

DOI: <https://doi.org/10.17816/onco694246>

EDN: BCDHLM



# Жидкостная биопсия в диагностике и мониторинге остеосарком: обзор современных методов

А.Ф. Ихсанова<sup>1</sup>, Д.Т. Искандарова<sup>1</sup>, А.Р. Сайфутдинова<sup>1</sup>, Д.А. Акбердина<sup>2</sup>, К.А. Маркелова<sup>2</sup>,  
А.А. Исаев<sup>2</sup>, А.А. Пардаев<sup>2</sup>, Д.Д. Салихова<sup>2</sup>, К.В. Ибатуллина<sup>2</sup>, Д.М. Шаймарданова<sup>2</sup>,  
А.А. Саркиева<sup>2</sup>, Л.П. Нурутдинова<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия;

<sup>2</sup> Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия;

<sup>3</sup> Дагестанский государственный медицинский университет, Махачкала, Россия

## АННОТАЦИЯ

Остеосаркома (ОС) представляет собой одно из наиболее частых первичных злокачественных новообразований костной ткани, поражающее преимущественно детей и лиц молодого возраста и отличающееся агрессивным течением и высоким риском метастазирования. Несмотря на внедрение в клиническую практику современных терапевтических методов, показатели общей выживаемости остаются на низком уровне, а традиционные методы диагностики и мониторинга, включая методы визуализации и инвазивную тканевую биопсию, сопряжены с рядом ограничений. В связи с вышесказанным особую актуальность приобретает разработка неинвазивных диагностических методов, среди которых перспективным направлением является жидкостная биопсия (ЖБ), позволяющая проводить анализ циркулирующих в кровотоке опухолевых маркеров. В рамках настоящего обзора проведён анализ современных литературных данных, посвящённых применению ЖБ в диагностике и мониторинге ОС. Внимание сфокусировано на трёх ключевых биологических субстратах: циркулирующей опухолевой ДНК (цоДНК), циркулирующих опухолевых клетках (ЦОК) и внеклеточных везикулах (ВВ). По результатам обзора продемонстрировано, что цоДНК, несущая характерные для ОС хромосомные aberrации, предоставляет возможности для оценки опухолевой нагрузки, прогнозирования ответа на терапию и детекции минимальной исследуемой остаточной болезни. ЦОК, в особенности мезенхимального происхождения, ассоциированы с высоким метастатическим потенциалом и неблагоприятным прогнозом. ВВ, в свою очередь, содержат разнообразные биомолекулы (микроРНК, белки, мРНК), вовлечённые в процессы межклеточной коммуникации, формирования преметастатической ниши и развития резистентности к терапии. В обзоре рассмотрены современные аналитические платформы, включающие цифровую полимеразную цепную реакцию, секвенирование нового поколения, масс-цитометрию и протеомный анализ, которые обеспечивают высокую аналитическую чувствительность и специфичность при детекции маркеров активности опухоли. Несмотря на существующие методологические и экономические ограничения, такие как отсутствие стандартизации преаналитического этапа и высокая стоимость исследований, ЖБ демонстрирует большой потенциал для реализации персонализированного подхода в лечении пациентов с ОС.

**Ключевые слова:** остеосаркома; жидкостная биопсия; циркулирующая опухолевая ДНК; циркулирующие опухолевые клетки; внеклеточные везикулы; минимальная остаточная болезнь; биомаркеры; обзор; секвенирование нового поколения.

## Как цитировать:

Ихсанова А.Ф., Искандарова Д.Т., Сайфутдинова А.Р., Акбердина Д.А., Маркелова К.А., Исаев А.А., Пардаев А.А., Салихова Д.Д., Ибатуллина К.В., Шаймарданова Д.М., Саркиева А.А., Нурутдинова Л.П. Жидкостная биопсия в диагностике и мониторинге остеосарком: обзор современных методов // Российский онкологический журнал. 2025. Т. 30, № 4. С. 323–337. DOI: 10.17816/onco694246 EDN: BCDHLM

DOI: <https://doi.org/10.17816/onco694246>

EDN: BCDHLM

# Liquid Biopsy in the Diagnosis and Monitoring of Osteosarcoma: A Review of Current Methods

Alina F. Ikhsanova<sup>1</sup>, Dinara T. Iskandarova<sup>1</sup>, Adelya R. Saifutdinova<sup>1</sup>, Diana A. Akberdina<sup>2</sup>, Ksenia A. Markelova<sup>2</sup>, Artem A. Isaev<sup>2</sup>, Asadbek A. Pardaev<sup>2</sup>, Diana D. Salikhova<sup>2</sup>, Karina V. Ibatullina<sup>2</sup>, Dinara M. Shaimardanova<sup>2</sup>, Alina A. Sarkieva<sup>2</sup>, Leyla P. Nurutdinova<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

<sup>2</sup> Bashkir State Medical University, Ufa, Russia;

<sup>3</sup> Dagestan State Medical University, Makhachkala, Russia

## ABSTRACT

Osteosarcoma is one of the most common primary bone cancers, predominantly affecting children and young adults, and is characterized by aggressive behavior and a high risk of metastasis. Despite the introduction of modern therapeutic methods into clinical practice, overall survival rates remain low, and traditional diagnostic and monitoring approaches, including imaging modalities and invasive tissue biopsy, are associated with a number of limitations. In this context, the development of noninvasive diagnostic strategies is of particular relevance. One of the most promising approaches is liquid biopsy, which enables the analysis of tumor-derived biomarkers circulating in the bloodstream. This narrative review analyzes current scientific data on the application of liquid biopsy for the diagnosis and monitoring of osteosarcoma. The review focuses on three key biological substrates: circulating tumor DNA, circulating tumor cells, and extracellular vesicles. The available evidence indicates that circulating tumor DNA harboring osteosarcoma-specific chromosomal aberrations enables assessment of tumor burden, prediction of treatment response, and detection of minimal residual disease. Circulating tumor cells, particularly those of mesenchymal origin, are associated with a high metastatic potential and an unfavorable prognosis. Extracellular vesicles contain a wide range of biomolecules (including microRNAs, proteins, and messenger RNAs) that are involved in intercellular communication, formation of the premetastatic niche, and development of therapy resistance. The review also summarizes contemporary analytical platforms, such as digital polymerase chain reaction, next-generation sequencing, mass cytometry, and proteomic analysis, which provide high analytical sensitivity and specificity for the detection of tumor activity biomarkers. Despite existing methodological and economic limitations, including the lack of standardization of preanalytical procedures and high costs, liquid biopsy demonstrates significant potential for the implementation of a personalized approach in the management of patients with osteosarcoma.

**Keywords:** osteosarcoma; liquid biopsy; circulating tumor DNA; circulating tumor cells; extracellular vesicles; minimal residual disease; biomarkers; review; next-generation sequencing.

## To cite this article:

Ikhsanova AF, Iskandarova DT, Saifutdinova AR, Akberdina DA, Markelova KA, Isaev AA, Pardaev AA, Salikhova DD, Ibatullina KV, Shaimardanova DM, Sarkieva AA, Nurutdinova LP. Liquid Biopsy in the Diagnosis and Monitoring of Osteosarcoma: A Review of Current Methods. *Russian Journal of Oncology*. 2025;30(4):323–337. DOI: 10.17816/onco694246 EDN: BCDHLM

Submitted: 27.10.2025

Accepted: 20.11.2025

Published online: 25.11.2025

## ОБОСНОВАНИЕ

Остеосаркома (ОС) является одним из наиболее распространённых первичных злокачественных новообразований (ЗНО) костной ткани, поражающим преимущественно детей и лиц молодого возраста. Пик заболеваемости приходится на периоды интенсивного роста скелета, проявляясь в возрасте 10–14 лет у девочек и 15–19 лет у мальчиков [1]. Несмотря на внедрение в клиническую практику современных методов неoadъювантной и адъювантной химиотерапии, показатели пятилетней выживаемости продолжают оставаться на уровне 60–70%. Основной причиной летальности является метастазирование, что приводит к неблагоприятному исходу у 30–40% пациентов [2]. Актуальность проблемы обусловлена комплексом диагностических и методологических ограничений, включающих отсутствие надёжных методов ранней диагностики, объективной оценки ответа на терапию и профилактики рецидивов, что в совокупности определяет неблагоприятный прогноз заболевания. Традиционные методы имеют существенные ограничения в виде инвазивности процедуры тканевой биопсии, необходимости её многократного проведения для динамической оценки течения заболевания, а также внутриопухолевой гетерогенности, которые затрудняют получение репрезентативного биологического материала, отражающего полный спектр информации об опухоли [3]. Инструментальные методы, используемые для диагностики ОС, такие как компьютерная (КТ), магнитно-резонансная (МРТ) и позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), имеют низкую чувствительность для определения минимальной измеримой остаточной болезни (МИОБ) и ранних изменений в ответ на лечение [1, 4]. В качестве альтернативы для преодоления данных ограничений рассматривается метод жидкостной биопсии (ЖБ). Данный метод представляет собой минимально инвазивный способ диагностики онкологических заболеваний, основанный на анализе различных опухолевых компонентов, циркулирующих в крови, к которым относятся циркулирующая опухолевая ДНК (цоДНК), циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК), микроРНК и внеклеточные везикулы [5, 6]. Преимуществом ЖБ является возможность многократного забора биоматериала для динамического наблюдения за течением заболевания и определения геномной гетерогенности опухоли [3, 5].

Наибольшее количество данных, подтверждающих эффективность ЖБ при ОС, отмечается в отношении цоДНК, представляющей собой фрагментированную ДНК, высвобождаемую в кровоток из клеток первичной опухоли и метастатических очагов, которая несёт как количественную, так и качественную информацию о геноме новообразования [6]. Для ОС, характеризующейся выраженной геномной нестабильностью и сложным кариотипом, анализ цоДНК с применением технологий

секвенирования нового поколения (Next Generation Sequencing, NGS) открывает возможности для идентификации специфичных соматических изменений [7]. Количественная оценка цоДНК на момент диагностики является независимым прогностическим фактором, а её комбинация с традиционными клиническими параметрами позволяет стратифицировать пациентов по группам риска [8]. Диагностический потенциал ЖБ не исчерпывается анализом цоДНК. Циркулирующие опухолевые клетки также рассматриваются в качестве прогностически значимых биомаркёров ОС. Д.И. Водолажский и соавт. установили, что их наличие в периферической крови коррелирует с показателями низкой общей выживаемости и наличием метастазов опухоли [9]. Помимо вышеописанных биомаркёров важное клиническое значение имеет поиск некодирующих РНК (нкРНК), в частности микроРНК (миРНК), и внеклеточных везикул. Аберрантные профили экспрессии микроРНК, вовлечённых в процессы канцерогенеза и прогрессии ОС, успешно детектируются в плазме крови и рассматриваются как перспективные диагностические маркёры и потенциальные терапевтические мишени [2]. Внеклеточные везикулы, секретируемые как опухолевыми клетками, так и клетками окружения опухоли, играют роль в межклеточной коммуникации, координируя процессы инвазии, ангиогенеза и метастазирования, что делает их перспективными носителями маркёров диагностики и прогнозирования течения ОС [10, 11].

## ЦЕЛЬ

Проанализировать современные литературные данные о видах биоматериалов, используемых для проведения ЖБ при ОС, методах детекции биомаркёров ОС в биоматериале, а также выполнить оценку их диагностической и прогностической значимости.

## МЕТОДОЛОГИЯ ПОИСКА ИСТОЧНИКОВ

Отбор статей для проведения обзора проводился в соответствии с рекомендациями PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses). Алгоритм отбора исследований представлен на рис. 1.

Поиск релевантных исследований проводился в течение 3 месяцев (с июня по август 2025 года) в международных и российских библиографических базах данных PubMed / Ovid MEDLINE, Science Direct, Google Scholar и eLIBRARY. Глубина поиска публикаций составила 8 лет, с 2018 по 2025 год, что обусловлено целью охватить как период становления методов жидкостной биопсии, так и современные подходы, получившие развитие в последнее десятилетие. В результате первичного поиска было найдено 2287 публикаций: 915 из PubMed / Ovid MEDLINE, 798 из Science Direct, 463 из Google Scholar и 111 из eLIBRARY. Поискные запросы

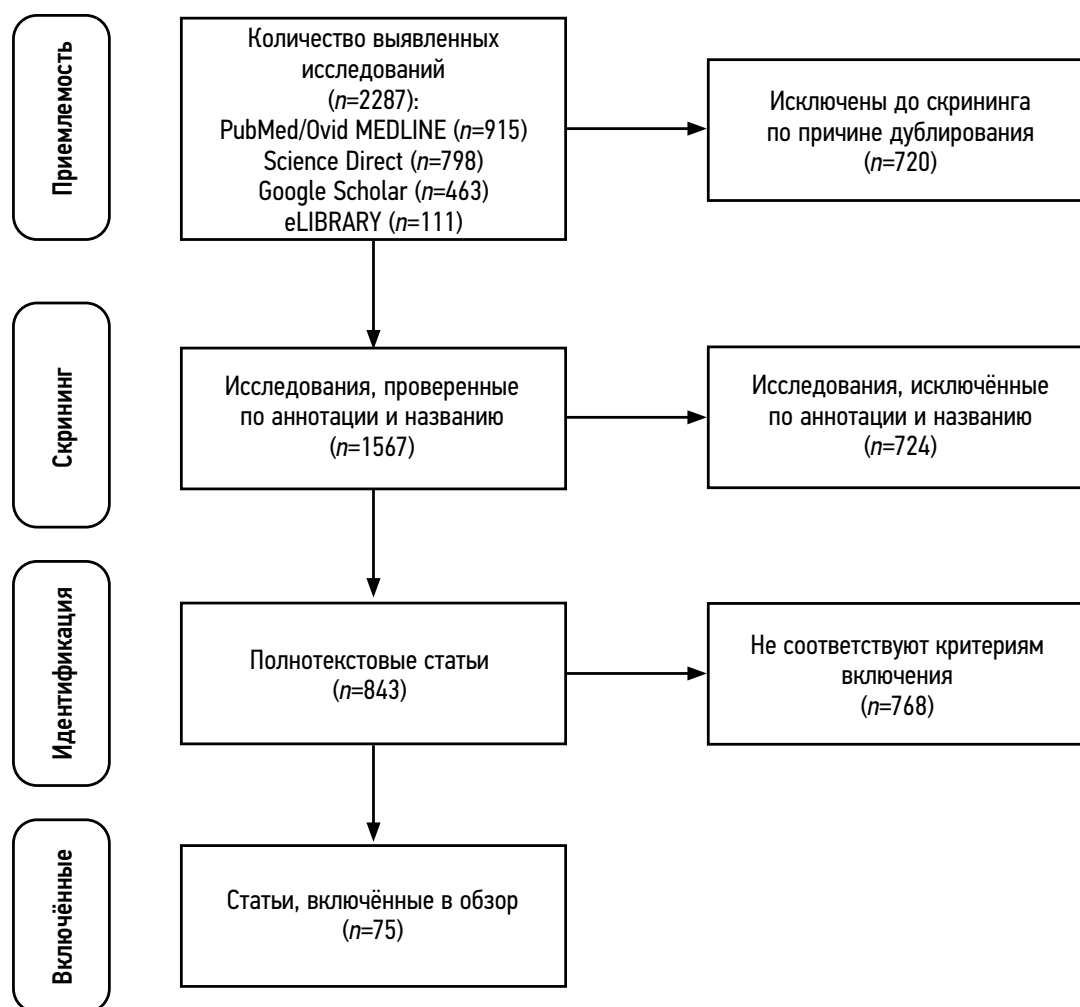


Рис. 1. Алгоритм поиска исследований.

Fig. 1. Study search algorithm.

включали следующие ключевые слова и их комбинации с использованием булевых операторов (AND/OR/NOT) для уточнения релевантности:

- на английском языке: «osteosarcoma», «liquid biopsy», «circulating tumor DNA», «ctDNA», «circulating tumor cells», «CTCs», «extracellular vesicles», «exosomes, microRNA», «diagnosis», «monitoring», «prognosis», «minimal residual disease», «MRD», «next-generation sequencing», «NGS», «digital PCR», «biomarker»;
- на русском языке: «остеосаркома», «жидкостная биопсия», «циркулирующая опухолевая ДНК», «цДНК», «циркулирующие опухолевые клетки», «ЦОК», «внеклеточные везикулы», «экзосомы», «микроРНК», «диагностика», «мониторинг», «прогноз», «минимальная остаточная болезнь», «МОБ», «секвенирование нового поколения», «NGS», «цифровая ПЦР», «биомаркёр».

Все авторы независимо друг от друга провели анализ заголовков и аннотаций найденных статей. При соответствии исследования критериям включения производились

извлечение и анализ его полного текста. После исключения дубликатов и анализа на соответствие критериям отбора в окончательную выборку для анализа было включено 75 публикаций.

#### Критерии включения:

- публикации, содержащие оригинальные данные или обобщающий анализ, касающиеся методологии, диагностической, прогностической значимости и клинического применения жидкостной биопсии с целью поиска биомаркёров (цДНК, ЦОК, внеклеточные везикулы) остеосаркомы;
- оригинальные исследования (проспективные и ретроспективные когортные, пилотные исследования, рандомизированные контролируемые), систематические обзоры и метаанализы;
- исследования, имеющие в открытом доступе полные тексты на английском и/или русском языке;
- работы, опубликованные в рецензируемых научных журналах.

*Критерии исключения:*

- дубликаты публикаций;
- работы, не имеющие доступа к полному тексту;
- описания клинических случаев, тезисы конференций, мнения экспертов без представления оригинальных данных, диссертации, патенты, а также публикации на других языках, отличных от русского и английского.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

### Основные субстраты жидкостной биопсии при остеосаркоме

#### Циркулирующая опухолевая ДНК

Циркулирующая опухолевая ДНК представляет собой фрагментированную ДНК, высвобождаемую в системный кровоток клетками первичной опухоли и метастатических очагов (табл. 1). Концентрация цоДНК в плазме крови имеет положительную корреляцию с объёмом опухолевой массы и стадией заболевания. По данным исследования J.S. Ruas и соавт., уровни циркулирующей свободной ДНК статистически значимо ассоциированы со стадией опухолевого процесса, наличием метастазов при первичной диагностике и развитием метастатического поражения в ходе терапии, что обосновывает её потенциал в качестве объективного биомаркера для оценки течения опухолевого процесса [12]. Генетически ОС характеризуется преобладанием сложных структурных хромосомных перестроек, включая амплификации, делеции и транслокации [13, 14]. Данные изменения зачастую являются следствием генетических мутаций, таких как хромоанагенез и хромотрипсис, которые кардинально изменяют геном и способствуют инактивации ключевых генов-супрессоров опухолевого роста, прежде всего *TP53* и *RB1* [14]. Несмотря на масштаб геномных нарушений, клеточные популяции в пределах одной опухоли имеют высокую степень

гомогенности по профилю соматических aberrаций числа копий (copy number variations, CNVs) при минимальной субклональной изменчивости. Это свидетельствует о том, что большая часть этих изменений приобретает на ранних, инициальных стадиях онкогенеза [13].

Указанная геномная стабильность в отношении ОС делает анализ характерных изменений CNVs перспективным направлением для ЖБ. При паростальной остеосаркоме специфическая амплификация онкогенов *MDM2* и *CDK4* не только является диагностическим маркером, но и имеет корреляцию уровня амплификации со степенью гистологической злокачественности и прогрессированием заболевания [15]. В контексте высокозлокачественных ОС детского возраста важную роль играет фокальная амплификация онкогена *MYC*, которая ассоциирована с агрессивным фенотипом опухоли и низкими показателями выживаемости [16, 17].

Современные методы молекулярной диагностики, такие как низкопроходное полногеномное секвенирование (low-pass whole genome sequencing, LP-WGS) и цифровая полимеразная цепная реакция (ПЦР), предоставляют техническую возможность для обнаружения и количественной оценки характерных хромосомных aberrаций в цоДНК [12, 17]. Согласно данным J.S. Ruas и соавт., специфичные соматические изменения, идентифицированные при анализе ткани первичной опухоли, могут быть верифицированы и количественно оценены в цоДНК. Более того, в ряде случаев изменения числа копий обнаруживаются исключительно в цоДНК и не выявляются при анализе первичного ЗНО, что показывает высокую аналитическую чувствительность метода и его способность демонстрировать совокупную опухолевую гетерогенность [12]. Исходя из вышесказанного, стратегическая ориентация на анализ характерных для ОС хромосомных aberrаций, в противовес поиску редких точечных мутаций, открывает новые перспективы для разработки неинвазивных методов диагностики и прогнозирования течения болезни вместе

**Таблица 1.** Основные биологические субстраты жидкостной биопсии при остеосаркоме и их клиническое значение

**Table 1.** The main biological substrates of liquid biopsy in osteosarcoma and their clinical significance

Субстрат	Ключевые характеристики	Методы детекции	Клиническое значение
цоДНК	Фрагментированная ДНК, высвобождаемая опухолевыми клетками; отражает геномные изменения ОС	ddPCR, NGS, LP-WGS, метилломный анализ	Оценка опухолевой нагрузки, прогноз, мониторинг ответа на терапию, выявление МИОБ
ЦОК	Опухолевые клетки в кровотоке; мезенхимальные клетки и фенотипы связаны преимущественно с метастазированием	CellSearch®, микрофльтрация, маркеры CSV, GD2/GD3	Прогностический маркер метастазирования, стратификация пациентов по группам риска, оценка эффективности лечения
Внеклеточные везикулы	Мембранные частицы, содержащие микроРНК, белки, мРНК; участвуют в межклеточной коммуникации	Ультрацентрифугирование, масс-спектрометрия, НТА	Диагностика, прогноз, изучение механизмов резистентности, потенциальные терапевтические мишени

*Примечание.* ЦоДНК — циркулирующая опухолевая ДНК, ddPCR — цифровая капельная полимеразная цепная реакция, NGS — секвенирование нового поколения, LP-WGS — низкопроходное полногеномное секвенирование, ЦОК — циркулирующие опухолевые клетки, CSV — поверхностная изоформа виментина, МИОБ — минимальная измеримая остаточная болезнь, НТА — анализ отслеживания наночастиц, ОС — остеосаркома.

с динамическим мониторингом ответа на терапию у пациентов с данным заболеванием.

### Циркулирующие опухолевые клетки

Циркулирующие опухолевые клетки представляют собой искомым маркер при проведении ЖБ при ОС, который инициирует процесс метастазирования первичной опухоли (табл. 2). Данные клетки, элиминируемые из первичного опухолевого очага и диссеминирующие по системному кровотоку, функционируют по типу «семян» метастатических очагов, что определяет их клинический потенциал в качестве биомаркеров [18, 19]. Данные исследований свидетельствуют о высокой частоте детекции ЦОК у пациентов с ОС, достигающей 86%. При этом количественные показатели ЦОК имеют статистически значимую корреляцию со стадией заболевания по классификации Эннекинга. Динамическое нарастание общей популяции ЦОК, в особенности клеток мезенхимального происхождения, связано с прогрессированием заболевания и развитием метастазов [20, 21].

Биологическая роль ЦОК не ограничивается функцией транспортёров генетического материала. Они обладают усиленными миграционными свойствами и резистентностью к стандартной химиотерапии. Эти данные подтверждаются результатами исследования M. Benje и соавт. на клеточных линиях, происходящих из ЦОК, которые показывают уникальные транскриптомные сигнатуры по сравнению с клетками первичной опухоли [19]. Важным клиническим аспектом является связь хирургического вмешательства с диссеминацией ЦОК. Оперативная резекция первичного ЗНО может индуцировать массивное высвобождение опухолевых клеток в системную

циркуляцию и способствовать формированию преметастатической ниши в тканях, что опосредовано активацией провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 $\beta$  [22]. Специфика выделения и идентификации ЦОК при ОС, как опухоли мезенхимального происхождения, заключается в ограниченной эффективности стандартных методов, ориентированных на детекцию эпителиальных маркеров, в частности EpCAM (CD326) [23, 24]. В связи с выраженной эпителиально-мезенхимальной пластичностью клеток ОС для их эффективного захвата и описания требуется применение панели маркеров с целью изучения их биологических свойств. Перспективными мишенями являются ганглиозиды GD2/GD3 и поверхностная изоформа виментина (CSV). Комбинация антител к данным маркерам позволяет достичь высокой эффективности захвата клеток ОС *in vitro* до 80%, что существенно превосходит показатели, получаемые с использованием анти-EpCAM антител [24]. По данным исследования L. Dao и соавт., клиническая значимость CSV-позитивных ЦОК подтверждается их независимой прогностической ценностью [25].

Современные платформы, такие как система CanPatrol™, предоставляют возможность проведения мультиплексного анализа и стратификации ЦОК на эпителиальные (E-тип), мезенхимальные (M-тип) и гибридные (H-тип) фенотипы. При этом M- и H-подтипы имеют наиболее тесную корреляцию с метастазированием и неблагоприятными исходами заболевания [20, 21]. Изучение биологии ЦОК раскрывает роль специфических субпопуляций, в особенности самовоспроизводящихся (stem-like) ЦОК, способных стимулировать опухолевый рост и метастазирование посредством аутокринной секреции IL-8, что открывает новые перспективы для разработки

**Таблица 2.** Современные методы анализа биологических субстратов жидкостной биопсии при остеосаркоме

**Table 2.** Modern methods of analyzing biological substrates of liquid biopsy in osteosarcoma

Метод	Применяемый субстрат	Принцип метода	Преимущества	Ограничения
ddPCR	цоДНК	Количественная детекция специфических мутаций с ультранизкой частотой аллелей	Высокая чувствительность, пригодность для мониторинга МИОБ	Ограниченное число мишеней, невозможность обнаружения новых вариантов
NGS	цоДНК	Масштабное параллельное секвенирование генома / экзома	Широкий охват, выявление новых биомаркеров, высокая глубина покрытия	Высокая стоимость, сложность анализа
Масс-цитометрия	ЦОК	Мультиплексный анализ белковых маркеров на уровне единичных клеток	Высокое разрешение, возможность изучения гетерогенности	Требует специализированного оборудования и реагентов
Протеомный анализ	ВВ	Масс-спектрометрическое определение белкового состава везикул	Выявление специфических сигнатур, ассоциированных с ОС	Сложность стандартизации, влияние преаналитического этапа
Микрофилтрация	ЦОК	Сепарация клеток по размеру с использованием пористых мембран	Независимость от маркеров, подходит для изучения мезенхимальных клеток	Риск потери клеток, низкая специфичность

*Примечание.* ddPCR — цифровая капельная полимеразная цепная реакция, NGS — секвенирование нового поколения, цоДНК — циркулирующая опухолевая ДНК, ЦОК — циркулирующие опухолевые клетки, ВВ — внеклеточные везикулы, МИОБ — минимальная измеримая остаточная болезнь, ОС — остеосаркома.

таргетных терапевтических стратегий [26]. ЦОК в силу их роли в процессе метастатической диссеминации представляют собой мощный инструмент для неинвазивного мониторинга течения заболевания, стратификации риска и прогнозирования рецидивов и разработки персонализированных стратегий терапии ОС.

### **Внеклеточные везикулы (экзосомы, микровезикулы)**

Внеклеточные везикулы (ВВ), представителями которых являются экзосомы и микровезикулы, являются гетерогенной популяцией мембранных структур, секретиремых опухолевыми клетками (см. табл. 1). При ОС данные частицы играют роль в процессах межклеточной коммуникации, активно модулируя процессы онкогенеза, такие как метастатическая диссеминация, ангиогенез и формирование резистентности к терапии [27–29]. Выступая в качестве переносчиков онкогенных молекул (миРНК, мРНК, белков) из опухолевых клеток в клетки-мишени как в локальном микроокружении, так и за их пределами, ВВ вносят существенный вклад в образование преметастатической ниши [28, 30, 31]. Одним из клинически значимых механизмов, опосредованных ВВ, является горизонтальная передача лекарственной устойчивости. Протеомный анализ экзосом, выделенных из карбоплатин-резистентных клеточных линий ОС в исследовании М.А. Weinman и соавт. выявил уникальные белковые сигнатуры. При этом данные экзосомы были способны индуцировать фенотип резистентности в чувствительных клетках, что подтверждает их роль в ограничении эффективности химиотерапевтически [27].

Анализ опухоль-ассоциированных миРНК, инкапсулированных в везикулы, открывает новые диагностические и прогностические перспективы. В качестве примера можно привести экзосомальную miR-199a-5p, уровень которой в везикулярной фракции превышает её внутриклеточную концентрацию. Данная миРНК активно транспортируется из клеток ОС в эндотелиальные клетки и подавляет ангиогенез посредством прямого нацеливания на фактор роста эндотелия сосудов А (VEGFA), что указывает на её роль в модуляции васкуляризации опухоли [30]. В противоположность этому miR-19a-3p, доставляемая малыми ВВ, стимулирует остеокластогенез и костную резорбцию через ингибирование сигнального пути PTEN/PI3K/AKT, тем самым запуская процессы остеолизиса при прогрессировании ОС [31]. Такие параметры опухолевого микроокружения, как ацидоз, могут менять молекулярный карго везикул, усиливая их проангиогенную активность, что демонстрирует динамическую адаптацию их функций в ответ на внешние условия [29].

Потенциал везикул в качестве источника биомаркеров подтверждается данными исследования J.V. Brady и соавт., в котором протеомный состав сывороточных экзосом позволил с высокой точностью дифференцировать пациентов с ОС от здоровых лиц, а также определить стадию заболевания. Ключевые изменения были

связаны с белками системы комплемента, что предполагает вовлечённость данного механизма в уклонение опухоли от компонентов иммунной системы [32]. Отдельные белки, такие как SENP1, идентифицированный в плазменных экзосомах, имеют тесную корреляцию с агрессивными клинико-патологическими параметрами (размер опухоли, наличие метастазов) и являются независимыми прогностическими факторами уровня выживаемости [33]. В исследовании Z. Chen и соавт. анализ различных типов РНК в везикулах, включая циркулярные РНК, миРНК и мРНК, в контексте иммунной инфильтрации опухоли позволил идентифицировать несколько диагностических панелей — комбинации hsa-circ-0010220, hsa-miR-326, hsa-miR-338-3p и FAM98A, которые обладают высокой дифференциальной способностью [34]. Анализ протеома везикул и различных классов РНК углубляет понимание сложных механизмов прогрессирования ОС и открывает новые возможности для разработки высокоспецифичных биомаркеров. Перспективным направлением является разработка терапевтических стратегий, использующих сами везикулы в качестве систем доставки, что подтверждается данными исследования K. Zhang и соавт. с экзосомами, обогащёнными опухоль-супрессорной miR-101 [35].

### **Современные методы анализа биоматериала при проведении жидкостной биопсии**

#### **Методы детекции и анализа циркулирующей опухолевой ДНК**

Современный арсенал методов для цоДНК при ОС и других саркомах включает широкий спектр технологий, различающихся по аналитической чувствительности, пропускной способности и клинико-диагностическим задачам, — от таргетного детектирования известных генетических вариантов до комплексного геномного профилирования. Для таргетного анализа точечных мутаций или характерных для сарком хромосомных транслокаций высокую эффективность имеют методы полимеразной цепной реакции, такие как ПЦР в реальном времени (qPCR) и цифровая капельная ПЦР (ddPCR). DdPCR имеет высокую чувствительность, необходимую для мониторинга МИОБ [36, 37]. Пилотное исследование M.G. Seidel и соавт. подтверждает, что метод ddPCR способен детектировать мутантные аллели в циркулирующей ДНК с частотой менее 1%, что позволяет идентифицировать специфичные изменения даже в условиях низкой активности опухоли [36]. Данный подход успешно применяется для продольного мониторинга активности МИОБ, например при саркоме Юинга, где с помощью ddPCR отслеживаются специфичные точки разрыва в химерном гене *EWSR1-FLI1*, коррелирующие с клиническим исходом заболевания [37].

Ограничением применения метода ddPCR является возможность одновременного анализа лишь определённого числа заранее известных генетических вариантов, что затрудняет его использование для объективной

характеристики геномных изменений при ОС [38]. Для решения данной задачи используется NGS, позволяющее проводить масштабный параллельный анализ. Таргетное NGS с использованием специализированных панелей генов, наиболее часто обнаруживаемых при ОС (таких как *TP53*, *RB1*, *ATRX*, *MYC*), обеспечивает большую глубину покрытия и детекцию мутаций даже в образцах с низкой фракцией цоДНК [39, 40]. Для повышения точности и минимизации ложноположительных результатов при работе с низкочастотными аллельными вариантами в NGS применяются уникальные молекулярные идентификаторы и специализированные биоинформатические пайплайны с жёсткими фильтрами [39]. Более широкий охват обеспечивает полноэкзомное (WES) и полногеномное (WGS) секвенирование, которое используется для идентификации новых биомаркёров и построения комплексной геномной характеристик опухоли. Данные методы позволяют идентифицировать специфичные мутации, которые впоследствии могут служить основой разработки индивидуализированных тестов для мониторинга течения заболевания с использованием ddPCR [38].

Отдельным перспективным направлением является анализ метиломного профиля цоДНК. По данным исследования X. Zhang и соавт., паттерны метилирования циркулирующей ДНК имеют статистически значимую прогностическую ценность. Гены, включающие всего четыре локуса метилирования, показывают высокую прогностическую ценность в отношении стратификации пациентов с ОС по группам риска, что подтверждается значением площади под ROC-кривой (AUC) до 0,920 [41]. Комбинация различных методов, например использование NGS для первичного скрининга мутаций с последующим высокочастотным мониторингом с помощью ddPCR, создаёт набор инструментов для динамического наблюдения за течением заболевания. Клинические данные, полученные A.L. McCleary-Wheeler и соавт., свидетельствуют о том, что рецидив, выявленный с помощью ЖБ, может опережать клиничко-рентгенологические проявления на несколько месяцев (медиана опережения в одном из исследований составила 168 дней), открывая терапевтическое окно для раннего начала химиотерапии [42]. Исходя из проведённого анализа, современный арсенал методов анализа цоДНК, от высокочувствительной таргетной ddPCR до комплексного NGS и эпигеномного профилирования, предоставляет возможности для совершенствования диагностики, прогнозирования и мониторинга течения ОС [43].

#### **Методы выделения и характеристики циркулирующих опухолевых клеток**

Выделение и последующая характеристика ЦОК при ОС имеет свои методологические трудности, связанные с их мезенхимальным происхождением и выраженной фенотипической гетерогенностью клеточных популяций. В современной практике используются две

основные стратегии: технологии, основанные на иммуномагнитной сепарации с использованием специфических поверхностных маркёров, и методы, основанные на различиях физических свойств клеток, таких как размер, плотность или деформируемость. Одной из наиболее стандартизированных технологических систем является CellSearch®, в которой применяются иммуномагнитные микрочастицы, нагруженные антителами к EpCAM, для селективного обогащения фракции ЦОК [44]. Однако ввиду частой потери эпителиальных маркёров клетками ОС в процессе эпителиально-мезенхимального перехода эффективность данного метода ограничена, что актуализирует поиск альтернативных мишеней. В качестве перспективных маркёров для детекции клеток саркомы рассматриваются поверхностный виментин (CSV), а также другие мезенхимальные антигены, использование которых позволяет преодолеть ограничения EpCAM-зависимых методов [45]. Параллельно активно развиваются методы, не зависящие от иммунофенотипических характеристик и основанные на физических свойствах клеток. К их числу относится микрофильтрация через мембраны с порами, позволяющая селективно улавливать более крупные и плотные циркулирующие опухолевые клетки на фоне меньших по размеру гемопоэтических элементов.

Клиническая значимость ЦОК подтверждается результатами исследования T.F. Wright и соавт., которые показывают тесную связь их наличия и количественной динамики с процессом метастатической диссеминации и исходами заболевания. На животной модели, в которой использовались собаки со спонтанной ОС, предметатический пик количества ЦОК, детектируемый с помощью прямых методов подсчёта, в среднем на 36,5 дня предшествовал рентгенологическому подтверждению метастазов и был ассоциирован с десятикратным увеличением риска летального исхода [46]. Для последующей молекулярной характеристики обогащённой фракции ЦОК применяются высокочувствительные аналитические методы, такие как количественная ПЦР с обратной транскрипцией, позволяющая обнаружить экспрессию специфических генов-кандидатов, ассоциированных с ОС, включая виментин, эзрин, *COL1A2* и *PLS3*. Диагностическая модель, основанная на профиле экспрессии данных генов, продемонстрировала свою дифференцирующую способность со значением площади под ROC-кривой (AUC) = 0,9896 [47].

Для углублённого фенотипирования на уровне единичных клеток используются мультиплексные технологии, такие как визуализационная масс-цитометрия (Imaging Mass Cytometry, IMC). Данный метод комбинирует аналитическую мощь масс-цитометрии с микроскопией, позволяя одновременно анализировать экспрессию десятков белковых маркёров и выявлять тонкие аспекты внутриопухолевой гетерогенности даже в редких популяциях ЦОК, выделенных от пациентов методом ЖБ [48].

Современный методологический арсенал для выделения и характеристики ЦОК, включающий как стандартизированные платформы, так и инновационные микрофлюидные системы и технологии мультиплексного фенотипирования, предоставляет арсенал инструментов для неинвазивного мониторинга заболевания, стратификации риска метастазирования и получения уникальной биологической информации, недоступной при изолированном анализе цоДНК.

#### **Методы выделения и анализа внеклеточных везикул**

Современные методы выделения и изучения ВВ при ОС предполагают комплексную стратегию, направленную на получение высокоочищенных везикулярных препаратов с последующей детальной характеристикой их молекулярного состава. Золотым стандартом выделения ВВ является дифференциальное ультрацентрифугирование, которое позволяет осаждать везикулы, используя их физико-химические характеристики. Однако в последнее время всё чаще используются альтернативные методики, отличающиеся повышенной селективностью, такие как гель-хроматография, обеспечивающая выделение неповреждённых везикул, и иммуноаффинные методы, использующие антитела к тетраспанинам (CD9, CD63, CD81) для специфического захвата экзосомальных популяций [49, 50]. Для верификации и морфологической характеристики ВВ применяется комплекс методов, включающий просвечивающую электронную микроскопию и анализ отслеживания наночастиц, которые позволяют изучить ультраструктуру везикул и их размер [50, 51].

Особый интерес представляет анализ нуклеиновых кислот, содержащихся в везикулах. Профилирование мРНК в экзосомах периферической крови пациентов с ОС в исследовании J.L.K. Ong и соавт. выявило экспрессию специфических транскриптов, таких как ген белка внеклеточного матрикса *THBS1* и маркёры В-клеток *MS4A1* и *TCL1A*. Данные молекулы не только позволяют эффективно дифференцировать ОС, но и потенциально отражают особенности противоопухолевого иммунного ответа и общую опухолевую нагрузку [50]. Отдельное внимание уделяется микроРНК, которые активно формируют везикулы и опосредуют пути опухолевой прогрессии. В частности, *miR-449a*, уровень которой снижен при ОС, подавляет пролиферацию опухолевых клеток, ингибируя циклин *B1* (*CCNB1*), что может использоваться как потенциальная терапевтическая мишень [52]. Белковый состав везикул анализируется с помощью масс-спектрометрии и вестерн-блоттинга, что позволяет идентифицировать не только универсальные маркёры, такие как тетраспанины, но и специфические белки, такие как *Serp1n b2*, ассоциированный с провоспалительной перестройкой опухолевого микроокружения [50, 53]. Инновационные диагностические платформы, такие как поверхностно-усиленная рамановская спектроскопия и масс-спектрометрия MALDI-TOF, позволяют создавать уникальные спектральные отпечатки экзосом, которые

с высокой точностью дифференцируют пациентов с ОС, причём комбинация данных методов превосходит по диагностической эффективности каждый из них по отдельности [49].

Функциональная характеристика везикул раскрывает их роль в формировании преметастатической ниши: ВВ из высокометастатических клеток ОС взаимодействуют с макрофагами через поверхностный белок *CD47*, способствуя их поляризации в проопухолевый М2-фенотип [54], а также индуцируют образование опухоли-ассоциированных фибробластов в лёгочной ткани, организуя микросреду для последующего метастазирования [55]. При этом везикулы, полученные из разных линий ОС, имеют разные биологические функции, как в случае с ВВ линии *MNNG/HOS*, которые проявляют выраженные антиостеобластные и проангиогенные свойства, в отличие от везикул линии *U2OS* [53].

Перспективным направлением является применение везикул в качестве транспортёров для таргетного воздействия на опухоль. Экзосомы мезенхимальных стволовых клеток, нагруженные доксорубицином, показывают высокую эффективность, так как активно поглощаются опухолевыми клетками, а также имеют низкую кардиотоксичность [50], а экзосомы, несущие опухоль-супрессорную микроРНК *miR-150*, способны ингибировать пролиферацию, миграцию и инвазию клеток ОС путём ингибирования *IGF2BP1* (Фрагмент 6). Исходя из вышесказанного, комплексный анализ ВВ, от их изоляции до многоуровневой характеристики молекулярного груза, предоставляет углублённые данные о патогенезе ОС и её метастазировании, а также открывает новые возможности для неинвазивной диагностики и разработки таргетной терапии.

### **Клиническое применение жидкостной биопсии при остеосаркоме**

#### **Ранняя диагностика, скрининг, прогнозирование и стратификация риска**

Метод ЖБ при ОС охватывает два основных клинических направления: раннюю диагностику и прогностическую стратификацию пациентов по группам риска. Данный метод демонстрирует большой потенциал для использования, несмотря на существующие методологические ограничения. В контексте ранней диагностики и скрининга методы ЖБ, основанные на анализе цоДНК и экзосомальных биомаркёров, перспективны низкой инвазивностью [57]. Многоцентровое исследование *CANDiD*, проведённое A. Flory и соавт. на модели со спонтанной ОС, продемонстрировало, что ЖБ на платформе NGS способна детектировать элементы опухоли с общей чувствительностью 54,7% и специфичностью 98,5%. При этом для агрессивных патологий, в том числе и ОС, частота детекции составила 85,4%. Данный тест идентифицировал опухоль при бессимптомном течении ОС у животных до манифестации заболевания, что подтверждает возможность

использования аналогичных платформ для доклинического скрининга у людей, особенно в группах высокого риска, таких как пациенты с отягощённой наследственностью, предрасполагающей к развитию ОС [58]. Данные современных исследований относительно диагностической ценности экзосомальных биомаркёров при саркомах остаются противоречивыми и требуют дальнейшего изучения с крупными проспективными когортами. Подобные данные были получены в британском исследовании ICONIC, которое целенаправленно аккумулирует клинические данные и биологические образцы для комплексного анализа течения заболевания [57, 59].

Не менее значимым клиническим аспектом является прогнозирование и стратификация риска, где данные об исходно присутствующих циркулирующих биомаркёрах опухоли в биоматериале имеют тесную корреляцию с агрессивностью опухоли. Исследования при других онкологических нозологиях с костным метастазированием, в частности при метастатическом раке молочной железы, показывают, что фракция опухолевой ДНК (TF) в цоДНК является независимым прогностическим фактором: пациенты с TF <1% имели статистически значимо лучшие показатели общей выживаемости по сравнению с группами промежуточной и высокой TF, причём данный показатель сохранял прогностическую значимость даже при изолированном костном метастазировании [60]. Указанный паттерн аналогичен и для ОС, при которой количественные параметры цоДНК, ЦОК и их молекулярные характеристики могут объективно отражать объём опухолевой нагрузки и метастатический процесс.

Перспективным направлением является интеграция данных ЖБ с характеристиками микроокружения опухоли, в особенности с параметрами инфильтрации CD4+ и CD8+ лимфоцитами, что позволяет осуществлять более точную стратификацию пациентов по группам риска и может служить ориентиром для разработки адъювантных иммунотерапевтических стратегий [61]. Дополнительный прогностический потенциал могут нести циркулирующие длинные некодирующие РНК, паттерны экспрессии которых ассоциированы с ОС и в перспективе могут дополнять существующие прогностические модели [62]. Несмотря на то, что ЖБ уже в настоящее время предлагает клинически значимые инструменты для неинвазивной оценки прогноза, её полноценная интеграция в рутинную практику с целью ранней диагностики ОС требует преодоления существующих методологических сложностей и накопления доказательной базы в рамках крупномасштабных проспективных исследований.

### **Мониторинг ответа на адъювантную и неоадъювантную терапию, оценка риска рецидива**

Клиническая значимость ЖБ при ОС охватывает важные аспекты мониторинга эффективности терапии и прогнозирования исхода заболевания. Касательно оценки ответа на неоадъювантную и адъювантную терапию

динамическое количественное определение цоДНК имеет большой потенциал в качестве наиболее раннего детектируемого маркёра эффективности лечения. Современные исследования свидетельствуют, что изменения уровня цоДНК, обнаруживаемые с помощью полногеномного секвенирования с ультранизким покрытием или целевых NGS-панелей, статистически значимо коррелируют с уровнем ответа на терапию у пациентов с солидными опухолями, включая саркомы различного геноза [63, 64]. При ОС, где гистологическое исследование по Салзеру–Коттмейеру является золотым стандартом, ЖБ даёт возможность осуществлять мониторинг эффективности лечения в режиме реального времени без необходимости проведения инвазивной биопсии. Особой клинической ценностью метода является способность определять клоны устойчивости, что было продемонстрировано в исследовании M.J. Williams и соавт., где клоносцифические структурные вариации, отслеживаемые в цоДНК, выявили поликлональную природу лекарственной резистентности и рост высокоадаптивных клонов с амплификациями онкогенов, таких как *CCNE1* и *ERBB2* [65]. Данный подход при адаптации для ОС может раскрыть ключевые пути метастатической прогрессии, где мутации в гене *ATRX*, возникающие на ранних стадиях онкогенеза, способны существенно изменять клональную динамику и инициировать процесс опухолевой диссеминации [66].

В области выявления МИОБ и рецидивов ЖБ имеет значительное преимущество перед традиционными методами визуализации. Современные диагностические платформы на основе ddPCR и NGS позволяют детектировать опухоль-специфичные маркёры, включая структурные варианты, характерные транслокации или эпигенетические изменения (в частности, гиперметилирование промотора гена *RASSF1A*) с аналитической чувствительностью, достаточной для прогнозирования рецидива за несколько месяцев до его клинической или радиологической манифестации [54, 67, 68]. Эти данные подтверждаются результатами исследования L.M. van Zogchel и соавт., в котором у пациентов с нейробластомой уровень гиперметилированного *RASSF1A* в цоДНК статистически значимо снижался на фоне проводимой терапии и значимо повышался при развитии рецидива, обеспечивая окно для мониторинга активности заболевания [68].

В контексте идентификации мишенеподходящих молекулярных изменений (liquid biopsy for guided therapy) ЖБ позволяет преодолевать ограничения, обусловленные тканевой гетерогенностью первичной опухоли, предоставляя возможность для неинвазивного скрининга редких мутаций и хромосомных aberrаций, для которых могут иметься таргетные терапевтические подходы. Диагностические платформы, аналогичные описанной в исследовании A.F. Mavrogenis и соавт., комбинирующие полногеномное секвенирование низкого покрытия для выявления изменений числа копий и гибридационно-захватные панели для детекции патогномичных транслокаций (например,

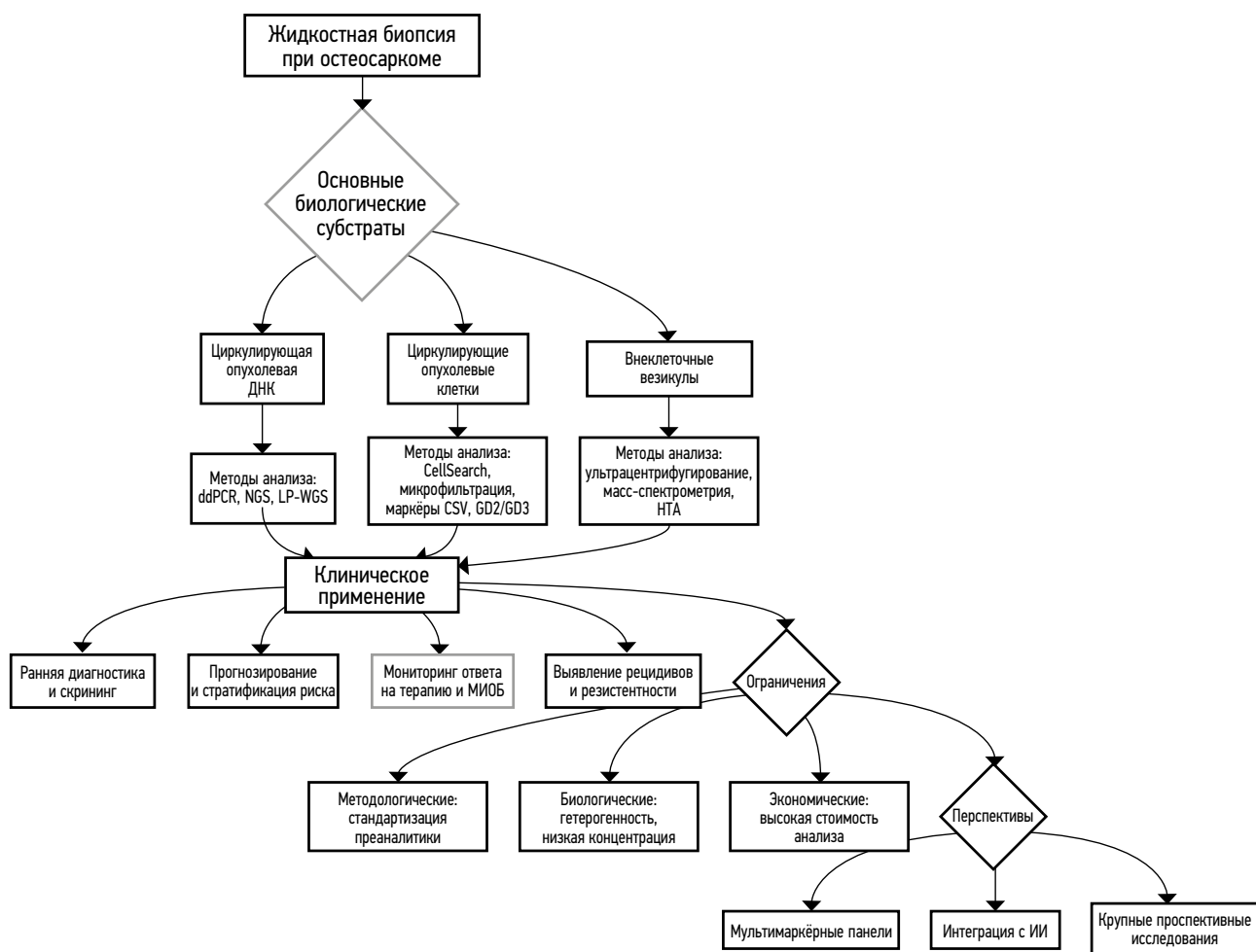
EWSR1 при саркоме Юинга), имеют высокую клиническую эффективность для комплексного молекулярного профилирования. Способность отслеживать клональные изменения в режиме реального времени, как показано в исследовании M.J. Williams и соавт., открывает возможности для разработки адаптивных терапевтических подходов в момент, когда лечение может быть своевременно скорректировано в ответ на появление доминирующих резистентных клонов, идентифицированных в цоДНК.

### Ограничения и перспективы внедрения жидкостной биопсии в рутинную практику

Интеграция метода ЖБ в клинические алгоритмы ведения пациентов с ОС сопряжена с комплексом методологических, биологических и экономических ограничений (рис. 2). Техническим барьером на данный момент является низкая концентрация опухолевых биомаркёров (цоДНК, ЦОК) в системном кровотоке на ранних стадиях заболевания, что детерминирует необходимость разработки аналитических платформ с высокой чувствительностью и специфичностью [69].

Проблемой является отсутствие унифицированных стандартов преаналитического этапа. Согласно данным современных исследований, такие параметры, как тип пробирок для забора крови (где пробирки с ЭДТА демонстрируют преимущество перед гепаринизированными), временной интервал между венепункцией и анализом образца (не превышающий 4 часов при комнатной температуре) и условия временного хранения, оказывают влияние на качество и количественный анализ циркулирующей опухолевой ДНК для последующего геномного исследования [70, 71]. Отсутствие стандартизированных протоколов для стабилизации других маркёров, таких как ЦОК и ВВ, дополнительно лимитирует воспроизводимость результатов [71].

К биологическим ограничениям относятся феномены внутриопухолевой гетерогенности и клональные изменения, которые могут обуславливать неполную репрезентативность общего геномного состава опухоли при единичном анализе ЖБ, а также потенциальное влияние локализации метастатических очагов на уровень детектируемых биомаркёров [69]. С экономической точки зрения стоимость анализа имеет диапазон от 168 до 7638 евро за образец,



**Рис. 2.** Применение жидкостной биопсии в диагностике и мониторинге остеосаркомы. НТА — анализ отслеживания наночастиц, МИОБ — минимальная измеримая остаточная болезнь, ИИ — искусственный интеллект.

**Fig. 2.** Application of liquid biopsy in the diagnosis and monitoring of osteosarcoma. NTA, nanoparticle tracking analysis, MIB, minimal measurable residual disease, and AI, artificial intelligence.

в зависимости от используемой технологической платформы (ПЦР, масс-спектрометрия или NGS), объёма геномного тестирования и специфических условий конкретной лаборатории [72]. Оценка экономической эффективности внедрения ЖБ имеет неоднозначные результаты: в то время как при немелкоклеточном раке лёгкого стратегия первичного применения ЖБ демонстрирует приемлемое соотношение «затраты — эффективность» с инкрементальным коэффициентом 53 909 евро / QALY и потенциально может сокращать охват населения скринингом [73, 74], при HER2-положительном раке молочной железы в условиях системы здравоохранения такое тестирование может быть более затратным и менее эффективным по сравнению со стандартным диагностическим подходом [75].

Перспективным направлением развития является создание интегрированных мультимаркерных панелей, комбинирующих одновременный анализ цоДНК, ЦОК и профилей микроРНК, что позволит нивелировать аналитические ограничения, присущие каждому биомаркеру в отдельности [70, 71]. Интеграция алгоритмов ИИ для анализа сложных мультиомиксных данных NGS может существенно повысить точность идентификации клинически значимых паттернов и обеспечить более точное прогнозирование. Для окончательной валидации клинической эффективности ЖБ при ОС необходима реализация крупномасштабных многоцентровых проспективных исследований, которые должны установить стандартизированные преаналитические протоколы, определить диагностические и прогностические пороговые значения биомаркеров и доказать положительное влияние на показатели общей выживаемости пациентов. Решение этих задач открывает путь для интеграции этого перспективного подхода в рутинную клиническую практику [69].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый анализ литературы продемонстрировал, что ЖБ представляет собой перспективный минимально инвазивный метод диагностики ОС, с помощью которого можно преодолеть ограничения традиционных методов диагностики и мониторинга. Исследования подтверждают клиническую значимость основных биологических субстратов — цоДНК, ЦОК и ВВ. ЦоДНК, несущая характерные для ОС хромосомные aberrации, позволяет оценивать опухолевую нагрузку, а её динамическое и количественное определение является ранним маркером ответа на проводимую терапию и средством выявления МНОБ. ЦОК, особенно мезенхимального происхождения, выступают в роли прогностических маркеров процесса метастазирования, в то время как ВВ предоставляют уникальную информацию о межклеточной коммуникации и механизмах резистентности опухоли. Современные аналитические платформы, в том числе с применением технологий искусственного интеллекта, такие как ddPCR и NGS, представляют собой высокочувствительные инструменты, с помощью которых можно детектировать описанные в обзоре маркеры в системном кровотоке. Несмотря

на существующие технические, биологические и экономические ограничения, дальнейшая стандартизация методов ЖБ, разработка маркерных панелей и проведение масштабных проспективных когортных исследований открывают возможность для интеграции ЖБ в рутинную клиническую практику для персонализированного управления течением ОС.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Вклад авторов.** Ихсанова А.Ф. — администрирование проекта, определение концепции, работа с данными; Искандарова Д.Т., Сайфутдинова А.Р. — разработка методологии, анализ данных; Акбердина Д.А., Маркелова К.А., Исаев А.А. — работа с данными, анализ данных; Пардаев А.А., Салихова Д.Д. — работа с данными, анализ данных; Ибатуллина К.В., Шаймарданова Д.М. — работа с данными, анализ данных; Саркиева А.А., Нурутдинова Л.П. — пересмотр и редактирование рукописи. Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты работы, гарантируя надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой её части.

**Этическая экспертиза.** Не применима.

**Источники финансирования.** Отсутствуют.

**Раскрытие интересов.** Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

**Оригинальность.** При создании настоящей работы авторы не использовали ранее опубликованные сведения (текст, иллюстрации, данные).

**Доступ к данным.** Редакционная политика в отношении совместного использования данных к настоящей работе не применима.

**Генеративный искусственный интеллект.** При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовались.

**Рассмотрение и рецензирование.** Настоящая работа подана в журнал в инициативном порядке и рассмотрена по обычной процедуре. В рецензировании участвовали два внешних рецензента, член редакционной коллегии и научный редактор издания.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Author contributions:** A.F. Ikhsanova: project administration, conceptualization, data curation; D.T. Iskandarova, A.R. Saifutdinova: methodology, formal analysis; D.A. Akberdina, K.A. Markelova, A.A. Isaev: data curation, formal analysis; A.A. Pardav, D.D. Salikhova: data curation, formal analysis; K.V. Ibatullina, D.M. Shaimardanova: data curation, formal analysis; A.A. Sarkieva, L.P. Nurutdinova: writing—review & editing. All the authors approved the version of the manuscript to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

**Ethics approval:** Not applicable.

**Funding sources:** None.

**Disclosure of interests:** The authors declare no relationships, activities, or interests over the past three years with third parties (commercial or non-commercial) that could be affected by the content of the article.

**Statement of originality:** In conducting and creating of this work, the authors did not use previously published information (text, illustrations, data).

**Data availability statement:** The editorial policy regarding data sharing is not applicable to this work.

**Generative AI:** Generative artificial intelligence technologies were not used in the creation of this article.

**Provenance and peer review:** This paper was submitted unsolicited and reviewed following the standard procedure. The peer review process involved two external reviewers, a member of the editorial board, and the in-house scientific editor.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Sotnikova EA, Kiseleva ON, Kizilov AV. A clinical case of osteogenic sarcoma detection in outpatient diagnostic settings. *Visualization in Medicine*. 2022;4(2):35–39. EDN: VBPCXU
2. Sasaki R, Osaki M, Okada F. MicroRNA-Based Diagnosis and Treatment of Metastatic Human Osteosarcoma. *Cancers*. 2019;11(4):553. doi: 10.3390/cancers11040553
3. Rajan S, Franz EM, McAloney CA, et al. Osteosarcoma tumors maintain intra-tumoral transcriptional heterogeneity during bone and lung colonization. *BMC Biol*. 2023;21(1):98. doi: 10.1186/s12915-023-01593-3
4. Erdoğan F, Çinka H, Akman BÇ, et al. Analysis of prognostic factors and histopathological response to neoadjuvant chemotherapy in osteosarcoma. *Joint Dis Rel Surg*. 2023;34(1):196–206. doi: 10.52312/jdrs.2023.902
5. Pasechnikova EA, Bodnya VN, Kadamtsev DV, et al. Liquid biopsy: current state of the problem. *Innovative Medicine of Kuban*. 2021;(3):57–63. doi: 10.35401/2500-0268-2021-23-3-57-63 EDN: RAALQA
6. Donaldson J, Park BH. Circulating tumor DNA: measurement and clinical utility. *Annu Rev Med*. 2018;69:223–234. doi: 10.1146/annurev-med-041316-085721
7. Barris DM, Weiner SB, Dubin RA, et al. Detection of circulating tumor DNA in patients with osteosarcoma. *Oncotarget*. 2018;9(16):12695–12704. doi: 10.18632/oncotarget.24268
8. Audinot B, Drubay D, Gaspar N, et al. ctDNA quantification improves estimation of outcomes in patients with high-grade osteosarcoma: a translational study from the OS2006 trial. *Ann Oncol*. 2024;35(6):559–568. doi: 10.1016/j.annonc.2023.12.006
9. Vodolazhsky DI, Nekhaeva TL, Baldueva IA. Circulating tumor cells in oncology. *Siberian Journal of Oncology*. 2022;21(3):117–125. doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-117-125 EDN: DKCIMR
10. Yang Q, Liu J, Wu B, et al. Role of extracellular vesicles in osteosarcoma. *Int J Med Sci*. 2022;19(8):1216–1226. doi: 10.7150/ijms.74137
11. Sarhadi VK, Daddali R, Seppänen-Kajjansinkko R. Mesenchymal Stem Cells and Extracellular Vesicles in Osteosarcoma Pathogenesis and Therapy. *Int J Mol Sci*. 2021;22(20):11035. doi: 10.3390/ijms222011035
12. Ruas JS, Silva FLT, Euzébio MF, et al. Somatic Copy Number Alteration in Circulating Tumor DNA for Monitoring of Pediatric Patients with Cancer. *Biomedicines*. 2023;11(4):1082. doi: 10.3390/biomedicines11041082
13. Rajan S, Zaccaria S, Cannon MV, et al. Remarkably stable copy-number profiles in osteosarcoma revealed using single-cell DNA sequencing. *bioRxiv*. 2021. doi: 10.1101/2021.08.30.458268
14. Li G, Wu N, Ghabrial J, et al. Chromoanagenesis in Osteosarcoma. *Biomolecules*. 2025;15(6):833. doi: 10.3390/biom15060833
15. Chen PC, Yen CC, Hung GY, et al. Gene amplification and tumor grading in parosteal osteosarcoma. *J Chin Med Assoc*. 2019;82(12):889–894. doi: 10.1097/JCMA.0000000000000211
16. De Noon S, Ijaz J, Coorens TH, et al. MYC amplifications are common events in childhood osteosarcoma. *J Pathol Clin Res*. 2021;7(5):425–431. doi: 10.1002/cjp.2219
17. Chen D, Zhao Z, Huang Z, et al. Super enhancer inhibitors suppress MYC driven transcriptional amplification and tumor progression in osteosarcoma. *Bone Res*. 2018;6:11. doi: 10.1038/s41413-018-0009-8
18. Chalopin A, Tellez-Gabriel M, Brown HK, et al. Isolation of circulating tumor cells in a preclinical model of osteosarcoma: effect of chemotherapy. *J Bone Oncol*. 2018;12:83–90. doi: 10.1016/j.jbo.2018.07.002
19. Benje M, Vitacchio T, Fritsche D, et al. Gene Expression Profiling and Phenotypic Characterization of Circulating Tumor Cells Derived from a Murine Osteosarcoma Model. *Cancers*. 2025;17(7):1210. doi: 10.3390/cancers17071210
20. Dai S, Shao X, Wei Q, et al. Association of circulating tumor cells and IMP3 expression with metastasis of osteosarcoma. *Front Oncol*. 2023;13:819357. doi: 10.3389/fonc.2023.819357
21. Wu ZJ, Tan J C, Qin X, et al. Significance of circulating tumor cells in osteosarcoma patients treated by neoadjuvant chemotherapy and surgery. *Cancer Manag Res*. 2018;10:3333–3339. doi: 10.2147/CMAR.S176515
22. Tang F, Tie Y, Lan T X, et al. Surgical Treatment of Osteosarcoma Induced Distant Pre-Metastatic Niche in Lung to Facilitate the Colonization of Circulating Tumor Cells. *Adv Sci*. 2023;10(28):2207518. doi: 10.1002/adv.202207518
23. Agnoletto C, Caruso C, Garofalo C. Heterogeneous Circulating Tumor Cells in Sarcoma: Implication for Clinical Practice. *Cancers*. 2021;13(9):2189. doi: 10.3390/cancers13092189
24. Fasanya HO, Dopico PJ, Yeager Z, et al. Using a combination of gangliosides and cell surface vimentin as surface biomarkers for isolating osteosarcoma cells in microfluidic devices. *J Bone Oncol*. 2021;28:100357. doi: 10.1016/j.jbo.2021.100357
25. Dao L, Ragoonanan D, Batth I, et al. Prognostic value of cell-surface vimentin-positive CTCs in pediatric sarcomas. *Front Oncol*. 2021;11:760267. doi: 10.3389/fonc.2021.760267
26. Liu T, Ma Q, Zhang Y, et al. Self-seeding circulating tumor cells promote the proliferation and metastasis of human osteosarcoma by upregulating interleukin-8. *Cell Death Dis*. 2019;10(8):575. doi: 10.1038/s41419-019-1795-7
27. Weinman MA, Ramsey SA, Leeper HJ, et al. Exosomal proteomic signatures correlate with drug resistance and carboplatin treatment outcome in a spontaneous model of canine osteosarcoma. *Cancer Cell Int*. 2021;21(1):245. doi: 10.1186/s12935-021-01943-7
28. Araki Y, Aiba H, Yoshida T, et al. Osteosarcoma-Derived Small Extracellular Vesicles Enhance Tumor Metastasis and Suppress Osteoclastogenesis by miR-146a-5p. *Front Oncol*. 2021;11:667109. doi: 10.3389/fonc.2021.667109
29. Perut F, Roncuzzi L, Zini N, et al. Extracellular Nanovesicles Secreted by Human Osteosarcoma Cells Promote Angiogenesis. *Cancers*. 2019;11(6):779. doi: 10.3390/cancers11060779
30. Zhang L, Cao H, Gu G, et al. Exosomal MiR-199a-5p Inhibits Tumorigenesis and Angiogenesis by Targeting VEGFA in Osteosarcoma. *Front Oncol*. 2022;12:884559. doi: 10.3389/fonc.2022.884559
31. Cuscino N, Raimondi L, De Luca A, et al. Gathering Novel Circulating Exosomal microRNA in Osteosarcoma Cell Lines and Possible Implications for the Disease. *Cancers*. 2019;11(12):1924. doi: 10.3390/cancers11121924
32. Brady JV, Troyer RM, Ramsey SA, et al. A preliminary proteomic investigation of circulating exosomes and discovery of biomarkers associated with the progression of osteosarcoma in a clinical model of spontaneous disease. *Transl Oncol*. 2018;11(5):1137–1146. doi: 10.1016/j.tranon.2018.07.004
33. Wang L, Wu J, Song S, et al. Plasma exosome-derived sentrin SUMO-specific protease 1: a prognostic biomarker in patients with osteosarcoma. *Front Oncol*. 2021;11:625109. doi: 10.3389/fonc.2021.625109
34. Chen Z, Li L, Li Z, et al. Identification of key serum biomarkers for the diagnosis and metastatic prediction of osteosarcoma by analysis of immune cell infiltration. *Cancer Cell Int*. 2022;22(1):78. doi: 10.1186/s12935-022-02500-6
35. Zhang K, Dong C, Chen M, et al. Extracellular vesicle-mediated delivery of miR-101 inhibits lung metastasis in osteosarcoma. *Theranostics*. 2020;10(1):411–425. doi: 10.7150/thno.33482
36. Tsoi KM, Gokgoz N, Darville-O'Quinn P, et al. Detection and utility of cell-free and circulating tumour DNA in bone and soft-tissue sarcomas. *Bone Joint Res*. 2021;10(9):602–610. doi: 10.1302/2046-3758.109.BJR2021-0014.R1
37. Seidel MG, Kashofer K, Moser T, et al. Clinical implementation of plasma cell-free circulating tumor DNA quantification by digital droplet PCR for the monitoring of Ewing sarcoma in children and adolescents. *Front Pediatr*. 2022;10:926405. doi: 10.3389/fped.2022.926405
38. Darville-O'Quinn P, Gokgoz N, Tsoi KM, et al. Investigating the Use of Circulating Tumor DNA for Sarcoma Management. *J Clin Med*. 2024;13(21):6539. doi: 10.3390/jcm13216539
39. Cimmino F, Lasorsa VA, Vetrilla S, et al. A targeted gene panel for circulating tumor DNA sequencing in neuroblastoma. *Front Oncol*. 2020;10:596191. doi: 10.3389/fonc.2020.596191
40. Frazzette N, Jour G. Novel Molecular Methods in Soft Tissue Sarcomas: From Diagnostics to Theragnostics. *Cancers*. 2025;17(7):1215. doi: 10.3390/cancers17071215

41. Zhang X, Zheng Y, Li G, et al. Identifying four DNA methylation gene sites signature for predicting prognosis of osteosarcoma. *Transl Cancer Res.* 2020;9(11):7299–7309. doi: 10.21037/tcr-20-3204
42. McCleary-Wheeler AL, Fiaux PC, Flesner BK, et al. Next-generation sequencing-based liquid biopsy may be used for detection of residual disease and cancer recurrence monitoring in dogs. *Am J Vet Res.* 2024;85(3). doi: 10.2460/ajvr.23.07.0163
43. Gelineau NU, van Barneveld A, Samim A, et al. Case series on clinical applications of liquid biopsy in pediatric solid tumors: towards improved diagnostics and disease monitoring. *Front Oncol.* 2023;13:1209150. doi: 10.3389/fonc.2023.1209150
44. Rizzo FM, Vesely C, Childs A, et al. Circulating tumour cells and their association with bone metastases in patients with neuroendocrine tumours. *Br J Cancer.* 2019;120:294–300. doi: 10.1038/s41416-018-0367-4
45. Xu YQ, Bao QY, Yu SX, et al. A Novel Microfluidic Chip for Fast, Sensitive Quantification of Plasma Extracellular Vesicles as Biomarkers in Patients With Osteosarcoma. *Front Oncol.* 2021;11:709255. doi: 10.3389/fonc.2021.709255
46. Wright TF, Brisson BA, Belanger CR, et al. Quantification of circulating tumour cells over time in dogs with appendicular osteosarcoma. *Vet Comp Oncol.* 2023;21(3):541–550. doi: 10.1111/vco.12918
47. Sittiju P, Chaiyawat P, Pruksakorn D, et al. High-Throughput Screening of Alternative Micro-Metastasis-Specific Gene Predictors of Circulating Osteosarcoma Cells. *Res Sq.* 2021. doi: 10.21203/rs.3.rs-513080/v1
48. Bath IS, Meng Q, Wang Q, et al. Rare osteosarcoma cell subpopulation protein array and profiling using imaging mass cytometry and bioinformatics analysis. *BMC Cancer.* 2020;20(1):715. doi: 10.1186/s12885-020-07203-7
49. Han Z, Yi J, Yang Y, et al. SERS and MALDI-TOF MS based plasma exosome profiling for rapid detection of osteosarcoma. *Analyst.* 2021;146(21):6496–6505. doi: 10.1039/D1AN01163D
50. Ong JLK, Jalaludin NFF, Wong MK, et al. Exosomal mRNA Cargo are biomarkers of tumor and immune cell populations in pediatric osteosarcoma. *Transl Oncol.* 2024;46:102008. doi: 10.1016/j.tranon.2024.102008
51. Wei H, Chen J, Wang S, et al. A Nanodrug Consisting Of Doxorubicin And Exosome Derived From Mesenchymal Stem Cells For Osteosarcoma Treatment In Vitro. *Int J Nanomedicine.* 2019;14:8603–8610. doi: 10.2147/IJN.S218988
52. Han J, Zhao Z, Wang Y, et al. Screening for MicroRNA combination with engineered exosomes as a new tool against osteosarcoma in elderly patients. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022;10:1052252. doi: 10.3389/fbioe.2022.1052252
53. Ucci A, Cappariello A, Ponzetti M, et al. Anti-osteoblastogenic, pro-inflammatory and pro-angiogenic effect of extracellular vesicles isolated from the human osteosarcoma cell line MNNG/HOS. *Bone.* 2021;153:116130. doi: 10.1016/j.bone.2021.116130
54. Griffin KH, Mizenko RR, Arun V, et al. Extracellular vesicles from highly metastatic osteosarcoma cells induce pro-tumorigenic macrophage phenotypes. *Adv Biol.* 2024;8(6):2300577. doi: 10.1002/adbi.202300577
55. Lin S, Shu L, Guo Y, et al. Cargo-eliminated osteosarcoma-derived small extracellular vesicles mediating competitive cellular uptake for inhibiting pulmonary metastasis of osteosarcoma. *J Nanobiotechnology.* 2024;22:360. doi: 10.1186/s12951-024-02636-9
56. Xu Z, Zhou X, Wu J, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosomes carrying microRNA-150 suppresses the proliferation and migration of osteosarcoma cells via targeting IGF2BP1. *Transl Cancer Res.* 2020;9(9):5323–5335. doi: 10.21037/tcr-20-83
57. Agnoletto C, Pignochino Y, Caruso C, et al. Exosome-Based Liquid Biopsy Approaches in Bone and Soft Tissue Sarcomas: Review of the Literature, Prospectives, and Hopes for Clinical Application. *Int J Mol Sci.* 2023;24(6):5159. doi: 10.3390/ijms24065159
58. Flory A, Kruglyak KM, Tynan JA, et al. Clinical validation of a next-generation sequencing-based multi-cancer early detection “liquid biopsy” blood test in over 1,000 dogs using an independent testing set: The CANcer Detection in Dogs (CANDiD) study. *PLoS One.* 2022;17(4):e0266623. doi: 10.1371/journal.pone.0266623
59. Childs A, Gerrand C, Brennan B, et al. A Prospective Observational Cohort Study for Newly Diagnosed Osteosarcoma Patients in the UK: ICONIC Study Initial Results. *Cancers.* 2024;16(13):2351. doi: 10.3390/cancers16132351
60. Bader G, Quintanilha JCF, Veney D, et al. Utility of plasma circulating DNA tumor fraction in bone-only metastatic breast cancer: a real-world outcomes study. *Breast Cancer Res Treat.* 2025;212(3):475–486. doi: 10.1007/s10549-025-07740-4
61. Casanova JM, Almeida J-S, Reith JD, et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Cancer Markers in Osteosarcoma: Influence on Patient Survival. *Cancers.* 2021;13(23):6075. doi: 10.3390/cancers13236075
62. Moonmuang S, Chaiyawat P, Jantrapirom S, et al. Circulating Long Non-Coding RNAs as Novel Potential Biomarkers for Osteogenic Sarcoma. *Cancers.* 2021;13(16):4214. doi: 10.3390/cancers13164214
63. Klega K, Imamovic-Tuco A, Ha G, et al. Detection of somatic structural variants enables quantification and characterization of circulating tumor DNA in children with solid tumors. *JCO Precis Oncol.* 2018;2:1–13. doi: 10.1200/PO.17.00285
64. Christodoulou E, Yellapantula V, O'Halloran K, et al. Combined low-pass whole genome and targeted sequencing in liquid biopsies for pediatric solid tumors. *NPJ Precis Oncol.* 2023;7(1):21. doi: 10.1038/s41698-023-00357-0
65. Williams MJ, Vázquez-García I, Tam G, et al. Tracking clonal evolution of drug resistance in ovarian cancer patients by exploiting structural variants in cfDNA. *bioRxiv.* 2024:2024.08.21.609031. doi: 10.1101/2024.08.21.609031
66. Wang Z, Wang Z, Wang R, et al. Whole-exome evolutionary profiling of osteosarcoma uncovers metastasis-related driver mutations and generates an independently validated predictive classifier. *J Transl Med.* 2025;23(1):746. doi: 10.1186/s12967-025-06796-6
67. van Zogchel LM, Lak NS, Gelineau NU, et al. Targeted locus amplification to develop robust patient-specific assays for liquid biopsies in pediatric solid tumors. *Front Oncol.* 2023;13:1124737. doi: 10.3389/fonc.2023.1124737
68. van Zogchel LM, Lak NS, Verhagen OJ, et al. Novel circulating hypermethylated RASSF1A ddPCR for liquid biopsies in patients with pediatric solid tumors. *JCO Precis Oncol.* 2021;5:1738–1748. doi: 10.1200/PO.21.00130
69. Van Paemel R, Vlug R, De Preter K, et al. The pitfalls and promise of liquid biopsies for diagnosing and treating solid tumors in children: a review. *Eur J Pediatr.* 2020;179(2):191–202. doi: 10.1007/s00431-019-03545-y
70. Gerber T, Taschner-Mandl S, Saloberger-Sindhöringer L, et al. Assessment of pre-analytical sample handling conditions for comprehensive liquid biopsy analysis. *J Mol Diagn.* 2020;22(8):1070–1086. doi: 10.1016/j.jmoldx.2020.05.006
71. Grözl D, Hauch S, Schlumpberger M, et al. Liquid Biopsy Preservation Solutions for Standardized Pre-Analytical Workflows—Venous Whole Blood and Plasma. *Curr Pathobiol Rep.* 2018;6(4):275–286. doi: 10.1007/s40139-018-0180-z
72. Kramer A, Schuurin E, Vessies D C, et al. A micro-costing framework for circulating tumor DNA testing in Dutch clinical practice. *J Mol Diagn.* 2023;25(1):36–45. doi: 10.1016/j.jmoldx.2022.10.004
73. Englmeier F, Bleckmann A, Brückl W, et al. Clinical benefit and cost-effectiveness analysis of liquid biopsy application in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): a modelling approach. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2023;149(4):1495–1511. doi: 10.1007/s00432-022-04034-w
74. Jansen JP, Ragavan MV, Chen C, et al. The health inequality impact of liquid biopsy to inform first-line treatment of advanced non-small cell lung cancer: a distributional cost-effectiveness analysis. *Value Health.* 2023;26(12):1697–1710. doi: 10.1016/j.jval.2023.08.010
75. Sánchez-Calderón D, Pedraza A, Mancera Urrego C, et al. Analysis of the Cost-Effectiveness of Liquid Biopsy to Determine Treatment Change in Patients with Her2-Positive Advanced Breast Cancer in Colombia. *Clinicoecon Outcomes Res.* 2020;12:115–122. doi: 10.2147/CEOR.S220726

## ОБ АВТОРАХ

**\* Ихсанова Алина Фаритовна;**

адрес: Россия, 420012, Казань, ул. Бутлерова, д. 49;  
ORCID: 0009-0007-3672-435X;  
e-mail: ihalina2002@bk.ru

**Искандарова Динара Тимерьяновна;**

ORCID: 0009-0003-8268-4492;  
e-mail: d.iskandarova@mail.ru

**Сайфутдинова Аделя Рамилевна;**

ORCID: 0009-0006-9065-5255;  
e-mail: adelya.zakirova2002@mail.ru

**Акбердина Диана Артуровна;**

ORCID: 0009-0009-0990-3365;  
e-mail: mrs.pheya@gmail.com

**Маркелова Ксения Андреевна;**

ORCID: 0009-0006-9128-4484;  
e-mail: kmarkelova51@gmail.com

**Исаев Артём Александрович;**

ORCID: 0009-0002-4927-6086;  
e-mail: isaevartemtv@mail.ru

**Пардаев Асадбек Акмалович;**

ORCID: 0009-0003-4418-7532;  
e-mail: asadjonpardayev24@mail.ru

**Салихова Диана Дамировна;**

ORCID: 0009-0009-8704-5984;  
e-mail: diana.salixova0851@mail.ru

**Ибатуллина Карина Васильевна;**

ORCID: 0009-0004-3497-0264;  
e-mail: kari\_n\_a22@mail.ru

**Шаймарданова Динара Мунировна;**

ORCID: 0009-0000-4325-3575;  
e-mail: shaimardanova\_dinara23@mail.ru

**Саркиева Алина Андреевна;**

ORCID: 0009-0002-6834-0186;  
e-mail: ms.sarkieva@mail.ru

**Нурутдинова Лейла Пахрудиновна;**

ORCID: 0009-0009-4303-1804;  
e-mail: nurutdinovaleyl124@gmail.com

## AUTHORS' INFO

**\* Alina F. Ikhsanova;**

address: 49 Butlerov st, Kazan, Russia, 420012;  
ORCID: 0009-0007-3672-435X;  
e-mail: ihalina2002@bk.ru

**Dinara T. Iskandarova;**

ORCID: 0009-0003-8268-4492;  
e-mail: d.iskandarova@mail.ru

**Adelya R. Saifutdinova;**

ORCID: 0009-0006-9065-5255;  
e-mail: adelya.zakirova2002@mail.ru

**Diana A. Akberdina;**

ORCID: 0009-0009-0990-3365;  
e-mail: mrs.pheya@gmail.com

**Ksenia A. Markelova;**

ORCID: 0009-0006-9128-4484;  
e-mail: kmarkelova51@gmail.com

**Artem A. Isaev;**

ORCID: 0009-0002-4927-6086;  
e-mail: isaevartemtv@mail.ru

**Asadbek A. Pardayev;**

ORCID: 0009-0003-4418-7532;  
e-mail: asadjonpardayev24@mail.ru

**Diana D. Salikhova;**

ORCID: 0009-0009-8704-5984;  
e-mail: diana.salixova0851@mail.ru

**Karina V. Ibatullina;**

ORCID: 0009-0004-3497-0264;  
e-mail: kari\_n\_a22@mail.ru

**Dinara M. Shaimardanova;**

ORCID: 0009-0000-4325-3575;  
e-mail: shaimardanova\_dinara23@mail.ru

**Alina A. Sarkieva;**

ORCID: 0009-0002-6834-0186;  
e-mail: ms.sarkieva@mail.ru

**Leyla P. Nurutdinova;**

ORCID: 0009-0009-4303-1804;  
e-mail: nurutdinovaleyl124@gmail.com

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author