Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко
2025, №6, выпуск 2, с. 5–13
https://doi.org/10.17116/neiro2025890625

Burdenko's Journal of Neurosurgery
2025, No. 6–2, issue 2, pp.5–13
https://doi.org/10.17116/neiro2025890625

Сравнение влияния ДНК-аптамеров U31, GR20, GR200 и их комбинации с лучевой терапией на жизнеспособность клеток глиобластомы человека G22 и Sus\fP2

© Я.А. СЛИМАН[1, 2], С.А. ПАВЛОВА[1, 3], Е.А. САВЧЕНКО[1], Н.С. САМОЙЛЕНКОВА[1], А.В. ОВЕЧКИНА[1], А.В. ДЕМЬЯНОВИЧ[1], Н.А. АНТИПИНА[1], А.В. ГОЛАНОВ[1], Д.Ю. УСАЧЕВ[1, 4, 5], Г.В. ПАВЛОВА[1, 3, 6]

[1]ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия;
[2]ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)» Минобрнауки России, Москва, Россия;
[3]ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук» Минобрнауки России, Москва, Россия;
[4]ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия;
[5]ГБУЗ города Москвы «Московский многопрофильный научно-клинический центр им. С.П. Боткина» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия;
[6]ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Резюме

Аптамеры усиливают гибель клеток глиобластомы человека при их воздействии после лучевой терапии. Использование клеточных культур, полученных из глиобластом пациентов, позволяет индивидуально подобрать эффективную комбинированную терапию для каждого больного.

Цель исследования. Выполнить анализ жизнеспособности клеточных культур глиобластомы человека G22 и Sus\fP2 при воздействии аптамеров U31, GR20 и GR200 и комбинированного влияния этих аптамеров в сочетании с лучевой терапией (20 Гр).

Материал и методы. Получали клеточные культуры из образцов опухолевой ткани глиобластом человека G22 и Sus\fP2 для анализа влияния аптамеров U31, GR20, GR200 (10 мкМ, 72 ч) на жизнеспособность клеток. Клеточные культуры однократно облучены дозой 20 Гр на приборе TrueBeam STx (Varian Medical Systems, Inc., США) с номинальной энергией 6 МэВ и мощностью 600 доз/мин. Использовали метод проточной цитофлуориметрии для анализа жизнеспособности клеточных культур глиобластом человека G22 и Sus\fP2 при воздействии только аптамеров U31, GR20 и GR200 и совокупности аптамеров и лучевой терапии.

Результаты. В культуре глиобластомы человека G22 аптамер U31 снижает уровень апоптоза на 45,8%, однако повышает уровень некроза на 67,5%, тогда как аптамеры GR20 и GR200 усиливают два типа гибели: апоптоз и некроз. В клеточной культуре глиобластомы человека Sus\fP2 при использовании всех трех аптамеров выявлено значительное увеличение количества клеток в состоянии апоптоза при одновременном снижении доли некроза. Наиболее значительное снижение числа некротизированных клеток наблюдали при действии аптамера U31 — на 77,7%. При комбинированном воздействии на клеточную культуру глиобластомы G22 лучевая терапия и аптамеры U31 и GR200 усиливают апоптоз на 59,4% и некроз на 57,7%, аптамер GR20 повышает интенсивность некроза на 28,3%. В культуре Sus/fP2 аптамер U31 усиливает апоптоз на 132,9%, некроз на 52,9%, GR20 — апоптоз на 125,4%, некроз на 17,7%, GR200 — апоптоз на 27,4%, некроз на 30,6%.

Заключение. Показано, что аптамеры по-разному влияют на клеточные культуры глиобластомы человека G22 и Sus\fP2, полученные из опухолевой ткани пациентов. Для опухоли Sus\fP2 оптимальным является воздействие лучевой терапии в сочетании с введением аптамера GR20, а для опухоли G22 — либо моновоздействие аптамера U31, либо комбинированное действие с использованием лучевой терапии и аптамера GR200. Полученный результат показывает важность разработки комбинированного воздействия с использованием аптамера и лучевой терапии, а также важность предварительных исследований на клеточных культурах опухолей пациентов для разработки индивидуального подхода к каждой опухоли центральной нервной системы.

Ключевые слова: *глиобластома, ДНК-аптамер, жизнеспособность, облучение.*

Информация об авторах:
Слиман Я.А. — https://orcid.org/0009-0008-1266-5145
Павлова С.А. — https://orcid.org/0000-0002-9595-9358
Савченко Е.А. — https://orcid.org/0000-0003-1433-5533
Самойленкова Н.С. — https://orcid.org/0000-0002-5167-0253
Овечкина А.В. — https://orcid.org/0000-0003-4866-0254
Демьянович А.В. — https://orcid.org/0009-0009-5178-1138
Антипина Н.А. — https://orcid.org/0000-0003-3470-5802
Голанов А.В. — https://orcid.org/0000-0002-0976-4547
Усачев Д.Ю. — https://orcid.org/0000-0002-9811-9442
Павлова Г.В. — https://orcid.org/0000-0002-6885-6601
Автор, ответственный за переписку: Слиман Я.А. — e-mail: yahyasliman1991@gmail.com

Как цитировать:
Слиман Я.А., Павлова С.А., Савченко Е.А., Самойленкова Н.С., Овечкина А.В., Демьянович А.В., Антипина Н.А., Голанов А.В., Усачев Д.Ю., Павлова Г.В. Сравнение влияния ДНК-аптамеров U31, GR20, GR200 и их комбинации с лучевой терапией на жизнеспособность клеток глиобластомы человека G22 и Sus\fP2. *Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко.* 2025;89(6 вып. 2):5–13. https://doi.org/10.17116/neiro2025890625

Comparison of the effect of DNA aptamers U31, GR20, GR200 and their combination with radiation therapy on the viability of human glioblastoma cells G22 and Sus\fP2

© YA.A. SLIMAN[1, 2], S.A. PAVLOVA[1, 3], E.A. SAVCHENKO[1], N.S. SAMOILENKOVA[1], A.V. OVECHKINA[1], A.V. DEMYANOVICH[1], N.A. ANTIPINA[1], A.V. GOLANOV[1], D.YU. USACHEV[1, 4, 5], G.V. PAVLOVA[1, 3, 6]

[1]Burdenko National Medical Research Center of Neurosurgery, Moscow, Russia
[2]Moscow Institute of Physics and Technology, National Research University, Dolgoprudny, Russia;
[3]Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;
[4]Russian Medical Academy for Continuous Professional Education, Moscow, Russia;
[5]Botkin Moscow Multidisciplinary Scientific and Clinical Center, Moscow, Russia;
[6]Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Abstract

Aptamers can increase human glioblastoma cell death rate after exposure to radiotherapy. Cell cultures derived from human glioblastomas allow for selection of effective combined therapy.

Objective. To analyze viability of human glioblastoma cell cultures exposed to EGFR-specific aptamers U31, GR20, and GR200 compared to combination of these aptamers and radiotherapy (20 Gy).

Methodology. G22 and Sus\fP2 cell cultures were harvested from tumor tissue. They were exposed to aptamers (10 μM, 72 hours) and irradiated once with 20 Gy. We analyzed viability using flow cytometry.

Results. In G22 cell culture, aptamer U31 reduces apoptosis by 45.8%, but increases necrosis by 67.5%, while GR20 and GR200 increase two types of death (apoptosis and necrosis). In Sus\fP2 culture, all three aptamers significantly increased apoptosis while proportion of necrosis decreased. The most significant decrease in the number of necrotic cells was observed for aptamer U31 (by 77.7%). Radiotherapy combined with aptamers was followed by the following effects for G22 cell culture: U31 and GR200 enhance apoptosis (by 59.4%) and necrosis (by 57.7%), aptamer GR20 increases necrosis by 28.3%. In Sus\fP2 culture, U31 aptamer enhances apoptosis by 132.9% and necrosis by 52.9%, GR20 — 125.4% and 17.7%, GR200 — 27.4% and 30.6%, respectively.

Conclusion. Aptamers have different effects on glioblastoma cell cultures. For Sus\fP2, a combination of radiotherapy with GR20 aptamer is optimal. Either a single application of U31 aptamer or combination of radiotherapy and GR200 aptamer is optimal for G22 cell culture. This result demonstrates the importance of combined therapy and preliminary studies in cell cultures for individualized approach to each CNS tumor.

Keywords: *glioblastoma, DNA aptamer, viability, radiation.*

Information about the authors:
Sliman Ya.A. — https://orcid.org/0009-0008-1266-5145
Pavlova S.A. — https://orcid.org/0000-0002-9595-9358
Savchenko E.A. — https://orcid.org/0000-0003-1433-5533
Samoilenkova N.S. — https://orcid.org/0000-0002-5167-0253
Ovechkina A.V. — https://orcid.org/0000-0003-4866-0254
Demyanovich A.V. — https://orcid.org/0009-0009-5178-1138
Antipina N.A. — https://orcid.org/0000-0003-3470-5802
Golanov A.V. — https://orcid.org/0000-0002-0976-4547
Usachev D.Yu. — https://orcid.org/0000-0002-9811-9442
Pavlova G.V. — https://orcid.org/0000-0002-6885-6601
Corresponding author: Sliman Ya.A. — e-mail: yahyasliman1991@gmail.com

To cite this article:
Sliman YaA, Pavlova SA, Savchenko EA, Samoilenkova NS, Ovechkina AV, Demyanovich AV, Antipina NA, Golanov AV, Usachev DYu, Pavlova GV. Comparison of the effect of DNA aptamers U31, GR20, GR200 and their combination with radiation therapy on the viability of human glioblastoma cells G22 and Sus\fP2. *Burdenko's Journal of Neurosurgery.* 2025;89(6 vyp 2):5–13. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/neiro2025890625

Список сокращений

ГБ — глиобластома
EGFR — рецептор эпидермального фактора роста
Гр — Грей (единица измерения)
МэВ — мегаэлектронвольт (единица измерения)
AV — аннексин V
PI — пропидия йодид
HGG — (high-grade glioma) глиома высокой степени злокачественности

Введение

Глиобластома (ГБ) Grade IV является распространенной первичной злокачественной опухолью головного мозга высокой степени злокачественности (HGG). Возникает у взрослых, прогноз неблагоприятный. Несмотря на современный уровень знаний о генетических характеристиках ГБ, в улучшении лечения пациентов с этим смертельным заболеванием достигнут относительно небольшой прогресс [1]. Средняя выживаемость составляет 12—18 мес [2]. Известные варианты лечения недостаточны, а их побочные эффекты значительно снижают качество жизни [3].

Лучевая терапия определена как важнейший метод лечения ГБ после хирургической резекции, позволяющий улучшить выживаемость. К сожалению, у пациентов с ГБ часто наблюдается резистентность к лучевой терапии, что является основной причиной высокой смертности. Радиорезистентность ГБ часто бывает многофакторной и гетерогенной, связана с рецидивом ГБ после хирургического вмешательства [4]. Основная задача в улучшении диагностики и лечения ГБ заключается в разработке таргетной платформы визуализации и доставки лекарств, способной обходить гематоэнцефалический барьер и специфически воздействовать на опухолевые клетки.

Рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) считается одним из основных маркеров ГБ, он представляет собой рецепторную тирозинкиназу, обычно активирующуюся при онкологическом заболевании, в частности при ГБ [3]. Связывание лиганда с EGFR запускает каскад реакций, влияющих на клеточный рост, выживаемость, адгезию, миграцию и дифференцировку, поэтому EGFR считается важной мишенью в противоопухолевой терапии [5].

Одним из наиболее эффективных подходов в лечении злокачественных опухолей считается использование молекулярных агентов, способных избирательно подавлять ключевые функции в развитии злокачественных клеток. Поскольку гиперэкспрессия рецептора EGFR характерна для многих типов опухолей, выбор в качестве мишени EGFR и связанных с ним сигнальных путей представляет собой перспективную стратегию терапии. На сегодняшний день идентифицирован ряд специфичных аптамеров, нацеленных на EGFR [5]. Уникальные свойства аптамеров демонстрируют их способность заполнить пробел в разработке успешных вариантов диагностики и лечения, если антитела ранее не помогали. Аптамеры обладают многими характеристиками, которые делают их идеальным новым средством визуализации и лечения ГБ и других злокачественных новообразований головного мозга, и, вероятно, обеспечат пациентам более высокий уровень медицинской помощи и улучшение качества жизни. Селективность, простота модификации и низкая иммуногенность делают их идеальными агентами для доставки лекарств [6]. Все эти качества позволяют надеяться на огромный потенциал аптамеров при лечении ГБ. Первое и единственное на сегодняшний день клиническое исследование с использованием аптамера NOX-A12 у пациентов с ГБ показало многообещающие результаты. Лечение хорошо переносилось участниками исследования, не было токсических эффектов, ограничивающих дозу, или смертельных исходов, связанных с лечением [7].

Поставлена задача разработки нового аптамера, способного специфически распознавать рецептор EGFR, с повышенной аффинностью связывания с мишенью. Такой аптамер представляет интерес для детекции и визуализации клеток, экспрессирующих EGFR, а также для целевой доставки в них лекарственных соединений. С целью получения нового варианта с улучшенными характеристиками ранее создан GR20, укороченный аналог аптамера U31, путем удаления 5’- и 3’-концевых последовательностей (1—10 и 57—76) и замены 16G на 16C. Данная модификация приводит к увеличению длины дуплексного участка с 5 до 8 пар нуклеотидов и его стабилизации, как описано ранее [8, 9]. На его основе сконструирован еще один аптамер, GR200, путем дополнительного добавления двух GC-пар и проведения однонуклеотидной замены в стеблевой области.

Подобно исходному аптамеру GR20, GR200 демонстрирует вторичные структуры: одну с минимальной энергией и другую, содержащую развернутую короткую шпильку с тремя разорванными AT-парами [8].

Важным моментом проводимого нами исследования является использование не линейных клеток (клеточных линий), а клеточных культур, полученных непосредственно из опухолевой ткани ГБ человека, G22 и Sus\fP2 [10—12], что позволяет получать результаты, приближенные к реальной картине воздействия на опухоль.

Цель исследования — выполнить анализ жизнеспособности клеточных культур ГБ человека G22 и Sus\fP2 при воздействии аптамеров U31, GR20 и GR200 и комбинированного влияния этих аптамеров в сочетании с лучевой терапией (20 Гр).

Материал и методы

Клеточные культуры

В эксперименте использованы перевиваемые культуры клеток ГБ мозга человека G22 и Sus\fP2, полученные из образцов опухолевой ткани пациентов, предоставленных ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России [10—12].

Получение перевиваемых культур клеток

Образец опухоли, полученный от пациента, помещали в чашку Петри с холодным раствором Хенкса (Gibko, Thermo Fisher Scientific Instruments Co., Ltd., США) для очистки от кровеносных сосудов, оболочек, областей некроза при их наличии. Затем его измельчали и переносили в 15-миллилитровую пробирку, убирали раствор Хенкса и добавляли 0,25% раствор трипсина (Gibko, Thermo Fisher Scientific Instruments Co., Ltd., США). После повторного отмывания помещали на шейкер при 37 оС на 20 мин до размягчения ткани. Далее добавляли среду DMEM/F12 и 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Gibko, Thermo Fisher Scientific Instruments Co., Ltd., США) в соотношении 1:1, после чего осаждали центрифугированием и удаляли жидкость. Диссоциацию ткани проводили в холодном растворе Хенкса, добавляя его в пробирку и ресуспендируя ткань стеклянной пипеткой. Взвесь образовавшихся клеток переносили в чистую пробирку. К оставшейся ткани вновь добавляли раствор Хенкса. Взвесь клеток процеживали через нейлоновое ситечко для клеток с размером ячеек 40 мкм (Corning Inc., США) в 50-миллилитровую пробирку и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 10 мин. Отбирали жидкость, добавляли культуральную среду и рассевали на флаконы для дальнейшей культивации.

Культивирование клеток

Культивацию клеток проводили в ростовой среде DMEM/F12 с пируватом натрия с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (Gibko, Thermo Fisher Scientific Instruments Co., Ltd., США), 1% раствора HEPES (Sigma-Aldrich, США), 1% раствора GlutaMAX и 1% раствора пенициллина/стрептомицина/амфотерицина (Gibko, Thermo Fisher Scientific Instruments Co., Ltd., США). При пересеве клетки снимали 0,25% раствором трипсина, после отмывки фосфатно-солевым буфером PBS (Gibko, Thermo Fisher Scientific Instruments Co., Ltd., США). Реакцию трипсина останавливали добавлением 1 мл ростовой среды. Клетки центрифугировали 5 мин при 1000 об/мин. Жидкость убирали, добавляли свежей среды и в зависимости от задачи клетки пересевали в новые флаконы для дальнейшего культивирования или использовали в эксперименте.

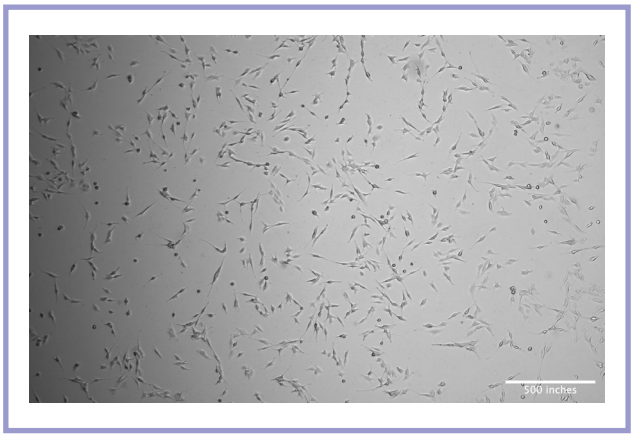


Рис. 1. **Клетки культуры глиобластомы человека Sus\fP2.**

Облучение клеточных культур и протокол добавления аптамеров

Для проведения эксперимента на флаконы с площадью культивирования 25 см^2 рассевали клетки в количестве 1,5·10^5. Для радиологического воздействия на клетки использовали вертикальное тормозное излучение на приборе TrueBeam STx (Varian Medical Systems, Inc., США) в режиме: номинальная энергия 6 МэВ, мощность 600 доз/мин. Клеточные культуры были однократно облучены дозой 20 Гр. Через 72 ч после облучения в культуральную среду добавлены аптамеры U31, GR20, GR200 в конечной концентрации 10 мкМ. После добавления флаконы с клетками инкубировали еще 72 ч в CO_2-инкубаторе СВ 150 (Binder, Германия) при 5% CO_2 и 37°С. В контрольные флаконы добавляли аптамеры без предварительного облучения. В качестве полного контроля использовали клетки, не подвергавшиеся никаким воздействиям.

Проточная цитофлуориметрия

После окончания культивирования клетки снимали раствором трипсина, промывали PBS и ресуспендировали в 500 мкл 1× связывающего буфера. Клетки окрашивали 5 мкл антител против аннексина V-FITC (AV) и 5 мкл йодида пропидия (PI) при комнатной температуре в темноте 15 мин. Полученные образцы анализировали методом проточной цитофлуориметрии (CytoFLEX S, Beckman Coulter, Inc., США).

Культуры клеток глиобластомы человека, полученные от пациентов после резекции опухоли

Культура клеток	Глиома, Grade	IDH1-статус	Пол пациента	Возраст, годы	Локализация опухоли	Ссылки
Sus\fP2	IV	Дикий тип	Ж	60	Левая височная доля	[10—12]
G22	IV	Дикий тип	Ж	36	Левая лобная доля, мозолистое тело, межжелудочковая перегородка	[10, 11]

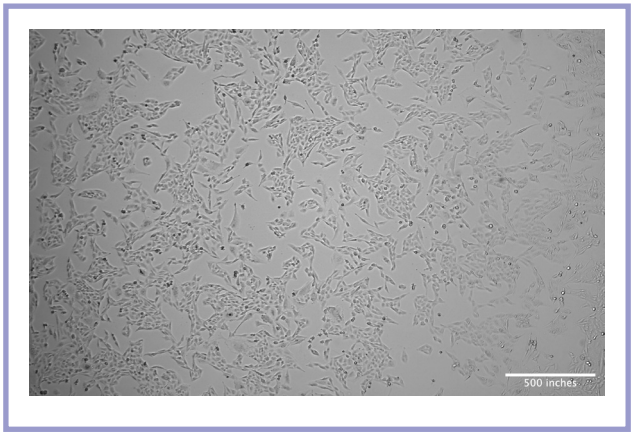


Рис. 2. **Клетки культуры глиобластомы человека G22.**

Результаты

Культуры клеток глиобластомы, полученные из опухолей человека

Эксперименты проводились на двух клеточных культурах, полученных от пациентов с супратенториальной ГБ человека G22 и Sus\fP2 [10—12] **(таблица)**.

Перевиваемая культура клеток ГБ человека Sus\fP2 **(рис. 1)** получена из опухоли пациентки 60 лет. Головная боль и амнестические расстройства у нее появились и прогрессировали в течение 2 нед, при проведении круговой магнитно-резонансной томографии (МРТ) в левой височной доле обнаружено обширное поражение, после чего было выполнено субтотальное удаление опухоли. Секвенирование по Сэнгеру выявило дикий тип IDH1/2 [12].

Перевиваемая культура клеток ГБ человека G22 [10, 11] **(рис. 2)** получена из опухоли пациентки 36 лет с диагнозом продолженного роста опухоли левой лобной доли, распространяющейся в мозолистое тело и межжелудочковую перегородку, обнаружена при проведении круговой МРТ, после чего выполнено субтотальное удаление опухоли. Секвенирование по Сэнгеру выявило дикий тип IDH1/2.

Оценка влияния аптамеров U31, GR20 и GR200 на жизнеспособность клеточных культур глиобластомы человека G22 и Sus\fP2

В клеточной культуре ГБ G22 в зависимости от типа аптамера, который добавлен в культуральную среду (U31, GR20, GR200), наблюдалось снижение доли живых клеток (U31 — 31,2%, GR20 — 41,3%, GR200 — 25,7%) по сравнению с состоянием контрольных клеток (G22 без воздействия). При анализе типа гибели опухолевых клеток глиобластомы с использованием проточной цитофлуориметрии обнаружено, что при использовании аптамеров GR20 и GR200 в клетках G22 наблюдается усиление двух типов гибели: апоптоза и некроза. Число клеток, перешедших в состояние некроза после использования аптамеров: GR20 — 88,7%, GR200 — 55,7%; при этом также наблюдается усиление апоптотической гибели. Использование аптамера U31 повышает некротический тип гибели опухолевых клеток на 67,5%, но при этом существенно снижает способность клеток глиобластомы к апоптозу — на 45,8%, что является негативной характеристикой **(рис. 3)**.

В клеточной культуре глиобластомы человека Sus\fP2 при использовании всех трех аптамеров выявлено значительное увеличение количества клеток в состоянии апоптоза при одновременном снижении доли некроза **(рис. 4)**. Наиболее значительное снижение числа некротизированных клеток наблюдали при добавлении аптамера U31 — на 77,7% от контрольного уровня.

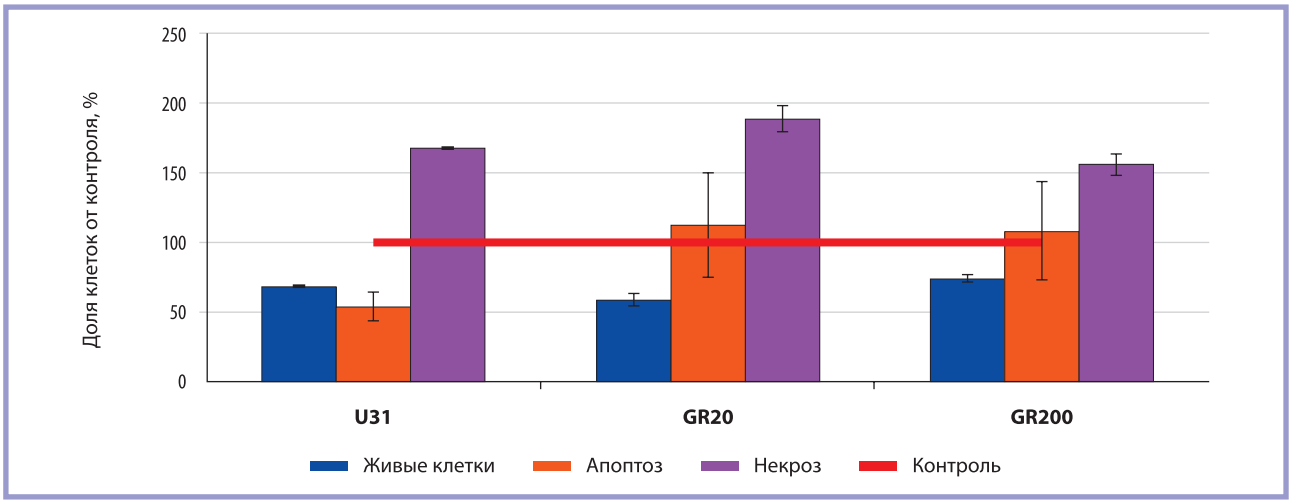


Рис. 3. **Анализ жизнеспособности клеточной культуры глиобластомы человека G22 при воздействии аптамеров U31, GR20 и GR200.**

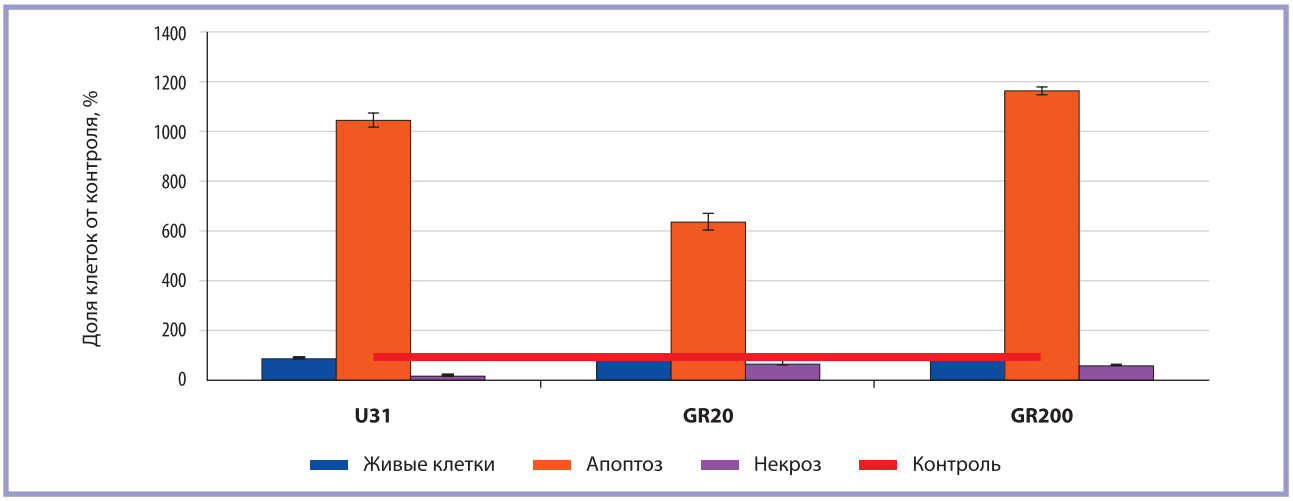


Рис. 4. **Анализ жизнеспособности культуры глиобластомы человека Sus\fP2 при воздействии аптамеров U31, GR20 и GR200.**

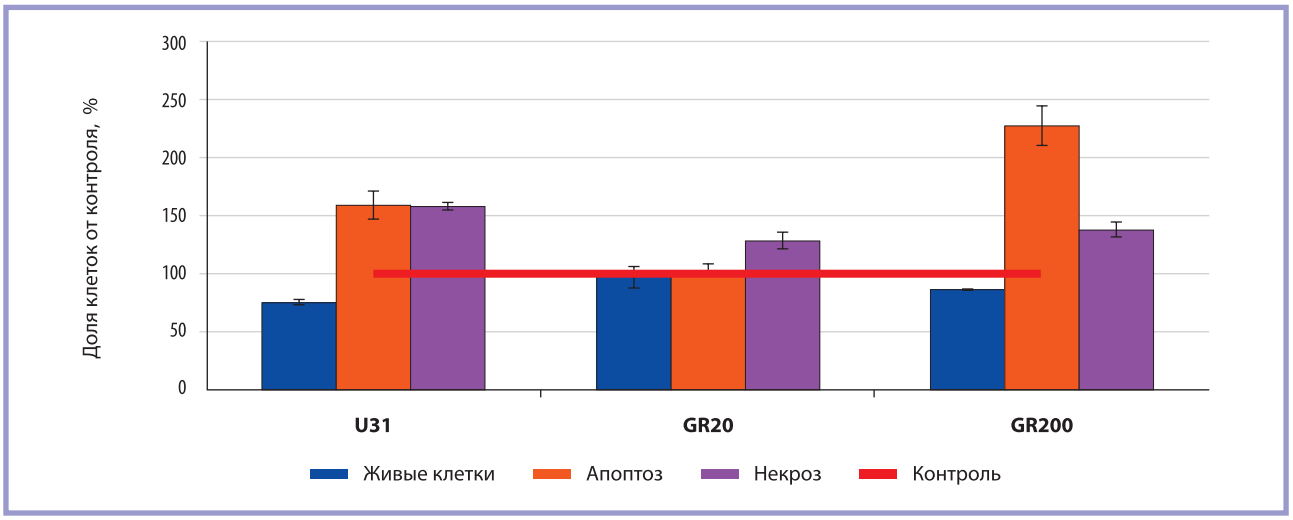


Рис. 5. **Анализ жизнеспособности клеточной культуры глиобластомы человека G22 при облучении дозой 20 Гр с последующим добавлением U31, GR20 и GR200.**

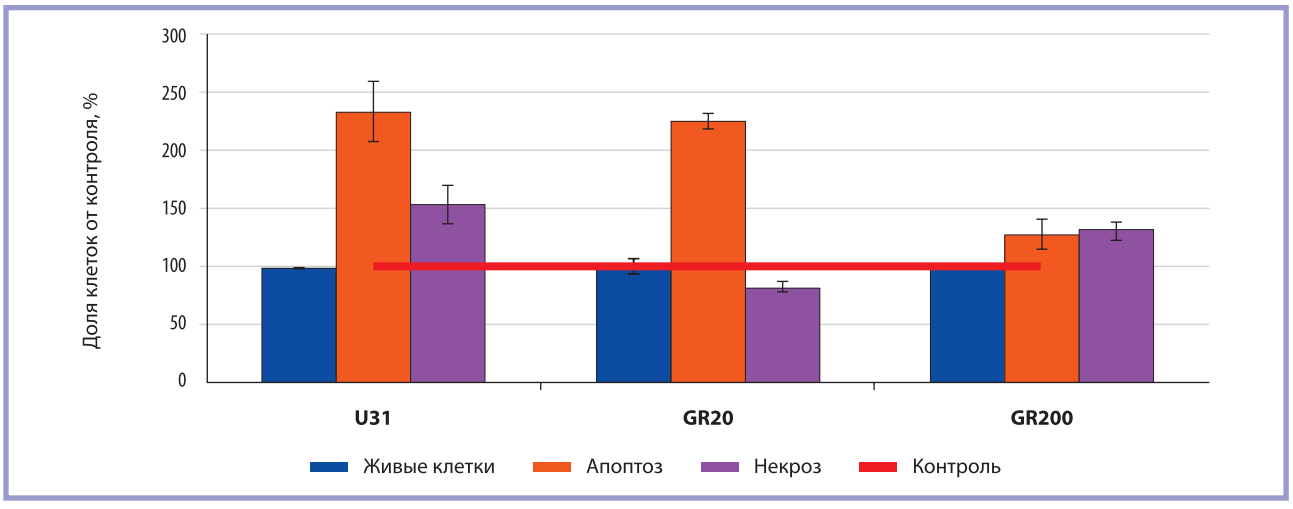


Рис. **6. Анализ жизнеспособности клеточной культуры глиобластомы человека Sus\fP2 при облучении дозой 20 Гр с последующим добавлением U31, GR20 и GR200.**

Наиболее привлекательным в качестве антипролиферативного агента оказался аптамер GR20, так как при его воздействии на клетки культуры G22 наблюдается увеличение двух видов гибели — и апоптоза, и некроза, а при воздействии на клетки Sus\fP2 обнаруживается существенное повышение интенсивности апоптоза (на 650%) и снижение интенсивности некроза (на 24,7%).

Аптамер GR200 оказывает наименьшее действие на культуру G22 по сравнению с другими исследованными аптамерами. При его добавлении к культуре наблюдается усиление некроза, а в культуре Sus\fP2 — резкое усиление апоптоза (более чем в 10 раз) и снижение числа клеток в состоянии некроза (на 33,1%).

При сравнении результатов показано, что культуры по-разному отвечают на воздействие и, независимо от аптамера, в культуре G22 усиливается некроз, а в культуре Sus\fP2 преобладает апоптоз. Так как аптамер рассматривается в качестве дополнительного терапевтического агента, повышающего эффективность основной терапии, то в следующем эксперименте решено оценить влияние на жизнеспособность клеток ГБ человека воздействия аптамеров в сочетании с однократным облучением дозой 20 Гр.

Оценка влияния аптамеров U31, GR20 и GR200 на жизнеспособность клеточных культур глиобластомы человека G22 и Sus\fP2 после однократного облучения дозой 20 Гр

Монослой клеток глиобластомы облучали дозой 20 Гр с последующим воздействием одного из аптамеров (U31, GR20, GR200). После однократного облучения дозой 20 Гр и при добавлении в культуральную среду аптамера U31 в клеточной культуре глиобластомы G22 наблюдали усиление апоптоза и некроза на 59,4% и 57,7% соответственно. Добавление аптамера GR20 не привело к изменению состояния апоптоза, при этом на 28,3% увеличилось число клеток в состоянии некроза. Под действием аптамера GR200 выявлено увеличение апоптоза более чем в 2 раза и некроза на 38,1% **(рис. 5)**.

При аналогичном воздействии на клеточную культуру ГБ Sus\fP2 аптамера U31 после облучения дозой 20 Гр происходит увеличение доли апоптоза на 132,9% и некроза на 52,9%. При добавлении аптамера GR20 выявлено увеличение числа клеток в состоянии апоптоза на 125,4% и снижение количества клеток в состоянии некроза на 17,7%. После добавлении аптамера GR200 в культуре Sus\fP2 наблюдается усиление апоптоза и некроза на 27,4% и 30,6% соответственно **(рис. 6)**.

Обсуждение

Лучевая терапия по-прежнему является наиболее распространенным методом лечения многих типов опухолей. Около 50% всех больных получают лучевую терапию, что составляет 40% всех методов лечения рака [13]. Однако после лучевой терапии остаются устойчивые опухолевые клетки, дающие начало агрессивному рецидиву. Очевидно, что необходим поиск наименее токсичных для непатологических клеток организма молекул, которые будут повышать эффективность воздействия на опухолевые клетки. Комбинированное воздействие становится достаточно популярным. Аптамеры представляют собой идеального кандидата для воздействия на глиобластому благодаря легко структурированной природе, малому размеру и способности легко проникать через гематоэнцефалический барьер и таргетно достигать опухоли в головном мозге [14]. Мы использовали линейку аптамеров, специфичных к рецептору EGFR: U31, GR20 и GR200 [8, 9].

При сравнении полученных данных с помощью проточной цитофлуориметрии выявлены дифференцированные воздействия аптамеров U31, GR20 и GR200 на жизнеспособность клеток ГБ человека G22 и Sus\fP2. Такие же различия обнаружены и при комбинированном воздействии аптамеров после однократного облучения клеток дозой 20 Гр. В клеточной культуре ГБ человека G22 добавление аптамера U31 привело к снижению доли живых клеток и уровня апоптоза, однако увеличило количество клеток, перешедших в состояние некроза. В отличие от U31 аптамеры GR20 и GR200 повышают и некротические, и апоптотические процессы. В клеточной культуре ГБ человека Sus\fP2 после добавления аптамеров U31, GR20 и GR200 во всех образцах наблюдалось значительное увеличение количества клеток, перешедших в состояние апоптоза при одновременном снижении доли некроза. Наиболее значительное снижение числа некротизированных клеток наблюдали при добавлении аптамера U31. Вместе с тем аптамеры GR20 и GR200 оказывали оптимальное воздействие на стимулирование гибели клеток благоприятным апоптотическим путем.

При комбинированном воздействии на клеточную культуру ГБ человека G22 облучения и аптамеров наблюдались следующие эффекты: сочетание радиации с U31 или GR200 вызывало рост интенсивности апоптоза и некроза, в то же время комбинация облучения с GR20 не оказывала существенного влияния на содержание апоптотических клеток, но повышала долю некротических клеток.

При комбинированном воздействии на клеточную культуру ГБ человека Sus\fP2 облучения и аптамеров наибольшая эффективность выявлена при добавлении аптамера GR20, он не только усиливал апоптоз более чем в 2 раза, но и снижал уровень некроза по сравнению с другими аптамерами.

Различия ответной реакции опухолевых клеток ГБ разных пациентов говорит о важности разработки терапевтических препаратов именно на основе клеточных

культур опухолей заданной нозологии, прошедших небольшое количество пассирований и имеющих схожий гетерогенный профиль с исходной опухолью. Использование однообразных клеточных линий, подобных U87 или U251, для поиска новых способов терапевтического воздействия может показывать оптимистические результаты *in vitro* и *in vivo*, но приводить к неудаче на стадии II фазы клинических испытаний ввиду существенного отличия собственно опухолей от линейных клеток.

Не менее важным результатом можно считать то, что необходим индивидуальный подход к каждой опухоли пациента. Персонализированная медицина позволит существенно улучшить терапевтическое воздействие на опухоль. Например, в нашем случае очевидно, что на опухоль Sus\fP2 оптимальным является воздействие лучевой терапии в сочетании с введением аптамера GR20, а на опухоль G22 — либо единичное воздействие аптамера U31, либо комбинированное с использованием лучевой терапии и аптамера GR200.

Заключение

В результате эксперимента обнаружили, что аптамеры по-разному влияют на клеточные культуры глиобластомы человека G22 и Sus\fP2, полученные из опухолевой ткани пациентов. Для опухоли Sus\fP2 оптимальным является воздействие лучевой терапии в сочетании с введением аптамера GR20, а для опухоли G22 — либо единичное воздействие аптамера U31, либо комбинированное воздействие с использованием лучевой терапии и аптамера GR200. Полученный результат показывает важность разработки комбинированного воздействия с использованием аптамера и лучевой терапии, а также важность предварительных исследований на клеточных культурах опухолей пациентов для разработки индивидуального подхода к каждой опухоли центральной нервной системы.

Участие авторов:
Концепция и дизайн исследования — Павлова Г.В., Савченко Е.А., Голанов А.В.
Сбор и обработка материала — Слиман Я.А., Павлова С.А., Савченко Е.А., Самойленкова Н.С., Овечкина А.В., Демьянович А.В., Усачев Д.Ю., Павлова Г.В.
Статистическая обработка — Слиман Я.А., Павлова С.А., Антипина Н.А.
Написание текста — Слиман Я.А., Павлова С.А., Павлова Г.В.
Редактирование — Павлова Г.В.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение №075-15-2024-561).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Park YW, Vollmuth P, Foltyn-Dumitru M, Sahm F, Ahn SS, Chang JH, Kim SH. The 2021 WHO Classification for Gliomas and Implications on Imaging Diagnosis: Part 1-Key Points of the Fifth Edition and Summary of Imaging Findings on Adult-Type Diffuse Gliomas. *Journal of Magnetic Resonance Imaging.* 2023;58(3):677-689. https://doi.org/10.1002/jmri.28743
2. Kiryttopoulos A, Evangeliou AE, Katsanika I, Boukovinas I, Foroglou N, Zountsas B, Cheva A, Nikolopoulos V, Zaramboukas T, Duraj T, Seyfried TN, Spilioti M. Successful application of dietary ketogenic metabolic therapy in patients with glioblastoma: a clinical study. *Front Nutr.* 2025;11:1489812. https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1489812
3. Li R, Wang H, Liang Q, Chen L, Ren J. Radiotherapy for glioblastoma: clinical issues and nanotechnology strategies. *Biomaterials Science.* 2022;10(4):892-908. https://doi.org/10.1039/D1BM01401C
4. Sababathy M, Ramanathan G, Tan SC. Targeted delivery of gold nanoparticles by neural stem cells to glioblastoma for enhanced radiation therapy: a review. *AIMS Neuroscience.* 2022;9(3):303-319. https://doi.org/10.3934/Neuroscience.2022017
5. Cheng XA Comprehensive Review of HER2 in Cancer Biology and Therapeutics. *Genes (Basel).* 2024;15(7):903. https://doi.org/10.3390/genes15070903
6. Golovin A, Dzarieva F, Rubetskaya K, Shamadykova D, Usachev D, Pavlova G, Kopylov A. Silico Born Designed Anti-EGFR Aptamer Gol1 Has Anti-Proliferative Potential for Patient Glioblastoma Cells. *International Journal of Molecular Sciences.* 2025;26(3):107. https://doi.org/10.3390/ijms26031072
7. Giordano FA, Layer JP, Leonardelli S, Friker LL, Turiello R, Corvino D, Zeyen T, Schaub C, Müller W, Sperk E, Schmeel LC, Sahm K, Oster C, Kebir S, Hambsch P, Pietsch T, Bisdas S, Platten M, Glas M, Seidel C, Herrlinger U, Hölzel M. Radiotherapy and olaptesed pegol (NOX-A12) in partially resected or biopsy-only MGMT-unmethylated glioblastoma: Interim data from the German multicenter phase 1/2 GLORIA trial. *Nature communications* 2024 28;15(1):4210. https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.2050
8. Zavyalova E, Turashev A, Novoseltseva A, Legatova V, Antipova O, Savchenko E, Balk S, Golovin A, Pavlova G, Kopylov A. Pyrene-Modified DNA Aptamers with High Affinity to Wild-Type EGFR and EGFRvIII. *Nucleic Acid Therapeutics.* 2020;30(3):175-187. https://doi.org/10.1089/nat.2019.0830
9. Moiseenko VL, Antipova OM, Rybina AA, Mukhametova LI, Eremin SA, Pavlova GV, Kopylov AM. Post-Selection Design of Aptamers: Comparative Study of Affinity of the DNA Aptamers to Recombinant Extracellular Domain of Human Epidermal Growth Factor Receptors. *Biochemistry (Mosc).* 2024;89(12):2183-2193. https://doi.org/10.1134/S0006297924120071
10. Kolesnikova V, Revishchin A, Fab L, Alekseeva A, Ryabova A, Pronin I, Usachev DY, Kopylov A, Pavlova G. GQIcombi application to subdue glioma via differentiation therapy. *Frontiers in Oncology.* 2024;14:1322795. https://doi.org/10.3389/fonc.2024.1322795
11. Legatova V, Samoylenkova N, Arutyunyan A, Tashlitsky V, Zavyalova E, Usachev D, Pavlova G, Kopylov A. Covalent bi-modular parallel and antiparallel G-quadruplex DNA nanocostructs reduce viability of patient glioma primary cell cultures. *International Journal of Molecular Sciences.* (2021) 22:3372. https://doi.org/10.3390/ijms22073372
12. Pavlova G, Belyashova A, Savchenko E, Panteleev D, Shamadykova D, Nikolaeva A, et al. Reparative properties of human glioblastoma cells after single exposure to a wide range of X-ray doses. *Frontiers in Oncology.* 2022;12:912741. https://doi.org/10.3389/fonc.2022.912741

13. Ali MY, Oliva CR, Noman ASM, Allen BG, Goswami PC, Zakharia Y, Monga V, Spitz DR, Buatti JM, Griguer CE. Radioresistance in Glioblastoma and the Development of Radiosensitizers. *Cancers (Basel)*. 2020; 12(9):2511. https://doi.org/10.3390/cancers12092511

14. Pavlova S, Fab L, Dzarieva F, Ryabova A, Revishchin A, Panteleev D, Antipova O, Usachev D, Kopylov A, Pavlova G. Unite and Conquer: Association of Two G-Quadruplex Aptamers Provides Antiproliferative and Antimigration Activity for Cells from High-Grade Glioma Patients. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2024;17(11):1435. https://doi.org/10.3390/ph17111435

Поступила/Received 16.10.2025
Принята к печати/Accepted 26.11.2025

Комментарий

В статье приводятся важные данные об анализе изменений в клеточных культурах глиобластомы человека. Показана перспективность воздействия на клетки глиобластомы новых препаратов — ДНК-аптамеров U31, GR20, GR200 и их комбинации с лучевой терапией. Данное экспериментальное исследование имеет большое значение для разработки новых методов лечения опаснейшего заболевания. Особенно ценным является использование в исследовании культур клеток, полученных из тканей опухолей пациентов. Дизайн исследования адекватен поставленной задаче и позволяет сделать хорошо обоснованные выводы касательно возможности применения испытанных комбинаций воздействий для терапии глиобластомы. Список литературы отражает современное состояние проблемы и позволяет судить о значимости результатов. Резюме имеет четкую структуру и достаточно полно отражает существо проделанной работы. В качестве рекомендации могу посоветовать авторам указать в методике примерное количество клеток, используемых при анализе на проточном флуориметре.

А.В. Ревищин (Москва)