

Создание коллекции образцов плазмы для поиска диагностических биомаркеров глиальных опухолей

Омельчук Е. П., Тимошкина Н. Н., Гвалдин Д. Ю., Петрусенко Н. А., Росторгуев Э. Е., Новикова И. А., Кит О. И.

ФГБУ "Национальный медицинский центр онкологии" Минздрава России. Ростов-на-Дону, Россия

Цель. Создание коллекции образцов плазмы крови пациентов с опухолями головного мозга (ГМ) для разработки диагностической микроРНК (рибонуклеиновая кислота) панели глиальных опухолей.

Материал и методы. Образцы плазмы крови пациентов с доброкачественными и злокачественными опухолями ГМ были получены путем двойного центрифугирования цельной крови, а затем заморожены при -75°C . Выделенные из плазмы крови 59 образцов РНК исследованы методом next-generation sequencing (NGS)-секвенирования.

Результаты. На текущий момент в биобанке депонированы образцы 339 пациентов с первичными и вторичными опухолями ГМ и 10 человек контрольной группы (всего 698 образцов — по 2 аликвоты плазмы/человека), из которых 143 мужчины, 206 женщин. Возраст больных варьировал от 19 до 91 года, медиана составила 56 лет. Первичные опухоли ГМ (41%) включали две группы: доброкачественные (33,7%) и злокачественные (66,3%). Менингиомы составили основную часть (91%) группы доброкачественных новообразований. Среди злокачественных новообразований преобладали глиобластомы (46,7%) и астроцитомы (41,6%), а олигодендроглиомы и эпендимомы составили всего 9,1 и 2,5%, соответственно. Вторичные опухоли ГМ (59%) представлены рецидивирующими глиальными опухолями (92,5%) и метастатическими опухолями (7,5%) рака легких (71,4%) и рака молочных желез (28,6%). Внедрен протокол первичной подготовки образцов жид-

костной биопсии, позволившей получить библиотеки ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) высокого качества для выбранной платформы профилирования микроРНК.

Заключение. Создание депозитария образцов плазмы крови является основой для поиска циркулирующих биомаркеров опухолей ГМ.

Ключевые слова: биобанкинг, глиальные опухоли, коллекция образцов, плазма крови, биомаркеры, микроРНК.

Отношения и деятельность. Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава России (госрегистрация № 123030200082-9).

Поступила 29/08-2024

Рецензия получена 30/09-2024

Принята к публикации 14/10-2024



Для цитирования: Омельчук Е. П., Тимошкина Н. Н., Гвалдин Д. Ю., Петрусенко Н. А., Росторгуев Э. Е., Новикова И. А., Кит О. И. Создание коллекции образцов плазмы для поиска диагностических биомаркеров глиальных опухолей. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2024;23(11):4171. doi: 10.15829/1728-8800-2024-4171. EDN OLWCVE

Creation of a plasma collection for the search of diagnostic biomarkers of glial tumors

Omelchuk E. P., Timoshkina N. N., Gvaldin D. Yu., Petrusenko N. A., Rostorguev E. E., Novikova I. A., Kit O. I.
National Medical Research Center for Oncology. Rostov-on-Don, Russia

Aim. To create a collection of plasma samples of patients with brain tumors (BTs) for the development of a diagnostic microRNA (ribonucleic acid) panel of glial tumors.

Material and methods. Plasma samples of patients with benign and malignant BTs were obtained by double centrifugation of whole blood and then frozen at -75°C . Fifty-nine RNA samples isolated from blood plasma were analyzed by next-generation sequencing (NGS).

Results. Currently, the biobank contains samples from 339 patients with primary and secondary BTs and 10 control group individuals (698 samples — 2 plasma aliquots per individual), including 143 men and 206 women. The age of the patients ranged from 19 to 91 years (median — 56 years). Primary BTs (41%) included two following

groups: benign (33,7%) and malignant (66,3%). Meningiomas constituted the bulk (91%) of the benign BTs. Among the malignant tumors, glioblastomas (46,7%) and astrocytomas (41,6%) prevailed, while oligodendrogliomas and ependymomas accounted for only 9,1 and 2,5%, respectively. Secondary BTs (59%) are represented by recurrent glial tumors (92,5%) and metastatic tumors (7,5%) of lung cancer (71,4%) and breast cancer (28,6%). A protocol for the primary preparation of liquid biopsy samples was implemented, which made it possible to obtain high-quality deoxyribonucleic acid libraries for the selected microRNA profiling platform.

Conclusion. The creation of a plasma sample collection is the basis for searching circulating biomarkers of BTs.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
e-mail: ekaterina.omelchuck@yandex.ru

[Омельчук Е. П. — м.н.с. лаборатории молекулярной онкологии, ORCID: 0000-0003-0786-9684, Тимошкина Н. Н. — к.б.н., зав. лаборатории молекулярной онкологии, ORCID: 0000-0001-6358-7361, Гвалдин Д. Ю. — к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной онкологии, ORCID: 0000-0001-8633-2660, Петрусенко Н. А. — м.н.с. лаборатории молекулярной онкологии, ORCID: 0000-0001-7919-6111, Росторгуев Э. Е. — д.м.н., доцент, зав. отделением нейроонкологии, ORCID: 0000-0003-2937-0470, Новикова И. А. — д.м.н., зам. генерального директора по науке, ORCID: 0000-0002-6496-9641, Кит О. И. — д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор, ORCID: 0000-0003-3061-6108].

Keywords: biobanking, glial tumors, sample collection, blood plasma, biomarkers, microRNA.

*Corresponding author:
ekaterina.omelchuck@yandex.ru

Relationships and Activities. The study was carried out within the state assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation (state registration № 123030200082-9).

Received: 29/08-2024

Revision Received: 30/09-2024

Accepted: 14/10-2024

Omelchuk E. P.* ORCID: 0000-0003-0786-9684, Timoshkina N. N. ORCID: 0000-0001-6358-7361, Gvaldin D. Yu. ORCID: 0000-0001-8633-2660, Petrusenko N. A. ORCID: 0000-0001-7919-6111, Rostorguev E. E. ORCID: 0000-0003-2937-0470, Novikova I. A. ORCID: 0000-0002-6496-9641, Kit O. I. ORCID: 0000-0003-3061-6108.

For citation: Omelchuk E. P., Timoshkina N. N., Gvaldin D. Yu., Petrusenko N. A., Rostorguev E. E., Novikova I. A., Kit O. I. Creation of a plasma collection for the search of diagnostic biomarkers of glial tumors. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(11):4171. doi: 10.15829/1728-8800-2024-4171. EDN OLCWVE

ГМ — головной мозг, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, РНК — рибонуклеиновая кислота, ЦНС — центральная нервная система, NGS-секвенирование — next-generation sequencing (секвенирование следующего поколения/секвенирование нового поколения).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Биобанкирование является основой для исследований по поиску опухоль-ассоциированных маркеров в биологических жидкостях.
- Малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты (микроРНК) представляют собой наиболее многообещающие циркулирующие биомаркеры опухолей глиального ряда.

Что добавляют результаты исследования?

- Создана коллекция образцов плазмы пациентов с первичными и вторичными опухолями головного мозга.
- Из плазмы экстрагирована фракция микроРНК и подвергнута NGS (next-generation sequencing) секвенированию для поиска опухоль-специфичных маркеров глиом.

Key messages

What is already known about the subject?

- Biobanking is the basis for research on tumor-associated markers in biological fluids.
- Small non-coding ribonucleic acid molecules (microRNA) are the most promising circulating biomarkers of glial tumors.

What might this study add?

- A collection of plasma samples from patients with primary and secondary brain tumors was created.
- A fraction of microRNA was extracted from the plasma and subjected to next-generation sequencing to search for tumor-specific glioma markers.

Введение

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в 2022г в мире выявлено ~20 млн случаев злокачественных новообразований различных локализаций. Опухоли центральной нервной системы (ЦНС) (международная классификация болезней (МКБ) С70-72) насчитывали 321731 (1,6%) случаев. В 2022г смертность при опухолях ЦНС составила >77% (ВОЗ)¹. В 2022г в РФ зарегистрировано 624835 случаев первично выявленных злокачественных новообразований, из которых опухоли ЦНС составили 8192 (1,3%). При этом смертность значительно выше среднемировой и достигает 91,7% [1]. Высокая смертность обусловлена не только чрезвычайной агрессивностью опухолей головного мозга (ГМ), но и несовершенством неинвазивной диагностики, представленной в основном магнитно-резонансной томографией. Более того, постановка диагноза зачастую осуществляется

на поздних стадиях заболевания, когда возникают клинические проявления [2].

Решением проблемы малоинвазивной диагностики опухолей ГМ может стать поиск циркулирующих маркеров в биологических жидкостях, среди которых наиболее распространены кровь и спинномозговая жидкость [3, 4]. С точки зрения точности ликвор является наиболее предпочтительным источником опухолевых маркеров вследствие непосредственной близости к ГМ и отсутствию гематоэнцефалического барьера. Однако в связи с инвазивным характером люмбальной пункции и высокими рисками для пациента плазма крови представляется вариантом выбора, особенно при мониторинге опухолей ГМ [5]. Основные биомаркеры в плазме крови при внутричерепных опухолях представлены циркулирующими опухолевыми клетками, экзосомами, внеклеточной опухолевой ДНК (дезоксирибонуклеиновой кислотой), внеклеточной опухолевой РНК (рибонуклеиновой кислотой), и, в частности, микроРНК (малыми некодирующими молекулами рибонуклеиновой

¹ <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/900-world-fact-sheet.pdf>.

кислоты), а также белками [6]. Циркулирующие микроРНК считаются одними из наиболее перспективных молекул для малоинвазивной диагностики опухолей ЦНС [3, 7, 8]. Малоинвазивный метод на основе выявления циркулирующих микроРНК позволит дополнить диагностику глиальных опухолей, снижая потребность в проведении стереотаксической биопсии, которая может быть причиной тяжелых осложнений и инвалидизации пациента. Предлагаемый подход, вероятно, обеспечит раннюю диагностику опухолей ГМ до появления неврологического дефицита в связи с прогрессированием заболевания [9].

Создание коллекции биологических образцов опухолей является основой для проведения качественных и воспроизводимых исследований [10], а также выявления механизмов, лежащих в основе патогенеза онкологических заболеваний [11]. В настоящее время в РФ функционирует >20 биобанков, где хранится биологический материал пациентов и культуры опухолевых клеток [12]. Первый биобанк опухолей глиального ряда на территории РФ основан в 2016г на базе ФГАУ "НМИЦ нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко", Минздрава России, г. Москва. В данном биобанке находятся криоконсервированные и паспортизированные образцы ткани и плазмы крови пациентов с верифицированными опухолями ГМ [13]. Работа в этом направлении на базе "НМИЦ онкологии", г. Ростов-на-Дону, начата с 2017г. На сегодняшний день наш депозитарий опухолей ГМ включает >600 паспортизированных образцов крови, плазмы крови и образцов опухолей, хранящихся в низкотемпературных условиях [14].

В связи с актуальностью ранней диагностики опухолей ЦНС Минздрав России одобрил государственное задание "Разработка малоинвазивной диагностической панели опухолей головного мозга на основе циркулирующих микроРНК в плазме крови" (Госзадание № 123030200082-9). Работа выполняется на базе отделения нейроонкологии и лаборатории молекулярной онкологии "НМИЦ онкологии", г. Ростов-на-Дону.

Цель исследования — создание коллекции образцов плазмы крови пациентов с опухолями ГМ для разработки диагностической микроРНК-панели глиальных опухолей.

Материал и методы

Критерии отбора для биобанкирования включали: пациенты >18 лет, морфологически подтвержденный диагноз злокачественной или доброкачественной глиальной опухоли, или метастаз в ГМ (рак легких, рак молочной железы). Пациенты проходили лечение на базе "НМИЦ онкологии" в 2023-2024гг. В исследование также включена контрольная группа условно здоровых доноров без новообразований и патологий ГМ.

Все участники исследования подписали добровольное информированное согласие пациента или члена группы сравнения (письменное согласие на передачу биологического материала и обработку персональных данных оператору, а также на передачу и получение сведений, составляющих врачебную тайну). Проведение исследования было одобрено Локальным Советом по Этике "НМИЦ онкологии" Минздрава России.

Формирование коллекции образцов было начато со сверки соответствия пациента критериям включения/невключения в исследование и подписания информированного согласия. Затем был осуществлен сбор образцов крови натощак в вакуумные пробирки объемом 10 мл с К₂ЭДТА (калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты). В течение 30 мин кровь доставляли в лабораторию и подвергали последовательному двойному центрифугированию в режиме: 2000 об./мин 10 мин и 5000 об./мин 10 мин. Полученный объем плазмы разделяли на две криопробирки с присвоенными уникальными лабораторными номерами и немедленно замораживали при -75°С. Пробы регистрировали в базе данных, представленной в виде таблицы Excell (Microsoft Excel, США), содержащей следующие сведения: лабораторный номер пациента, дата взятия материала, пол, дата рождения, возраст, номер истории болезни, регион проживания, диагноз, TNM (tumor, nodus, metastasis) классификация, стадия развития заболевания, заключение прижизненного патолого-анатомического исследования биопсийного (операционного материала), сопутствующие патологии, проведенная терапия, результаты дополнительных анализов: иммуногистохимии, молекулярно-генетического тестирования на наличие мутаций в генах *IDH1/2* (кодирующих изоцитратдегидрогеназы 1 и 2). Все случаи были верифицированы в ходе морфологического исследования операционного или биопсийного материала опухоли. Параллельно образцы регистрировали с использованием программного обеспечения FreezerPro (Azenta Life Science, США).

Выделенные из плазмы крови 59 образцов РНК были исследованы методом NGS-секвенирования (next-generation sequencing, секвенирования следующего поколения/секвенирования нового поколения) с помощью набора QIAseq miRNA Library Kit (Qiagen, Германия) на приборе MiSeq Dx (Illumina, США). Анализ качества полученных ДНК библиотек проводили с помощью онлайн программы RNA-seq Analysis Portal (geneglobe.qiagen.com, Германия).

Результаты

Пациенты с впервые выявленными опухолями на момент забора крови для исследования не получали никакого лечения, а пациентам из группы вторичных опухолей ГМ было проведено оперативное удаление новообразования и/или химиолучевая терапия. У 52 пациентов образцы крови были отобраны как до, так и после лечения. При этом у 9 пациентов потребовалось повторное взятие крови вследствие нарушения времени транспортировки образца в лабораторию или гемолиза эритроцитов, что является критичным для получения достоверных результатов.

Таблица 1

Контроль качества образцов
(биоинформационный анализ
NGS-секвенирования) с помощью онлайн
программы RNA-seq Analysis Portal
(geneglobe.qiagen.com, Германия)

Номер образца	Количество прочтений	Количество аннотированных последовательностей по базам данных miRBase и piRNAdb
1	5581	2798
2*	897	321
3	3631	1539
4	4749	2078
5	6419	1990
6*	1928	254
7	5351	1586

Примечание: знаком * помечены образцы низкого качества. NGS-секвенирование — next-generation sequencing (секвенирование следующего поколения/секвенирование нового поколения).

Таблица 2

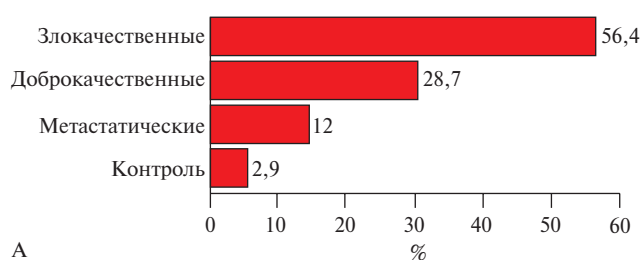
Характеристика исследуемой выборки

Характеристики	Пациенты, n (%)
Пол	
Мужчины	143 (41)
Женщины	206 (59)
Обращение	
Первичное	139 (41)
Повторное	200 (59)
Группы пациентов	
Злокачественные опухоли	197 (56,4)
Доброкачественные опухоли	100 (28,7)
Метастатические опухоли	42 (12)
Контроль	10 (2,9)
Итого	349 (100)

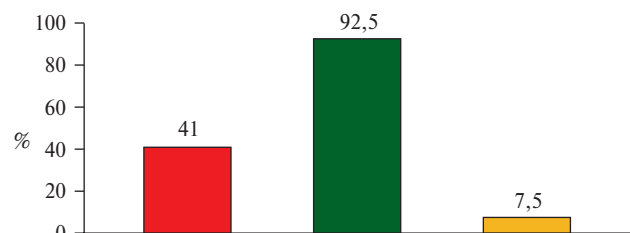
Таблица 3

Распределение пациентов
по гистологическому типу опухоли

	Гистологический тип опухоли	Количество пациентов	Количество образцов плазмы в биобанке
Доброкачественные опухоли	менингиома	91	182
	другие типы	9	18
Итого		100	200
Злокачественные опухоли	астроцитомы	82	164
	глиобластома	92	184
	олигодендроглиомы	18	36
	эпендимомы	5	10
Итого		197	394
Метастатические опухоли	метастазы рака легкого	30	60
	метастазы рака молочных желез	12	24
Итого		42	84
Норма		10	20
Итого		349	698

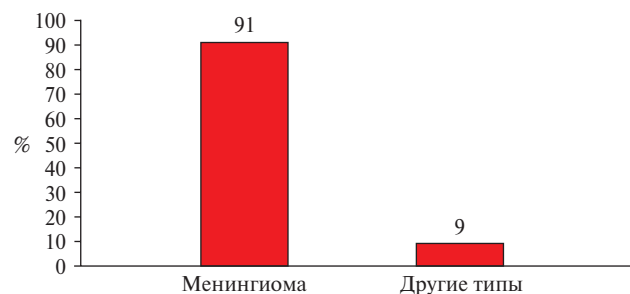


А

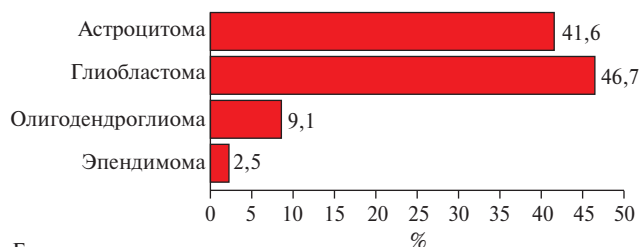


■ Первичные опухоли
■ Рецидивирующие опухоли ГМ
■ Метастатические опухоли

Б



В



Г

Рис. 1 Распределение пациентов (%): А — по типу новообразования ГМ; Б — по времени возникновения опухоли; В — по типу доброкачественных новообразований; Г — по типу злокачественных новообразований.

Примечание: ГМ — головной мозг.

В настоящем исследовании для NGS-секвенирования циркулирующих микроРНК нами было отобрано 83 образца плазмы крови. Из данных образцов была выделена тотальная РНК и подготовлены библиотеки комплементарной ДНК. Концентрации 61 библиотеки оказались достаточно высокими и составили, в среднем, 25 нг/мкл. При этом 22 (26,5%) образца имели крайне низкие концентрации (<1 нг/мкл) при минимально требуемой в 4 нг/мкл. Анализ результатов NGS-секвенирования двух образцов с концентрациями по 0,4 нг/мкл продемон-

стрировал низкое качество полученных библиотек. Количество прочтений для них составило 897 и 1928, соответственно. При этом диапазон показателя для образцов с высокими концентрациями составил от >3600 до >5500 (таблица 1). Анализ уникальных последовательностей показал, что библиотеки с концентрациями по 0,4 нг/мкл содержат 321 и 254 малых некодирующих РНК, по сравнению с 1500–2700 для библиотек высокого качества (таблица 1).

В коллекцию образцов плазмы пациентов за период 2023–2024 гг. отобран биоматериал 339 пациентов с доброкачественными и злокачественными опухолями ГМ, а также пациентов с диагнозами рак легких или рак молочной железы с метастазами в ГМ. Контрольную группу составили 10 условно здоровых доноров. Итого было получено 349 образцов плазмы крови (две аликвоты на одного пациента, 698 проб) (таблица 2). Диапазон возраста участников исследования составил от 19 до 91 года, медиана равнялась 56 годам. В выборке пациентов преобладали женщины (соотношение 1,44:1) (таблица 2).

В объединенной группе первичных и вторичных опухолей ГМ злокачественные новообразования (56,4%) преобладали над доброкачественными (28,7%) и метастатическими экстракраниальными опухолями (12%) (таблица 3, рисунок 1 А). В группу со вторичными опухолями ГМ вошли как рецидивирующие опухоли ГМ (92,5%), так и метастатические опухоли рака молочных желез и легких (7,5%) (таблица 3, рисунок 1 Б). Доброкачественные опухоли ГМ были представлены в основном менингиомами (91 пациент, 91%). Количество опухолей других гистологических подтипов незначительно и составило суммарно 9% (таблица 3, рисунок 1 В). Группа новообразований различной степени злокачественности представлена глиобластомами (92 пациента, 46,7%), астроцитомами (82 пациента, 41,6%) и олигодендроглиомами (18 пациентов, 9,1%), объединенными в группу опухолей глиального ряда, а также эпендимомы (5 пациентов, 2,5%) (таблица 3, рисунок 1 Г).

С помощью NGS-секвенирования были проанализированы 59 образцов: 22 образца больных с диагнозом глиобластома, 15 — с астроцитомами, 5 — с олигодендроглиомами, 13 — с менингиомами и 4 образца плазмы крови условно здоровых доноров. В результате биоинформационного анализа NGS-данных выявлено 59 дифференциально экспрессирующиеся микроРНК, специфичных для каждой группы.

Обсуждение

На сегодняшний день единых протоколов для жидкостной биопсии при глиальных опухолях в повседневной практике не существует. Поэтому научное сообщество сходит в мнении, что перед внедрением в клиническую практику циркулирующих

маркеров необходима стандартизация методов сбора биоматериала, проведения исследования и анализа результатов [15]. Международный консорциум RANO (Response Assessment in Neuro-Oncology), занимающийся стандартизацией исследовательской практики в области нейроонкологии, рекомендует подвергать цельную кровь первичной обработке в течение 3 ч после забора [16]. В настоящем исследовании продемонстрировано, что ДНК библиотеки низкого качества были получены из образцов плазмы крови с крайне низкими концентрациями (<1 нг/мкл) (рисунок 2 А, Б). Данный факт нами был связан со временем первичной обработки цельной крови. Эмпирически определено, что образцы, взятые в работу не позднее 30 мин после забора крови, служили адекватным материалом для выделения достаточного количества РНК и последующей подготовки ДНК библиотек с требуемыми характеристиками (рисунок 2 А). Из цельной крови, которая в силу логистических трудностей была обработана через ≥40 мин после забора, не удалось получить библиотеки, пригодные для дальнейшего NGS-секвенирования (рисунок 2 Б). Кроме того, для подтверждения гипотезы значимости времени, в течение которого была получена плазма, нами были отсекарованы два образца с крайне низкими концентрациями. Количество прочтений и анализ уникальных последовательностей показал снижение качества библиотек данных образцов в ~3,5 раза по сравнению с образцами с высокой концентрацией (таблица 1). Таким образом, в ходе подготовки к исследованию профилей опухоль-специфичных микроРНК с помощью NGS-секвенирования нами экспериментально был определен критичный период между забором крови и получением плазмы, который составил 30 мин. В случае превышения данного периода времени получить библиотеки ДНК для дальнейшего секвенирования надлежащего качества и в требуемом количестве не представлялось возможным. Опыт использования нами криоконсервированной плазмы для выбранной платформы профилирования микроРНК выявил узкие места в логистике отбора материала и позволил эмпирически выделить критичный период между отбором крови и её первичной обработкой.

В собранной коллекции образцов плазмы крови ожидаемо преобладали пробы, полученные от пациентов с глиобластомами (27,1%) и менингиомами (26,8%), которые являются наиболее часто диагностируемыми злокачественными и доброкачественными опухолями ЦНС. Следующим по распространенности типом злокачественных новообразований были астроцитомы, которые составили 24,2%. Среди опухолей глиального ряда наименее распространенными оказались олигодендроглиомы (5,3%). Эпендимомы были представлены всего в 1,5% случаев. В группе доброкачественных ново-

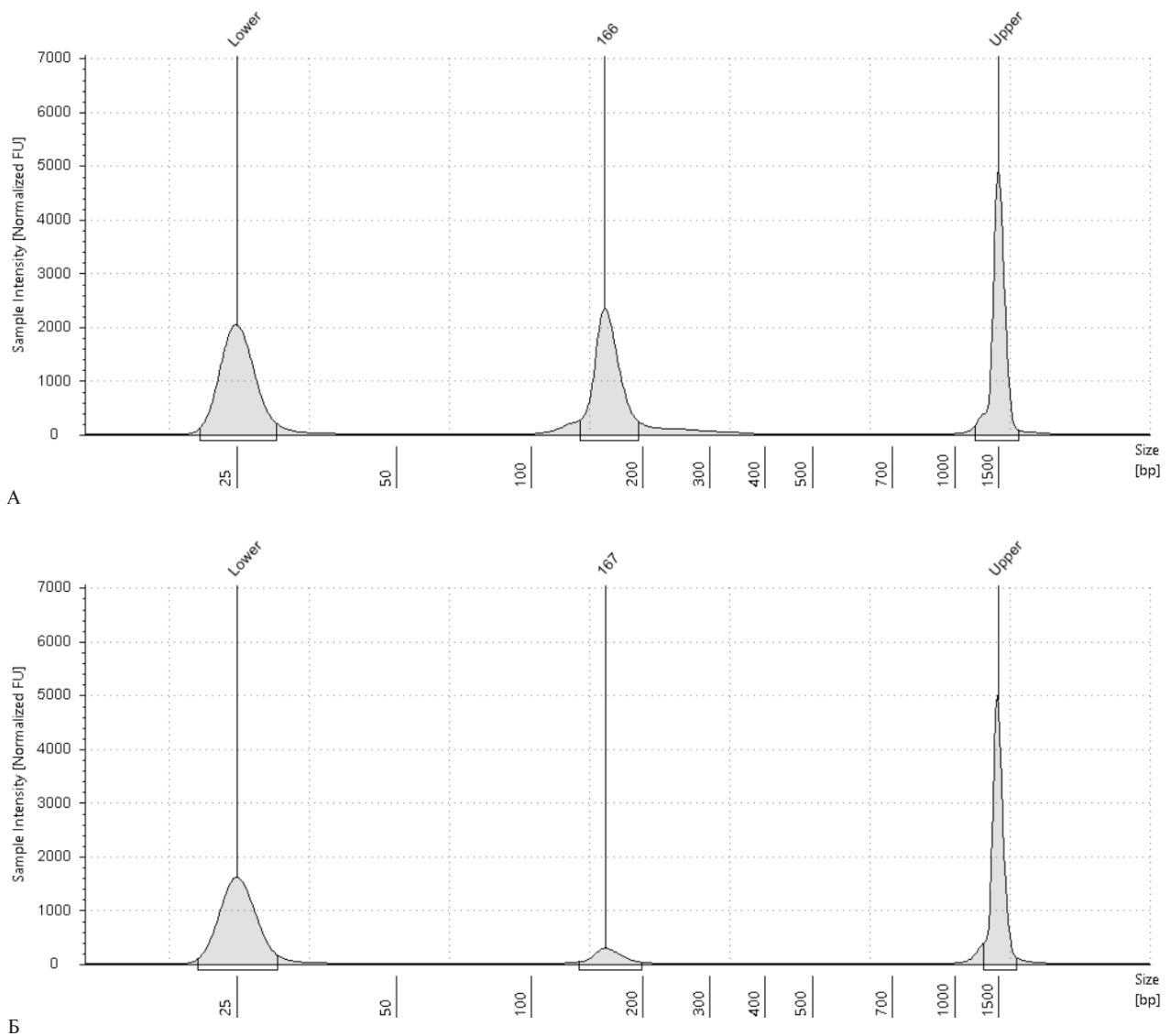


Рис. 2 Электрофореграмма ДНК библиотек (биоанализатор 4150 TapeStation, Agilent, США) (пациент №113): А — образец успешно секвенированной библиотеки, полученной из пробы, первично обработанный в течение 30 мин после забора крови. Визуализирован четкий пик библиотеки требуемого размера в диапазоне 160–180 п.н. и маркеры Lower (нижний), Upper (верхний); Б — образец библиотеки, непригодный для секвенирования (концентрация <0,618 нг/мкл). Получен из пробы, первично обработанной в течение 50 мин после забора крови.

Примечание: По оси X — размер библиотеки в п.н., по оси Y — интенсивность свечения образца (нормализованные единицы флуоресценции). ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, п.н. — пар нуклеотидов.

образований гистотипы помимо менингиом были представлены единичными случаями и составили всего 9%. Полученное соотношение распространенности различных типов первичных опухолей ГМ в целом соответствует мировой статистике [17]. Группа вторичных опухолей ГМ включала метастатические опухоли (12,4%) рака молочных желез (3,5%) и рака легкого (8,8%). Вышеупомянутые локализации первичных экстракраниальных опухолей выбраны ввиду высокой частоты метастазов в ГМ: до 40% при раке легких и до 30% при раке молочной железы [18]. При этом соотношение доброкачественных и злокачественных опухолей (первичных и вторичных) составило 1:2,4.

Изменение экспрессии микроРНК при опухолях ГМ было продемонстрировано во множестве как отечественных, так и зарубежных исследований [7–9, 19, 20]. Интересно, что в разных исследованиях уровень одной и той же микроРНК был как повышенным, так и сниженным. На сегодняшний день для опухолей глиального ряда выявлена только одна микроРНК (miR-21), сверхэкспрессия которой подтверждается во всех работах без исключения [21]. Кроме того, дифференциальная экспрессия некоторых микроРНК может позволить различить первичные и вторичные опухоли ГМ, в частности метастатические опухоли рака молочной железы, легких, меланомы и других. Установлено, что при метастазировании

в ГМ в основном изменяется уровень микроРНК, ассоциированных с нарушением проницаемости гематоэнцефалического барьера [22]. В результате проведенного нами NGS-секвенирования образцов плазмы крови (первичные опухоли ГМ, $n=55$; группа контроля, $n=4$) было выявлено 59 дифференциально экспрессирующихся микроРНК. При этом во всех группах преобладали микроРНК с повышенной экспрессией, которые являются потенциально онкогенными. Кроме того, были определены специфические микроРНК, характерные для менингиомы (15), олигодендроглиомы (14), астроцитомы (13) и глиобластомы (17) (неопубликованные данные). Согласно полученным нами ранее результатам, обнаруженный спектр микроРНК в плазме крови хоть и обладает меньшим разнообразием, но повторяет профиль экспрессии в опухолевой ткани [23, 24]. Данный факт свидетельствует о целесообразности малоинвазивной диагностики опухолей ГМ на основе плазмы крови.

Заключение

Биобанкирование является основой для поиска опухоль-ассоциированных маркеров. На ба-

зе ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России функционирует современный депозитарий, в котором создана коллекция из 698 образцов плазмы. При этом коллекция образцов включает весь спектр гистотипов первичных доброкачественных и злокачественных новообразований ГМ, диагностируемых в онкоцентре. В группе доброкачественных опухолей преобладали менингиомы, злокачественных — глиобластомы и астроцитомы. Вторичные опухоли ГМ представлены рецидивирующими глиальными опухолями и метастатическими опухолями рака легких и рака молочной железы. Помимо собранной коллекции образцов нами был усовершенствован протокол первичной подготовки образцов крови, позволивший получить библиотеки ДНК высокого качества для проведения NGS-секвенирования микроРНК. В результате были определены микроРНК, специфичные для различных подтипов опухолей ГМ.

Отношения и деятельность. Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава России (госрегистрация № 123030200082-9).

Литература/References

1. Kaprin AD, Starinskiy VV, Shahzadova AO, et al. Malignant neoplasms in Russia in 2022 (morbidity and mortality). М.: P. Hertsen MORI — branch of the NMRRС of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2023. p. 174. (In Russ.) Каприн А. Д., Старинский В. В., Шахзадова А. О. и др. Злокачественные новообразования в России в 2022 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ "НМИЦ радиологии" Минздрава России, 2023. С. 174. ISBN: 978-5-85502-290-2.
2. Klekner Á, Szivos L, Virga J, et al. Significance of liquid biopsy in glioblastoma—A review. J Biotech. 2019;298:82-7. doi:10.1016/j.jbiotec.2019.04.011.
3. Aalami AH, Abdeahad H, Shoghi A, et al. Brain tumors and circulating micrornas: a systematic review and diagnostic meta-analysis. Expert Rev Mol Diagn. 2022;22(2):201-11. doi:10.1080/14737159.2022.2019016.
4. Le Rhun E, Seoane J, Salzet M, et al. Liquid biopsies for diagnosing and monitoring primary tumors of the central nervous system. Cancer Lett. 2020;480:24-8. doi:10.1016/j.canlet.2020.03.021.
5. Berzero G, Pieri V, Mortini P, et al. The coming of age of liquid biopsy in neuro-oncology. Brain. 2023;146(10):4015-24. doi:10.1093/brain/awad195.
6. Omel'chuk EP, Timoshkina NN, Rostorguev EE, et al. Circulating biomarkers of gliomas (review of literature). Russian clinical laboratory diagnostics. 2024;69(8):411-20. (In Russ.) Омельчук Е. П., Тимошкина Н. Н., Росторгуев Э. Е. и др. Циркулирующие биомаркеры глиом (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2024;69(8):411-20. doi:10.51620/0869-2084-2024-69-8-411-420.
7. Wang J, Che F, Zhang J. Cell-free microRNAs as non-invasive biomarkers in glioma: a diagnostic meta-analysis. Int J Biol Marker. 2019;34(3):232-42. doi: 10.1177/1724600819840033.
8. Ma C, Nguyen HP, Luwor RB, et al. A comprehensive meta-analysis of circulation miRNAs in glioma as potential diagnostic biomarker. PLoS One. 2018;13(2):e0189452. doi:10.1371/journal.pone.0189452.
9. Gvaldin DY, Petrusenko NA, Rostorguev EE, et al. Comparative analysis of the profile of circulating microRNAs in the blood plasma of patients with gliomas. Research'n Practical Medicine Journal. 2024;11(2):36-45. (In Russ.) Гвалдин Д. Ю., Петрусенко Н. А., Росторгуев Э. Е. и др. Сравнительный анализ профиля циркулирующих микроРНК в плазме крови пациентов с глиальными опухолями мозга. Исследования и практика в медицине. 2024;11(2):36-45. doi:10.17709/2410-1893-2024-11-2-3.
10. Kosobokova EN, Kalinina NA, Baryshnikova MA, et al. Bioresource collections: algorithms for development and functioning; basic and applied significance. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2023;22(11):3654. (In Russ.) Кособокова Е. Н., Калинина Н. А., Барышникова М. А. и др. Биоресурсные коллекции: алгоритмы формирования и функционирования, фундаментальная и прикладная значимость. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2023;22(11):3654. doi:10.15829/1728-8800-2023-3654.
11. Karandashov IV, Golbin DA, Goryainov SA, et al. Principles of biobanking and biobanks of central nervous system tumors in world practice. Burdenko's journal of neurosurgery. 2022;86(6):91-8. (In Russ.) Карандашов И. В., Гольбин Д. А., Горяйнов С. А. и др. Принципы биобанкирования и биобанки опухолей нервной системы в мировой практике. Вопросы нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко. 2022;86(6):91-8. doi:10.17116/neiro20228606191.
12. Kasymova AB, Zhetpisbayev BB, Solodovnikov MP, et al. Organization of a biobank in neurosurgery. Neurosurgery and Neurology of Kazakhstan. 2021;3(64):3-10. (In Russ.) Касымова А. Б., Жетписбаев Б. Б., Солодовников М. П. и др. Организация биобанка в нейрохирургии. Нейрохирургия и неврология Казахстана. 2021;3(64):3-10. doi:10.53498/24094498_2021_3_3.
13. Golbin DA, Korochkina AL, Shugay SV, et al. Specialized biorepository for human brain glioma: project development and

- operational experience. Clinical and experimental morphology. 2020;9(4):39-49. (In Russ.) Гольбин Д. А., Корочкина А. Л., Шугай С. В. и др. Опыт создания специализированного биобанка глиом головного мозга человека. Клиническая и экспериментальная морфология. 2020;9(4):39-49. doi:10.31088/CEM2020.9.4.39-49.
14. Kit OI, Timofeeva SV, Sitkovskaya AO, et al. The biobank of the National Medical Research Centre for Oncology as a resource for research in the field of personalized medicine: A review. Journal of modern oncology. 2022;24(1):6-11. (In Russ.) Кит О. И., Тимофеева С. В., Ситковская А. О. и др. Биобанк ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России как ресурс для проведения исследований в области персонифицированной медицины. Современная онкология. 2022;24(1):6-11. doi:10.26442/18151434.2022.1.201384.
15. Krasnikova OV, Kondrat'eva AR, Badu SQ, et al. Potential diagnostic biomarkers of glioma in the liquid media of the body. Journal of Medical and Biological Research. 2022;10(1):52-63. (In Russ.) Красникова О. В., Кондратьева А. Р., Бадю С. К. и др. Потенциальные диагностические биомаркеры глиом в жидких средах организма. Журнал медико-биологических исследований. 2022;10(1):52-63. doi:10.37482/2687-1491-Z090.
16. Karschnia P, Smits M, Reifemberger G, et al. A framework for standardised tissue sampling and processing during resection of diffuse intracranial glioma: joint recommendations from four RANO groups. Lancet Oncol. 2023;24(11):e438-50. doi:10.1016/S1470-2045(23)00453-9.
17. Reynoso-Noverón N, Mohar-Betancourt A, Ortiz-Rafael J. Epidemiology of brain tumors. In: Monroy-Sosa A, ed. Principles of neuro-oncology: brain & skull base. Springer/Cham. 2020:15-25. ISBN: 978-3-030-54879-7.
18. Almabek AT, Kaidarova DR, Kim VB, et al. Features of radiation therapy in patients with brain metastases. Newsletter of KAZNMU. 2021;(1):57-60. (In Russ.) Алмабек А. Т., Кайдарова Д. Р., Ким В. Б. и др. Особенности лучевой терапии у пациентов с метастазами в головной мозг. Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2021;(1):57-60. doi:10.53065/kaznm.2021.84.42.013.
19. Pushkin AA, Gvaldin DYU, Timoshkina NN, et al. Analysis of Gene Expression Omnibus high-throughput sequencing data for the determination of microribonucleic acids in the blood plasma of patients with glioblastomas. Research and Practical Medicine Journal. 2022;9(1):54-64. (In Russ.) Пушкин А. А., Гвалдин Д. Ю., Тимошкина Н. Н. и др. Анализ данных высокопроизводительного секвенирования базы Gene Expression Omnibus для идентификации микроРНК в плазме крови пациентов с глиобластомой. Исследования и практика в медицине. 2022;9(1):54-64. doi:10.17709/2410-1893-2022-9-1-5.
20. Alliluev IA, Pushkin AA, Kuznetsova NS, et al. Estimation of the diagnostic significance of circulating microRNAs in blood plasma of patients with high grade gliomas. Modern problems of science and education. 2020;(6):135. (In Russ.) Аллилуев И. А., Пушкин А. А., Кузнецова Н. С. и др. Оценка диагностической значимости циркулирующих микроРНК в плазме крови пациентов с глиомами высокой степени злокачественности. Современные проблемы науки и образования. 2020;(6):135. doi:10.17513/spno.30309.
21. Gareev IF, Novicova LB, Beylerli OA. Circulating microRNAs as new potential biomarkers for the diagnosis of high-grade gliomas. SS Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry. 2019;119(5):86-90. (In Russ.) Гареев И. Ф., Новикова Л. Б., Бейлерли О. А. Циркулирующие микроРНК как новые потенциальные биомаркеры для диагностики высокозлокачественных глиом. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2019;119(5):86-90. doi:10.17116/jnevro201911905186.
22. Rehman AU, Khan P, Maurya SK, et al. Liquid biopsies to occult brain metastasis. Mol Cancer. 2022;21(1):113. doi:10.1186/s12943-022-01577-x.
23. Gvaldin DYU, Pushkin AA, Timoshkina NN, et al. Integrative analysis of mRNA and miRNA sequencing data for gliomas of various grades. Egypt J Med Hum Genet. 2020;21(73):1-17. doi:10.1186/s43042-020-00119-8.
24. Pushkin AA, Gvaldin DYU, Petrusenko NA, et al. miRNA levels of tumours and plasma in glioma patients. Modern Problems of Science and Education. 2023;(5). (In Russ.) Пушкин А. А., Гвалдин Д. Ю., Петрусенко Н. А. и др. Уровень опухолевых и внеклеточных микроРНК у пациентов с глиальными опухолями головного мозга. Современные проблемы науки и образования. 2023;(5). doi:10.17513/spno.32954.