Наноразмерные структуры на мембране эритроцитов — маркеры развития онкологического заболевания и эффективности лучевой терапии

© *С.Н. Мамаева*[1], *Г.В. Максимов*[2], *Т.А. Крылова*[1], *А.Н. Павлов*[1]

[1] Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия
[2] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
E-mail: sargylana_mamaeva@mail.ru

Поступило в Редакцию 4 мая 2026 г.
В окончательной редакции 15 июня 2026 г.
Принято к публикации 23 октября 2026 г.

Результаты комплексного исследования (методами сканирующей электронной и атомно-силовой микроскопии, полимеразной цепной реакции в реальном времени, иммунофлуоресцентного анализа) крови пациентов с диагнозом рак шейки матки до и после лучевой терапии (ЛТ) свидетельствуют о механизме циркуляции наноразмерных структур (НРС) (от 30 до 300 nm), элементный состав которых сходен с составом мембран клеток и капсидов вирусов, в крови за счет адсорбции на поверхности эритроцитов. Показано, что НРС содержат ДНК вирусов папилломы человека 16 и 18 типов. Сопоставление данных по НРС и клинических данных пациентов после ЛТ через три года и пять лет показало, что состояние пациентов зависит от изменения количества НРС во время ЛТ. Применение нового комплексного подхода позволит использовать НРС в качестве биомаркеров развития рака шейки матки, а также эффективности ЛТ.

Ключевые слова: эритроциты, наноразмерные структуры, вирусные частицы, сканирующая электронная микроскопия, лучевая терапия.

DOI: 10.61011/PJTF.2026.23.64004.9653k

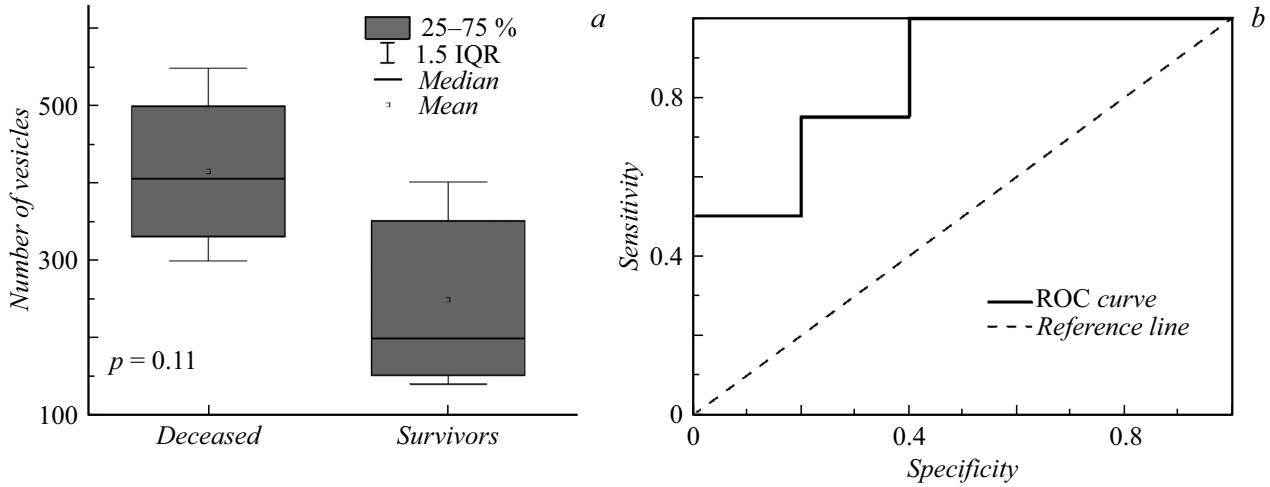
Продолжающийся ежегодный рост количества злокачественных новообразований, в том числе рака шейки матки (РШМ), требует развития новых подходов в исследовании возникновения и развития патологии. Известно, что РШМ ассоциирован с вирусами папилломы человека (ВПЧ) 16 и 18 типов. В работе [1] были показаны результаты комплексного исследования по выявлению и определению природы наноразмерных структур (НРС) в крови у пациентов с диагнозом РШМ до и во время проведения лучевой терапии (ЛТ).

Целью данного исследования является обоснование того, что НРС на поверхности мембраны эритроцитов можно рассматривать как биомаркеры развития патологии (РШМ) и эффективности лучевой терапии.

С помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) в определенных режимах его работы без нанесения на поверхность образцов (тонких сухих мазков крови на стеклянных и нанокомпозитных подложках) проводящего покрытия экспериментально было установлено, что распространение НРС в крови возможно путем адсорбции НРС на поверхности эритроцитов. Наличие НРС на мембране эритроцитов было подтверждено и методом атомно-силовой микроскопии. Было показано, что размеры НРС соизмеримы с размерами известных вирусов. У преобладающего количества НРС размеры были сопоставимы с размерами ВПЧ (45–60 nm). Также методом рентгеновского энергодисперсионного микроанализа было определено, что элементный состав НРС сходен с составом капсидов вирусов. Это стало посылом для исследования природы обнаруженных НРС (являются ли они вирусными частицами). С помощью метода полимеразной цепной реакции в реальном времени установлено, что во фракции эритроцитов крови пациентов с диагнозом РШМ присутствует ДНК ВПЧ [1]. Полученный результат был подтвержден с помощью иммунофлуоресцентного анализа (МФА). Этим же методом было доказано наличие ДНК ВПЧ в эритроцитарной массе и после ЛТ, т.е. ионизирующее излучение не влияет на наличие НРС с ДНК ВПЧ на поверхности эритроцитов [1].

На основе изображений эритроцитов одних и тех же образцов, полученных с помощью СЭМ и инвертированного микроскопа (при исследовании определения состава НРС методом МФА), нами ранее была определена корреляция между долями эритроцитов с НРС (на СЭМ-изображениях) и меченых клеток (флуоресцирующих эритроцитов). Коэффициент корреляции Пирсона составил 0.81. Это соответствует тому, что наблюдается прямая пропорциональность между долей клеток с НРС (в экспериментах с применением СЭМ) и долей меченых клеток (в экспериментах с применением метода МФА): с ростом количества эритроцитов с НРС на СЭМ-изображениях наблюдается рост количества „светящихся“ эритроцитов в экспериментах с обнаружением ДНК ВПЧ методом МФА [2].

Остается неясным механизм адсорбции НРС на мембране эритроцитов. Известно, что если изоэлектрические точки pI ВПЧ 16 и 18 типов выше, чем допустимое максимальное значение кислотности крови (7.35–7.45 по шкале pH), то поверхностный заряд ВПЧ имеет



Area under the curve	Standard error	Asymptotic significance	95 % LCL/UCL
0.85	0.13601	0.08641	0.58342/1.11658

Рис. 1. *a* — график количества (концентрации) НРС в крови умерших и выживших пациентов с диагнозом РШМ в течение пяти лет после ЛТ; *b* — ROC-кривая для количества НРС в качестве предикторов пятилетней выживаемости пациентов с РШМ, прошедших ЛТ.

в крови всегда положительный знак [3], т. е. это тоже может подтверждать прикрепление вирусных частиц на мембране эритроцитов благодаря кулоновскому взаимодействию, так как поверхностный заряд эритроцитов всегда отрицательный. Также на СЭМ-изображениях до и после ЛТ была обнаружена агглютинация эритроцитов, возможно частично вызванная и прикреплением большого количества НРС на поверхности эритроцитов: при связывании положительно заряженных НРС с мембраной эритроцитов могут уменьшиться суммарные поверхностные заряды эритроцитов, что может привести к уменьшению сил кулоновского взаимного отталкивания.

Кроме того, в работе [1] было показано, что во время проведения ЛТ у пациентов в крови (не только на поверхности эритроцитов, но и в плазме) наблюдалось увеличение количества НРС, линейные размеры которых имели более широкий диапазон значений (от 30 до 300 nm). Их количество значительно снижалось после ЛТ и приближалось к количеству НРС до ЛТ. Известно, что раковые клетки, как и любые другие клетки, могут выделять мембранные везикулы — экзосомы [4]. ЛТ может обусловливать усиление секреции экзосом при разрушении опухолевых клеток под воздействием ионизирующего излучения. Известно также, что экзосомы могут содержать ДНК и РНК выделяющих их клеток и делиться своим содержимым с другими клетками, т. е. выброс большого количества таких „пузырьков“ с информацией об опухолевых клетках и их циркуляция в кровеносном русле могут увеличить вероятность развития метастазирования [5]. Необходимо обратить внимание на то, что поверхностные заряды везикул являются отрицательными [6], вследствие чего они не связываются с эритроцитами. Поэтому количество НРС на поверхности эритроцитов до и после ЛТ не меняется [1].

Кроме того, явление большого выброса НРС в кровь может быть обусловлено неоднородностью распределения дозы в пределах объема мишени — опухолевого образования (оценочная характеристика равномерности распределения дозы — индекс гомогенности — должен быть $HI \leqslant 0.12$) [7], т. е. переоблучение части мишени, возможно, приводит к увеличению количества НРС, а связанное с этим недооблучение остальной части мишени — к увеличению вероятности рецидива рака.

Обнаруженная также в работе [1] продолжающаяся циркуляция в крови НРС (вирусные частицы с ДНК ВПЧ) на поверхности эритроцитов после ЛТ может быть также причиной возникновения метастазирования через несколько лет после ЛТ.

В связи с изложенными выше результатами и доводами было проведено пилотное исследование — анализ зависимости среднего количества НРС (концентрации НРС — количества НРС, приходящегося на площадь в видимой области СЭМ-изображения, сопоставимую со средней площадью одного эритроцита) и клинических данных девяти пациентов с диагнозом РШМ через пять лет после проведения ЛТ. Установлено, что увеличение количества НРС в ходе проведения ЛТ приводит к неблагоприятным исходам (рис. 1). Для определения среднего значения количества НРС в крови выживших и умерших в течение пяти лет после ЛТ был использован метод Манна–Уитни (рис. 1, *a*). Было показано, что

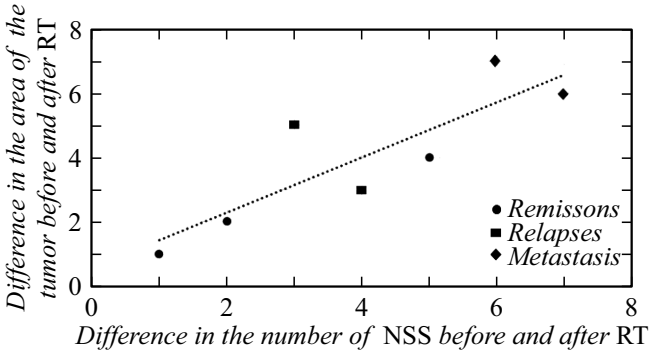


Рис. 2. Зависимость между разностью площадей опухоли и разностью количества НРС до и после ЛТ. Символами обозначены следующие клинические случаи: кружки — ремиссии, квадраты — рецидивы, ромбы — метастазирование.

пациенты, у которых наблюдалось большое количество НРС в крови, имели неблагоприятный исход в течение пяти лет, в то время как пациенты с более низким количеством НРС выжили. Для обоснования достоверности определения количества экзосом в крови как параметра эффективности ЛТ, т.е. как параметра для прогнозирования, например, пятилетнего выживания, была построена ROC-кривая (эффективный и комбинированный показатель чувствительности и специфичности), которая используется для оценки точности диагностических тестов (рис. 1, *b*). Значение площади под ROC-кривой равно 0.85, что указывает на хорошую (но не отличную) дискриминационную способность. Однако было получено достаточно высокое значение стандартной ошибки (0.123) относительно площади под кривой. Значение асимптотической значимости > 0.05, статистически значимое отличие не было достигнуто, значение 95% LCL/UCL=0.5834/1.116, что может указывать на низкую точность оценки из-за малой выборки.

На основании данных о количестве НРС у пациентов и их клинических показателей через пять лет был рассчитан индекс Юдена и определено граничное количество везикул, разделяющее благоприятный и неблагоприятный исходы. Согласно полученным данным, благоприятный исход соответствует количеству везикул < 248.

Поскольку количество НРС может зависеть от размера опухоли, также было проведено определение корреляции между разностью количества везикул в крови до и после ЛТ и изменением размеров опухоли (площади опухоли в сагиттальном срезе) по данным МРТ и КТ у семи пациентов с РШМ в процессе ЛТ. По результатам анализа изображений СЭМ и МРТ, КТ с использованием программного комплекса MatLab коэффициент корреляции по Спирмену составляет 0.86 (рис. 2).

Из рис. 2 видно, что увеличение количества везикул в крови напрямую связано с уменьшением площади опухоли, т.е. одним из показателей эффективности проводимой терапии. Однако, как было указано выше, при анализе факторов риска метастазирования и рецидивирования должно уделяться внимание индексу гомогенности облучения опухоли. Увеличение количества везикул возможно не только в зависимости от размера опухоли, но и в зависимости от неравномерности распределения дозы ЛТ: формирование зон полной деструкции опухолевой ткани может сопровождаться массивным выбросом везикул в кровяное русло и, как следствие, увеличением риска метастазирования; наличие участков с недостаточным облучением может создать условия для выживания и дальнейшего роста опухолевых клеток и, как следствие, увеличения риска рецидива. Действительно, сопоставление данных по НРС, размерам опухолей и клинических данных семи пациентов через три года после ЛТ показало, что, несмотря на выраженную регрессию опухоли (существенное уменьшение площади опухоли на момент визуализации методом МРТ или КТ после ЛТ), примерно у половины пациентов наблюдается рецидив РШМ или метастазирование. На рис. 2 кружками обозначены данные первого, второго и пятого пациентов, у которых была констатирована полная клиническая ремиссия; квадратами — данные третьего и четвертого пациентов, у которых обнаружен рецидив РШМ; ромбами — данные шестого и седьмого пациентов, у которых диагностировано метастазирование. Таким образом, применение СЭМ для количественного анализа везикул в крови может дополнить традиционные методы визуализации (МРТ и КТ), обеспечив новую маркерную платформу для мониторинга ответа опухоли на лечение. И в этом плане необходимо дальнейшее комплексное исследование морфологии эритроцитов и опухолей, наличия и распределения НРС в крови, клинических данных пациентов. Таким образом, могут быть выявлены параметры эффективности ЛТ — граничные значения количества НРС с учетом размера опухоли до начала ЛТ и индекса гомогенности.

Полученные данные свидетельствуют о том, что изменение количества НРС во время ЛТ может рассматриваться в качестве оценочного параметра развития РШМ, как показатель эффективности ЛТ. Однако выявленные тенденции требуют подтверждения в дальнейших исследованиях с бóльшим объемом выборки.

Результаты, полученные с применением нового комплексного подхода, представленного ранее авторами, и данные пилотных исследований корреляции между количеством НРС и пятилетней выживаемостью, а также морфологии опухолей могут позволить рассматривать НРС в качестве биомаркеров развития РШМ и эффективности ЛТ.

Финансирование работы

Работа выполнена в рамках государственного задания № FSRG-2024-0002 и при финансовой поддержке Эндаумент-фонда Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова.

Соблюдение этических стандартов

Исследования проводились в соответствии с этическими принципами медицинских исследований с участием людей, а также после получения одобрения локального комитета по биомедицинской этике Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова (протокол № 13 от 4 апреля 2018 г., решение № 2). От каждого из включенных в исследование участников было получено письменное информированное добровольное согласие.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] С.Н. Мамаева, *Наноразмерные структуры на мембране эритроцита при патологии и воздействии радиации*, автореф. докт. дис. (МГУ, М., 2024).
[2] Т.А. Крылова, С.Н. Мамаева, М.Н. Егорова, Г.В. Максимов, Медицинская физика, № 1, 131 (2026). DOI: 10.52775/1810-200X-2026-109-1-131-135
[3] C.M. Zhou, Electrophoresis, **34** (20-21), 3046 (2013). DOI: 10.1002/elps.201300161
[4] В.М. Украинская, Ю.П. Рубцов, В.Д. Кнорре, М.А. Масчан, А.Г. Габибов, А.В. Степанов, Acta Naturae (русскоязычная версия), **11** (4), 33 (2019). DOI: 10.32607/20758251-2019-11-4-33-41
[5] Е.М. Чевкина, А.М. Щербаков, А.Ю. Журавская, С.Е. Семина, А.В. Комельков, М.А. Красильников, Успехи молекулярной онкологии, **2** (3), 8 (2015). DOI: 10.17650/2313-805X-2015-2-3-8-20
[6] Е.И. Якубович, А.Г. Полищук, В.И. Евтушенко, Биологические мембраны, **39** (3), 172 (2022). DOI: 10.31857/S0233475522030100
[7] П.Н. Кечина, Ю.А. Кудашкина, Ю.И. Барт, И.М. Лебеденко, М.В. Черных, Медицинская физика, № 4, 24 (2025). DOI: 10.52775/1810-200X-2025-108-4-24-34