in Moscow with the participation of all subjects of the prevention of the use of surfactants. Special attention should be paid to new methods (systems) of nicotine delivery, “new or designer” drugs, with an emphasis on preventive interventions starting at the age of 8 to eliminate the first sample of surfactants. Anti-drug preventive interventions should become standardized procedures based on evidence-based effectiveness and take into account the age characteristics of the persons being prevented.

In order to improve the drug treatment situation among adolescents and young people, it is advisable to conduct mandatory systematic multicomponent epidemiological research in all regions of the Russian Federation.

References / Список литературы

1. Abreu-Villaça Y, Seidler FJ, Qiao D, Tate CA, Cousins MM, Thillai I, Slotkin TA. Short-term adolescent nicotine exposure has immediate and persistent effects on cholinergic systems: critical periods, patterns of exposure, dose thresholds. *Neuropsychopharmacology*. 2003;28(11):1935–1949.
2. Principles of Adolescent Substance Use Disorder Treatment: A Research-Based Guide. *Pravovaya-narkologiya.rf* [Accessed 2024 July 13] Available from: https://pravovaya-narkologiya.rf/images/documents/megd_doc/2014_princiry_lecheniy_podrozkovyh_rasstroystv.pdf (In Russian). [Принципы лечения подростковой наркотической зависимости: руководство, основанное на исследованиях. Правовая-наркологи.рф. Дата обращения: 13.07.2024. https://pravovaya-narkologiya.rf/images/documents/megd_doc/2014_princiry_lecheniy_podrozkovyh_rasstroystv.pdf].
3. Drugs, brains, and behavior the science of addiction. *Pravovaya-narkologiya.rf* [Accessed 2024 January 05] Available from: <https://pravovaya-narkologiya.rf>

pravovaya-narkologiya.rf/images/documents/megd_doc/2008_nida_narcotiki_mozg_i_povedenie_nauka_o_zavisimosti.pdf (In Russian) [Наркотики, мозг и поведение: наука о зависимости. Правовая-наркологи.рф. Дата обращения: 05.01.2024 https://pravovaya-narkologiya.rf/images/documents/megd_doc/2008_nida_narcotiki_mozg_i_povedenie_nauka_o_zavisimosti.pdf].

4. Panov AS, Zastrozhin MS, Skryabin VYu. Epidemiology of simultaneous drug addiction and mental disorders in adolescence. *Bulletin of Neurology, Psychiatry and Neurosurgery*. 2021;10:783–799. (In Russian) doi: 10.33920/med-01–2110–05 [Панов А.С., Застрожин М.С., Скрыбин В.Ю. Эпидемиология симультанных наркологических и психических расстройств в подростковом возрасте // Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии. 2021. № 10. С. 783–799. doi: 10.33920/med-01–2110–05].

5. Koshkina EA, Kirzhanova VV, Ruzhnikov Yu N. *Modern epidemiological methods of monitoring the prevalence of drug use: Analytical review*. The publication was prepared at the State Scientific Center of Narcology edited by Doctor of Medical Sciences, Professor E.A. Koshkina. M.: limited liability company “Rainbow Printing Services Center”. 2005. 245 p. (In Russian) [Кошкина Е.А., Киржанова В.В., Ружников Ю.Н. Современные эпидемиологические методы мониторинга распространенности употребления наркотиков: Аналитический обзор. Издание подготовлено в ГУ ННЦ наркологии под ред. д.м.н., профессора Кошкиной Е.А. М.: ООО “Центр полиграфических услуг “РАДУГА”, 2005. — 245 с.].

6. World Health Organization; Regional Office for Europe. Growing up inequalities: genetic and socioeconomic differences in health and behaviour in children and adolescents. Health Behaviour in School-aged Children (HBSC) study: international report of the 2013/2014 survey. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2016. 276 p. // WHO [Accessed 2025 April 19] Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/343790> (In Russian) [Всемирная организация здравоохранения; Европейское региональное бюро. Неравенства в период взросления: гендерные и социально-экономические различия в показателях здоровья и благополучия детей и подростков. Исследование “Поведение детей школьного возраста в отношении здоровья” (HBSC): международный отчет по результатам исследования 2013/2014 гг. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ, 2016. 276 с. // ВОЗ (дата обращения: 19.04.2025) <https://apps.who.int/iris/handle/10665/343790>].

7. World Health Organization; Regional Office for Europe. Growing up inequalities: gender and socioeconomic differences in the health and well-being of children and adolescents. Key findings from the 2013/2014 Health Behaviour in School-aged Children (HBSC) survey in the Russian Federation. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2016. 9 p. // WHO [Accessed 2025 April 19] Available from: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0020/325523/HSBC-key-findings-fromthe-20132014-survey-in-the-Russian-Federation-ru.pdf (In Russian) [Всемирная организация здравоохранения; Европейское региональное бюро. Неравенства в период взросления: гендерные и социально-экономические различия в показателях здоровья и благополучия детей и подростков. Основные данные по результатам исследования “Поведение детей школьного возраста в отношении здоровья” (HBSC) 2013/2014 гг. в Российской Федерации. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ, 2016. 9 с. // ВОЗ (дата обращения: 19.04.2025) https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0020/325523/HSBC-key-findings-fromthe-20132014-survey-in-the-Russian-Federation-ru.pdf].

8. World Health Organization; Regional Office for Europe. Focus on adolescent health and well-being. Results from the Health Behaviour in School-aged Children (HBSC) 2017/2018 survey in Europe and Canada. T. 1. Key results. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2020 // WHO [Accessed 2025 April 19] Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/332100/9789289055024-rus.pdf> (In Russian) [Всемирная организация здравоохранения; Европейское региональное бюро. В центре внимания здоровье и благополучие подростков. Результаты исследования “Поведение детей школьного возраста в отношении здоровья” (HBSC) 2017/2018 гг. в Европе и Канаде. Т. 1. Основные результаты. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ, 2020 // ВОЗ (дата обращения: 19.04.2025) <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/332100/9789289055024-rus.pdf>].

9. World Health Organization; Regional Office for Europe. Focus on adolescent health and well-being. Results from the Health Behaviour in School-aged Children (HBSC) 2017/2018 survey in Europe and Canada. T. 2. Basic data. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2020 // WHO [Accessed 2025 April 19] Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/333064/9789289055123-rus.pdf> (In Russian) [Всемирная организация здравоохранения; Европейское региональное бюро. В центре внимания здоровье и благополучие подростков. Результаты исследования “Поведение детей школьного возраста в отношении здоровья” (HBSC) 2017/2018 гг. в Европе и Канаде. Т. 2. Основные данные. Копенгаген: Европейское региональное бюро ВОЗ, 2020 // ВОЗ (дата обращения: 19.04.2025) <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/333064/9789289055123-rus.pdf>].

10. New ESPAD results: teenage drinking and smoking down, but concerns over risky cannabis use and new addictive behavior // ESPAD [Accessed 2024 May 04] Available from: <https://www.espad.org/content/new-espad-results-teenage-drinking-and-smoking-down-concerns-over-risky-cannabis-use-and-new>.

11. Cross-cutting issues: evolving trends and new challenges // United Nations Office on Drugs and Crime [Accessed 2025 February 16] Available from: https://wdr.unodc.org/wdr2020/field/WDR20_BOOKLET_4.pdf.

12. World Drug Report 2024 // United Nations Office on Drugs and Crime [Accessed 2024 February 16] Available from: https://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR_2024/languages/2412382R.pdf (In Russian) [Всемирный доклад о наркотиках 2024 год // Управление Организации Объединенных Наций по наркотикам и преступности (дата обращения: 16.02.2025) https://www.unodc.org/documents/data-and-analysis/WDR_2024/languages/2412382R.pdf].

13. Kirzhanova VV. Drug situation in the Russian Federation in light of the implementation of the state anti-drug policy. *Issues of Narcology*. 2021;10(205):5–37. doi: 10.47877/0234–0623_2021_10_5 (In Russian) [Киржанова В.В. Наркоситуация в Российской Федерации в свете реализации государственной антинаркотической политики // Вопросы наркологии. 2021. № 10(205). С. 5–37. doi: 10.47877/0234–0623_2021_10_5].

14. Kirzhanova VV, Grigorova NI, Bobkov EN, Kirzhanov VN, Sidoryuk OV. The state and activities of the narcological service in the Russian Federation in 2021: Analytical review. — M.: Federal State Budgetary Institution “V.P. Serbsky National Medical Research Center for PN” of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2022. 202 p. (In Russian) [Киржанова В.В., Григорова Н.И., Бобков Е.Н., Киржанов В.Н., Сидорюк О.В. Состояние и деятельность наркологической службы в Российской Федерации в 2021 году: Аналитический обзор. М.: ФГБУ “НМИЦ ПН им. В.П. Сербского” Минздрава России. 2022. 202 стр.].

15. Kirzhanova VV. The state and activities of the narcological service in the Russian Federation in 2022: Analytical review. — M.: Federal State Budgetary Institution “V.P. Serbsky National Medical Research Center for PN” of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2023. 43 p. (In Russian) [Киржанова В.В. Состояние и деятельность наркологической службы в Российской Федерации в 2022 году: Аналитический обзор. М.: ФГБУ “НМИЦ ПН им. В.П. Сербского” Минздрава России. 2023. 43 стр.].

16. The state and activities of the narcological service in 2017. Analytical review: Moscow — 2019 NNC of Narcology — branch of the Federal State Budgetary Institution “V.P. Serbsky National Medical Research Center of Psychiatry and Narcology” Available from: http://nnn.serbsky.ru/wp-content/uploads/2019/03/Анал_обоз_нарко_2017_фин-1–1.pdf (In Russian) [Состояние и деятельность наркологической службы в 2017 году. Аналитический обзор: Москва — 2019 ННЦ наркологии — филиал ФГБУ “Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского” http://nnn.serbsky.ru/wp-content/uploads/2019/03/Анал_обоз_нарко_2017_фин-1–1.pdf].

17. Activities of the narcological service of the Russian Federation in 2017–2018. Analytical review. Moscow, 2020. NNC of Narcology — branch of the Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center of Psychiatry and Narcology named after V.P. Serbsky”. Available from: <http://nnn.serbsky.ru/wp-content/uploads/2020/10/Наркомическое-весна-РФ.-АО-2017–2018.pdf> (In Russian) [Деятельность наркологической службы

Российской Федерации в 2017–2018 годах. Аналитический обзор. Москва, 2020. ННЦ наркологии — филиал ФГБУ “Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского”. <http://nncn.serbsky.ru/wp-content/uploads/2020/10/Наркологическая-служба-РФ.-АО-2017–2018.pdf>].

18. Activities of the narcological service of the Russian Federation in 2018–2019. Analytical review. Moscow, 2020. NNC of Narcology — branch of the Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center of Psychiatry and Narcology named after V.P. Serbsky”. Available from: <http://nncn.serbsky.ru/wp-content/uploads/2020/10/Наркомическое-весна-РФ.-АО-2018–2019.pdf> (In Russian) [Деятельность наркологической службы Российской Федерации в 2018–2019 годах. Аналитический обзор. Москва, 2020. ННЦ наркологии — филиал ФГБУ “Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского”. <http://nncn.serbsky.ru/wp-content/uploads/2020/10/Наркологическая-служба-РФ.-АО-2018–2019.pdf>].

19. Activities of the narcological service of the Russian Federation in 2019–2020. Analytical review Moscow, 2021. NNC of Narcology — branch

of the Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center of Psychiatry and Narcology named after V.P. Serbsky” Ministry of Health of the Russian Federation. Available from: <http://nncn.serbsky.ru/wp-content/uploads/2021/12/Наркомическое-СлужбаРФ-АО2019–2020.pdf> (In Russian) [Деятельность наркологической службы Российской Федерации в 2019–2020 годах. Аналитический обзор Москва, 2021. ННЦ наркологии — филиал ФГБУ “Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского” Минздрава России. <http://nncn.serbsky.ru/wp-content/uploads/2021/12/Наркологическая-СлужбаРФ-АО2019–2020.pdf>].

20. Vyshinsky KV, Pavlovskaya NI, Gurtovenko VM. European School Research Project on Alcohol and Drugs in the Russian Federation. ESPAD-2007. V.P. Serbsky National Medical Research Center of Psychiatry and Narcology. — Moscow. 2009. 119 p. (In Russian) [Вышинский К.В., Павловская Н.И., Гуртовенко В.М. Европейский проект школьных исследований по алкоголю и наркотикам в Российской Федерации. ESPAD-2007 // Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В.П. Сербского. Москва. 2009. 119 с.].

Результаты комплексного мониторинга наркологической ситуации среди подростков Москвы

А.Ю. Абрамов¹ , А.О. Алексеенко^{1, 2} , Е.А. Кошкина³ , Д.И. Кича¹ ,
В.В. Аршинова⁴ , Л.В. Щепанская¹  

¹ Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

² Городская клиническая больница № 52, г. Москва, Российская Федерация

³ Московский научно-практический центр наркологии Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва, Российская Федерация

⁴ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Российская Федерация
 shchepanskaya_lv@pfur.ru

Аннотация. *Актуальность.* Одной из задач Антинаркотической стратегии Российской Федерации до 2030 г., утвержденной Указом Президента Российской Федерации от 23.11.2020 г. № 733, является совершенствование системы мониторинга наркоситуации, повышение оперативности и объективности исследований в сфере контроля за оборотом наркотиков. В документе также указывается, что нормативно-правовое регулирование оборота наркотиков и антинаркотической деятельности должно осуществляться с учетом анализа наркоситуации. Наряду с мониторингом употребления наркотиков чрезвычайно важно изучать ситуацию с употреблением никотинсодержащих веществ и алкоголя (постановление Правительства Российской Федерации от 20.06.2011 № 485). Особую актуальность для социально-демографической стабильности общества имеет изучение данной проблемы среди подросткового населения как в России, так и за рубежом. *Цель исследования:* проведение комплексного мониторинга наркологической ситуации среди подросткового населения города Москвы. *Материалы и методы:* материалом комплексного исследования послужили данные по г. Москве: медицинская статистика наркологической службы, результаты анонимного анкетирования обучающихся первых курсов колледжей, пилотное интервьюирование экспертов — специалистов наркологической службы Москвы, работающих в сфере профилактики зависимого поведения среди детей, подростков. *Результаты и обсуждение.* Комплексное исследование было проведено в период 2016–2023 гг. Выявлена тенденция снижения первичной обращаемости подростков за наркологической помощью, что, в первую очередь, связано с сокращением группы потребителей алкоголя, несмотря на это, в целом, ситуации с злоупотреблением подростками психоактивных веществ остается серьезной. *Выводы.* В связи с полученными результатами целесообразно проведение дальнейшего комплексного мониторинга наркологической

ситуации среди обучающихся (подростковой молодежи) и разработка на его основе предложений по мерам профилактики среди детей, подростков и молодежи, в том числе в образовательной среде.

Ключевые слова: наркологическая служба, психоактивные вещества, подростки, молодежь, эпидемиология, профилактика

Информация о финансировании. Авторы не получали финансовую поддержку для исследования, написания и публикации данной статьи.

Вклад авторов. А.Ю. Абрамов — разработка идеи и окончательное утверждение версии для публикации; А.О. Алексеенко — написание текста рукописи; Е.А. Кошкина — анализ статистического материала; Д.И. Кича — консультативная помощь и редактирование текста рукописи; В.В. Аршинова — анализ полученных данных; Л.В. Щепанская — редактирование черновой версии статьи. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 21.06.2025. Принята 26.07.2025.

Для цитирования: Абрамов А.Ю., Алексеенко А.О., Кошкина Е.А., Кича Д.И., Аршинова В.В., Щепанская Л.В. Результаты комплексного мониторинга наркологической ситуации среди подростков Москвы // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025. Т. 29. № 4. С. 496–509. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-496-509. EDN: AJDFFJ

Corresponding author: Shchepanskaya Lidiya Vladimirovna — PhD, MD, Teacher of additional education of the Department of Health Care, Drug Supply, Medical Technologies and Hygiene of the Faculty of Continuing Medical Education of the Medical Institute of RUDN University, 117198, Moscow, Russia; E-mail: shchepanskaya_lv@pfur.ru

Abramov A. Yu. ORCID 0000-0001-7178-1260.

Alekseenko A.O. ORCID 0000-0003-1663-617X

Koshkina E.A. ORCID 0000-0001-7694-8533

Kicha D.I. ORCID 0000-0001-6529-372X

Arshinova V.V. ORCID 0000-0003-1125-3786

Shchepanskaya L.V. ORCID 0009-0001-0948-0675

Ответственный за переписку: Щепанская Лидия Владимировна — кандидат медицинских наук, педагог дополнительного образования кафедры организации здравоохранения, лекарственного обеспечения, медицинских технологий и гигиены ФНМО Медицинского института ФГАОУ ВО “Российский Университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы”, 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6; E-mail: shchepanskaya_lv@pfur.ru

Абрамов А.Ю. SPIN 761060, ORCID 0000-0001-7178-1260.

Алексеенко А.О. SPIN 8926-4318, ORCID 0000-0003-1663-617X

Кошкина Е.А. SPIN 5950-5442, ORCID 0000-0001-7694-8533

Кича Д.И. SPIN 5622-0128, ORCID 0000-0001-6529-372X

Аршинова В.В. SPIN 5049-6650, ORCID 0000-0003-1125-3786

Щепанская Л.В. SPIN 6247-7668, ORCID 0009-0001-0948-0675



СТОМАТОЛОГИЯ DENTISTRY

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-510-519
EDN ALZJSI

ОБЗОР
REVIEW

Oral microbiota importance in the development and prognosis of oropharyngeal region oncological diseases

Anatoliy M. Avanesov¹ , Evgeniya N. Gvozdikova^{1,2} , Yefimiya Simionidi¹  , Vera A. Titova² 

¹RUDN University, Moscow, Russian Federation

²Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russian Federation

 simionidi_e@pfur.ru

Annotation. Relevance. Despite many years of scientific research and clinical results, cancer remains a global health problem. In recent years, there has been an increased interest in studying the role of microorganisms in the occurrence, prognosis and progression of cancer. The probability of isolating carcinogenic microorganisms in the oral microbiota is quite high. In this regard, understanding the role of microorganisms in the occurrence and course of cancer pathology in the future can contribute to the development of innovative strategies for the prevention, treatment of malignant neoplasms and minimization of complications of antitumor treatment. The purpose of this review is a literature analysis of the relationship between representatives of the human oral microbiota in the occurrence and prognosis of cancer. Collection and analysis of 1050 scientific papers using PubMed, Google Scholar and eLIBRARY search engines, published from 2003 to 2024, of which 47 papers are included in this literature review. According to the literature analysis, prevention, diagnostics and treatment of oncological diseases can and should be supplemented by dental approaches aimed at normalizing the microflora. Understanding that oral sanitation significantly reduces its bacterial contamination and, as a result, reduces the number of pathogenic and oncogenic microorganisms can improve the quality of antitumor treatment without significant material and social costs. **Conclusion.** The use of modern methods of diagnostics and monitoring of oral microbiota in dentistry can become the basis for the development of new strategies for the prevention and treatment of malignant neoplasms of the oral mucosa. Integration of these data into clinical practice requires interdisciplinary cooperation between oncologists, microbiologists and dentists to improve the prognosis of patient treatment.

Keywords: Microbiota oral cavity; malignant neoplasms; carcinogenesis; oncogenic bacteria; chronic inflammation

Funding. The work was completed without sponsorship.

© Avanesov A.M., Gvozdikova E.N., Simionidi Y., Titova V.A., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Author contributions. A.M. Avanesov, E.N. Gvozdkova, V.A. Titova: design development research; writing the manuscript; E. Simionidi: analysis of the obtained data; review of publications on the topic of the article; writing the manuscript. All authors made significant contributions to the preparation of the manuscript, read and approved the final version before publication.

Consent for publication — not applicable.

Ethics approval — not applicable.

Acknowledgements — not applicable.

Conflicts of interest statement. The author declares no conflict of interest.

Received 15.08.2024. Accepted 16.09.2024.

For citation: Avanesov AM, Gvozdkova EN, Simionidi Y, Titova VA. Oral microbiota importance in the development and prognosis of oropharyngeal region oncological diseases. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):510–519. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-510-519. EDN: ALZJSI

Introduction

Despite many years of research and significant advances in clinical practice, cancer continues to be one of the most serious global health problems. Currently, there is an active search for new tools and methods aimed at improving the treatment of this pathology. Among them: new methods of chemotherapy, radiation therapy, improved surgical treatment techniques. Particular attention is paid to accompanying dental therapy of cancer patients, since they have an increased risk of developing complications in the oral cavity during antitumor treatment and during rehabilitation. To date, there are insufficient etiopathogenetically substantiated methods for the prevention and treatment of cancer. In this regard, significant attention of scientists is attracted by the oral microflora, which is considered a potential trigger in the development of cancer not only in the oral cavity, but also in many organs and systems of the body. Understanding the interactions between the oral microbiota and the development of cancer can contribute to the development of innovative approaches to the prevention and treatment of this pathology, as well as to reducing complications that arise during and after antitumor therapy.

The aim of this review is a literary analysis of the relationship between representatives of the human

oral microbiota in the occurrence and prognosis of oncological diseases.

Collection and analysis of 1050 scientific papers using PubMed, Google Scholar and eLIBRARY search engines, published from 2003 to 2024, by the keywords: «Oral microbiota», «malignant neoplasms», «carcinogenesis», «oncogenic bacteria», «chronic inflammation», «oncogenic bacteria», «the effect of oral microbiota on the development of cancer», of which 47 papers are included in this literature review. The conducted systematic review made it possible to evaluate and study the effect of oral microbiota on the development of malignant neoplasms in the oropharyngeal region, as well as in other organs and systems of the body.

The oral cavity is an ecosystem inhabited by diverse microbial communities collectively referred to as the oral microbiota. Recent advances in technology have significantly deepened our understanding of the microbial ecosystem. Over millions of years of co-evolution, dynamic relationships have developed between humans and microorganisms, which can be pathogenic (causing disease), commensal (natural inhabitants), or symbiotic (based on mutual benefit) [1]. Understanding the oral microbial ecosystem may open up new opportunities for developing interdisciplinary approaches to maintaining homeostasis and microbial

balance in the oral cavity to enhance mucosal immunity, which is a pressing issue for practicing physicians and healthcare researchers worldwide [2]. Tumor tissues contain a large number of microorganisms. These microorganisms, located within tumor tissue, influence the processes of oncogenesis by colonizing the tumor and changing its biological behavior [3]. The mechanisms by which intratumoral microbiota can contribute to the development and progression of cancer are very diverse: they include genomic instability, mutations, epigenetic modifications, inflammatory reactions, avoidance of the destructive effects of the immune system, and influence on the metabolism of tumor cells [4]. That is, the more diverse the quantitative and qualitative composition of the oral microflora, the higher the risk of tumor development and its negative prognosis.

The role of oral sanitation is often underestimated by both healthcare professionals and society as a whole, despite the fact that the oral microbiota plays an important role in maintaining the patient's health [5]. It is known that an unsanitized oral cavity and the presence of foci of chronic odontogenic infection can significantly disrupt the balance of microflora, which, in turn, can lead to the development of various diseases, including cancer both in the oral cavity and in other organs and systems of the body [5]. When performing oral sanitation, microbial contamination is significantly reduced, which helps to reduce the number of pathogenic microorganisms, and thereby reduces the activity of foci of chronic infection, which are often sources of pathological processes. Due to this, the normal microbial balance is restored, which plays an important role in the prevention of various diseases and maintaining the general health of the patient [3–5].

Oral microbiota and its role in carcinogenesis

Over the past two decades, the scientific community has recognized the presence of specific characteristics inherent in malignant neoplasms. In 2000, Hanahan D. identified six key properties of cancer cells: support of proliferative signals, avoidance of growth suppression mechanisms, resistance to apoptosis, unlimited replication

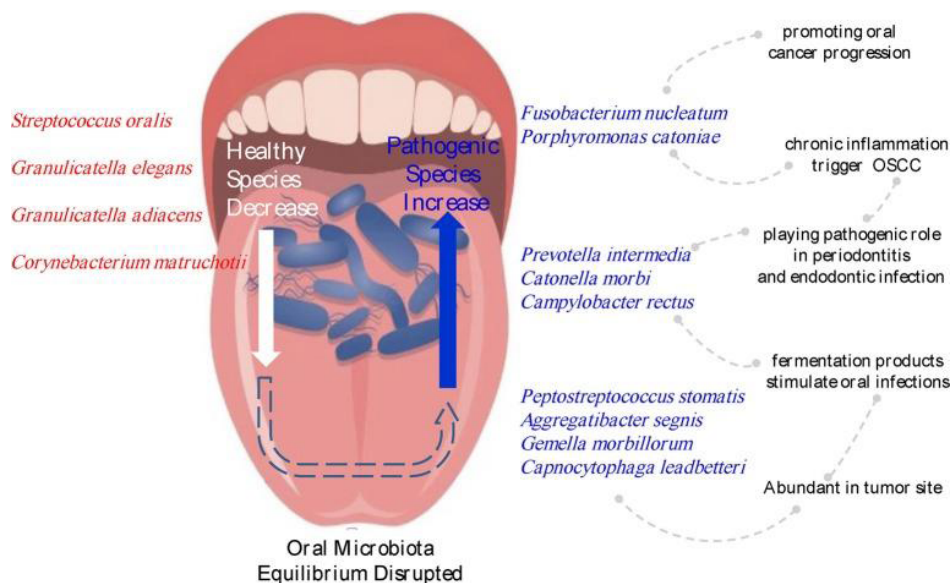
capabilities, induction of angiogenesis, and predisposition to invasion and metastasis [6]. A decade later, two more characteristics were added to the above-mentioned: changes in metabolic activity and the ability to resist immune defense [6]. Modern studies indicate that carcinogenesis associated with oral microbiota may not only correspond to these characteristics, but also contribute to their implementation [6]. In this regard, it is obvious that microorganisms living in the oral cavity significantly affect the occurrence of oncological diseases, which emphasizes the importance of preventive dental measures and control of the quantitative and qualitative composition of oral microbiota [7]. Providing dental care not only improves the overall health of patients, but also has a positive effect on antitumor treatment. This can reduce the risk of complications during therapy and speed up the rehabilitation of patients [8].

The influence of oral microbiota on oncoprogression in different organs and systems of the body

Prevention, diagnosis and treatment of squamous cell carcinoma of the oral cavity (squamous cell carcinoma) require a multidisciplinary approach [9]. Research shows an increasingly clear link between the condition of the oral cavity and the risk of developing cancer. Preventive measures such as oral hygiene and maintaining normal microbiota play a particularly important role [10].

This type of cancer, which is the most common type of malignant tumors of the head and neck, accounts for about 2 % of all cancers worldwide [10]. Traditionally, squamous cell carcinoma is associated with tobacco and alcohol use, but recent studies suggest that certain components of the oral microbiota may also be involved in the etiology of squamous cell carcinoma [10].

According to studies [11,12], some bacteria that belong to the genera *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* and *Pediococcus* can produce lactic acid and belong to the group of saccharolytic and aciduric streptococci. Due to this, they are capable of acidogenesis, leading to a decrease in pH [13]. Some of them can also synthesize



Changes in the microbiota composition associated with squamous cell carcinoma of the oral cavity. Species names labeled with red indicate bacteria enriched in normal sites, and species names labeled with blue indicate bacteria increased in tumor sites [17]

other acids, such as acetic, butyric, isobutyric, isovaleric and isocaproic, for example, *Peptostreptococcus stomatis* [14]. These microorganisms can create an acidic and hypoxic microenvironment in tumors, which, with a high degree of probability, can enhance the ability of tumors to metastasize [15, 16]. The microorganism *Porphyromonas gingivalis* is known for its association with the occurrence and progression of squamous cell carcinoma of the oral mucosa [16]. In a study conducted by Zhang L. et al. [17,18] involving 50 patients, it was found that tumor tissue samples were characterized by an increased content of *Porphyromonas* bacteria compared to healthy tissue samples (Figure), these data coincide with the results of other studies by Katz J. et al. and Sayehmiri et al. [19–21].

At the same time, *Porphyromonas gingivalis* is one of the most common periodontogenic microorganisms that contribute to the development of inflammatory periodontal diseases. According to WHO data, more than 95 % of patients over 50 years of age suffer from periodontitis, and in studies aimed at studying the etiology and pathogenesis of periodontitis, *Porphyromonas gingivalis* remains the most frequently detected microorganism [17–21].

Other types of opportunistic and pathogenic microbiota in the oral cavity also contribute to the development of malignant neoplasms of the mucous membrane. In a study by Rai et al. [21], elevated levels of *Porphyromonas endodontalis* bacteria were detected in the saliva of patients with oral squamous cell carcinoma [22]. Ye C. et al [23], who used modern sequencing methods, showed that *Fusobacterium nucleatum* predominates in oral squamous cell carcinoma samples compared to normal tissues in the same patients [24]. These data are supported by the work of Al-Hebshi NN et al [25], who also found a higher abundance of *F. nucleatum* in oral carcinoma biopsies compared to healthy samples [26]. Analytical data by Perera M. et al. [27] in 2018 indicate that the presence and concentration of *Fusobacterium periodonticum* can serve as a prognostic marker of the severity and progression of oral cancers. In a study by Takahashi et al. [27] in Japanese patients with oral squamous cell carcinoma and healthy controls, *Alloprevotella* was found to be significantly more common in patients with cancer. *Alloprevotella* may promote cancer development by producing metabolites or toxins that cause chronic inflammation of the oral mucosa, which in turn may

lead to malignant changes in cells. This inflammatory effect is confirmed for other *Prevotella* bacteria, which can also cause reactive changes in tissues and promote carcinogenesis. Recent studies by Zhang [17] and colleagues have shown that oral squamous cell carcinoma contains elevated levels of *Prevotella intermedia*, and Torralba [28] and colleagues have noted that some patients with oral squamous cell carcinoma have an overall increase in *Prevotella* bacteria.

According to A.M. Avanesov and E.N. Gvozdkova, the presence of carious teeth, chronic infectious processes, outdated dental prostheses, and inadequate oral hygiene contribute to alterations in the normal microbiome of the mucosal membrane [29]. These factors exacerbate tissue damage during antitumor therapy. Although the direct influence of microflora on the pathogenesis of oral mucositis was not specifically examined in this study, the authors emphasize that compromised local immunity combined with impaired microcirculation creates favorable conditions for the activation of opportunistic microorganisms. This process leads to intensified inflammatory responses and progression of erosive-ulcerative lesions of the mucosal membrane [29].

It should be emphasized that bacterial degradation products of the oral microbiota, particularly muramyl peptides, can induce the production of pro-inflammatory cytokines. Chronic maintenance of such an inflammatory microenvironment may contribute to oncogenic transformation by promoting genomic instability, inhibiting apoptosis, and activating proliferative signaling pathways in epithelial cells [30].

In 2000, Tateda et al. [31] detected *Streptococcus anginosus* in cancer samples obtained from the oral and pharyngeal regions. Subsequently, in 2005, Sasaki et al. [30–32] confirmed that *S. anginosus* is significantly elevated in patients with squamous cell carcinoma, but not in other cancers. Importantly, the bacterium was detected exclusively in plaque and not in the saliva of patients. Rai et al. [28–32] emphasize the importance of *S. anginosus* in the carcinogenesis of oral cancer. And in 2020, a number of researchers proposed the use of *S. anginosus* as a non-invasive biomarker for oropharyngeal cancer [33,34]. Other studies, including

the work of Mager et al., indicate elevated levels of *Streptococcus mitis* in patients with oral squamous cell carcinoma. However, the results vary: in a study by Yang et al. involving 197 patients, an inverse relationship was found between *Streptococcus* abundance and tumor progression. Perera et al. found that *S. mitis* was frequently found in fibroepithelial polyp samples, which were used as a control group in their study. However, *Streptococcus* bacteria are cariogenic microorganisms and are found in 100 % of the world population, as dental caries and its complications remain the most common dental diseases in both childhood and adulthood [34].

The state of the oral microbiota can also influence the development of oncological diseases of other organs and systems of the body. Morita E. et al. and Narikiyo M. et al. [35,36] proved that *Streptococcus anginosus* and *Streptococcus mitis* bacteria are often found in patients with malignant neoplasms of the esophagus, these data coincide with the data of Kawasaki M. et al. and Gao S. et al. [37,38], who established a connection between this type of microorganism and the risk of developing gastrointestinal neoplasms. *Porphyromonas gingivalis*, as shown by the studies of Chen MF et al. [39], is detected in the tissues of malignant neoplasms of the esophagus. In the works of X. Fan et al, AV Alekseyenko et al, Mitsuhashi K. et al., Hu J. et al. and Wu J. et al., Huang K. et al. [40–42] showed a connection between pathogenic microorganisms of the oral cavity, such as *P. gingivalis* and *Fusobacterium nucleatum*, and the risk of developing pancreatic cancer [43,44]. Also, according to the studies of Hosgood HD and Yang J. et al. [45], low diversity of microbiota in the oral cavity is associated with an increased risk of lung cancer. A number of authors [40–46] note the influence of oral microbiota on the pathogenesis of breast cancer. A meta-analysis conducted by Shao et al. [46] revealed a significant relationship between periodontal diseases and the risk of developing this disease. The work of Parhi L. et al. [47] confirms that *F. nucleatum* can spread through the bloodstream and colonize breast tissue, which leads to suppression of antitumor immunity and acceleration of cancer progression, these data correlate with the data of Van der Merwe et al. [45–48].

The most convincing evidence for the carcinogenic effects of oral microorganisms is that of *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas gingivalis*. In addition, bacteria of the genera *Streptococcus*, *Prevotella*, and *Capnocytophaga gingivalis* also play an important role in the process of carcinogenesis. The proposed mechanisms of the oncogenic effects of these microorganisms on human cells include the induction of chronic inflammation, antiapoptotic effects, and the synthesis of carcinogenic metabolites. However, further studies are needed to more accurately identify specific oral bacteria as carcinogenic agents (Table) [49].

The use of bacteriophages for the treatment of infectious diseases is one of the promising areas of dentistry and medicine in general

The search for new promising, effective, but at the same time non-toxic methods of treating diseases of the oral mucosa, including chronic inflammatory processes, as well as precancerous conditions and possible reactions arising against the background of various types of antitumor treatment, remains an urgent problem. In this direction, methods using some microorganisms to suppress and control the reproduction of other microorganisms are actively developing. Such drugs include bacteriophages [50].

Bacteriophages are viruses that infect bacteria, causing changes in the structure and functionality of the

oral microbiome. However, the role of bacteriophages in maintaining oral health and developing diseases has not been adequately studied. Phages are effective against planktonic bacteria and bacteria that form biofilms, which provide protection for microbes. These viruses are adapted to destroy biofilms by lysing bacterial cells and penetrating bacterial capsules or biofilm matrices. The high therapeutic potential of phages is explained by their ability to be used together with antibiofilm agents, which makes it possible to combat resistant bacteria. The human immune system is adapted to bacteriophages, which ensures their safety and non-toxicity confirmed by clinical studies. The key advantage of phage therapy is the lack of resistance to phages, which makes them effective in combating resistant infections. They have a narrow specificity for certain types of bacteria, preventing dysbiosis. However, in case of polyclonal infections or to minimize the risk of resistance, it is necessary to use a mixture of different types of phages, i.e., for the effective use of bacteriophages in the prevention and treatment of oral infections, as well as possible reactions that occur during antitumor treatment, an interdisciplinary approach is needed that combines the knowledge and methods of dentistry and oncology. Such an approach will allow achieving the best therapeutic results, improving the overall health and quality of life of patients [42–50].

Influence of oral microbiome representatives on oncogenesis

Microorganism	Association with Cancer Types	Mechanisms of Influence	Clinical Significance
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Oral squamous cell carcinoma, pancreatic cancer, esophageal cancer	Chronic inflammation induction, apoptosis suppression, angiogenesis stimulation	Risk biomarker, prevention target
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	Colorectal cancer, breast cancer	Acidic microenvironment creation, antitumor immunity suppression	Prognostic marker
<i>Streptococcus anginosus</i>	Oropharyngeal cancer, esophageal cancer	Carcinogenic metabolite production	Potential non-invasive biomarker
<i>Prevotella intermedia</i>	Oral squamous cell carcinoma	Chronic inflammation induction	Diagnostic potential
Cariogenic streptococci	GI tract cancer, pancreatic cancer	Acidic hypoxic microenvironment creation	Importance of oral sanitation

Since their discovery a century ago, bacteriophages have been the subject of scientific research as a potential therapeutic agent. In a number of countries, the use of phages in medical practice has long been proven. However, a significant part of the Western world has expressed skepticism regarding phage therapy, arguing that there are no sufficient clinical trials confirming its effectiveness. Currently, Russian scientists are demonstrating an increased interest in bacteriophages, which opens up new horizons for further research and practical application of this treatment method. In particular, studies conducted by Volkov E.A. and co-authors [50] demonstrated that local application of a gel containing bacteriophages can relieve exacerbations in patients with chronic recurrent aphthous stomatitis [51]. The work of Uryadnikova V.A. and colleagues [52] emphasizes that bacteriophages have a positive effect on the hygienic condition of the oral cavity, which is expressed in a decrease in inflammatory processes and a specific effect on pathogenic microorganisms. One of the key advantages of bacteriophages is their ability to act selectively on certain bacterial strains, which allows preserving the integrity of the natural human microbiota. These results substantiate the feasibility of using bacteriophages in the treatment of infectious and inflammatory periodontal diseases and other diseases of the oral mucosa. Modern treatment approaches consider the influence of oral microbiota on the results of cancer treatment, where the use of bacteriophages can be an effective method for correcting microbiota during antitumor therapy. Changes in the composition of oral microbiota can also complicate the course of the disease and the rehabilitation process of patients, which emphasizes the need for dentists to pay close attention to the condition of the oral cavity of patients. Thus, an important aspect of the prevention of malignant neoplasms is associated with maintaining oral health, where high-quality individual and regular professional hygiene, treatment of inflammatory diseases of the oral mucosa and gums can reduce the risk of carcinogenesis. From the point of view of early diagnostics of oncological pathology, the oral microbiota is of great interest. Studies show that the presence of specific types of bacteria can signal the initial stages of the oncological

process. Changes in the composition of the microbiota can serve as potential biomarkers, which opens up new prospects for dentists in determining the predisposition of patients to cancer and early preventive measures. The interaction of dentists and oncologists opens up new opportunities for prevention, early diagnosis and comprehensive treatment of cancer. Effective treatment of patients with cancer requires an interdisciplinary approach and close interaction between specialists in different fields of medicine.

Conclusion

According to the data of the presented studies, the prevention, diagnosis and treatment of oncological diseases can and should be supplemented by dental approaches aimed at normalizing the microflora. Understanding that oral sanitation significantly reduces contamination and, as a result, reduces the number of pathogenic and oncogenic microorganisms can improve the quality of antitumor treatment without significant material and social costs. Regular oral sanitation and monitoring of the microbiota play an important role in the prevention of oncological diseases. Timely detection and treatment of oral diseases not only improve the general health of the patient, but can also significantly increase the chances of successful treatment and a good prognosis for cancer patients. The use of modern methods of diagnostics and monitoring of oral microbiota in dentistry can become the basis for the development of new strategies for the prevention and treatment of squamous cell carcinoma of the mucous membrane. Integration of these data into clinical practice requires interdisciplinary collaboration between oncologists, microbiologists and dentists to improve patient outcomes.

References / Список литературы

1. Gilbert JA, Neufeld JD. Life in a World without Microbes. *PLoS Biol.* 2014;12(12): e1002020. doi:10.1371/journal.pbio.1002020
2. Hou K, Wu ZX, Chen, XY, Wang, JQ, Zhang D., Xiao C, Zhu D, Koya, J B, Wei L, Li J, Chen ZS. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2022;7(1):135. doi:10.1038/s41392-022-00974-4
3. Hsiao EY, McBride SW, Hsien S, Sharon G, Hyde ER, McCue T, Codelli JA, Chow J, Reisman SE, Petrosino J F, Patterson PH, Mazmanian S K. Microbiota modulate behavioral and physiological abnormalities associated

- with neurodevelopmental disorders. *Cell*. 2013;155(7):1451–1463. doi:10.1016/j.cell.2013.11.024
4. Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, Sichelstiel AK, Sprenger N, Ngom-Bru C, et al. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med*. 2014;20(2):159–166. doi:10.1038/nm.3444
5. Mesa F, Magan-Fernandez A, Castellino G, Chianetta R, Nibali L, Rizzo M. Periodontitis and mechanisms of cardiometabolic risk: Novel insights and future perspectives. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019;1865(2):476–484. doi:10.1016/j.bbdis.2018.12.001
6. Shi Y, Zheng W, Yang K, Harris KG, Ni K, Xue L, et al. Intratumoral accumulation of gut microbiota facilitates CD47-based immunotherapy via STING signaling. *J Exp Med*. 2020;217(5): e20192282. doi:10.1084/jem.20192282
7. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res*. 2020;30(6):492–506. doi:10.1038/s41422-020-0332-7
8. González-Sánchez P, DeNicola GM. The microbiome(s) and cancer: know thy neighbor(s). *J Pathol*. 2021;254(4):332–343. doi:10.1002/path.5661
9. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000;100(1):57–70. doi:10.1016/s0092-8674(00)81683-9
10. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209–249. doi:10.3322/caac.21660
11. Stasiewicz M, Karpiński TM. The oral microbiota and its role in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol*. 2022;86(Pt3):633–642. doi:10.1016/j.semcancer.2021.11.002
12. Whiteman DC, Wilson LF. The fractions of cancer attributable to modifiable factors: A global review. *Cancer Epidemiol*. 2016;44:203–221. doi:10.1016/j.canep.2016.06.013
13. Rajagopala SV, Vashee S, Oldfield LM, Suzuki Y, Venter JC, Telenti A, Nelson KE. The Human Microbiome and Cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2017;10(4):226–234. doi:10.1158/1940-6207.CAPR-16-0249
14. Bollati V, Monti P, Biganzoli D, Marano G, Favero C, Iodice S, et al. Environmental and Lifestyle Cancer Risk Factors: Shaping Extracellular Vesicle OncomiRs and Paving the Path to Cancer Development. *Cancers (Basel)*. 2023;15(17):4317. doi:10.3390/cancers15174317
15. Sun J, Tang Q, Yu S, Xie M, Xie Y, Chen G, Chen L. Role of the oral microbiota in cancer evolution and progression. *Cancer Med*. 2020;9(17):6306–6321. doi:10.1002/cam4.3206
16. Chen Y, Chen X, Yu H, Zhou H, Xu S. Oral Microbiota as Promising Diagnostic Biomarkers for Gastrointestinal Cancer: A Systematic Review. *Oncotargets Ther*. 2019;12:11131–11144. doi:10.2147/OTT.S230262
17. Zhang L, Liu Y, Zheng HJ, Zhang CP. The Oral Microbiota May Have Influence on Oral Cancer. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;9:476. doi:10.3389/fcimb.2019.00476
18. Li R, Xiao L, Gong T, Liu J, Li Y, Zhou X, Li Y, Zheng X. Role of oral microbiome in oral oncogenesis, tumor progression, and metastasis. *Mol Oral Microbiol*. 2023;38(1):9–22. doi:10.1111/omi.12403
19. Grigorievskaya ZV, Petukhova IN, Bagirova NS, Aginova VV, Kononets PV. Role of the microbiota in oncogenesis. *Siberian journal of oncology*. 2023;22(2):129–142. (In Russian) [Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Багирова Н.С., Агимова В.В., Кононец П.В. Роль микробиоты в онкогенезе // Сибирский онкологический журнал. 2023;22(2):129–142]
20. Gu Z, Liu Y. A bibliometric and visualized in oral microbiota and cancer research from 2013 to 2022. *Discov Oncol*. 2024;15(1):24. doi:10.1007/s12672-024-00878-5
21. Li R, Xiao L, Gong T, Liu J, Li Y, Zhou X, Li Y, Zheng X. Dysbiosis of salivary microbiome and cytokines influence oral squamous cell carcinoma through inflammation. *Arch Microbiol*. 2021;203(1):137–152. doi:10.1007/s00203-020-02011-w
22. Senneby A, Davies JR, Svensäter G, Neilands J. Acid tolerance properties of dental biofilms in vivo. *BMC Microbiol*. 2017;17(1):165. doi:10.1186/s12866-017-1074-7
23. Luo W, Han J, Peng X, Zhou X, Gong T, Zheng X. The role of *Fusobacterium nucleatum* in cancer and its implications for clinical applications. *Mol Oral Microbiol*. 2024;39(6):417–432. doi:10.1111/omi.12475
24. Mazzio EA, Smith B, Soliman KF. Evaluation of endogenous acidic metabolic products associated with carbohydrate metabolism in tumor cells. *Cell Biol Toxicol*. 2010;26(3):177–188. doi:10.1007/s10565-009-9138-6
25. Shrestha P, Ghoreyshi ZS, George JT. How modulation of the tumor microenvironment drives cancer immune escape dynamics. *Sci Rep*. 2025;15(1):7308. Published 2025 Mar 1. doi:10.1038/s41598-025-91396-z
26. Zhang L, Liu Y, Zheng HJ, Zhang CP. The Oral Microbiota May Have Influence on Oral Cancer. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;9:476. doi:10.3389/fcimb.2019.00476
27. Takahashi Y, Park J, Hosomi K, Yamada T, Kobayashi A, Yamaguchi Y, et al. Analysis of oral microbiota in Japanese oral cancer patients using 16S rRNA sequencing. *J Oral Biosci*. 2019;61(2):120–128. doi:10.1016/j.job.2019.03.003
28. Torralba MG, Aleli G, Li W, Moncera KJ, Lin YH, Yu Y, Masternak MM, Golusinski W, Golusinski P, Lamperska K, Edlund A, Freire M, Nelson KE. Oral Microbial Species and Virulence Factors Associated with Oral Squamous Cell Carcinoma. *Microb Ecol*. 2021;82(4):1030–1046. doi:10.1007/s00248-020-01596-5
29. Avanesov AM, Gvozdkova EN. New predictive factors determining the clinical flow of oral mucositis in patients with plane-cellar cancer of oropharyngeal region. *RUDN Journal of Medicine*. 2018;22(1):22–28. doi:10.22363/2313-0245-2018-22-1-22-28. (In Russian). [Аванесов А.М., Гвоздикова Е.Н. Прогностические факторы, определяющие клиническое течение орального мукозита у пациентов с плоскоклеточным раком оротарингальной области // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2018. Т. 22. № 1. С. 22–28.]
30. Guryanova SV. Influence of muramyl peptides on the production of chemokines, growth factors, pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines. *RUDN Journal of Medicine*. 2024;28(3):365–376. doi:10.22363/2313-0245-2024-28-3-365-376. EDN: DJROAN. (In Russian). [Гурьянова С.В. Влияние мурамилпептидов на выработку хемокинов, факторов роста, провоспалительных и противовоспалительных цитокинов // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2024. Т. 28. № 3. С. 365–376.]
31. Tateda M, Shiga K, Saijo S, Sone M, Hori T, Yokoyama J, Matsuura K, Takasaka T, Miyagi T. Streptococcus anginosus in head and neck squamous cell carcinoma: implication in carcinogenesis. *Int J Mol Med*. 2000;6(6):699–703. doi:10.3892/ijmm.6.6.699
32. Sasaki M, Yamaura C, Ohara-Nemoto Y, Tajika S, Kodama Y, Ohya T, Harada R, Kimura S. Streptococcus anginosus infection in oral cancer and its infection route. *Oral Dis*. 2005;11(3):151–156. doi:10.1111/j.1601-0825.2005.01051.x
33. Asam D, Mauerer S, Spellerberg B. Streptolysin S of Streptococcus anginosus exhibits broad-range hemolytic activity. *Med Microbiol Immunol*. 2015;204(2):227–237. doi:10.1007/s00430-014-0363-0
34. Sasaki M, Ohara-Nemoto Y, Tajika S, Kobayashi M, Yamaura C, Kimura S. Antigenic characterization of a novel Streptococcus anginosus antigen that induces nitric oxide synthesis by murine peritoneal exudate cells. *J Med Microbiol*. 2001;50(11):952–958. doi:10.1099/0022-1317-50-11-952
35. Morita E, Narikiyo M, Yano A, Nishimura E, Igaki H, Sasaki H, Terada M, Hanada N, Kawabe R. Different frequencies of Streptococcus anginosus infection in oral cancer and esophageal cancer. *Cancer Sci*. 2003;94(6):492–496. doi:10.1111/j.1349-7006.2003.tb01471.x
36. Narikiyo M, Tanabe C, Yamada Y, Igaki H, Tachimori Y, Kato H, Muto M, Montesano R, Sakamoto H, Nakajima Y, Sasaki H. Frequent and preferential infection of Treponema denticola, Streptococcus mitis, and Streptococcus anginosus in esophageal cancers. *Cancer Sci*. 2004;95(7):569–574. doi:10.1111/j.1349-7006.2004.tb02488.x

37. Kawasaki M, Ikeda Y, Ikeda E, Takahashi M, Tanaka D, Nakajima Y, Arakawa S, Izumi Y, Miyake S. Oral infectious bacteria in dental plaque and saliva as risk factors in patients with esophageal cancer. *Cancer*. 2021;127(4):512–519. doi:10.1002/cncr.33316
38. Gao S, Li S, Ma Z, Liang S, Shan T, Zhang M, Zhu X, et al. Presence of Porphyromonas gingivalis in esophagus and its association with the clinicopathological characteristics and survival in patients with esophageal cancer. *Infect Agent Cancer*. 2016;11:3. Published 2016 Jan 19. doi:10.1186/s13027-016-0049-x
39. Chen MF, Lu MS, Hsieh CC, Chen WC. Porphyromonas gingivalis promotes tumor progression in esophageal squamous cell carcinoma. *Cell Oncol (Dordr)*. 2021;44(2):373–384. doi:10.1007/s13402-020-00573-x
40. Michaud DS, Izard J, Wilhelm-Benartzi CS, You DH, Grote VA, Tjønneland A, et al. Plasma antibodies to oral bacteria and risk of pancreatic cancer in a large European prospective cohort study. *Gut*. 2013;62(12):1764–1770. doi:10.1136/gutjnl-2012-303006
41. Hu J, Han S, Chen Y, Ji Z. Variations of Tongue Coating Microbiota in Patients with Gastric Cancer. *Biomed Res Int*. 2015;2015:173729. doi:10.1155/2015/173729
42. Wu J, Xu S, Xiang C, Cao Q, Li Q, Huang J, Shi L, Zhang J, Zhan Z. Tongue Coating Microbiota Community and Risk Effect on Gastric Cancer. *J Cancer*. 2018;9(21):4039–4048. doi:10.7150/jca.25280
43. Huang K, Gao X, Wu L, Yan B, Wang Z, Zhang X, Peng L, Yu J, Sun G, Yang Y. Salivary Microbiota for Gastric Cancer Prediction: An Exploratory Study. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:640309. doi:10.3389/fcimb.2021.640309
44. Wu ZF, Zou K, Xiang CJ, Jin ZJ, Ding HH, Xu S, et al. Helicobacter pylori infection is associated with the co-occurrence of bacteria in the oral cavity and the gastric mucosa. *Helicobacter*. 2021;26(2): e12786. doi:10.1111/hel.12786
45. Hosgood HD, Cai Q, Hua X, Long J, Shi J, Wan Y, et al. Variation in oral microbiome is associated with future risk of lung cancer among never-smokers. *Thorax*. 2021;76(3):256–263. doi:10.1136/thoraxjnl-2020-215542
46. Shao J, Wu L, Leng WD, Fang C, Zhu YJ, Jin YH, Zeng XT. Periodontal Disease and Breast Cancer: A Meta-Analysis of 1,73,162 Participants. *Front Oncol*. 2018;8:601. doi:10.3389/fonc.2018.00601
47. Parhi L, Alon-Maimon T, Sol A, Nejman D, Shhadeh A, Fainsod-Levi T, Yajuk O, Isaacson B, Abed J, Maalouf N, Nissan A, Sandbank J, Yehuda-Shnaidman E, Ponath F, Vogel J, Mandelboim O, Granot Z, Straussman R, Bachrach G. Breast cancer colonization by Fusobacterium nucleatum accelerates tumor growth and metastatic progression. *Nat Commun*. 2020;11(1):3259. Published 2020 Jun 26. doi:10.1038/s41467-020-16967-2
48. Van der Merwe M, Van Niekerk G, Botha A, Engelbrecht AM. The onco-immunological implications of Fusobacterium nucleatum in breast cancer. *Immunol Lett*. 2021;232:60–66. doi:10.1016/j.imlet.2021.02.007
49. Karpiński TM. Role of Oral Microbiota in Cancer Development. *Microorganisms*. 2019;7(1):20. doi:10.3390/microorganisms7010020
50. Volkov EA, Polovets ML, Nikitin VV, Pashkova GS, Isadzhanyan KE, Popova VM, Zhilenkov EL. Efficiency of using a bacteriophage-based agent in the complex treatment of diseases of the oral mucosa. *Russian Dental Journal*. 2015; 19 (4):18–22. (In Russian). [Волков Е.А., Половец М.Л., Никитин В.В., Пашкова Г.С., Исаджаниян К.Е., Попова В.М., Жиленьков Е.Л. Эффективность применения средства на основе бактериофагов в комплексном лечении заболеваний слизистой оболочки полости рта // Российский стоматологический журнал. 2015. Т. 19, вып. 4.С. 18–22.]
51. Volkov EA. Studying the features of microflora of patients with diseases of the oral mucosa. Assessment of the effectiveness of use of a production based on bacteriophages «phagodent» in the complex treatment of chronic aphthous stomatitis and lichen red polish planus. *Research'n Practical Medicine Journal*. 2015;2(4):50–58. (In Russian). [Волков Е.А. Изучение особенностей микрофлоры пациентов с заболеваниями слизистой оболочки полости рта. Оценка эффективности применения средства на основе бактериофагов «фагодент» в комплексном лечении хронического афтозного стоматита и красного плоского лишая // Research'n Practical Medicine Journal. 2015. Т. 2, № 4. С. 50–58. doi:10.17709/2409-2231-2015-2-4-50-58]
52. Uryadnikova VA, Ippolitov YuA, Aleshina EO, Mikhailova SA, Kuralessina VP, Ryzhkova YuA, Klepalko EA. Modern concepts for the treatment of inflammatory diseases of the oral cavity using bacteriophages. *Modern science: current problems of theory and practice. Series: Natural and technical sciences*. 2024; 4(2): 156–159. (In Russian). [Урядникова В.А., Инполитов Ю.А., Алешина Е.О., Михайлова С.А., Куралесина В.П., Рыжкова Ю.А., Клепалко Е.А. Современные концепции лечения воспалительных заболеваний полости рта с применением бактериофагов // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. 2024. Т. 4, вып. 2. С. 156–159.]

Значение микробиоты полости рта в возникновении и прогнозе онкологических заболеваний орорфарингеальной области

А.М. Аванесов¹ , Е.Н. Гвоздиков^{1,2} , Е. Симиониди¹  , В.А. Титова² 

¹Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация

² Российский научный центр рентгенорадиологии, г. Москва, Российская Федерация

✉ Simionidi_e@pfur.ru

Аннотация. *Актуальность.* Несмотря на многолетние научные исследования и клинические результаты, онкологические заболевания остаются глобальной проблемой здравоохранения. В последние годы возрос интерес к изучению роли микроорганизмов в возникновении, прогнозе и прогрессировании онкологических заболеваний. Вероятность выделения в составе ротовой микробиоты канцерогенных микроорганизмов достаточно велика. В связи с этим, понимание роли микроорганизмов в возникновении и течении онкологической патологии в дальнейшем может способствовать разработке инновационных стратегий профилактики, лечения злокачественных новообразований и минимизации осложнений противоопухолевого лечения. Целью данного обзора является литературный анализ роли представителей микробиоты

полости рта человека в возникновении и прогнозе онкологических заболеваний. В ходе исследования проведены сбор и анализ 1050 научных работ с помощью поисковых систем PubMed, Google Scholar и eLIBRARY, опубликованных с 2003 по 2024 гг., среди которых 47 работ включены в данный литературный обзор. Согласно данным проведенного литературного анализа, профилактика, диагностика и лечение онкологических заболеваний могут и должны быть дополнены стоматологическими подходами, направленными на нормализацию микробиоты полости рта. Понимание того, что санация полости рта существенно снижает ее бактериальную обсемененность и как следствие сокращает количество патогенных и онкогенных микроорганизмов, может повысить качество противоопухолевого лечения без существенных материальных и социальных затрат. **Выводы.** Применение современных методов диагностики и мониторинга микробиоты полости рта в стоматологии может стать основой для разработки новых стратегий профилактики и лечения злокачественных новообразований слизистой оболочки полости рта. Интеграция этих данных в клиническую практику требует междисциплинарного сотрудничества между онкологами, микробиологами и стоматологами для улучшения прогноза лечения пациентов.

Ключевые слова: микробиота полости рта; злокачественные новообразования; канцерогенез; онкогенные бактерии; хроническое воспаление

Информация о финансировании. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Вклад авторов. А.М. Аванесов, Е.Н. Гвоздикова, В.А. Титова: разработка дизайна исследования; написание текста рукописи; Е. Симиониди: анализ полученных данных; обзор публикаций по теме статьи; написание текста рукописи. Все авторы внесли значительный вклад в подготовку рукописи, прочитали и утвердили окончательную версию перед публикацией.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 15.08.2024. Принята 16.09.2024.

Для цитирования: Avanesov A.M., Gvozdikova E.N., Simionidi Y., Titova V.A. Oral microbiota importance in the development and prognosis of oropharyngeal region oncological diseases // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025. Т. 29. № 4. С. 510–519. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-510-519. EDN: ALZJSI

Corresponding author: Simionidi Yefimiya-postgraduate student, assistant at the Department of General and Clinical Dentistry named after V.S. Dmitrieva Medical Institute of the Peoples' Friendship University of Russia named after Patrice Lumumba; Russian Federation, 117198, Moscow, st. Miklukho-Maklaya, 6; E-mail: simionidi_e@pfur.ru

Avanesov A.M. ORCID 0000-0003-4068-7698

Gvozdikova E.N. ORCID 0000-0002-8037-594X

Simionidi Y. ORCID 0009-0004-6388-5261

Titova V.A. ORCID 0000-0002-5426-1084

Ответственный за переписку: Симиониди Ефимия — аспирант, ассистент кафедры общей и клинической стоматологии имени В.С. Дмитриевой Медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы; Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6; E-mail: simionidi_e@pfur.ru

Аванесов А.М. SPIN 7091-8276, ORCID 0000-0003-4068-7698

Гвоздикова Е.Н. SPIN 2562-4392, ORCID 0000-0002-8037-594X

Симиониди Е. SPIN 3974-2021, ORCID 0009-0004-6388-5261

Титова В.А. SPIN 9410-6747, ORCID 0000-0002-5426-1084

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-520-531

EDN AMTBOO

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH

Стоматологическая заболеваемость детей дошкольного возраста в приемных семьях

М.Н. Хадыева¹  , А.Н. Галиуллин² , С.Л. Блашкова¹ ¹Казанский государственный медицинский Университет, г. Казань, Российская Федерация²Казанский Федеральный университет, г. Казань, Российская Федерация madina-565@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Стоматологические болезни рта, поражающие детей самых разных возрастов — общенациональная проблема современного общества и непосредственно здравоохранения. Причем риск возникновения и прогрессирования стоматологических заболеваний среди детей из социально уязвимых групп выше, что требует поиска новых методов профилактики и лечения. В связи с ростом доли отказных детей, изучение состояния здоровья, в том числе стоматологической заболеваемости, представляет особый интерес. *Целью работы* явилось исследование стоматологического здоровья и распространения основных стоматологических заболеваний у детей в новых семьях-усыновителей. *Материалы и методы.* Для изучения стоматологической заболеваемости у усыновленных детей-сирот, были проведены в процессе обращаемости на базе стоматологических медицинских организаций г. Казани профилактические осмотры с целью выявления основных стоматологических заболеваний, а также в ходе плановых осмотров в детских дошкольных учреждениях. Обследованные дети были ранжированы в зависимости от возрастных и гендерных отличий, всего в исследовании приняли участие 35 детей-дошкольников. В ходе осмотра состояния рта у детей были выявлены некариозные болезни зубов, случаи проявлений зубочелюстной патологии, а также поражения кариесом и его осложнения. *Результаты и обсуждение.* Полученные результаты исследования выявили высокую распространенность стоматологическими заболеваниями среди детей из приемных семей. Дети из приемных семей высоко подвержены стоматологическим заболеваниям с самых первых лет жизни. В некоторых возрастных группах заболеваемость некариозными заболеваниями и зубочелюстными аномалиями достигала 100 % случаев. *Выводы.* Полученные результаты о высокой распространенности стоматологических заболеваний среди детей из приемных семей свидетельствует о неуклонном росте кариеса и его осложнений, зубочелюстных аномалий, некариозных болезней зубов у детей, находящихся в особой группе риска, в связи с неблагоприятными условиями жизни, отягощенной наследственностью, психологическими травмами, недостатками питания, а так же социальным сиротством, что в целом представляет собой социально-значимую проблему для современного здравоохранения.

Ключевые слова: некариозные болезни зубов, зубочелюстные аномалии, кариес зубов, осложненный кариес, дети-сироты, замещающие семьи, приемные семьи

© Хадыева М.Н., Галиуллин А.Н., Блашкова С.Л., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов. Авторы внесли равнозначный вклад в проведении исследования и подготовку текста статьи. М.Н. Хадыева — сбор и обработка материала, обзор по теме публикации, написание работы. А.Н. Галиуллин — окончательное утверждение версии для публикации. С.Л. Блашкова — дизайн исследования. Все авторы внесли значительный вклад в подготовку рукописи, прочитали и утвердили окончательную версию перед публикацией.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Исследование одобрено комиссией по вопросам этики Казанского государственного медицинского университета.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию. У всех пациентов, их родителей или опекунов было получено добровольное информированное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) и обработку персональных данных.

Поступила 18.03.2024. Принята 16.04.2024.

Для цитирования: Хадыева М.Н., Галиуллин А.Н., Блашкова С.Л. Стоматологическая заболеваемость детей дошкольного возраста в приемных семьях // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025. Т. 29. № 4. С. 520–531. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-520-531. EDN: AMTBOO

Problems of the dental health in kids from foster families

Madina N. Khadyeva¹  , Afgat N. Galiullin² , Svetlana L. Blashkova¹ 

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation

²Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation

 madina-565@mail.ru

Abstract. Relevance. Dental diseases of the mouth, affecting children of various ages — a nationwide problem of modern society and directly health care. Moreover, the risk of the occurrence and progression of dental diseases among children from socially vulnerable groups is higher, which requires the search for new methods of prevention and treatment. In connection with the increase in the proportion of refused children, the study of the state of health, including dental morbidity, is of particular interest. *The aim of the work* was to study dental health and the spread of major dental diseases in children in new adoptive families. *Materials and Methods.* To study dental morbidity in adopted orphans, preventive examinations were carried out in the process of circulation on the basis of dental medical organizations in Kazan in order to identify the main dental diseases, as well as during routine examinations in preschool institutions. The examined children were ranked according to age and gender differences, a total of 35 preschool children took part in the study. *Results and Discussion.* During the examination of the mouth in children, non-carious dental diseases, cases of manifestations of dentoalveolar pathology, as well as lesions of caries and its complications were revealed. *Conclusion.* The results obtained on the high prevalence of dental diseases among children from foster families indicate a steady increase in caries and its complications, jugular anomalies, non-carious dental diseases in children

at special risk due to unfavorable living conditions, aggravated heredity, psychological injuries, nutritional deficiencies, as well as social orphanage, which in general represents a socially significant problem for modern health care.

Keywords: non-carious diseases of teeth, dental abnormalities, dental caries, complicated caries, orphans, substitute families, foster families

Funding. The authors received no financial support for the research, authorship, and publication of this article

Author contributions. Authors contributed equally to the conduct of the study and preparation of the text of the article. M.N. Khadyeva — collection and processing of material, review on the topic of publication, writing work. A.N. Galiullin — final approval of the version for publication. S.L. Blashkova — study design. All authors made significant contributions to the preparation of the manuscript, read and approved the final version before publication.

Conflicts of interest statement. The author declares no conflict of interest.

Ethics approval. The study was conducted in accordance with the decision of the Kazan State Medical University, Russian Federation.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication. All patients provided voluntary informed consent to participate in the study in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), the processing of personal data and consent to publication.

Received 18.03.2024. Accepted 16.04.2024.

For citation: Khadyeva MN, Galiullin AN, Blaskova SL. Problems of the dental health in kids from foster families. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):520–531. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-520-531. EDN: AMTBOO

Введение

Стоматологическое здоровье детей одно из приоритетных направлений современного здравоохранения [1]. Высокая распространенность стоматологических болезней у детей из разных возрастных групп является злободневной проблемой и нерешенной задачей ведомств министерства здравоохранения, особенно если речь идет о детях из социально уязвимых групп. При недостаточных мерах диагностики и оптимальных подходов в лечении кариозный процесс может пагубно отразиться на жевательной функции, речи, улыбке и, как следствие, снизить психосоциальную адаптацию, что в целом отразится на качестве жизни ребенка дошкольного возраста и его семьи [2]. В связи с нарастающим социальным неравенством в современном обществе, проблемы детей из не-

благополучной среды требуют особого внимания и подхода к их здоровью. В настоящее время в стране насчитывается более 620 тыс. детей-сирот. Важно отметить, что среди детей-сирот насчитывается большое количество детей-инвалидов. Дети-инвалиды составляют около 2,0 % от детского населения Российской Федерации, и по данным Росстата, за последние 5 лет отмечается тенденция к увеличению их числа. В структуре причин детской инвалидности наибольший удельный вес приходится на ментальные болезни — 22,8 % [3, 4]. Неблагоприятная социальная среда, отягощенная наследственностью, дефицит питания, ограниченные возможности здоровья, несомненно, являются предрасполагающими факторами ухудшения стоматологического здоровья у детей разных возрастных групп [5–7]. В связи с ростом доли отказных детей изучение состояния здоровья, в том числе стомато-

логической заболеваемости, представляет особый интерес, так как в литературе данная проблема изучено недостаточно.

Наиболее распространенные стоматологические заболеваний в мире среди детского населения — это кариозные поражения и зубочелюстные аномалии, что связано с ростом организма и челюстных костей, сменой зубов, а также недостаточным уровнем гигиены и злоупотреблением углеводистой пищей и др. [8–10]. По данным литературы у малышей с ограниченными возможностями здоровья (ОВЗ), а также у детей с сопутствующими хроническими заболеваниями выявлена высокая заболеваемость челюстно-лицевой патологией [11, 12]. По данным литературных источников, данная патология наиболее часто поражала детей с эндокринными заболеваниями — 62,5 % случаев, с нарушениями вегетососудистой системы в 44,0 % случаях, у детей с аллергическими реакциями в 90 % случаев. Вместе с тем одним из predisposing факторов развития ЗЧС у детей из приемных семей является отсутствие грудного вскармливания, длительное применение сосок, что приводит к дисбалансу работы мышц челюстно-лицевой области с последующим развитием зубочелюстной патологии [13, 14]. По данным авторов, распространенность кариеса и его осложнений у воспитанников детского дома Калужской области составляла 94,1 % (из них 56,25 % мальчики, 43,75 % девочки). Среди общего числа мальчиков кариес обнаружен у всех (100 %), у девочек — в 87,5 % случаев [15].

Сведения из литературных источников о высокой распространенности кариеса, его осложнений, некариозных поражений и зубочелюстных аномалий у детей из неблагоприятной среды свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения данной проблематики [16–20]. В связи с этим наше внимание было обращено на отказных детей-сирот дошкольного периода в усыновленных семьях на предмет пораженности детей кариозными болезнями, а также зубочелюстными аномалиями. Цель исследования — анализ стоматологической заболеваемости у приемных детей дошкольного периода.

Материалы и методы

Для изучения стоматологического здоровья приемных детей нами были обследованы 25 семей-усыновителей, проживающих в республике Татарстан. Стоматологическое обследование проходило на базе коммерческих стоматологических клиник, а также в муниципальных дошкольных учреждениях Республики Татарстан. Объем выборки — 26 деток в возрасте от 1,1 до 6 лет включительно, из них 11 мальчиков и 15 девочек. В зависимости от возраста обследуемые дети были поделены на несколько групп: от 1,1 до 2,5 лет, от 2,6–4,5 лет и от 4,6 до 6 лет включительно. Так же для чистоты эксперимента в эту группу были добавлены дети, достигшие 7-летнего возраста, которые по тем или иным причинам пошли в школу позднее своих сверстников, всего при обследовании в замещающих семьях было 9 детей данного возраста. В помощь к изучению стоматологической заболеваемости и оценке состояния здоровья у детей дошкольного возраста, результаты осмотров нами фиксировались в специальной индивидуальной карте пациента и его членов семьи.

Обследование состояло из осмотра полости рта на предмет наличия заболеваний твердых тканей зубов и зубочелюстных нарушений, в том числе лицевых признаков. Особое внимание уделялось осанке ребенка, так как проблемы с позвоночником часто сопровождаются патологией носового дыхания, что влечет за собой формирование открытого прикуса и других зубочелюстных деформаций. Так же особое внимание уделялось мышцам челюстно-лицевой области, возможным состоянием гипертонуса при смыкании или в покое, что помогает определить наличие функциональных отклонений в том числе. Осмотр зубов включал в себя оценку целостности эмали, ее структуры, цвета, блеска и целостности, выявление вредных привычек. При поражениях флюорозом использовался индекс Thylstry, Fejerskov (1978, 1981). Для выявления некариозных поражений, осложненных кариесом, применяли кариес-индикатор — CariesMarker, Voco, «Кариес индикатор» Омега Дент. Для обследования рта детей были использованы стоматологические стерильные инструменты.

Для оценки достоверности результатов были применены показатели определения средних величин (M), средней ошибки показателя (m), критерия Стьюдента(t) и значения P .

Результаты и обсуждение

Осмотр детей из приемных семей разного пола и возраста выявил значительную поражаемость

кариесом зубов и высокую интенсивность процесса. У детей самой старшей возрастной группы исследования — до 6 лет включительно заболеваемость кариесом доходила до 100 %. Вместе с тем в возрасте 4,6–6 лет кариозный процесс протекал наиболее агрессивно. Наименее подвержены кариозным поражениям оказались усыновленные дети в возрастной группе от 1,1 года до 2,5 лет (таблица 1).

Таблица 1

Интенсивность и частота распространения кариеса зубов среди детей из приемных семей

Возраст детей	Общее число обследованных детей	Число детей КПУ+кп	Распространенность кариеса зубов	Интенсивность поражения зубов кариесом (КПУ+кп)					
				Число пораженных зубов	На 1 обследов. приходится КПУ+кп	Число пораженных зубов (кп)	На 1 обследов. приходится (кп)	Число пораженных зубов (КП)	На 1 обследов. Приходится (КП)
1,1–2,5	3	2	66,7 ± 8,08	14	4,67	14	4,67	«—»	«—»
2,6–4,5	13	12	92,3 ± 9,01	89	6,85	78	6,0	11	0,85
4,6–6	10	10	100	78	7,8	60	6,0	18	1,8
Всего	26	24	92,3 ± 8,37	181	6,9	152	5,8	29	1,1

Table 1

Intensity and frequency of tooth decay among children from foster families

Age of children	Total number of examined kids	Number of kids with DMFT	Caries prevalence	Tooth decay intensity (DMFT and dmft)					
				Number of affected teeth	DMFT, dmft	Amount of affected teeth (dmft)	dmft index in 1 kid	Amount of affected teeth (DMFT)	DMFT index in 1 kid
1.1–2.5	3	2	66.7 ± 8.08	14	4.67	14	4.67	«—»	«—»
2.6–4.5	13	12	92.3 ± 9.01	89	6.85	78	6.0	11	0.85
4.6–6	10	10	100	78	7.8	60	6.0	18	1.8
Всего	26	24	92.3 ± 8.37	181	6.9	152	5.8	29	1.1

Далее нами была изучена распространенность и интенсивность кариеса в зависимости от гендерных и возрастных особенностей обследуемого. При изучении распространенности кариозных

поражений среди детей разных возрастных групп было установлено, что девочки чаще поражались кариесом, чем мальчики, однако эти значения оказались не достоверными (таблица 2).

Таблица 2

Данные о распространении и интенсивности кариозного процесса в зубах у детей из приемных семей в зависимости от гендерных и возрастных особенностей развития

Возраст детей (лет)	Распространенность кариеса зубов у М (m±%)	Распространенность кариеса зубов у Д (m±%)	Количество кариозных зубов среди М	На 1 М приходится	Количество кариозных зубов среди Д	На 1 Д приходится	P
1,1–2,5	50 ± 9,805	100	9	4,5	5	5,0	<0,01
2,6–4,5	100	87,5±6,485	26	5,2	63	7,9	<0,01
4,6–6	100	100	27	6,8	51	8,5	-
Всего	90,9 ± 5,640	93,3 ± 4,903	62	5,6	119	7,9	>0,05

Примечание: М — мальчики, Д — девочки

Table 2

Data on the spread and intensity of the dental decay in teeth in children from foster families, depending on gender and age characteristics of the development

Age of children	Prevalence of dental caries in boys (m±%)	Prevalence of dental caries in girls (m±%)	Number of carious teeth among boys	Intensity in boys	Number of carious teeth among girls	Intensity in girls	P
1.1–2.5	50 ± 9.805	100	9	4.5	5	5.0	<0.01
2.6–4.5	100	87.5±6.485	26	5.2	63	7.9	<0.01
4.6–6	100	100	27	6.8	51	8.5	-
Total	90.9 ± 5.640	93.3 ± 4.903	62	5.6	119	7.9	>0.05

При изучении распространенности кариеса и его осложнений в зависимости от нозологии и возраста ребенка нами было установлено, что в возрасте от 4,6–6 лет у всех детей были диагностированы случаи начальных форм кариеса, средний кариес, а также хронический пульпит. Среди детей в возрасте 2,6–4,5 года так же были наиболее распространены хронические формы пульпита — 92,3 %, среди неосложненных форм

кариеса — начальный кариес, интенсивность которого составляла 1,69 случаев на одного обследованного пациента. Самые наименее распространенные — случаи острого периодонтита и острого пульпита. У детей в возрасте от 1,1 и до 2,5 лет не были выявлены формы начального кариеса, в то время как поверхностный кариес протекал наиболее интенсивно — 1,33 на 1 обследованного (таблица 3).

Таблица 3

Показатели распространения и интенсивности поражения зубов кариесом
у усыновленных детей в зависимости от возрастных особенностей и формы кариозных поражений

Нозологические формы кариеса	Возраст 1,1–2,5			Возраст 2,6–4,5			Возраст 4,6–6		
	Число случаев кариеса	Распространен- ность форм кар. кариеса	Интенсивность	Число случаев кариеса	Распространен- ность форм кар. кариеса	Интенсивность	Число случаев кариеса	Распространен- ность форм кар. кариеса	Интенсивность
начальный	–	–	–	13	100 %	1,69	10	100 %	1
поверхно- стный	2	66,7 %	1,33	10	76,9 %	1,54	8	80 %	1,1
средний	2	66,7 %	1	–	–	–	10	100 %	1,6
глубокий	1	33,3 %	0,33	10	76,9 %	1,08	8	80 %	1,5
острый пульпит	1	33,3 %	0,33	5	38,5 %	0,38	–	–	–
хронич. пульпит	2	66,7 %	0,67	12	92,3 %	1	10	100 %	1,2
острый периодонтит	1	33,3 %	0,33	5	38,5 %	0,38	4	40 %	0,4
хронический периодонтит	2	66,7 %	0,67	10	76,9 %	0,77	8	80 %	1

Table 3

Prevalence and intensity rates of dental caries lesions in children living in foster care depending
on development and carious lesion forms

Nosological forms of caries	Age 1.1–2.5			Age 2.6–4.5			Age 4.6–6		
	Number of cases кариеса	Prevalence of the forms	Intensity	Number of cases	Prevalence of the forms	Intensity	Number of cases	Prevalence of the forms	intensity
initial	–	–	–	13	100 %	1.69	10	100 %	1
superficial	2	66.7 %	1.33	10	76.9 %	1.54	8	80 %	1.1
moderate	2	66.7 %	1	–	–	–	10	100 %	1.6
severe	1	33.3 %	0.33	10	76.9 %	1.08	8	80 %	1.5
acute pulpitis	1	33.3 %	0.33	5	38.5 %	0.38	–	–	–
chronic pulpitis	2	66.7 %	0.67	12	92.3 %	1	10	100 %	1.2
acute periodontitis	1	33.3 %	0.33	5	38.5 %	0.38	4	40 %	0.4
chronic periodontitis	2	66.7 %	0.67	10	76.9 %	0.77	8	80 %	1

Далее нами были изучено состояние зубов, зубных рядов и прикуса на предмет наличия зубочелюстных аномалий (ЗЧА), а также была изучена

распространенность заболеваний в зависимости от нозологии болезней. При исследовании детей дошкольного периода из приемных семей было

зафиксировано, что те или иные признаки аномалий зубочелюстной системы присутствовали у детей по достижении 1 года и 1 месяца. Распространенность челюстно-лицевых патологий у детей всех

возрастов, независимо от гендерных различий, по результатам нашей работы достигала 100 % случаев (таблица 4).

Таблица 4

Распространение зубочелюстной патологии у детей из приемных семей в зависимости от гендерных и возрастных особенностей развития

Возраст детей	Общее число обследованных детей	Число детей с ЗЧА	m±%	В том числе в зависимости от пола					
				Число обследованных мальчиков	Число мальчиков с ЗЧА	m±%	Число обследованных девочек	Число девочек с ЗЧА	m±%
1,1–2,5	3	3	100	2	2	100	1	1	100
2,6–4,5	13	13	100	5	5	100	8	8	100
4,6–6	10	10	100	4	4	100	6	6	100
Всего	26	26	100	11	11	100	15	15	100

Примечание: ЗЧА — зубочелюстные аномалии

Table 4

Distribution of dentoalveolar pathology in children from foster families depending on gender and age characteristics of development

Age of children	Total number of examined kids	Number of kids with DAA	Prevalence m±%	Depending on gender of the kids					
				Number of boys examined	Number of boys with DAA	Prevalence m±%	Number of girls examined	Number of girls With DAA	Prevalence m±%
1,1–2,5	3	3	100	2	2	100	1	1	100
2,6–4,5	13	13	100	5	5	100	8	8	100
4,6–6	10	10	100	4	4	100	6	6	100
Всего	26	26	100	11	11	100	15	15	100

Note: DAA-dentoalveolar anomalies

При анализе нозологии зубочелюстных аномалий нами было определено, что чаще у детей из приемных семей были диагностированы патологии прикуса, такие как глубокий прикус (15,4 % случаев) и прогенический прикус (15,4 % случаев). Наименее подвержены дети из приемных семей оказались ано-

малиям формы, порядка и размеров зубов, а также нарушениям стираемости твердых тканей зубов. В возрастной группе 2,6–4,5 наиболее часто были выявлены такие патологические состояния, как открытый прикус, распространенность которого составила 23,1 % случаев, реже — перекрестный

прикус и смешанные аномалии зубочелюстной системы. В возрасте детей 4,6–6 лет самыми распространенными оказались: прогнатический (20 %) и глубокий прикус (20 %) (рисунок 1).

В процессе исследования нами так же была зафиксирована высокая поражаемость некариозными болезнями зубов у детей из приемных семей. При анализе нозологии их распространения нами было установлено, что некариозные болезни зубов поражали молочные зубы у детей с 1 года, причем самым распространенным заболеванием в данной

возрастной группе среди некариозных поражений оказалась аплазия эмали, распространенность которой составила 66,7 %. Среди детей возрастной группы 2,6–4,5 года одинаково распространенными оказались системная гипоплазия эмали (38,5 %) и аплазия эмали (38,5 %), среди детей более старшей возрастной группы 4,6–6 лет самыми распространенными оказались системная гипоплазия эмали, осложненная кариесом (50 %) и аплазия эмали (50 %). Всего наибольшую распространенность получила тяжелая формы гипоплазии эмали (рисунок 2).

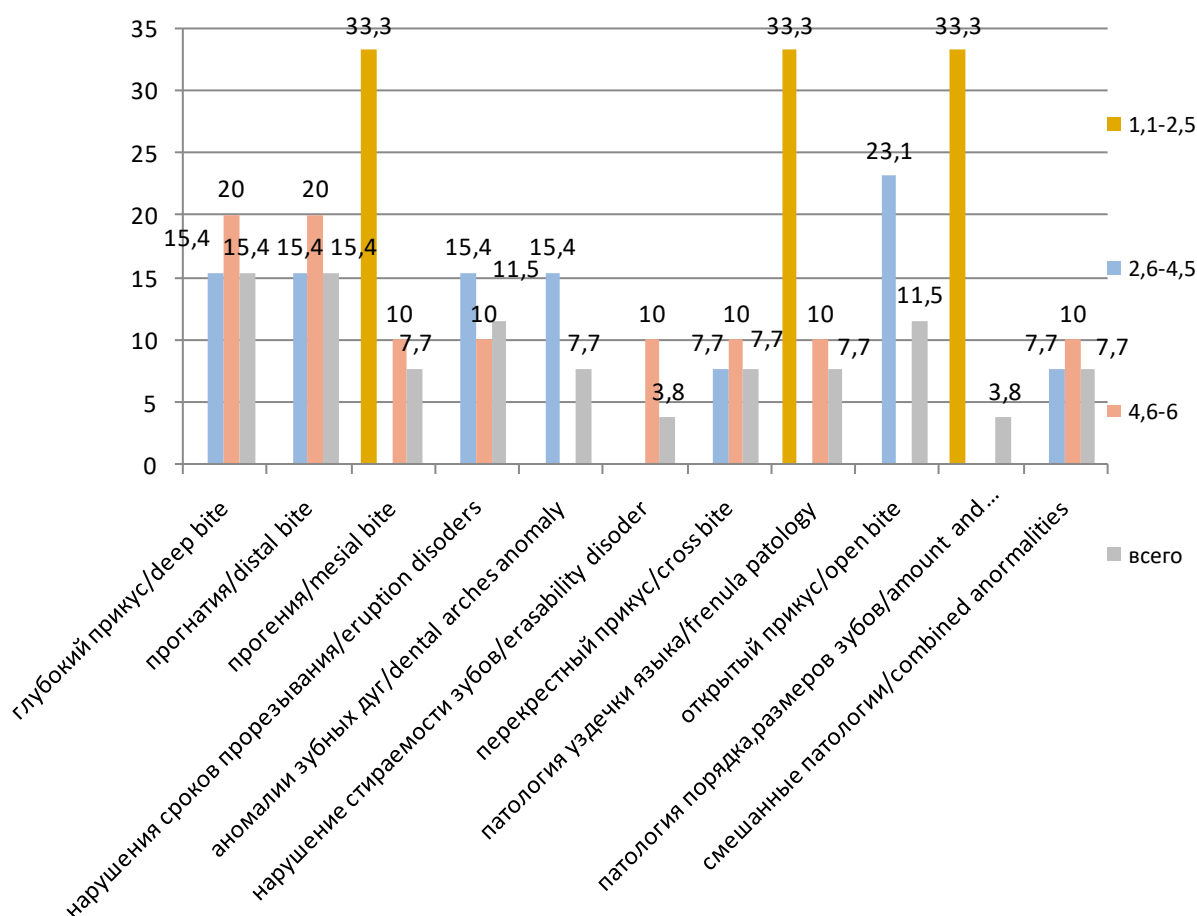


Рис. 1. Градация зубочелюстных аномалий у детей из приемных семей в зависимости нозологии болезни и возрастных особенностей развития

Fig. 1. Gradation of dentoalveolar abnormalities in children from foster families depending on disease nosology and age-related developmental features

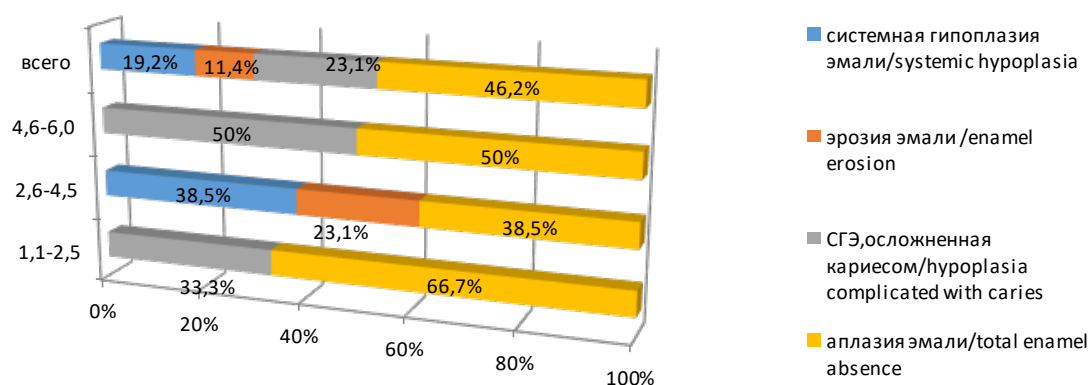


Рис 2. Нозология некариозных болезней и их частота распространения у детей из приемных семей

Fig. 2. Nosology of non-carious diseases and their incidence in children from foster families

Таблица 5

Показатели распространение некариозных болезней твердых тканей зубов среди детей, проживающих в приемных семьях в зависимости от гендерных и возрастных особенностей развития

Возраст детей	Общее число обследован. детей	Число детей поражен. некариоз. заб.	%	В том числе в зависимости от пола					
				Число обследованных мальчиков	Число мальчиков поражен. некар. забол.	%	Число обследов. девочек	Число девочек поражен. некар. заб.	%
1,1–2,5	3	3	100	2	2	100	1	1	100
2,6–4,5	13	13	100	5	5	100	8	8	100
4,6–6	10	10	100	4	4	100	6	6	100
Всего	26	26	100	11	11	100	15	15	100

Table 5

Rates of non-carious dental hard tissue disease among children in foster care by gender and age

Age of the kids	Total number of examined children	Number of children with non carios d.	Prevalence m ± %	Depending on gender					
				Number of examined boys	Number of boys with non carios d.	Prevalence m ± %	Number of examined girls	Number of girls with non carios d.	Prevalence m ± %
1.1–2.5	3	3	100	2	2	100	1	1	100
2.6–4.5	13	13	100	5	5	100	8	8	100
4.6–6	10	10	100	4	4	100	6	6	100
Всего	26	26	100	11	11	100	15	15	100

При изучении распространенности некариозных заболеваний в зависимости от пола ребенка и возраста нами было установлено, что дети всех возрастных групп, вне зависимости от пола оказались подвержены некариозным заболеваниям зубов, что можно связать с влиянием неблагоприятного течения внутриутробного развития плода и самой беременности (таблица 5).

Выводы

1. Дети из приемных семей высоко подвержены стоматологическим заболеваниям с самых первых лет жизни. В возрасте 1 года у усыновленных детей отмечается высокая поражаемость кариесом зубов и его осложнений – $66,7 \pm 8,08$ % случаев.

2. Самый высокий уровень интенсивности кариеса приходится на возраст 4,6–6 лет и составляет 7,8 случаев на 1 обследованного. Причем интенсивность кариозного процесса протекает более выражено среди девочек (8,5 случаев на одну обследованную девочку).

3. Достоверные различия в более высокой распространенности кариеса и его осложнений среди мальчиков была выявлена в возрасте 2,6–4,5 лет, среди девочек кариес оказался достоверно более распространен в возрасте 1,1–2,5 года.

4. При анализе распространенности кариеса и его осложнений было установлено, что в зависимости от нозологии болезни наиболее часто в возрасте 2,6–4,5 лет встречались начальные формы кариозных поражений. В возрасте 4,5–6,0 лет — начальный, средний кариес и хроническая форма пульпита. У детей до 2,5 лет осложненные и неосложненные формы кариеса.

5. Распространенность ЗЧА и некариозных поражений зубов среди детей из приемных семей, вне зависимости от гендерной/возрастной принадлежности достигала 100 % случаев.

Полученные результаты исследования свидетельствуют о высокой распространенности стоматологических заболеваний среди детей из приемных семей, распространенность которых в некоторых случаях достигает 100 % случаев. Результаты

данной работы отражают современное состояние стоматологического здоровья у детей, находящихся в особой группе риска в связи с неблагоприятными условиями жизни, отягощенной наследственностью, психологическими травмами, недостатками питания, а также социальным сиротством. Изучение распространенности стоматологических заболеваний позволяет не только выявить те или иные аномалии и нарушения развития на ранних этапах жизни ребенка, а также свидетельствует о необходимости в разработке и внедрения новых концептуальных подходов проведения профилактических и лечебных мероприятий у детей с отягощенным анамнезом жизни.

References / Список литературы

1. Salah N. Comparison of oral health in children aged 5–6 years in the Czech Republic and Yemen. *Cent.Eur.J. Public Health*. 2018;26(4):305–309.
2. Simonenko DA, Zhurbenko VA, Karlash AE. An integrated approach to the diagnosis, treatment and prevention of caries in early and preschool age children. *RUDN Journal of Medicine*. 2024;28(1):23–34. doi: 10.22363/2313-0245-2024-28-1-23-34 (In Russian). [Симоненко Д.А., Журбенко В.А., Карлаш А.Е. Комплексный подход к диагностике, лечению и профилактике кариеса у детей раннего и дошкольного возрастов // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2024. Т. 28. № 1. С. 23–34. doi: 10.22363/2313-0245-2024-28-1-23-34].
3. Khadyeva MN, Galiullin AN, Saleev RA, Zaripova EM, Giniyatullin II, Zaripova ER. Modern issues of pediatric dentistry in the context of the implementation of the national program “Health” and “Demography”. Kazan: MedDok. 2021. (In Russian) [Хадыева М.Н., Галиуллин А.Н., Салеев Р.А., Гиниятуллин И.И., Зарипова Э.Р. Современные вопросы детской стоматологии в условиях реализации национальной программы «Здравоохранение и демография». М.: МедДок. 2021. Режим доступа: https://repository.kpfu.ru/eng/?p_id=283589&p_lang=2].
4. Husnutdinova MS. Social protection of orphans. *Education and law*. 2022;8: 110–112. (In Russian). [Хуснутдинова М.С. Социальная защита детей-сирот // Образование и право. 2022. № 8. С. 110–112.].
5. Glyants EM. Orphans and children left without the care of parents-victims of modern crime: statistical and victimological aspect (2014–2018). *Victimology*. 2022;2:166–173. (In Russian). [Глянц Е.М. Дети-сироты и дети, оставшиеся без попечения родителей-жертвы современной преступности: статистико-виктимологический аспект (2014–2018 ГГ.) // Виктимология. 2022. № 2. С. 166–173.].ДЕ
6. Buyanova VV, Samosadova EV, Alexandrina OP. Study of child-parental relations in foster families. *Problems of modern pedagogical education*. 2017; 54(4): 158–165. (In Russian). [Буянова В.В., Самосадова Е.В., Александрова О.П. Изучение детско-родительских отношений в приёмных семьях // Проблемы современного педагогического образования. 2017. № 54(4). С. 158–165].
7. Glyants EA, Kriventsova Yu V. Victimological aspects of rehabilitation of orphans and children left without parental care in an orphanage (based on materials from the Nizhnekamsk orphanage). *Victimology*. 2021;4:318–323. (In Russian). [Глянц Е.А., Кривенцова Ю.В. Виктимологические аспекты реабилитации детей-сирот и детей, оставшихся без попечения родителей,

в детском доме (по материалам нижекамского детского дома) // Вики-мология. 2021. № 4. С. 318–323.].

8. Ivanov VS, Tsevkukh LB. The structure of the index assessment of the level of oral hygiene and periodontal tissue in children of preschool and primary school age in various districts of the city of Odessa. *Bulletin of Dentistry*. 2015;4:58–64. (In Russian). [Иванов В.С., Цевух Л.Б. Структура индексной оценки уровня гигиены полости рта и состояния тканей пародонта у детей дошкольного и младшего школьного возраста различных районов города Одессы // Вестник стоматологии. 2015. № 4. С. 58–64.].

9. Tokmakova SI, Bondarenko OV, Lunitsyna YuV, Zhukova ES, Mokrenko EV, Gaidarova TA, et al. Study of the effect of dental rinses on the oral microbiota. *Pediatric dentistry and prevention*. 2023;23(1):4–14. doi:10.33925/1683-3031-2023-561. (In Russian) [Токмакова С.И., Бондаренко О.В., Луницына Ю.В., Жукова Е.С., Мокренко Е.В., Гайдарова Т.А., и др. Исследование влияния стоматологических ополаскивателей на микробиоту полости рта // Стоматология детского возраста и профилактика. 2023. № 23. Т. 1. С. 4–14.].

10. Shakovets NV, Antonenko AN, Zhilevich AV, Svirskaya AV. Assessment of dental caries incidence in preschool children according to new international criteria. *Modern dentistry*. 2020;(2):47–52. (In Russian). [Шаковец Н.В., Антоненко А.Н., Жилевич А.В., Сви́рская А.В. Оценка заболеваемости кариесом зубов детей дошкольного возраста согласно новым международным критериям // Современная стоматология. 2020. № (2). С. 47–52.].

11. Sergeeva MV, Kiseleva EA, Kiseleva KS, Kosticin AG. The structure of dental anomalies in children and adolescents of Kuzbass. *Dental Forum*. 2019;(2):1920. (In Russian). [Сергеева М.В., Киселева Е.А., Киселева К.С., Кострицин А.Г. Структура зубочелюстных аномалий у детей и подростков Кузбасса // Dental Forum. 2019. № (2). С. 1920. (In Russian).].

12. Sadullaev MSH, Savkina AA, Krechetova OS, Lazareva ES, Usachev VV. Dentoalveolar abnormalities in children. *Bulletin of the Medical Institute “Reaviz”: rehabilitation, doctor and health*. 2022; 2 (56):331–332. Special Issue. (In Russian).

[Садуллаев М.Ш., Савкина А.А., Кречетова О.С., Лазарева Е.С., Усачев В.В. Зубочелюстные аномалии у детей // Вестник медицинского института «Реавиз»: реабилитация, врач и здоровье. 2022. № 2 (56). С. 331–332.].

13. Gizani S, Seremidi K, Stratigaki E, Tong HJ, Duggal M, Kloukos D. Vital pulp therapy in primary teeth with deep caries: an umbrella review. *PediatrDent*. 2021;43(6):426–437.

14. Gudipani RK, Patil SR, Assiry AA, Karobari MI, Bandela V, Metta KK. Association of oral hygiene practices with the outcome of untreated dental caries and its clinical consequences in preand primary school children: A cross-sectional study in a northern province of Saudi Arabia. *Clin. Exp. Dent. Res*. 2021;7(6):968–977. doi: 10.1002/cre2.438

15. Kosyreva TF, Arzumanyan AG, Kuznethov VD. Oral health of children living in an orphanage *RUDN Journal of Medicine*. 2011;3:140–144. RUDN. Seriya: Medicina. 2011(3):140–144. (In Russian). [Косырева Т.Ф., Арзуманян А.Г., Кузнецов В.Д. Стоматологическое здоровье детей, проживающих в условиях детского дома // Вестник РУДН. Серия: Медицина. 2011. № 3. С. 140–144.].

16. Tkachenko TB, Savushkina NA, Karpova LS. Acquired malformations of hard dental tissues: molar-incisinal hypomineralization of enamel (literature review). *Scientific notes of St. Petersburg State Medical University named after I.P. Pavlova*. 2019;4:18–22. (In Russian). [Ткаченко Т.Б., Савушкина Н.А., Карпова Л.С. Приобретенные пороки развития твердых тканей зубов: молярно-резцовая гипоминерализация эмали (обзор литературы) // Ученые записки СПбГМУ им. И.П. Павлова. 2019. № 4. С. 18–22.].

17. Skiba AA, Barakhovskaya EE. Fluorosis: etiology, pathogenesis, clinic, treatment, prevention (literature review). *StudNet*. 2020;225–228. (In Russian). [Скиба А.А., Бараховская Е.Е. Флюороз: этиология, патогенез, клиника, лечение, профилактика (обзор литературы) // StudNet. 2020. № 2. С. 225–228.].

18. Kerimli NK, Damirchieva MV, Huseynova RN. Brief review of methods for preventing dental fluorosis. *Problems of Science*. 2021;3(160):57–60. (In Russian). [Керимли Н.К., Дамирчиева М.В., Гусейнова Р.Н. Краткий обзор методов профилактики флюороза зубов // Проблемы Науки. 2021. № 3 (160). С. 57–60.].

19. Gromova SN, Murtuzaeva AE., Odegov RA, Kutayavin DS, Pham VC, Peshkova IS. Choice of method of treatment of pulpitis in children with temporary teeth. *Medical education today*. 2022;1(17):6–11. (In Russian). [Громова С.Н., Муртузаева А.Э., Одегов Р.А., Кутявин Д.С., Фам В.Ч., Пешкова И.С. Выбор метода лечения пульпита у детей с временными зубами // Медицинское образование сегодня. 2022. № 1. Т. 17. С. 6–11.].

20. Damirchieva MV, Kerimli NK, Alizade AR. Modern methods for the prevention of systemic dental hypoplasia in children // *Bulletin of Science and Education*. 2021;5–1(108):61–64. (In Russian). [Дамирчиева М.В., Керимли Н.К., Ализаде А.Р. Современные методы профилактики системной гипоплазии зубов у детей // Вестник науки и образования. 2021. № 5–1 (108). С. 61–64.].

Ответственный за переписку — Хадыева Мадина Наилевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО Казанского ГМУ Минздрава России, 420012, Бутлерова 49, г. Казань; главный врач и директор сети СК «УниДент», Россия, 420066, г. Казань, ул. Чистопольская 79, офис 8; E-mail: madina-565@mail.ru
Хадыева М.Н. SPIN 6211-9000, ORCID 0009-0002-0643-0418
Галиуллин А.Н. SPIN 3343-5797, ORCID 0000-0002-1294-4055
Блашкова С.Л. SPIN 1013-4125, ORCID 0000-0003-3233-2926

Corresponding author: Khadyeva Madina Nailevna, PhD, C. Med. Sci., Assistant of Therapeutic Dentistry Department of Kazan State Medical University, Russia, 420012, Kazan, Butlerova Street, 49; Chief Physician and director of the UniDent dental clinic chain, Russia, 420012, Kazan, Chistopolskaya Street 79, Orenburg tract 2. Street, E-mail: madina-565@mail.ru
Khadyeva M.N. ORCID ID 0009-0002-0643-0418
Galiullin A.N. ORCID ID 0000-0002-1294-4055
Blashkova S.L. ORCID ID 0000-0003-3233-2926



ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ HISTORY OF MEDICINE

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-532-542
EDN AQECMN

ОБЗОР
REVIEW

Вклад сэра Чарльза Белла в медицину

Т.А. Фоминых , С.А. Кутя  

Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, г. Симферополь, Российская Федерация
 sergei_kutya@mail.ru

Аннотация. *Актуальность.* Знание научных концепций и достижений прошлых лет обеспечивает информативную базу для современных исследований. Более того, эти достижения наполняются наибольшим смыслом, если они ассоциируются с конкретным человеком и временем, в котором они произошли. Таким образом, знание истории науки позволяет не пренебрегать интеллектуальным наследием прошлых поколений и обращать его в потенциал для развития современных исследований. В одном из своих выступлений нобелевский лауреат сэр Эндрю Хаксли отмечал, что, если бы он в свое время более детально ознакомился с литературой XIX в., то некоторые свои исследования он смог бы успешно завершить гораздо быстрее и эффективнее. Нужно сказать, что XIX в. подарил человечеству целую плеяду крупнейших ученых, совершивших поистине судьбоносные открытия. Наша статья посвящена одному из таких ученых — сэру Чарльзу Беллу (1774–1842), выдающемуся шотландскому хирургу, анатому и экспериментатору-физиологу. *Результаты исследования.* В ходе своей научной, преподавательской и практической медицинской деятельности Белл реализовал накопленные знания и опыт в публикации множества трактатов, не теряющих актуальности и по сей день. Свой талант художника Чарльз Белл применил в анатомии, собственноручно иллюстрируя великолепные книги, написанные в соавторстве со старшим братом, известным хирургом Джоном Беллом, и в хирургии (точнее, в военно-полевой хирургии), зарисовывая раненых после сражения при Ватерлоо. Неоценимый вклад внес ученый и в развитие неврологии. Так, имя Чарльза Белла увековечено в названии длинного грудного (или «наружного дыхательного») нерва, в описании паралича нижних двигательных нейронов лицевого нерва и в «симптоме Белла», когда глазное яблоко закатывается вверх при попытке закрыть глаз. Широко известно его описание различий между пятым и седьмым черепными нервами, а также определение морфо-функциональных особенностей передних и задних корешков спинного мозга как закон Белла. За неоценимый вклад в науку Чарльз Белл был награжден золотой медалью Королевского общества и произведен в рыцари Ганноверского гвельфийского ордена. *Выводы.* Выражение великого русского хирурга Н.И. Пирогова «Все, что есть

© Фоминых Т.А., Кутя С.А., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

высокого на свете, — искусство, вдохновение и наука...» как нельзя более подходит для характеристики его современника Чарльза Белла, соединившего в себе эти три ипостаси. Важно отметить, что рефлекторная теория, основателем которой считают Чарльза Белла, является основополагающей концепцией физиологии и медицины.

Ключевые слова: история медицины, Чарльз Белл, история анатомии, история хирургии, медицинская иллюстрация

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов: Т.А. Фоминых — сбор и обработка материала, написание текста; С.А. Кутя — концепция и дизайн исследования, редактирование рукописи. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Информация о конфликте интересов — авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

Этическое утверждение — неприменимо.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 19.06.2024. Принята 14.07.2024.

Для цитирования: Фоминых Т.А., Кутя С.А. Вклад сэра Чарльза Белла в медицину // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2025. Т. 29. № 4. С. 532-542. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-532-542. EDN: AQECMN

Contribution of Sir Charles Bell to medicine

Tatiana A. Fominykh , Sergey A. Kutia  

V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russian Federation
 sergei_kutya@mail.ru

Abstract. Relevance. Knowledge of scientific concepts and achievements of the past provides an informative basis for modern research. Moreover, these achievements are filled with the greatest meaning if they are associated with a specific person and the time in which they occurred. Thus, knowledge of the history of science allows us not to neglect the intellectual heritage of past generations and turn it into potential for the development of modern research. In one of his speeches, Nobel laureate Sir Andrew Huxley noted that if he had familiarized himself with the literature of the 19th century in more detail, he would have been able to successfully complete some of his research much faster and more effectively. It must be said that the 19th century gave humanity a whole galaxy of the greatest scientists who made truly fateful discoveries. Our article is dedicated to one of such scientists — Sir Charles Bell (1774–1842), an outstanding Scottish surgeon, anatomist and experimental physiologist. *Results of study.* In the course of his scientific, teaching and practical medical activities, Bell implemented his accumulated knowledge and experience in the publication of many treatises that remain relevant to this day. Charles Bell applied his talent as an artist in anatomy, personally illustrating magnificent treatises written in collaboration with his older brother, the famous surgeon John Bell, and in surgery (more precisely, in military field surgery), sketching the wounded after the Battle of Waterloo. The scientist also made an invaluable contribution to the development of neurology. Thus, the name of Charles Bell is immortalized in the name of the long thoracic (or «external respiratory») nerve, in the description of lower motor neuron palsy of the facial nerve, and in the «Bell's sign», when the eyeball rolls upward when trying to close the eye. His description of the differences between the fifth and seventh cranial nerves, as well as the definition of the morpho-functional characteristics of the anterior and

posterior roots of the spinal cord as Bell's law, are widely known. For his invaluable contribution to science, Charles Bell was awarded the gold medal of the Royal Society and made a knight of the Hanoverian Guelphic Order. *Conclusion.* The statement of the great Russian surgeon N.I. Pirogov, «Everything that is high in the world is art, inspiration and science...» is the most appropriate description of his contemporary Charles Bell, who combined these three hypostases. It is important to note that the reflex theory, whose founder is considered to be Charles Bell, is a fundamental concept of physiology and medicine, although in the early stages (in the mid-19th century) this principle was considered only in relation to the spinal cord.

Keywords: history of medicine, Charles Bell, history of anatomy, history of surgery, medical illustration

Funding. The authors received no financial support for the research.

Author contribution. Fominykh T.A. — collection and processing of material, writing of the text; Kutia S.A. — concept and design of the study, editing. All authors made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the manuscript, read and approved the final version before publication.

Conflicts of interest statement. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements — not applicable.

Ethics approval — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Received 19.06.2024. Accepted 14.07.2024.

For citation: Fominykh TA, Kutia SA. Contribution of Sir Charles Bell to medicine. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):532–542. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-532-542. EDN: AQECMN

Введение

В конце XVIII и первой половине XIX вв. Великобритания переживала ряд судьбоносных преобразований — завершение промышленной революции, основание в 1800 г. Соединенного Королевства Великобритании и Ирландии, победу избирательной реформы и принятие законов, улучшающих условия труда и жизни населения. Этот период характеризуется также бурным развитием британской науки, выведшим страну в XIX в. на лидирующие позиции в мире. Одним из ученых-энтузиастов и первооткрывателей того времени стал Чарльз Белл, имя которого известно всем, кто имеет отношение к медицине, и осталось запечатленным в теоретической и практической медицине в виде эпонимов в анатомии и неврологии, а также благодаря замечательным иллюстрированным изданиям его трудов по анатомии и хирургии. Выражение великого русского хирурга Н.И. Пирогова «Все,

что есть высокого на свете, — искусство, вдохновение и наука...» как нельзя более подходит для характеристики его современника Чарльза Белла, соединившего в себе эти три ипостаси [1]. Важно отметить, что рефлекторная теория, основателем которой считают Чарльза Белла, является основополагающей концепцией физиологии и медицины [2].

Детство и юность Чарльза Белла

В 1774 г. в местечке Фаунтинбридж, пригороде Эдинбурга, родился Чарльз (рисунок 1), младший из четырех сыновей преподобного Уильяма Белла (1704–1779). Когда мальчику было пять лет, тяжело заболел отец, и семейству пришлось нести расходы на его лечение, что составляло двадцать пять фунтов в год, а материальное положение семьи было настолько стесненным, что обучение старшего брата Джона (1763–1820) не могло продолжаться после

того, как ему исполнилось одиннадцать лет, хотя плата за обучение составляла всего пять фунтов и четверть шиллинга. Несмотря на это, все сыновья получили университетское образование (двое — медицинское, двое — юридическое) и достигли определенных высот на избранном поприще [3–5].



Рис. 1. Портрет сэра Чарльза Белла работы Дорифилда Харди (1821). Рисунок взят из открытых источников

Fig. 1. Portrait of Sir Charles Bell by Dorofield Hardy (1821). Figure taken from public sources

Семья была необычайно сплоченной, и каждый из детей делал все возможное, чтобы помочь остальным. Под руководством старшего брата Джона Чарльз изучал медицину. Также между Чарльзом и его братом Джорджем Джозефом (1770–1843), который был старше его на четыре года и впоследствии стал профессором шотландского права в Эдинбургском университете, на протяжении всей жизни почти ежедневно происходил обмен письмами, свидетельствующий об их глубочайшей взаимной привязанности [6, 7].

С раннего возраста Чарльз проявил художественные способности. Его мать великолепно рисовала и всячески способствовала развитию таланта сына, даже отдала его на обучение к известному в те вре-

мена живописцу Дэвиду Аллену (1744–1796). Под его руководством Белл изучал работы известных художников и научился работать с различными средствами, включая краски и моделирование воском. По окончании средней школы в Эдинбурге Чарльз стал помогать своему старшему брату Джону в анатомической школе и параллельно посещать лекции в университете [4, 7].

Когда Чарльз изучал медицину в Эдинбурге, его художественный талант был применен для оформления анатомического трактата «Система вскрытий», который был издан в 1798 г. совместно с Джоном Беллом. Вскоре после этого братья опубликовали «Анатомию человеческого тела» в четырех томах, книга выдержала несколько изданий и была переведена на немецкий язык. Как и другие труды, опубликованные ими совместно между 1797 и 1804 гг., издание было иллюстрировано офортами и гравюрами, выполненными по рисункам Чарльза [8, 9].

Начало практической деятельности (1799–1804 гг.)

По окончании курса обучения в 1799 г. Чарльз Белл был принят на работу в королевскую больницу в качестве хирурга. Это означало то, что, как и его учитель, он был одинаково искусным хирургом и анатомом. В дальнейшем Белл воспользовался своим клиническим опытом для развития одного из своих талантов и, моделируя патологические случаи из воска, собрал замечательную коллекцию, некоторые экземпляры которой до сих пор можно увидеть в музее Хирургической коллегии в Эдинбурге. Великолепные восковые модели в точности передавали оттенки патологически измененных тканей и были замечательным пособием в его преподавательской деятельности. Но, к сожалению, в медицинском обществе Эдинбурга уже назревал своего рода заговор с целью исключить братьев Белл из клинической практики [10, 11].

Примерно в 1800 г. возник скандал из-за публикаций некоего Джонатана Доплакера, посвященных проблеме отсутствия непрерывности ухода за хирур-

гическими пациентами в Эдинбургском Королевском лазарете и носивших чрезмерно критический характер в отношении главного хирурга Джона Белла. Это была одна из ожесточенных профессиональных ссор, коих было достаточно в Лондоне, Дублине и Эдинбурге в тот период [12]. Нужно сказать, что великие таланты Джона Белла сочетались с его довольно задиристым характером и склонностью к оскорбительным высказываниям, которые он не мог контролировать. Он участвовал во многих спорах, что привело к формированию среди коллег объединенной оппозиции против него и его младшего брата [3]. В последнем случае конфликт разгорелся между профессором, руководителем Королевского лазарета Джеймсом Грегори (использовавшим в публикациях псевдоним «Dawplucker») и Джоном Беллом, что привело к увольнению Белла из Королевского лазарета, отставке Чарльза в Лондоне и последующему осуждению Грегори Коллегией врачей за допущенное им «искажение истины» [13–15]. В результате 23 ноября 1804 г. Чарльз был вынужден покинуть Эдинбург и продолжил свою карьеру в Лондоне [7].

Жизнь и работа в Лондоне (1804–1824 гг.)

Несмотря на то, что Белл приехал в Лондон, не имея полагающихся рекомендаций и без гроша в кармане, он уже имел опыт преподавания хирургии и был уже известен таким людям, как Брум, Хорнер и Джеффри, его землякам, которые получили образование в Эдинбурге и уже сделали себе имя в Лондоне, являясь соучредителями очень популярного в то время журнала «Эдинбургское обозрение». Также Чарльз был знаком с издателем Томасом Лонгманом (1771–1842), публиковавшим его книги. В частности, к тому времени уже был издан знаменитый труд «The anatomy of the brain, explained in a series of engravings» (1802) [3, 16].

В течение своего первого года жизни в Лондоне Белл завершил работу над «Очерками анатомии выражения в живописи», вышедшей в 1806 г. В книге Белл пишет о мышцах лица человека, делая акцент

на области вокруг глаз как наиболее подвижной и выразительной. Будучи проницательным и точным наблюдателем, ученый сравнивал лицевые мышцы человека с соответствующей мускулатурой животных, а также анализировал закономерности проявления эмоций у животных. Он верно полагал, что некоторые мышцы лица существуют специально для того, чтобы обогатить выразительные способности человека. Художественные и литературные дарования Белла в сочетании с его глубокими познаниями в анатомии и физиологии сделали эту работу ярким примером истории искусства, а также великолепной базой для понимания анатомо-физиологических основ экспрессии лица. Данный труд остается и по сей день важным вкладом в понимание анатомии этого уникального человеческого качества (рисунок 2) [7, 17].

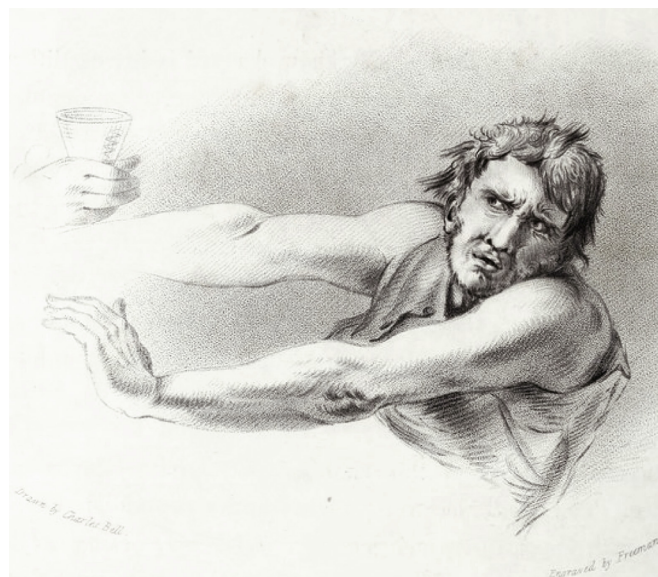


Рис. 2. Гидрофобия. Иллюстрация из книги Ч. Белла «Essays on the anatomy of expression in painting» (1806) [17]

Fig. 2. Hydrophobia. Illustration from the book by C. Bell «Essays on the anatomy of expression in painting» (1806) [17]

Чарльз Дарвин высоко оценил трактат Белла «Анатомия выражения...» и упомянул его в своей книге «Выражение эмоций у человека и животных», опубликованной в 1873 г. Дарвин писал: «...сэр Чарльз Белл может с полным основанием

сказать, что он не только заложил основы этого предмета как отрасли науки, но и создал ее благородную структуру. Его работы во всех отношениях очень интересны; они включают графические описания различных эмоций и превосходно иллюстрированы». И далее Дарвин цитирует г-на Лемуана: «Книгу Ч. Белла следует изучать каждому, кто пытается говорить о лице человека, прежде всего философам и художникам, так как наряду со своей простотой и эстетичностью она является одним из самых прекрасных памятников науке о взаимоотношениях физического и нравственного». И здесь Белл был пионером, но в этой работе, как и в его Бриджуотерском трактате о «Руке...», ему мешала телеология, поскольку теории эволюции еще не существовало [6, 18, 19].

В седьмом издании еще одной знаменитой книги Ч. Белла «The anatomy and philosophy of expression as connected with the fine arts» кроме ряда иллюстраций, отображающих различные выражения лица, присутствует также знаменитая зарисовка состояния тетануса у раненого солдата (это изображение есть и в цвете, выполненное Ч. Беллом акварелью, эскизы этой сцены нередко

встречаются в других публикациях Белла) (рисунок 3) [20].

Первое время в Лондоне Чарльз Белл вел частную практику, преподавая анатомию художникам. В отличие от «публичного лектора» «частный лектор» в те времена был самопровозглашенным экспертом, который мог предложить новый и оригинальный материал и возможность студентам самостоятельно проводить вскрытия [21]. Будучи одновременно преподавателем физиологии и хирургии в школе на Уиндмилл-стрит, Чарльз Белл привлекал многолюдную аудиторию своим легким изложением, элегантной дикцией и мастерскими иллюстрациями. Он беспрестанно трудился над пополнением сокровищ своего музея, вел обильные записи и графические иллюстрации случаев, был одним из первых, кто ввел преподавание клинической хирургии в Великобритании в палатах больницы Миддлсекс [3].

За годы работы в этой школе Чарльзу Беллу удалось внести значительный вклад в изучение актуальных в то время травматических повреждений позвоночника, деформаций позвоночного столба, нестабильности атлanto-затылочного сочленения и, особенно, функций спинного мозга, что легло



Рис. 3. Тетанус. Иллюстрация из книги Ч. Белла «The anatomy and philosophy of expression as connected with the fine arts» [20]

Fig. 3. Tetanus. Illustration from the book by Ch. Bell «The anatomy and philosophy of expression as connected with the fine arts» [20]

в основу формирования современной неврологии. В частности, Беллу принадлежит описание перелома позвоночника с поражением спинного мозга как морфологической основы развития задержки мочеиспускания, а также разработка алгоритмов ухода за пациентами с повреждениями спинного мозга и методов профилактики пролежней [21].

В 1809 г. Чарльз Белл совершал поездки в Портсмут и посещал раненых, только что прибывших в Королевский госпиталь Хаслар после битвы при Ла-Корунье; тем самым он получил обширные знания об огнестрельных ранениях, которые легли в основу его диссертационной работы и оказались чрезвычайно ценными в 1815 г., когда сразу после битвы при Ватерлоо Белл отправился в Брюссель и оказывал помощь раненым французским пленным, попутно делая зарисовки с натуры. Однако хирургическая практика в тот период не принесла Беллу успеха — к сожалению, процент смертности при проведении им ампутаций был очень высок (более 90 %), за что он подвергся жесткой критике со стороны его коллеги-хирурга Роберта Нокса

[3, 15, 22, 23]. Впоследствии, уже в 1836 г., Белл подготовил 17 акварелей в натуральную величину на основе набросков из своей записной книжки с изображениями раненых в битве при Ватерлоо, а также опубликовал свой курс «Лекций по хирургии в двух томах», небольшой труд «Практические очерки по различным вопросам» и новое издание «Анатомии и философии живописи» (рисунок 4) [7].

В апреле 1814 г. Белл был избран хирургом больницы Миддлсекс большинством голосов (265 из 473 участвовавших в опросе человек). Таким образом, Чарльз Белл стал, наконец, признанным коллегой Эстли Купера (1768–1841) и других знаменитостей самого высокого ранга из мира медицины и хирургии Лондона, продвинувших науку своей обширной практикой, манерой преподавания и виртуозностью рук [10]. Сравнивая состояние больницы в момент его поступления на работу с тем, в котором он покинул ее, выйдя на пенсию четверть века спустя, Чарльз Белл говорил: «В это время третья часть старой больницы



Рис. 4. Солдат, которому в битве при Ватерлоо ядром оторвало руку (акварельный рисунок Чарльза Белла) (1836). Рисунок взят из открытых источников.

Fig. 4. A soldier whose arm was blown off by a cannon ball at the Battle of Waterloo (watercolor drawing by Charles Bell) (1836). Figure taken from public sources.

была приютом для бедных французов, а единственным кастеляном был Джон Шоу; в 1836 г. больница была расширена за счет дополнительных боковых пристроек, палаты заполнились пациентами и на ее счету в фондах имелось достаточно средств (в пересчете примерно 120 000 евро)». Вскоре Белл привлек к своим лекциям студентов и показал себя отличным оператором. Однако его ужас перед причинением боли делал операции почти такими же болезненными для него самого, как и для пациента, и он завидовал тем, кто, как Эстли Купер, с которым у Белла были большие разногласия по поводу необходимости и целесообразности проведения ламинэктомии, был способен идти своим путем ровно, делая все возможное для пациента. Чарльз Белл воспринимал хирургию как чрезвычайно эмоциональное переживание. К тому же он был человеком, чей общий взгляд на жизнь был сформирован глубокими религиозными убеждениями и романтической чувствительностью. Тем не менее, несмотря

на этот недостаток, он работал в Брюсселе после битвы при Ватерлоо с шести утра до семи вечера три дня подряд [21, 22].

Основные научные труды Чарльза Белла

На протяжении ряда лет Белл обдумывал свой грандиозный труд по морфологии нервной системы, и в 1811 году предпринял первую попытку публикации на эту тему в виде писем-рассуждений о «Новой анатомии мозга» [3].

В 1816 г. Чарльз Белл опубликовал свои «Хирургические наблюдения». Эта важная работа объединила клинические случаи из его опыта работы в больнице Миддлсекса с исследованиями анатомических и патологических препаратов в школе на Грейт-Уиндмилл-стрит [24].

Серьезным вкладом в клиническую медицину стал иллюстрированный трактат Белла по хирургии «Illustrations of the great operations of surgery: trepan, hernia, amputation, aneurism, and lithotomy» (1821), посвященный избранным вопросам оперативной

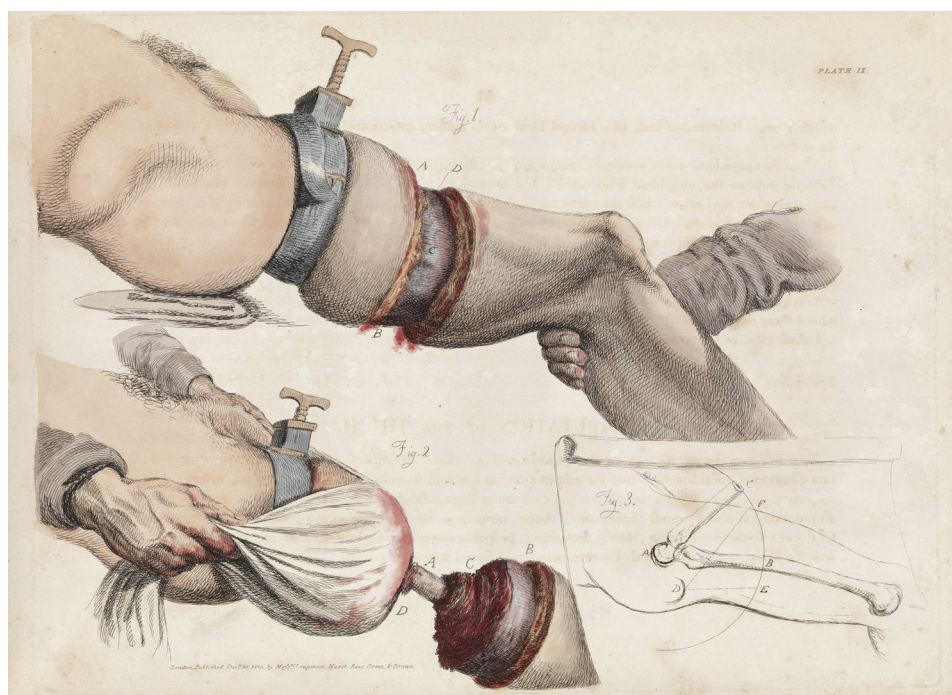


Рис. 5. Иллюстрация из книги Ч. Белла «Illustrations of the great operations of surgery: trepan, hernia, amputation, aneurism, and lithotomy. London: Longman, Hurst, Rees, Orme and Brown» (1821) [25]

Fig. 5. Illustration from the book by Ch. Bell «Illustrations of the great operations of surgery: trepan, hernia, amputation, aneurism, and lithotomy. London: Longman, Hurst, Rees, Orme and Brown» (1821) [25]

техники и снабженный советами молодым хирургам (рисунок 5) [25].

В том же 1821 г. Чарльз Белл представил Королевскому обществу доклад о своих достижениях в изучении нервной системы, в рамках которых ученый сделал ряд открытий, увековечивших его имя. Здесь и определение лицевого нерва как двигательного, а тройничного — как сенсомоторного, и формулировка функции передних и задних корешков спинномозговых нервов и т.д. Рефлекторная теория, основателем которой считают Чарльза Белла, является основополагающей концепцией физиологии и медицины, хотя на ранних этапах (в середине XIX в.) этот принцип рассматривался только в отношении спинного мозга [2]. Белл также известен благодаря описанной им клинике паралича нижних двигательных нейронов лицевого нерва, а также описанным им отличия этой патологии от слабости лицевого нерва, возникающей в результате повреждения соответствующего участка головного мозга. Столь же выдающейся работой Белла по неврологии, опубликованной в 1821 году, был трактат «О нервах» [3, 26].

В 1833 г. Чарльз Белл опубликовал трактат «Рука: ее механизм и жизненно важные свойства как очевидный замысел», который является великолепным образцом из области сравнительной анатомии, и в котором проводится глубокий анализ развития и функций руки. Интересна история создания данного трактата. В 1829 г. скончался Фрэнсис Эгертон, восьмой граф Бриджуотер, завещавший значительную денежную сумму президенту Лондонского королевского общества Дэвису Гилберту для написания и публикации тысячи экземпляров произведения «О силе, мудрости и благости Бога». Было поручено восьми ученым написать отдельные трактаты на эту тему, среди них был и Чарльз Белл, который в 1833 г. опубликовал так называемый «Четвертый Бриджуотерский трактат», посвященный анатомии верхней конечности. Книга иллюстрирована изображениями «рук» различных представителей животного мира, начиная от человеческих рук, лап шимпанзе и заканчивая рыбьими плавниками

ми. Трактат ориентирован на функциональное значение руки, при этом автор отмечает, что в хирургии рука так же важна, как и глаз, и ее необходимо тренировать. Бриджуотерские трактаты образовали серию из двенадцати томов, опубликованных в 1833 и 1834 гг. по научным темам, четыре медицинских и четыре богословских [27, 28].

Возвращение в Эдинбург

В 1824 г. Белл был избран на должность профессора анатомии и хирургии в Королевский колледж хирургов Эдинбурга, где читал лекции по анатомии. Его лекции были хорошо приняты критически настроенной аудиторией, а их содержание позднее было опубликовано Обществом распространения полезных знаний (1826–1848) под названием «Механика животных». В тот период он также активно оперировал в Эдинбургском королевском лазарете. В 1825 г. Белл продал колледжу свою знаменитую коллекцию восковых моделей, насчитывавшую около 3000 экспонатов. В 1829 г. школа на Уиндмилл-стрит была включена в состав Королевского колледжа Лондона. Белл был приглашен в качестве первого профессора по физиологии и оказал существенную помощь в организации Медицинской школы при Лондонском университете [29].

Кроме упомянутых направлений в медицине Белл также живо интересовался оториноларингологией — физиологией голосовых связок, расстройствами дыхательных путей и глотания. В частности, на примере одного из своих пациентов он впервые подробно изучил и описал трахеопищеводный свищ [24, 30].

В 1836 г. на базе Университетского колледжа Лондона и Королевского колледжа был создан Университет Лондона, и Чарльз Белл был приглашен туда в качестве профессора физиологии, но в скором времени по причине ухудшения здоровья и возникших разногласий с руководством вуза уволился по собственному желанию. Сразу после этого Белл возглавил кафедру хирургии в Эдинбургском университете. В Эдинбурге Белл наконец-то имел

возможность посвятить свое свободное время отдыху [3, 10, 31].

К сожалению, поправить здоровье на родине ученому не удалось, несколько лет подряд его беспокоили периодические приступы стенокардии, и во время одного из них ученый скончался. Это произошло 28 апреля 1842 г., когда Белл с супругой гостили у своей приятельницы миссис Холланд в Холлоу-парке, недалеко от Вустера. По завещанию Белла он был похоронен именно в этой местности на кладбище Hallow Churchyard [10, 27].

Заключение

Талантливый ученый и первооткрыватель Чарльз Белл прожил всего 67 лет, и всю свою сознательную жизнь он посвятил медицинской науке, проявив себя великолепным теоретиком и практиком, морфологом и хирургом, физиологом-экспериментатором, автором многочисленных публикаций, которые собственноручно иллюстрировал, будучи одаренным художником. Выражение великого русского хирурга Н.И. Пирогова «Все, что есть высокого на свете, — искусство, вдохновение и наука...» как нельзя более подходит для характеристики Чарльза Белла, соединившего в себе эти три ипостаси. Заслуги ученого были высоко оценены при его жизни. В 1807 г. он был избран членом Королевского общества Эдинбурга, а с 1826 г. Белл являлся членом Лондонского королевского общества. За значительный вклад в медицинскую науку Чарльза Белла в 1829 г. наградили золотой медалью, а в 1831 г. император Вильгельм IV (William IV, 1765–1837) посвятил его в рыцари Ганноверского гвельфийского ордена (Hanoverian Guelphic Order). В Англии и других странах его считали выдающимся врачом и ученым своего времени. Во время визита Белла в Париж профессор хирургии Филибер Жозеф Ру (1780–1854) при его появлении прервал лекцию и тут же завершил ее словами в его честь: «C'est assez, Messieurs, vous avez vu Charles Bell» — «Достаточно, господа, вы видели Чарльза Белла».

References / Список литературы

1. Abdulhabirov MA. Moral lessons from Nikolai Pirogov or questions of life. *RUDN Journal of Medicine*. 2015;(2):128–137. (In Russian). [Абдулхабилов М.А. Нравственные уроки от Николая Пирогова, или вопросы жизни по Пирогову // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2015. № 2. С. 128–137.]
2. Sorokina TS. Ivan Mikhaylovich Setchenov in the history of Russian and world physiology. *RUDN Journal of Medicine*. 2014;(3):97–107. (In Russian). [Сорокина Т.С. Иван Михайлович Сеченов в истории российской и мировой физиологии // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2014. № 3. С. 97–107.]
3. Gamgee S. Sir Charles Bell and Sir James Simpson: a biographical study. Birmingham: White and Pike. 1875:8–14.
4. Dewar L, Demetriades AK. Art in medicine: a retrospective on the anatomical drawings of Charles Bell. *Acta Clinica Croatica*. 2019;58(4):737–743. doi: 10.20471/acc.2019.58.04.21
5. Tubbs RS, Riech S, Verma K, Mortazavi MM, Loukas M, Benninger B, Cohen-Gadol AA. Sir Charles Bell (1774–1842) and his contributions to early neurosurgery. *Child's Nervous System*. 2012;28(3):331–335. doi: 10.1007/s00381-011-1666-8
6. Aminoff MJ. Sir Charles Bell: his life, art, neurological concepts, and controversial legacy. New York: Oxford University Press; 2017. 245 p.
7. Gardner-Thorpe C. Charles Bell (1774–1842) and an early case of muscular dystrophy. The Third Meryon Society Lecture read at Worcester College, Oxford on 28 July, 2000. *Neuromuscular Disorders*. 2002;12(3):318–321. doi: 10.1016/s0960-8966(01)00277-2
8. Jay V. A portrait in history. Sir Charles Bell. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 1999;123(6):463. doi: 10.5858/1999-123-0463-SCB
9. Bell J, Bell C. The anatomy of the human body. London: T.N. Longman and O. Rees; 1802. 389 p.
10. Amedee P. The life and labours of Sir Charles Bell. London: R. Bentley; 1860. 250 p.
11. Berkowitz C. The beauty of anatomy: visual displays and surgical education in early-nineteenth-century London. *Bulletin of the History of Medicine*. 2011;85(2):248–278. doi: 10.1353/bhm.2011.0030
12. Brown M. Surgery, identity and embodied emotion: John Bell, James Gregory and the Edinburgh «Medical War». *History (London)*. 2019;104(359):19–41. doi: 10.1111/1468-229X.12720
13. Dawplucker J, Barclay J. Remarks on Mr. John Bell's anatomy of the heart and arteries. London: G.G. and J. Robinson; 1799. 68 p.
14. Kaufman MH. The excoriation of Benjamin Bell: who was «Jonathan Dawplucker»? *The Journal of the Royal College of Physicians of Edinburgh*. 2005;35(4):356–364.
15. Grzybowski A, Kaufman MH. Sir Charles Bell (1774–1842): contributions to neuro-ophthalmology. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*. 2007;85(8):897–901. doi: 10.1111/j.1600-0420.2007.00972.x
16. Bell C. The anatomy of the brain, explained in a series of engravings. London: T.N. Longman and O. Rees; 1802. 87 p.
17. Bell C. Essays on the anatomy of expression in painting. London: Longman, Hurst, Rees, and Orme; 1806. 186 p.
18. Neher A. Sir Charles Bell and the Anatomy of Expression. *RACAR: Revue d'art Canadienne / Canadian Art Review*. 2008;33(1/2):59–65.
19. Hughes S, Gardner-Thorpe C. Charles Bell's (1774–1842) contribution to our understanding of facial expression. *Journal of Medical Biography*. 2022;30(4):206–214. doi: 10.1177/0967772020980233
20. Bell C. The anatomy and philosophy of expression as connected with the fine arts. 7th ed., revised. London: G. Bell and sons; 1893. 254 p.
21. Weiner MF, Silver JR. The contribution to our understanding of spinal disorders by the great Windmill Street School of Anatomy. *Spinal Cord*. 2011;49(3):323–332. doi: 10.1038/sc.2010.55

22. Brown M. Wounds and Wonder: Emotion, Imagination and War in the Cultures of Romantic Surgery. *Journal for Eighteenth-Century Studies*. 2020;43(2):239–259. doi: 10.1111/1754-0208.12684
23. Bell C. A dissertation on gun-shot wounds. London: Longman, Hurst, Rees, Orme, and Brown, Paternoster-Row; 1814. 89 p.
24. Abemayor E. Sir Charles Bell: Unheralded laryngologist. *American Journal of Otolaryngology*. 2017;38(4):492–495. doi: 10.1016/j.amjoto.2017.04.011
25. Bell C. Illustrations of the great operations of surgery: trepan, hernia, amputation, aneurism, and lithotomy. London: Longman, Hurst, Rees, Orme and Brown; 1821. 134 p.
26. Bell C. On the nerves; giving an account of some experiments on their structure and functions, which lead to a new arrangement of the system. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 1821;111:398–424.
27. Gardner-Thorpe C. Sir Charles Bell, KGH, FRS, FRSE (1774–1842). *International Review of Neurobiology*. 2006;74:281–289. doi: 10.1016/S0074-7742(06)74020-X
28. Bell C. The hand, its mechanism and vital endowments as evincing design. London: W. Pickering; 1833. 288 p.
29. Van Gijn J. Charles Bell (1774–1842). *Journal of Neurology*. 2011;258(6):1189–1190. doi: 10.1007/s00415-011-5912-5
30. Ertekin C, Aydogdu I. History of Oropharyngeal Organs and Swallowing. *Turkish Journal of Neurology*. 2023;29(3):165–168. doi: 10.4274/tnd.2023.76301

31. Butler R. Sir Charles Bell. *Res Medica*. 1962;3(2):56–62. doi: 10.2218/resmedica.v3i2.389

Ответственный за переписку: Сергей Анатольевич Кутя — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной анатомии, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского», Российская Федерация, 295051, г. Симферополь, бульвар Ленина, 5/7, Email: sergei_kutya@mail.ru

Фоминых Т.А. SPIN 7803–6046, ORCID 0000-0001-6572-2387

Кутя С.А. SPIN 7052-0617, ORCID ID 0000-0002-1145-4644

Corresponding author: Kutia Sergey A. — MD, PhD, Professor, Head of Department of Normal Anatomy, Institute «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» Vernadsky Crimean Federal University, 5/7 Lenina Boulevard, Simferopol 295051, Russia, Email: sergei_kutya@mail.ru

Fominykh T.A. ORCID 0000-0001-6572-2387

Kutia S.A. ORCID 0000-0002-1145-4644

ONCOLOGY ОНКОЛОГИЯ

DOI 10.22363/2313-0245-2025-29-4-543-553
EDN ATHSRH

ORIGINAL RESEARCH
ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Immunohistochemical study of P53 protein expression in the development of squamous cell carcinoma of the oral mucosa

Anastasia Ivina¹ , Yuliya Tigay¹  , Diana Rosina Familia Frias¹ ,
Olga Rabinovich² , Igor Babichenko^{1,2} 

¹ RUDN University, Moscow, Russian Federation

² Central Research Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery, Moscow, Russian Federation
 chen.juliya@gmail.com

Abstract. Relevance. Studies on the development of squamous cell carcinoma of the oral mucosa are of paramount importance due to the widespread of the disease and its aggressive course. When histological examination of the development of squamous cell carcinoma of the oral mucosa is not always possible to determine the first signs of malignancy. Squamous cell carcinoma can develop from epithelial hyperplasia and epithelial dysplasia of varying severity. In addition to histological research methods, immunohistochemical method is widely used for tumor diseases, in which the Ki-67 protein is used, with which the proliferation of epithelial cells can be determined, as well as the P53 protein encoding the TP53 gene, which is a suppressor of tumor growth. It is activated only in the presence of damage to the cell genome. The aim was to evaluate the expression of Ki-67 and P53 proteins in the development of dysplasia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa. **Materials and Methods.** Four groups were identified for the study: group 1–16 patients (34.7%) diagnosed with epithelial hyperplasia, group 2–8 patients (17.3%) diagnosed with low-grade epithelial dysplasia, group 3–9 (19.5%) with a diagnosis of “high-grade epithelial dysplasia”, group 4–13 (28.2%) with a diagnosis of “squamous cell carcinoma”. Mouse monoclonal antibodies to Ki-67 (clone MM1, Diagnostic Biosystems, USA) was used to determine cell proliferation. P53 expression was determined using mouse monoclonal antibodies to the P53 protein (Clone D 07, Novocastra, UK). Monoclonal rabbit antibodies P53 (Clone Y5 Epitomics, USA) were used to study only the “mutant type” of the P53 protein. **Results and Discussion.** The expression of Ki-67 and P53 proteins were observed in all groups. However, the minimum number of immunopositive cells in the study of P53 (Clone D 07) and P53 (Clone Y5) was observed in the epithelial hyperplasia group, and the maximum in the squamous cell carcinoma group. The increase in the number of stained cells significantly increased as the degree of epithelial dysplasia increased from epithelial hyperplasia and low grade epithelial dysplasia to high grade epithelial dysplasia, etc. **Conclusion.** Thus, the detection of the expression of the

© Ivina A.A., Tigay Yu.O., Familia Frias D.R., Rabinovich O.F., Babichenko I.I., 2025



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>

P53 protein (Clone Y5) in the epithelium indicates the presence of changes in the genetic apparatus and metabolism of cells, which can be used in the early diagnosis of squamous cell carcinoma of the oral mucosa.

Keywords: squamous cell carcinoma, epithelial dysplasia, protein P53, MTP53, WTP53

Authors' contributions. A.A. Ivina, I.I. Babichenko — Conceived the study and designed the experiment, Yu.O. Tigay — wrote the paper, O.F. Rabinovich, D.R. Familia Frias — collected the data and performed the analysis, I.I. Babichenko, A.A. Ivina — edited the manuscript. All authors made significant contributions to the conception, conduct of the study and preparation of the article, and read and approved the final version before publication.

Conflicts of interest statement. Authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements — not applicable.

Ethics approval — not applicable.

Consent for publication — not applicable.

Financian information – at the authors expenses

Received 19.06.2024. Accepted 14.07.2024.

For citation: Ivina AA, Tigay YuO, Familia Frias DR, Rabinovich OF, Babichenko II. Immunohistochemical study of P53 protein expression in the development of squamous cell carcinoma of the oral mucosa. *RUDN Journal of Medicine*. 2025;29(4):543–553. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-543-553. EDN: ATHSRH

Introduction

Head and neck cancer is the sixth most common type of cancer worldwide. According to research by *Daniel E. Johnson et al.*, 890,000 new cases were identified between 2018 and 2020. The mortality rate for head and neck cancer was 450,000 in 2018. These numbers are growing and may increase by 30% by 2030, amounting to 1.08 million new cases per year [1].

Squamous cell carcinoma (SCC) of the oral mucosa is the most frequent among head and neck malignancies [2]. It has a destructive growth pattern and often infiltrates underlying tissues. In 85% of cases, it metastasizes to regional and distant lymph nodes, and in 15% of cases, SCC spreads to internal organs [3]. Due to late diagnosis, SCC is considered a disease with a high mortality rate. It is known that precancerous conditions of the oral mucosa, such as hyperplasia and dysplasia of varying degrees, precede the development of SCC [4].

Histological examination of the oral mucosa reveals that the presence of epithelial dysplasia (ED) indicates a higher risk of malignant transformation of the epithelium. ED can be classified as low, moderate, or high grade. There is a close correlation between

high-grade dysplasia and cancer development [5]. The basis for diagnosing neoplastic processes includes histological and immunohistochemical (IHC) methods. In IHC, antibodies to the Ki-67 protein are often used. Its expression indicates the proliferative activity of cells, which is considered an important criterion in the development of neoplasms [6]. The quantitative measure of cells expressing the Ki-67 protein allows the assessment of prognosis and the degree of malignant transformation [7]. Due to this protein's ability to appear in actively dividing cells and its absence in resting cells (G0 phase), it is an excellent marker for tumor cell proliferation. A high level of immunopositive cells indicates the growth and increase in the volume of newly formed tissue, exacerbating the clinical course of the disease [8].

The P53 protein encodes the TP53 gene, often referred to as the “guardian of the genome” because it acts as a tumor growth suppressor. This protein regulates genes responsible for the cell cycle, DNA repair, angiogenesis, induction of cell death, antioxidant processes, and metabolism, and it is activated only in the presence of DNA damage. In its active state, the P53 protein binds

to DNA and triggers apoptosis. This process involves the halting of the cell cycle, gene transcription, and DNA replication. P53 protein is activated in response to genetic damage and stressful conditions. Additionally, activation occurs in the presence of a large number of proliferating (potentially oncogenic) cells, manifesting as the “wild type” WTP53. The regulation of this protein’s activity primarily involves its post-translational modifications and interactions with other proteins. It is known that this protein has a nuclear influence, participating in transcription and cell apoptosis, and also controls the function of cellular organelles and regulates metabolism — an extranuclear influence [9].

Mutations in the TP53 gene lead to the cell’s inability to undergo apoptosis, causing DNA damage to accumulate while the cell continues to function with a disrupted genotype, potentially contributing to cancer development.

The aim of this work was to evaluate the expression of Ki-67 and P53 proteins in the development of dysplasia and squamous cell carcinoma of the oral mucosa.

Materials and Methods

The evaluation and study of the material were conducted at the Pathological Anatomy Laboratory of the National Medical Research Center for Dentistry and Maxillofacial Surgery of the Russian Ministry of Health. Material of the archive from the Department of Oral Mucosal Diseases of National Medical Research Center for Dentistry and Maxillofacial Surgery of the Russian Ministry of Health, collected from July 2020 to August 2022, was used. The study included 46 patients with an average age of 86.4 years. Two primary diagnoses were selected for the study: “leukoplakia” and “squamous cell carcinoma”. Based on the obtained morphological characteristics, five histological diagnoses were identified, namely: epithelial hyperplasia (EH), low-grade epithelial dysplasia (LGED), moderate-grade epithelial dysplasia (MGED), high-grade epithelial dysplasia (HGED), and squamous cell carcinoma (SCC). The use of a binary classification system for epithelial dysplasia allowed us to combine two histological diagnoses: low-grade and moderate-grade dysplasia into a single group, LGED.

Based on the degree of epithelial changes, four groups were identified: the 1st group (EH) included 16 patients (34.7%) with the diagnosis of “epithelial hyperplasia,” the 2nd group (LGED) included 8 patients (17.3%) with the diagnosis of “low-grade epithelial dysplasia,” the 3rd group (HGED) included 9 patients (19.5%) with the diagnosis of “high-grade epithelial dysplasia,” and the 4th group (SCC) included 13 patients (28.2%) with the diagnosis of “squamous cell carcinoma.”

Histological and IHC studies of biopsy material were conducted according to the recommended protocol. To determine the proliferative activity of cells, mouse monoclonal antibodies to the Ki-67 protein (clone MM1, Diagnostic Biosystems, USA) were used. For the analysis of P53 protein expression, both “mutant” and “wild” types, mouse monoclonal antibodies to the P53 protein (Clone D 07, Novocastra, UK) were used, and for a more detailed study of the “mutant” type of the protein, an independent IHC study was conducted using rabbit monoclonal antibodies to P53 (Clone Y5, Epitomics, USA). An Axioplan 2 imaging microscope (Carl Zeiss) and Mlchrome 5 Pro, 5MP Color Microscope Camera were used for evaluation and photo documentation.

The expression of the studied proteins in the IHC method was calculated by the number of immunopositive cells to the total number of epithelial cells. In the three study groups (EH, LGED, and HGED), immunoreactive cells were predominantly determined in the lower one-third of the epithelial layer. This allowed us to assess the expression of Ki-67 and P53 proteins in the cells of the basal (germinal and prickly) layers. In the fourth group (SCC), the evaluation of stained cells by proteins was conducted in complexes of cancer cells, as well as surrounding altered cells.

Statistics

The statistical data processing was carried out in the Windows 10 environment (IBM Corporation, USA) using SPSS Statistics version 23. The Kruskal-Wallis method was used for comparative analysis (tables 1, 2, 3). The Friedman test was applied for within-group

comparison of indicators at $p \leq 0.05$. In the Friedman test comparisons within the EG and EDNS groups, the highest indicators were Ki-67 and P53 (Clone D-07) proteins, and the lowest was P53 (Clone Y5). In the EDVS group, all indicators were at the same level,

while in the PR group, the Ki-67 protein was determined at the highest level, and the indicators for P53 (Clone D-07) and P53 (Clone Y5) had the same level of protein expression.

Table 1

Paired comparisons between the studied groups according to Ki-67 by the Kruskal-Wallis test

Groups	Proliferative activity by Ki-67 Me (Q1; Q3) %	Paired comparisons (p)					
		EH – LGED	EH – HGED	EH – SCC	LGED – HGED	LGED – SCC	HGED – SCC
EH	14(12;15)	0.233	0.001	0.000	1.000	0.007	0.352
LGED	25(22;32,5)						
HGED	43(41;47)						
SCC	61(59;64)						

EH – epithelial hyperplasia; LGED – low grade epithelial dysplasia; HGED – high grade epithelial dysplasia; SCC – squamous cell carcinoma.

Table 2

Paired comparisons between the studied groups according to P53 (Clone D-07) by the Kruskal-Wallis test

Groups	P53 Clone D-07 Me (Q1; Q3) %	Paired comparisons (p)					
		EH – LGED	EH – HGED	EH – SCC	LGED – HGED	LGED – SCC	HGED – SCC
EH	12,1(11;13,5)	0.232	0.001	0.000	0.897	0.010	0.614
LGED	22,5(19;28,5)						
HGED	43(38;47)						
SCC	56(53;56)						

EH – epithelial hyperplasia; LGED – low grade epithelial dysplasia; HGED – high grade epithelial dysplasia; SCC – squamous cell carcinoma.

Table 3

Paired comparisons between the studied groups according to P53 (Clone Y5) by the Kruskal-Wallis test

Groups	P53 Clone Y-5 Me (Q1; Q3) %	Paired comparisons (p)					
		EH – LGED	EH – HGED	EH – SCC	LGED – HGED	LGED – SCC	HGED – SCC
EH	0(0;6,5)	0.225	0.000	0.000	0.699	0.013	0.942
LGED	16(12;21)						
HGED	38(35;41)						
SCC	45(42;51)						

EH – epithelial hyperplasia; LGED – low grade epithelial dysplasia; HGED – high grade epithelial dysplasia; SCC – squamous cell carcinoma.

Results and discussion

Histological Study

In routine examination with hematoxylin and eosin in the first group (EH), an increase in the number of epithelial cells was noted against the background of chronic inflammation in the lamina propria of the oral mucosa. Parakeratosis and hyperkeratosis were observed in the upper layers, while no atypical cells were detected. In the second group (LGED), a few polymorphic cells were found in 1/3 of the epithelial layer, with disrupted cell stratification but preserved cell differentiation in the upper layers of the epithelium.

In the third group (HGED), cell nuclear polymorphism and increased mitosis of cells in 2/3 of the epithelial layer were noted. In the fourth group (SCC), changes in epithelial cells were observed, namely: complete loss of stratification and structure, and differentiation. Increased mitosis and pronounced nuclear-cytoplasmic ratio were observed. Altered cells formed complexes, with a higher number of atypical cells found in the non-keratinizing type of SCC. In the keratinizing type of SCC, the presence of “keratin pearls” was noted. Pronounced infiltrative growth was observed in both cases of PR (Figure 1: a, b, c, d).

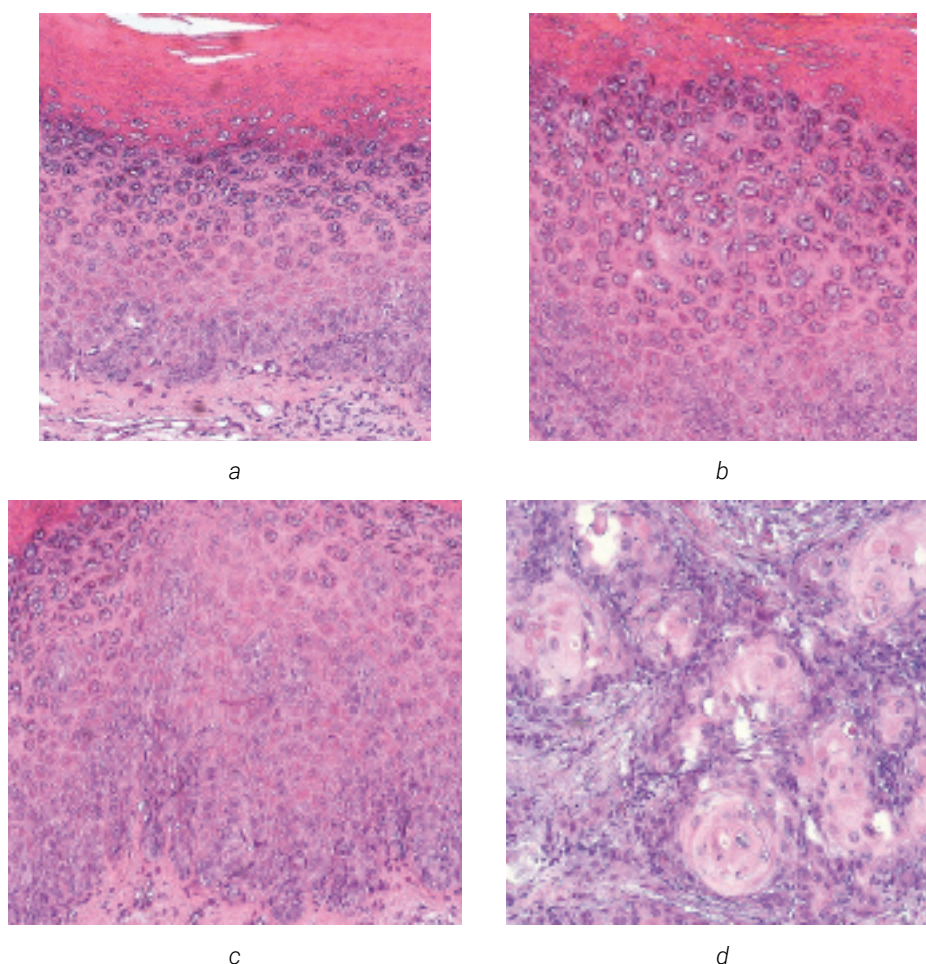


Fig. 1. Morphological characteristics of the oral mucosa in hyperplasia (a), low-grade dysplasia (b), high-grade dysplasia (c) and squamous cell carcinoma (d). Staining with hematoxylin-eosin (x 100)

Immunohistochemical Study

Expression of the Ki-67 protein in the EH group was noted only in the lower third of the basal layer. In the LGED group, the number of actively dividing cells was observed in the germinative layer. Proliferative activity in this group was higher than in the EH group, as stained nuclei were occasionally found in the prickly layer. In the HGED group, Ki-67 protein expression was detected in both the germinative and prickly layers. In the SCC group, increased cell proliferation was found around and within the formed atypical complexes (Figure 2: a, b, c, d).

The quantification of the P53 protein (Clone D-07) showed expression in the basal layer of the EH and LGED groups, with single altered cells observed in the prickly layer. In the HGED group, immunopositive cells were noted in the basal layer and partially in the prickly layer, with more cells observed in the prickly layer than in the EH and LGED groups. In the fourth group (SCC), immunoreactive cells for the P53 marker were located in approximately the same areas as the epithelial cell proliferation study in this group (Figure 3: a, b, c, d).

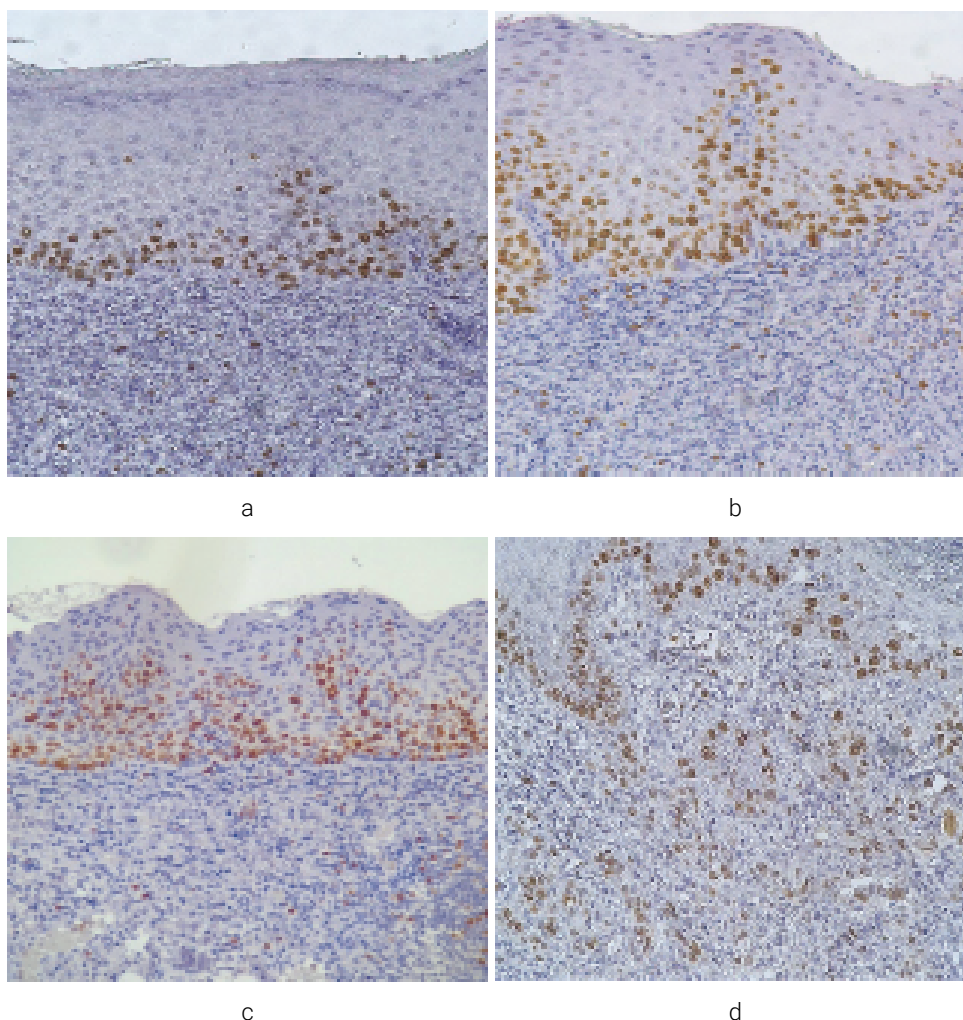


Fig. 2. Proliferative activity of epithelial cells of the oral mucosa in hyperplasia (a), low-grade dysplasia (b), high-grade dysplasia (c) and squamous cell carcinoma (d). Immunohistochemical reaction to Ki-67 protein, Mayer's DAB hematoxylin stain (x100)

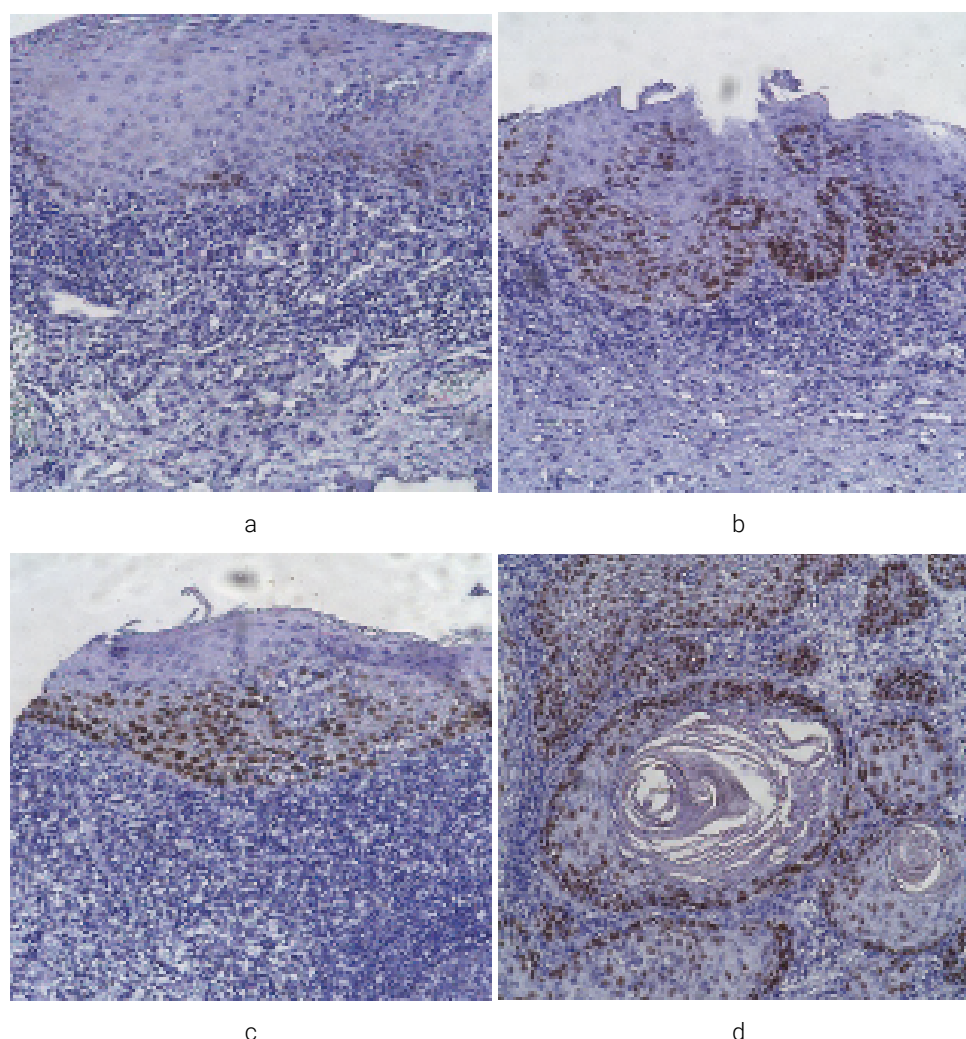


Fig. 3. Expression of p53 protein (Clone D-07) of the epithelium of the oral mucosa in hyperplasia (a), low-grade dysplasia (b), high-grade dysplasia (c) and squamous cell carcinoma (d). Immunohistochemical reaction to p53 protein (Clone D-07), Mayer's DAB hematoxylin stain (x 100)

Expression of P53 (Clone Y5) was absent in the EH group. In the LGED group, cell staining was observed as weak in the basal layer. In the HGED group, cell staining was moderate in the prickly layer and strong in the basal layer. In the SCC group, strong cell staining was noted in the central and peripheral zones of the tumor (Figure 4: a, b, c, d).

It is now established that the P53 protein influences the development of malignant tumors. Basile Tessier-Cloutier et al. discovered a correlation between the frequency of MPT53 protein expression and disease severity in their study on vulvar cancer [11]. Previous studies have described the detection

of MPT53 and WTP53 in various types of human cancers (stomach, intestine, prostate) [12]. Jinchul Kim et al. noted the oncogenic role of the P53 protein, which alters the metabolism of malignant cells, a crucial element in oncogenesis. This process is triggered by the activation of proto-oncogenes, transcription factors, signaling pathways, and the inactivation of tumor suppressor genes (TP53). Many cancer cells exhibit a specific type of metabolism — glycolysis, an alternative pathway for energy production in cancer cells. Mutations in TP53 facilitate the shift of damaged cells from oxidative phosphorylation to glycolysis [13, 14].

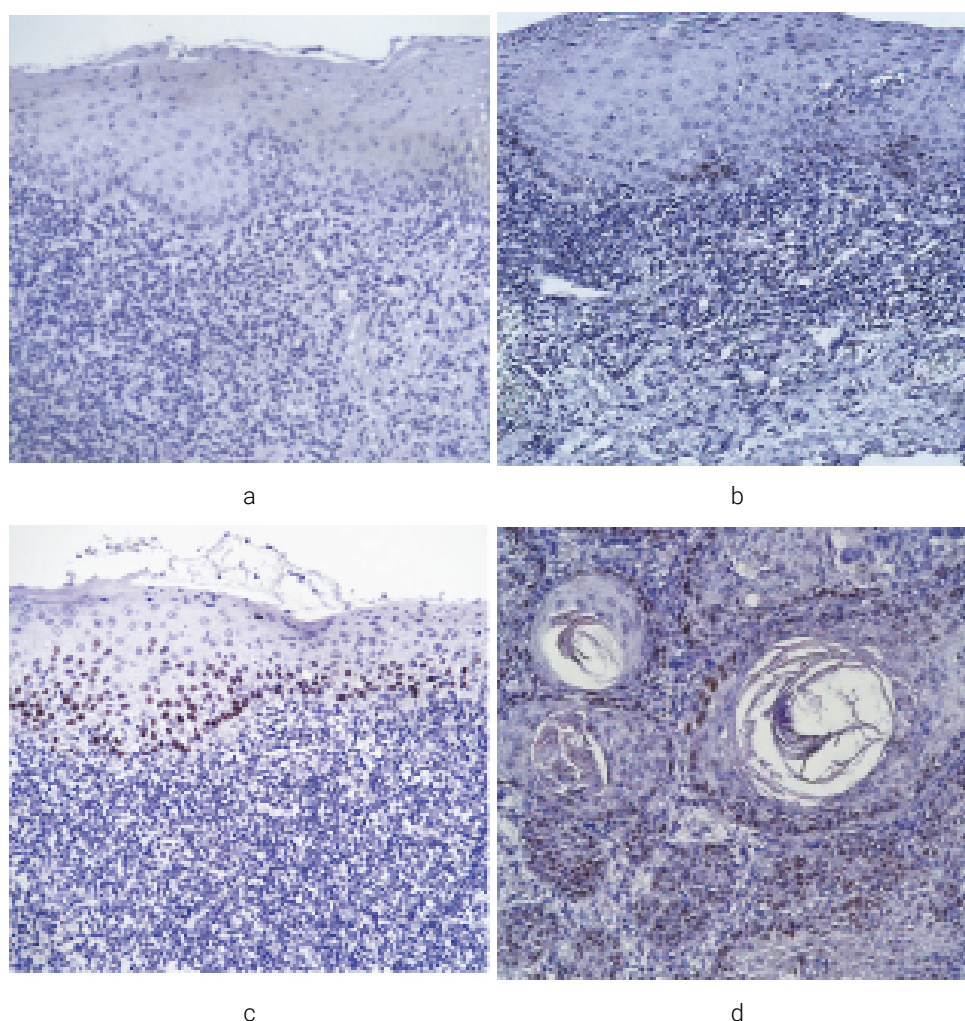


Fig. 4. Expression of P53 (Clone Y5) in the epithelium of the oral mucosa in hyperplasia (a), low-grade dysplasia (b), high-grade dysplasia (c) and squamous cell carcinoma (d), Mayer's DAB hematoxylin stain (x 100)

Sushmita Swain et al. conducted studies on Ki-67 protein expression in precancerous conditions of the oral mucosa and in cancer development. The authors found that proliferative activity in SCC was higher than in precancerous conditions, increasing with malignancy and not affecting patient survival [10]. In this study, Ki-67 and P53 (D07) protein expression was found in all groups, while P53 (Clone Y5) expression was present only in the LGED, HGED, and SCC groups.

Alongside the loss of primary functions that maintain cell homeostasis and suppress tumor development, mutant proteins often gain oncogenic activity, contributing to metabolic changes and cancer progression,

followed by metastasis. Unlike other tumor suppressor genes, which often undergo deletions or mutations leading to loss of function, most TP53 mutations result in the formation of mutant proteins classified as missense mutations. Accumulation of this protein in cancer cells increases their oncogenic activity, such as the rate and number of cell divisions, and their ability to migrate, potentially accompanied by invasive growth. The resistance of malignant cells to various conservative cancer treatments in the presence of a high quantity of mutant protein has been previously described [15]. Other authors studying cancer treatment have described P53 protein expression with various mutations in cancer cells (contact, conformational). They found a correla-

tion between the accumulation of the “mutant” protein type and tumor growth [16]. Brandon J. Aubrey et al. established a close connection between the loss of P53 protein function and the development of malignant human tumors in 95% of cases [17].

The results of this study confirm our previous work on SCC development, where telomerase activity was studied using IHC and fluorescence in situ hybridization (FISH). The IHC study showed telomerase expression in all cases. Using the FISH method with the LSP TERC probe, amplification increased from LGED to SCC [18].

Ragini D. Singh et al. described the appearance of MPT53 in SCC development and its influence on telomerase expression [19]. Studies of malignant tumors in different locations (lungs, stomach, intestine) using the FISH method have shown the frequency of TP53 gene mutations, indicating chromosomal damage (splicing mutations, cuts, frameshifts, deletions). The authors also compared the mutation frequency of the gene with P53 protein expression [20]. The FISH method allows for the analysis of a larger number of cells (non-cultured and non-dividing), with high sensitivity and specificity using probes indicating local chromosomal damage (deletions, translocations) [20]. The advantage of the IHC method over FISH lies in its accessibility and ease of use, but it cannot describe the type of genome damage.

Conclusion

Thus, detecting P53 (Clone Y5) protein expression in the epithelium indicates changes in the genetic apparatus and cell metabolism, which can be used in the early diagnosis of oral mucosal SCC.

Reference / Список литературы

1. Belyakova EN, Briko NI, Lopukhov PD. Characteristics of the head and neck cancer incidence potentially associated with human papillomavirus in Russia in 2007–2018. *Russian Journal of Preventive Medicine*. 2021;24(2):30–36. (In Russian) [Белякова Е.Н., Брико Н.И., Лопухов П.Д. Характеристика заболеваемости раком головы и шеи, потенциально ассоциированным с вирусом папилломы человека, в России в 2007–2018 гг. // Профилактическая медицина. 2021. Т. 24, вып. 2. С. 30–36.] doi: 10.17116/profmed20212402130
2. Fatkullin DM, Guz AO, Garev AV, Zaharov AS, Sokolova MI. Oral squamous cell carcinoma in “young” patients. *Ural'skij medicinskij žurnal*. 2021;2:89–94. (In Russian) [Фаткуллин Д.М., Гузь А.О., Гарев А.В., Захаров А.С., Соколова М.И. Плоскоклеточный рак полости рта у “молодых” пациентов // Уральский медицинский журнал. 2021. Т. 2. С. 89–94.] doi: 10.52420/2071-5943-2021-20-2-89-94
3. Dzybova EM, Vardanyan KL, Vasilevskaia EA. Squamous cell carcinoma of the skin: clinical presentation, diagnosis, treatment, and prevention. *Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology*. 2015;14(4):4–14. (In Russian) [Дзыбова Э.М., Вардanian К.Л., Василевская Е.А. Плоскоклеточный рак кожи: клиника, диагностика, методы лечения и профилактики // Клиническая дерматология и венерология. 2015. Т. 14 вып. 2. С. 4–14.] doi: 10.17116/klinderma20151444-14
4. Woo SB. Oral Epithelial Dysplasia and Premalignancy. *Head Neck Pathol*. 2019;13(3):423–439. doi: 10.1007/s12105-019-01020-6
5. Speight PM, Khurram SA, Kujan O. Oral potentially malignant disorders: risk of progression to malignancy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2018;125(6):612–627. doi: 10.1016/j.oooo.2017.12.011
6. Kudryavtsev GY, Kudryavtseva LV, Mikhaleva LM, Kuryavtseva YYu, Solovyeva NA, Osipov VA, Babichenko II. Immunohistochemical study of P53 protein expression in different prostate cancer Gleason grading groups. *RUDN Journal of Medicine*. 2020;24.2:145–155. (In Russian) [Кудрявцев Г.Ю., Кудрявцева Л.В., Михалева Л.М., Кудрявцева Я.Ю., Соловьева Н.А., Осипов В.А., Бабиченко И.И.. Иммуногистохимическое исследование экспрессии белка P53 в аденокарциномах предстательной железы различной степени злокачественности // Вестник РУДН. Серия: Медицина 2020. Т. 24 вып. 2. С. 145–155] doi: 10.22363/2313-0245-2020-24-2-145-155
7. Gadbail AR, Sarode SC, Chaudhary MS, Gondivkar SM, Tekade SA, Yuwanati M, Sarode GS, Hande A, Patil S. Ki-67, CD105, and α -smooth muscle actin expression in oral squamous cell carcinoma corresponds with different forms of tobacco consumption habits. *J Cancer Res Ther*. 2022;18:197–204. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_1307_20
8. Gadbail AR, Sarode SC, Chaudhary MS, Gondivkar SM, Tekade SA, Yuwanati M, Patil S. Ki67 Labelling Index predicts clinical outcome and survival in oral squamous cell carcinoma. *J Appl Oral Sci*. 2021;1:29. doi: 10.1590/1678-7757-2020-0751
9. Carlsen L, Zhang S, Tian X, De La Cruz A, George A, Arnoff TE, El-Deiry WS. The role of p53 in anti-tumor immunity and response to immunotherapy. *Front Mol Biosci*. 2023;10:1148389. doi:10.3389/fmolb.2023.114838
10. Swain S, Nishat R, Ramachandran S, Raghuvanshi M, Behura SS, Kumar H. Comparative evaluation of immunohistochemical expression of MCM2 and Ki67 in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Ther*. 2022;18(4):997–1002. doi: 10.4103/jcrt.JCRT_10_20
11. Tessier-Cloutier B, Kortekaas KE, Thompson E, Pors J, Chen J, Ho J, Prentice LM, McConechy MK, Chow C, Proctor L, McAlpine JN, Huntsman DG, Gilks CB, Bosse T, Hoang LN. Major p53 immunohistochemical patterns in situ and invasive squamous cell carcinomas of the vulva and correlation with TP53 mutation status. *Mod Pathol*. 2020;33(8):1595–1605. doi: 10.1038/s41379-020-0524-1
12. Babamohamadi M, Babaei E, Ahmed Salih B, Babamohammadi M, Jalal Azeez H, Othman G. Recent findings on the role of wild-type and mutant p53 in cancer development and therapy. *Front Mol Biosci*. 2022;9:903075. doi:10.3389/fmolb.2022.903075
13. Kim J, Yu L, Chen W, Xu Y, Wu M, Todorova D, Tang Q, Feng B, Jiang L, He J, Chen G, Fu X, Xu Y. Wild-Type p53 Promotes Cancer Metabolic Switch by Inducing PUMA-Dependent Suppression of Oxidative Phosphorylation. *Cancer cell*. 2019;35(2):191–203. doi: 10.1016/j.ccell.2018.12.012
14. Nakazato K, Mogushi K, Kayamori K, Tsuchiya M, Takahashi KI, Sumino J, Michi Y, Yoda T, Uzawa N. Glucose metabolism changes during the development and progression of oral tongue squamous cell carcinomas. *Oncology letters*. 2019;18(2):1372–1380. doi: 10.3892/ol.2019.10420
15. Voskarides K, Giannopoulou N. The Role of TP53 in Adaptation and Evolution. *Cells*. 2023;12(3):512. doi: 10.3390/cells12030512
16. Kanapathipillai M. Treating p53 Mutant Aggregation-Associated Cancer. *Cancers*. 2018;10(6):154. doi:10.3390/cancers10060154

17. Aubrey BJ, Kelly GL, Janic A, Herold MJ, Strasser A. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell death and differentiation*, 2018;25(1):104–113. doi: 10.1038/cdd.2017.169

18. Ivina AA, Tigay YuO, Rabinovich OF, Goryachev V., Familia Frias DR, Babichenko II. Molecular genetic criteria for oral mucosal epithelial malignization. *Clinical and experimental morphology*. 2023;12(4):23–31 (In Russian) [Ивина А.А., Тигай Ю.О., Рабинович О.Ф., Горячев В.А., Фамилья Фриас Д.Р., Бабиченко И.И. Молекулярно-генетические критерии малигнизации эпителия слизистой оболочки рта. //Клиническая и экспериментальная морфология. 2023. Т. 12 вып. 4. С. 23–31.] doi: 10.31088/CEM2023.12.4.23-31

19. Singh RD, Patel KA, Patel JB, Patel PS. Alterations in p53 Influence hTERT, VEGF and MMPs Expression in Oral Cancer Patients. *Asian Pacific*

journal of cancer prevention. 2022;23(9), 3141–3149. doi: 10.31557/APJCP.2022.23.9.3141

20. Sung YN, Kim D, Kim J. P53 immunostaining pattern is a useful surrogate marker for TP53 gene mutations. *Diagnostic pathology*, 2022;17(1):92. doi: 10.1186/s13000-022-01273-w

21. Le Quesne J, Maurya M, Yancheva SG, O'Brien M, Popat S, Wotherspoon, AC, de Castro D.G, Nicholson AG. A comparison of immunohistochemical assays and FISH in detecting the ALK translocation in diagnostic histological and cytological lung tumor material. *Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 2014;9(6):769–774. doi: 10.1097/JTO.0000000000000157

Иммуногистохимическое исследование экспрессии белка Р53 при развитии плоскоклеточного рака слизистой полости рта

А.А. Ивина¹ , Ю.О. Тигай¹  , О.Ф. Рабинович² ,
Д.Р. Фамилья Фриас¹ , И.И. Бабиченко^{1, 2} 

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», г. Москва, Российская Федерация

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр стоматологии и челюстно-лицевой хирургии»,
г. Москва, Российская Федерация

✉ chen.juliya@gmail.com

Аннотация. *Актуальность.* Исследования развития плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта имеют первостепенное значение из-за широкого распространения заболевания и агрессивного течения. При гистологическом изучении развития плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта не всегда возможно определить первые признаки малигнизации. Плоскоклеточный рак может развиваться из эпителиальной гиперплазии и эпителиальной дисплазии разной степени выраженности. Помимо гистологических методов исследования для опухолевых заболеваний широко используют иммуногистохимический метод, при котором используют белок Ki-67, с помощью которого можно определить пролиферацию клеток эпителия, также белок P53 кодирующий ген TP53, который является супрессором опухолевого роста. Он активируется только при наличии повреждения генома клетки. Цель — оценить экспрессию белков Ki-67 и P53 при развитии дисплазии и плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта. Материал и методы. Для исследования были выделены четыре группы: 1-я группа — 16 пациентов (34,7 %) с диагнозом «эпителиальная гиперплазия», 2-я группа 8 пациентов (17,3 %) с диагнозом «эпителиальная дисплазия низкой степени», 3-я группа — 9 (19,5 %) с диагнозом «эпителиальная дисплазия высокой степени», 4-я группа — 13 (28,2 %) с диагнозом «плоскоклеточный рак». Для определения пролиферации клеток использовали мышинные моноклональные антитела к Ki-67 (клон ММ1, Diagnostic Biosystems, США). Экспрессию P53 определяли при помощи мышинных моноклональных антител к белку P53 (Clone D07, Novocastra, Великобритания). Для исследования только «мутантного типа» белка P53 использовали моноклональные кроличьи антитела P53 (Clone Y5 Epitomics, США). *Результаты и обсуждения.* Экспрессия белков Ki-67 и P53 отмечалась во всех группах. Однако минимальное количество иммунопозитивных клеток при исследовании P53 (Clone D07) и P53 (Clone Y5) наблюдалось в группе эпителиальная гиперплазия, а максимальное в группе плоскоклеточный рак. Увеличение количества окрашенных клеток достоверно увеличивалось по мере возрастания степени дисплазии эпителия от эпителиальной гиперплазии и эпителиальной гиперплазии низкой степени тяжести к эпителиальной гиперплазии высокой степени тяжести и плоскоклеточному раку. *Выводы.* Таким образом, выявление экспрессии белка

P53 (Clone Y5) в эпителии указывает на наличие изменения генетического аппарата и метаболизма клеток, что можно использовать при ранней диагностике плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта.

Ключевые слова: плоскоклеточный рак, дисплазия эпителия, белок P53, MTP53, WTP53.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Информация о финансировании: за счет авторов.

Этическое утверждение: не применимо.

Вклад авторов. А.А. Ивина, И.И. Бабиченко — задумали исследование и спланировали эксперимент, Ю.О. Тигай — провели анализ и написали статью, О.Ф. Рабинович, Д.Р. Фамилья Фриас — собрали данные, И.И. Бабиченко, А.А. Ивина — отредактировали рукопись. Все авторы внесли значительный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, а также ознакомились с окончательной версией и одобрили ее перед публикацией.

Благодарности — неприменимо.

Информационное согласие на публикацию — неприменимо.

Поступила 05.06.2024. Принята 02.09.2024.

Для цитирования: Ivina A.A., Tigay Yu.O., Familia Frias D.R., Rabinovich O.F., Babichenko I.I. Immunohistochemical study of P53 protein expression in the development of squamous cell carcinoma of the oral mucosa. RUDN Journal of Medicine. 2025;29(4):543–553. doi: 10.22363/2313-0245-2025-29-4-543-553. EDN: ATHSRH

Corresponding author. Yulia Olegovna Tigay — assistant of the Department of Pathological Anatomy of the medicine institute RUDN University. 6 Miklukho-Maklaya St, Moscow, 117198, Russian Federation. chen.juliya@gmail.com

Ivina A.A. ORCID 0000-0001-8387-4413

Tigay Yu. O. ORCID 0000-0002-6500-9220

Rabinovich O.F. ORCID 0000-0002-1018-9017

Familia Frias D.R. ORCID 0000-0001-7878-2901

Babichenko I.I. ORCID 0000-0001-5512-6813

Ответственный за переписку. Юлия Олеговна Тигай — ассистент кафедры патологической анатомии медицинского института РУДН. 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6. chen.juliya@gmail.com

Ивина А.А. SPIN 7209-9893; ORCID 0000-0001-8387-4413

Тигай Ю.О. SPIN 6896-9690; ORCID 0000-0002-6500-9220

Рабинович О.Ф. SPIN 9614-7204; ORCID 0000-0002-1018-9017

Фамилья Фриас Д.Р. SPIN 2165-2702; ORCID 0000-0001-7878-2901

Бабиченко И.И. SPIN 2651-8409; ORCID 0000-0001-5512-6813

