

Российское общество профилактики
неинфекционных заболеваний
Российское кардиологическое общество
Национальный медицинский исследовательский
центр терапии и профилактической медицины

КАРДИОВАСКУЛЯРНАЯ ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА

Cardiovascular Therapy and Prevention (Russian)

SCOPUS 1,7
• Cardiovascular medicine
• Education



РОССИЙСКОЕ
КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО



Официальный сайт журнала

<https://cardiovascular.elpub.ru>

№ 11, 2025

Российское общество профилактики неинфекционных заболеваний

Российское кардиологическое общество

Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

Журнал зарегистрирован Министерством РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций 30.11.2001 (Свидетельство ПИ № 77-11335), новое свидетельство: ПИ № ФС 77-79891 от 18.12.2020

Журнал с открытым доступом

Журнал включен в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК, КИ

Журнал включен в Scopus, DOAJ Российский индекс научного цитирования (ядро), RSCI (Russian Science Citation Index)

Полнотекстовые версии всех номеров размещены на сайте Научной Электронной Библиотеки: www.elibrary.ru

Правила публикации авторских материалов и архив номеров: <https://cardiovascular.elpub.ru>

Информация о подписке: www.roscardio.ru/ru/subscription

Объединенный каталог "Пресса России": 42434 — для индивидуальных подписчиков 42524 — для предприятий и организаций

Перепечатка статей возможна только с письменного разрешения издательства

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несет рекламодатель

Периодичность: 12 раз в год

Установочный тираж: 5 000 экз.

Отдел рекламы и распространения Гусева А. Е. e-mail: guseva.silicea@yandex.ru

Ответственный переводчик Клешеногов А. С.

Компьютерная верстка Добрынина Е. Ю. Звёздкина В. Ю. Старцев Д. С.

Отпечатано: типография "OneBook", ООО "Сам Полиграфист", 129090, Москва, Протопоповский пер., д. 6 www.onebook.ru

Лицензия на шрифты № 180397 от 21.03.2018

Номер подписан в печать: 29.12.2025

Цена свободная

©КАРДИОВАСКУЛЯРНАЯ ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА

КАРДИОВАСКУЛЯРНАЯ ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА

Основан в 2002 г.

Том 24 11'2025

Главный редактор

Драпкина О. М. (Москва, Россия)

Заместители главного редактора

Голухова Е. З. (Москва, Россия)
Карпов Ю. А. (Москва, Россия)
Шальнова С. А. (Москва, Россия)

Редакционная коллегия

Научный редактор

Метельская В. А. (Москва, Россия)

Ответственный секретарь

Кутишенко Н. П. (Москва, Россия)

Рабочая группа

Бернс С. А. (Москва, Россия)
Горшков А. Ю. (Москва, Россия)
Киселев А. Р. (Москва, Россия)
Таратухин Е. О. (Москва, Россия)
Шепель Р. Н. (Москва, Россия)
Явелов И. С. (Москва, Россия)

Авксентьева М. В. (Москва, Россия)
Джозеф С. Альперт (Тусон, Аризона, США)
Бадтиева В. А. (Москва, Россия)
Баланова Ю. А. (Москва, Россия)
Бойцов С. А. (Москва, Россия)
Бубнова М. Г. (Москва, Россия)
Бузиашили Ю. И. (Москва, Россия)
Васюк Ю. А. (Москва, Россия)
Габинский Я. Л. (Екатеринбург, Россия)
Гальявич А. С. (Казань, Россия)
Глезер М. Г. (Москва, Россия)
Горбунов В. М. (Москва, Россия)
Гринштейн Ю. И. (Красноярск, Россия)
Джиоева О. Н. (Москва, Россия)
Калинина А. М. (Москва, Россия)

Кобалава Ж. Д. (Москва, Россия)
Комаров А. Л. (Москва, Россия)
Концевая А. В. (Москва, Россия)
Томас Люшер (Лондон, Великобритания)
Мамедов М. Н. (Москва, Россия)
Марцевич С. Ю. (Москва, Россия)
Небиеридзе Д. В. (Москва, Россия)
Недогода С. В. (Волгоград, Россия)
Ойроткинова О. Ш. (Москва, Россия)
Пекка Пуска (Хельсинки, Финляндия)
Подзолков В. И. (Москва, Россия)
Редько М. В. (Краснодар, Россия)
Скрипникова И. А. (Москва, Россия)
Толпыгина С. Н. (Москва, Россия)
Шляхто Е. В. (Санкт-Петербург, Россия)

Профессиональное образование

Заместитель главного редактора

Астанина С. Ю. (Москва, Россия)

Абдулганиева Д. И. (Казань, Россия)
Авдеева Е. А. (Красноярск, Россия)
Алисов Е. А. (Москва, Россия)
Андреева Н. Д. (Санкт-Петербург, Россия)
Ванчакова Н. П. (Санкт-Петербург, Россия)
Жарылкасынова Г. Ж. (Бухара, Узбекистан)

Кузнецова О. Ю. (Санкт-Петербург, Россия)
Мазуров В. И. (Санкт-Петербург, Россия)
Ниязов Л. Н. (Бухара, Узбекистан)
Плугина М. И. (Ставрополь, Россия)
Теремов А. В. (Москва, Россия)
Чумаков В. И. (Волгоград, Россия)

Редакция журнала

Заведующий редакцией

Минина Ю. В.

Корректор

Чекрыгина Л. Л.

Выпускающие редакторы

Родионова Ю. В.

Рыжов Е. А.

Рыжова Е. В.

Адрес редакции: 101990, Москва, Петроверигский пер., д. 10, стр. 3, e-mail: cardiovasc.journal@yandex.ru, Тел. +7 (499) 553 67 78

Издатель: ООО "Силица-Полиграф", e-mail: cardio.nauka@yandex.ru Тел. +7 (985) 768 43 18, www.roscardio.ru

Russian Society for Prevention
of Noncommunicable Diseases
Russian Society of Cardiology
National Medical Research
Center for Therapy
and Preventive Medicine

**Scientific peer-reviewed
medical journal**

Mass media registration certificate
ПИ № 77-11335 dated 30.11.2001,
new number: ПИ № 77-79891 dated 18.12.2020

Open Access

**The Journal is in the List of the leading
scientific journals and publications
of the Supreme Examination Board (VAK)**

**The Journal is included in Scopus, DOAJ,
Russian Science Citation Index (RSCI)**

Complete versions of all issues are published:
www.elibrary.ru

Instructions for authors:
<https://cardiovascular.elpub.ru>

Submit a manuscript:
<https://cardiovascular.elpub.ru>

Subscription:
www.roscardio.ru/ru/subscription

United catalogue "Pressa of Russia":
42434 — for individual subscribers
42524 — for enterprises and organizations

**For information on how to request permissions
to reproduce articles/information from this journal,
please contact with publisher**

**The mention of trade names, commercial products
or organizations, and the inclusion of advertisements
in the journal do not imply endorsement by editors,
editorial board or publisher**

Periodicity: 12 issues per year

Circulation: 5 000 copies

Advertising and Distribution department
Guseva Anna
e-mail: guseva.silicea@yandex.ru

Translator
Kleschenogov A. S.

Design, desktop publishing
Dobrynina E. Yu.
Zvezdkina V. Yu.
Startsev D. S.

Printed: OneBook, Sam Poligraphist, Ltd.
129090, Moscow, Protopopovskiy per., 6
www.onebook.ru

Font's license № 180397 от 21.03.2018

©CARDIOVASCULAR THERAPY AND PREVENTION

CARDIOVASCULAR THERAPY AND PREVENTION

founded in 2002

Vol.24 11'2025

Editor-In-Chief

Oxana M. Drapkina (Moscow, Russia)

Deputy Chief Editors

Elena Z. Golukhova (Moscow, Russia)
Yuri A. Karpov (Moscow, Russia)
Svetlana A. Shalnova (Moscow, Russia)

Editorial Board

Senior editor

Victoria A. Metelskaya (Moscow, Russia)

Executive Secretary

Natalia P. Kutishenko (Moscow, Russia)

Maria V. Avksentieva (Moscow, Russia)
Josef S. Alpert (Tucson, Arizona, USA)
Victoria A. Badtieva (Moscow, Russia)
Yulia A. Balanova (Moscow, Russia)
Sergey A. Boytsov (Moscow, Russia)
Marina G. Bubnova (Moscow, Russia)
Yuri I. Buziashvili (Moscow, Russia)
Yuri A. Vasyuk (Moscow, Russia)
Yan L. Gabinskiy (Ekaterinburg, Russia)
Albert S. Galyavich (Kazan, Russia)
Maria G. Glezer (Moscow, Russia)
Vladimir M. Gorbunov (Moscow, Russia)
Yuri I. Grinshteyn (Krasnoyarsk, Russia)
Olga N. Dzhihioeva (Moscow, Russia)
Anna M. Kalinina (Moscow, Russia)

Content Editors

Svetlana A. Berns (Moscow, Russia)
Alexandr Yu. Gorshkov (Moscow, Russia)
Anton R. Kiselev (Moscow, Russia)
Evgeny O. Taratukhin (Moscow, Russia)
Ruslan N. Shepel (Moscow, Russia)
Igor S. Yavelov (Moscow, Russia)

Zhanna D. Kobalava (Moscow, Russia)
Andrei L. Komarov (Moscow, Russia)
Anna V. Kontsevaya (Moscow, Russia)
Thomas Lüscher (London, UK)
Mekhman N. Mamedov (Moscow, Russia)
Sergey Yu. Martsevich (Moscow, Russia)
David V. Nebieridze (Moscow, Russia)
Sergey V. Nedogoda (Volgograd, Russia)
Olga Sh. Oynotkinova (Moscow, Russia)
Valery I. Podzolkov (Moscow, Russia)
Pekka Puska (Helsinki, Finland)
Michael V. Redko (Krasnodar, Russia)
Irina A. Skripnikova (Moscow, Russia)
Svetlana N. Tolpygina (Moscow, Russia)
Evgeny V. Shlyakhto (St. Petersburg, Russia)

Professional education

Deputy Chief Editor

Svetlana Y. Astanina (Moscow, Russia)
Diana I. Abdulganieva (Kazan, Russia)
Elena A. Avdeeva (Krasnoyarsk, Russia)
Evgeny A. Alisov (Moscow, Russia)
Natalia D. Andreeva (St. Petersburg, Russia)
Nina P. Vanchakova (St. Petersburg, Russia)
Gauhar Zh. Zharylkasynova (Bukhara,
Uzbekistan)

Olga Yu. Kuznetsova (St. Petersburg, Russia)
Vadim I. Mazurov (St. Petersburg, Russia)
Laziz N. Niyazov (Bukhara, Uzbekistan)
Maria I. Plugina (Stavropol, Russia)
Alexander V. Teremov (Moscow, Russia)
Vyacheslav I. Chumakov (Volgograd, Russia)

Editorial office

Editorial Assistant

Yulia V. Minina (Moscow, Russia)

Proofreader

Chekyrgina L. L. (Moscow, Russia)

Managing editors

Rodionova Yu. V. (Moscow, Russia)
Ryzhov E. A. (Moscow, Russia)
Ryzhova E. V. (Moscow, Russia)

Address: Petroverigskiy per., 10, str. 3; Moscow 101990, Russia
e-mail: cardiovasc.journal@yandex.ru; +7 (499) 553 67 78

Publisher: Silicea-Poligraf, e-mail: cardio.nauka@yandex.ru
Tel. +7 (985) 768 43 18, www.roscardio.ru

Содержание

Вступительное слово

5

Передовая статья

Борисова А. Л., Мешков А. Н., Покровская М. С., Метельская В. А., Драпкина О. М.

Стандартизация биобанкирования в России: оценка уровня внедрения, проблемы и перспективы

Оригинальные статьи

Куценко А. А., Васильева А. Г., Мельх Д. Р., Белокоровий Е. В., Попова И. С., Бирулина Ю. Г., Юрьев С. Ю., Франкевич В. Е.

Поиск новых биомаркеров для создания технологий в прогнозировании перинатального исхода беременности, осложненной гестационным диабетом

Мельник О. В., Злотина А. М., Фетисова С. Г., Фомичева Ю. В., Сокольникова П. С., Колесов А. А., Вершинина Т. Л., Васичкина Е. С., Костарева А. А., Конради А. О.

Возможности и перспективы использования биомедицинских ресурсных коллекций, полученных от пациентов детского возраста, в клинических и научных целях

Гусакова А. М., Кравченко Е. С., Сыркина А. Г., Огуркова О. Н., Суслова Т. Е., Рябов В. В.

Цитокиновый профиль у пациентов с инфарктом миокарда в возрасте 80 лет и старше

Балановская Е. В., Воронина М. М., Пономарев Г. Ю., Горин И. О., Борисова А. Л., Покровская М. С., Кошель С. М., Почешкхова Э. А., Адамов Д. С.

Использование популяционного биобанка для анализа геногеографической изменчивости в России и мире трех полиморфизмов, связанных с тяжелым течением COVID-19

Апалько С. В., Шиманский В. С., Попов О. С., Щущенцева Н. Н., Мосенко С. В., Асиновская А. Ю., Шчербак С. Г.

Роль биобанков в изучении частот аллелей в Российской популяции аллелей, ассоциированных с тяжестью течения и исходом COVID-19

Ноздрачева А. В., Семененко Т. А., Ермакова Т. В., Ковтун Л. О.

Мониторинг активности специфических антител к возбудителям инфекционных заболеваний по материалам биобанка

Монакова А. О., Басалова Н. А., Сагарадзе Г. Д., Шарутин И. В., Liang Yingying, Попов В. С., Ефименко А. Ю.

Получение клеточных культур из семенников крысы для исследований и разработки биологических лекарственных препаратов для восстановления сперматогенеза

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

Поиск диагностических микроРНК для идентификации опухолей головного мозга на базе низкотемпературного банка плазмы крови

Contents

Address to the readers

Editorial

Borisova A. L., Meshkov A. N., Pokrovskaya M. S., Metelskaya V. A., Drapkina O. M.

Biobanking standardization in Russia: assessment of the implementation, challenges and prospects

Original articles

Kutsenko A. A., Vasilyeva A. G., Melykh D. R., Belokorovskiy E. V., Popova I. S., Birulina Yu. G., Yuryev S. Yu., Frankevich V. E.

Search for novel biomarkers for predicting perinatal outcomes in pregnancy complicated by gestational diabetes

Melnik O. V., Zlotina A. M., Fetisova S. G., Fomicheva Yu. V., Sokolnikova P. S., Kolesov A. A., Vershinina T. L., Vasichkina E. S., Kostareva A. A., Konradi A. O.

Potential and prospects for using biomedical resource collections obtained from pediatric patients for clinics and research

Gusakova A. M., Kravchenko E. S., Syrkinina A. G., Ogurkova O. N., Suslova T. E., Ryabov V. V.

Cytokine profile in patients with myocardial infarction aged 80 years and older

Balanovskaya E. V., Voronina M. M., Ponomarev G. Yu., Gorin I. O., Borisova A. L., Pokrovskaya M. S., Koshel S. M., Pocheshkhova E. A., Adamov D. S.

Using a population biobank to analyze genogeographic variability in Russia and globally for three polymorphisms associated with severe COVID-19

Apalko S. V., Shimansky V. S., Popov O. S., Sushentseva N. N., Mosenko S. V., Asinovskaya A. Yu., Shcherbak S. G.

Role of biobanks in studying frequencies of alleles associated with COVID-19 severity and outcome in the Russian population

Nozdracheva A. V., Semenenko T. A., Ermakova T. V., Kovtun L. O.

Monitoring the activity of specific antibodies to pathogens based on biobank materials

Monakova A. O., Basalova N. A., Sagaradze G. D., Sharutin I. V., Liang Yingying, Popov V. S., Efimenko A. Yu.

Obtaining rat testicular cell cultures for research and development of biological drugs for spermatogenesis restoration

Kit O. I., Timoshkina N. N., Omelchuk E. P., Gvaldin D. Yu., Petrusenko N. A., Novikova I. A., Rostorguev E. E.

Search for diagnostic microRNAs for brain tumor identification using a low-temperature plasma bank

Киселева А. В., Сотникова Е. А., Жарикова А. А., Куценко В. А., Борисова А. Л., Шальнова С. А., Ершова А. И., Мешков А. Н., Драпкина О. М.
Оптимизация протокола приготовления библиотек для секвенирования циркулирующих микроРНК плазмы и сыворотки

Кумар Н. А., Тарасова Д. А., Буханова А. А., Маралова Е. Д., Циммер О. Я., Илларионов Р. А., Ивашечкин А. А., Емельянова Н. Б., Махотенко А. В., Азарян В. Б., Снигирь Е. А., Мухин В. Е., Юдин В. С.
Сравнительный анализ наборов для выделения нуклеиновых кислот из образцов крови и тканей животных

Киселева А. В., Сотникова Е. А., Жарикова А. А., Куценко В. А., Васильев Д. К., Покровская М. С., Ершова А. И., Мешков А. Н., Драпкина О. М.
Влияние долгосрочного хранения плазмы крови на профиль циркулирующих микроРНК

Бондаренко Е. В., Сухоруков В. С., Пигарова Е. А., Борисова А. Л., Покровская М. С., Мокрышева Н. Г.
Внедрение модулей по биобанкированию в образование студентов медицинских вузов и обучающихся по программе ординатуры

Обзор литературы

Апарцин К. А.
Создание сети банков фекальной микробиоты в Российской Федерации

102 *Kiseleva A. V., Sotnikova E. A., Zharikova A. A., Kutsenko V. A., Borisova A. L., Shalnova S. A., Ershova A. I., Meshkov A. N., Drapkina O. M.*
Optimization of a library preparation protocol for sequencing circulating plasma and serum microRNAs

112 *Kumar N. A., Tarasova D. A., Bukhanova A. A., Maralova E. D., Zimmer O. Ya., Illarionov R. A., Ivashchkin A. A., Emelyanova N. B., Makhotenko A. V., Azaryan V. B., Snigir E. A., Mukhin V. E., Yudin V. S.*
A comparative analysis of kits for nucleic acid extraction from animal blood and tissue samples

122 *Kiseleva A. V., Sotnikova E. A., Zharikova A. A., Kutsenko V. A., Vasiliev D. K., Pokrovskaya M. S., Ershova A. I., Meshkov A. N., Drapkina O. M.*
Effect of long-term plasma storage on the profile of circulating microRNAs

128 *Bondarenko E. V., Sukhorukov V. S., Pigarova E. A., Borisova A. L., Pokrovskaya M. S., Mokrysheva N. G.*
Implementation of biobanking modules in the education of medical students and residents

Literature review

134 *Apartsin K. A.*
Creation of a fecal microbiota bank network in the Russian Federation

Уважаемые читатели,

биобанкирование вносит значительный вклад в развитие персонализированной медицины в России и в мире. Уже шестой год наш журнал традиционно готовит номер, посвященный задачам биобанкирования.

Номер открывает статья *Борисовой А.Л. и соавт.* "Стандартизация биобанкирования в России: оценка уровня внедрения, проблемы и перспективы". Авторы провели анкетирование представителей биобанков — членов НАСБИО (Национальной ассоциации и специалистов по биобанкированию). Впервые в России проведено изучение степени внедрения международных стандартов биобанкирования в деятельность российских биобанков. Результаты опроса показали, что российские специалисты в области биобанкирования в целом демонстрируют приверженность качеству и заинтересованность в стандартизации деятельности биобанков.

В номер вошли двенадцать оригинальных статей, описывающих новейшие научные достижения биобанкирования. Например, на основе коллекций Биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России и Биобанка Северной Евразии определены частоты аллелей и генотипов генов *NFKB1A*, *TLR3*, *TMPRSS2*, ассоциированных с осложнениями при COVID-19 (COrona Virus Disease 2019). Изучена геногеография SNP-маркеров и выявлены закономерности их распределения в коренном народонаселении России и мира. Авторы составили карты геногеографической изменчивости, которые позволяют выявить регионы России и мира, для которых анализируемые ДНК-маркеры в наибольшей степени являются рисковыми при тяжелом течении COVID-19.

Генетические вариации в генах, кодирующих белки врождённого иммунитета, включая TLR-рецепторы, а также в генах, регулирующих интерфероновый ответ и воспаление, могут определять тяжесть COVID-19.

В другом исследовании изучена частота встречаемости четырех полиморфизмов генов *MUC5B* rs35705950, *TERT* rs2736100, *TLR3* rs3775290 и *TLR7* rs179008 в популяции, ассоциация которых с тяжестью COVID-19 уже доказана в международных



исследованиях, но не экстраполирована на российскую популяцию. Результаты подчеркивают ценность локальных биобанков для изучения популяционных особенностей распределения аллелей и выявления генетических факторов, влияющих на течение инфекционных заболеваний.

В обзорной статье приведено обоснование целесообразности создания национальной сети банков фекальной микробиоты (ФМ) с учетом мировой и российской нормативно-правовой практики, существующих ресурсов здравоохранения, при участии профильных общественных организаций. Широкое региональное разнообразие микробиома позволяет рассчитывать на выявление "супердоноров", внедрение персонализированной трансплантации ФМ на основе поддержки принятия врачебных решений. Внедрение сети банков ФМ увеличивает возможности метагеномной регуляции здоровья человека в Российской Федерации.

Приятного чтения,
Главный редактор,
д.м.н., профессор, академик РАН
Драпкина Оксана Михайловна

Стандартизация биобанкирования в России: оценка уровня внедрения, проблемы и перспективы

Борисова А. Л.¹, Мешков А. Н.¹, Покровская М. С.¹, Метельская В. А.^{1,2}, Драпкина О. М.¹

¹ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России.

Москва; ²ФГБОУ ДПО "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Минздрава России. Москва, Россия

Цель. Проведение оценки степени внедрения международных стандартов биобанкирования в деятельность российских биобанков — членов НАСБИО (Национальной ассоциации биобанков и специалистов по биобанкированию), а также готовности и заинтересованности специалистов в сертификации и аккредитации российских биобанков.

Материал и методы. Для оценки уровня стандартизации деятельности российских биобанков в июне 2025г была разработана анкета, включающая четыре блока вопросов, посвященных стандартизации процесса биобанкирования, внедрению систем менеджмента качества и перспективам сертификации. Анкетирование проводилось с июля по август 2025г среди представителей российских биобанков — членов НАСБИО. Для анализа результатов анкетирования применялись методы описательной статистики.

Результаты. В анкетировании приняли участие представители 20 организаций. Все участники опроса письменно подтвердили свое согласие на обработку персональных данных. Большинство участников опроса представляло биобанки, созданные на базе государственных научно-медицинских учреждений. Результаты опроса показали, что в российских биобанках применяются и активно внедряются обязательные процедуры управления качеством. При этом лишь четыре биобанка сертифицированы по стандарту Международной организации по стандартизации (ISO — International organization of standardization) 9001. Отмечена высокая заинтересованность специалистов в получении сертификатов соответствия ISO 20387.

Заключение. Результаты опроса показали, что российские специалисты в области биобанкирования в целом демонстрируют приверженность качеству и заинтересованность в стандартизации деятельности биобанков. Отсутствие в России четкого юридического

поля в отношении исследовательских биобанков образцов человека и аккредитованных органов по проведению сертификации биобанков по стандарту ISO 20387 остаются ограничивающими факторами для обмена коллекциями и их совместного использования в научных исследованиях и разработках.

Ключевые слова: биобанк, биобанкирование, система менеджмента качества, стандартизация, качество.

Отношения и деятельность. Государственное задание "Свободно циркулирующие микроРНК плазмы крови как диагностические и прогностические биомаркеры ИБС".

Благодарности. От имени участников рабочей группы НАСБИО "Стандартизация и управление качеством" авторы выражают признательность представителям биобанков, принявшим участие в опросе.

Поступила 04/09-2025

Рецензия получена 29/09-2025

Принята к публикации 06/10-2025



Для цитирования: Борисова А. Л., Мешков А. Н., Покровская М. С., Метельская В. А., Драпкина О. М. Стандартизация биобанкирования в России: оценка уровня внедрения, проблемы и перспективы. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4575. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4575. EDN: ZUKTPU

Biobanking standardization in Russia: assessment of the implementation, challenges and prospects

Borisova A. L.¹, Meshkov A. N.¹, Pokrovskaya M. S.¹, Metelskaya V. A.^{1,2}, Drapkina O. M.¹

¹National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow; ²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. Moscow, Russia

Aim. To assess the implementation of international standards in Russian biobanking — members of National Association of Biobanks and Biobanking Specialists (NASBIO), as well as the willingness and interest of specialists in certification and accreditation of Russian biobanks.

Material and methods. To assess the level of standardization of Russian biobanks in June 2025, a questionnaire was developed consisting of four sets of questions on biobanking standardization, the implementation of quality management systems, and the prospects for

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: a.borisova0108@gmail.com

[Борисова А. Л.* — н.с., руководитель лаборатории "Банк биологического материала" Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0003-4020-6647, Мешков А. Н. — д.м.н., руководитель Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0001-5989-6233, Покровская М. С. — к.б.н., в.н.с. лаборатории "Банк биологического материала" Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0001-6985-7131, Метельская В. А. — д.б.н., профессор, г.н.с. лаборатории изучения биохимических маркеров риска хронических нефункционных заболеваний им. Н. В. Перовой отдела фундаментальных и прикладных аспектов ожирения, ORCID: 0000-0001-8665-9129, Драпкина О. М. — д.м.н., профессор, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430].

Адреса организаций авторов: ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России, Петроввергский пер., 10, стр. 3, Москва, 101990, Россия; ФГБОУ ДПО "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Минздрава России, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, Москва, 125993, Россия.

Addresses of the authors' institutions: National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petroverigsky Lane, 10, bld. 3, Moscow, 101990, Russia; Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Barrikadnaya Str., 2/1-1, Moscow, 125993, Russia.

certification. A survey was conducted from July to August 2025 among representatives of Russian biobanks — NASBIO members. Descriptive statistics were used to analyze the survey results.

Results. Representatives of 20 organizations participated in the survey. All participants provided written consent to personal data processing. The majority of survey participants represented biobanks established at state research and medical institutions. The survey results showed that Russian biobanks apply and actively implement mandatory quality management procedures. However, only four biobanks are certified according to the International Organization for Standardization (ISO) 9001 standard. High interest among specialists in obtaining ISO 20387 certificates of conformity was noted.

Conclusion. The survey results showed that Russian biobanking specialists generally demonstrate a commitment to quality and an interest in standardizing biobank operations. The lack of a clear legal framework in Russia for research biobanks of human samples and accredited bodies for biobank certification according to ISO 20387 remain limiting factors for the exchange of collections and their shared use in research and development.

Keywords: biobank, biobanking, quality management system, standardization, quality.

Relationships and Activities. State assignment "Circulating Micro-RNAs in Plasma as Diagnostic and Prognostic Biomarkers of CAD".

Acknowledgments. On behalf of the participants of the NASBIO working group "Standardization and Quality Management", the authors are grateful to the biobank representatives who participated in the survey.

Borisova A. L.* ORCID: 0000-0003-4020-6647, Meshkov A. N. ORCID: 0000-0001-5989-6233, Pokrovskaya M. S. ORCID: 0000-0001-6985-7131, Metelskaya V. A. ORCID: 0000-0001-8665-9129, Drapkina O. M. ORCID: 0000-0002-4453-8430.

*Corresponding author:
a.borisova0108@gmail.com

Received: 04/09-2025

Revision Received: 29/09-2025

Accepted: 06/10-2025

For citation: Borisova A. L., Meshkov A. N., Pokrovskaya M. S., Metelskaya V. A., Drapkina O. M. Biobanking standardization in Russia: assessment of the implementation, challenges and prospects. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4575. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4575. EDN: ZUKTPU

НАСБИО — Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию, СМК — система менеджмента качества, СОП — стандартная операционная процедура, УНУ — уникальная научная установка, ЦКП — центр коллективного пользования, ISO — International organization of standardization (Международная организация по стандартизации).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Комплексный подход к управлению и стандартизация являются эффективными инструментами поддержания стабильной работы биобанка и обеспечения качества биоматериала.
- Международными и российскими экспертами создана нормативная база, позволяющая стандартизировать и гармонизировать деятельность биобанков и повысить качество биоматериала для научных исследований и биомедицинских разработок.

Что добавляют результаты исследования?

- Впервые в России проведено исследование, направленное на изучение степени внедрения международных стандартов биобанкирования в деятельность российских биобанков. Представлены результаты опроса, включающие данные о стандартизации операционной деятельности, внедрении процедур контроля качества образцов и управления рисками. Проведена оценка степени заинтересованности специалистов и готовности российских биобанков к сертификации по стандартам ISO 9001 и ISO 20387.

Key messages

What is already known about the subject?

- An integrated approach to management and standardization are effective tools for maintaining the stable operation of a biobank and ensuring the quality of biomaterial.
- International and Russian experts have created a regulatory framework that allows biobanking standardization and harmonization and the improvement of biomaterial quality for research and biomedical development.

What might this study add?

- For the first time in Russia, a study was conducted to examine the extent to which international biobanking standards are being implemented in Russian biobanks. The survey results are presented, including data on operation standardization, the implementation of sample quality control procedures, and risk management. An assessment was made of the level of interest among specialists and the readiness of Russian biobanks for certification according to ISO 9001 and ISO 20387.

Введение

Последнее десятилетие характеризуется активным развитием биобанкирования в России. Переход от частных исследовательских коллекций

биообразцов к профессиональным биобанкам, организованным в соответствии с передовым международным опытом, отмечается по всей стране. Биобанки различных типов создаются на базе науч-

ных, образовательных и лечебных учреждений, фармацевтических и биотехнологических компаний.

Международный опыт показывает, что по мере развития биобанкирования фокус внимания специалистов данной области смещался от количества образцов в хранилище в сторону их качества и соответствия потребностям исследователей [1]. Внедрение комплексных подходов к управлению и стандартизации является эффективным инструментом обеспечения качества биоматериала и поддержания стабильной деятельности биобанка. Оперативно реагируя на стремительное развитие биобанкирования во всем мире, Международная организация по стандартизации (International organization of standardization, ISO) в последние годы опубликовала и продолжает разработку целого ряда стандартов, применимых к деятельности биобанков. Международные стандарты в области биобанкирования — результат деятельности специалистов Технического комитета ISO/TC 276 Biotechnology, организованного в 2013г. На сегодняшний день ISO/TC 276 опубликован 41 стандарт, регламентирующий деятельность в области биотехнологий и биобанкирования различных типов биоматериала¹. Особого внимания в этом перечне заслуживает изданный в 2018г стандарт ISO 20387 Biotechnology — Biobanking — General requirements for biobanking, методической базой для которого послужили законодательство некоторых стран Европы, национальные и международные руководства и рекомендации в области биобанкирования (Передовые практики ISBER (International Society for Biological and Environmental Repositories, Международное общество биологических и экологических репозиториях), рекомендации организаций OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development, Организация экономического сотрудничества и развития), NCI (National Cancer Institute, Национальный институт рака), а также стандарты ISO (ISO 9001, ISO 15189, ISO 17025, ISO 13485 и др.) [2-5]. Основной целью разработки ISO 20387 стало повышение доверия к биобанкированию. Стандарт содержит требования, позволяющие биобанкам продемонстрировать свою компетентную работу и способность систематически предоставлять качественный биоматериал и ассоциированные с ним данные, необходимые для проведения научных исследований и новых биомедицинских разработок. С 2022г в России действует российская версия данного стандарта ГОСТ Р ИСО 20387-2021, разработанная Техническим комитетом № 326 "Биотехнологии" Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии (Росстандарт). С 2021г активным членом Технического комитета и одним из разработчиков российских стандартов по биобанкирова-

нию является российская Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО), объединяющая 49 организаций и 50 индивидуальных членов [6].

Благодаря усилиям международных и российских экспертов создана нормативная база, позволяющая гармонизировать деятельность биобанков и повысить качество биоматериала для научных исследований и биомедицинских разработок.

Цель настоящей работы — проведение оценки степени внедрения международных стандартов биобанкирования в деятельность российских биобанков — членов НАСБИО, а также готовности и заинтересованности специалистов в сертификации и аккредитации российских биобанков.

Материал и методы

Для оценки уровня стандартизации деятельности российских биобанков в июне 2025г участниками рабочей группы НАСБИО "Стандартизация и управление качеством" была разработана анкета, включающая несколько блоков вопросов. Первый блок состоял из общих вопросов, включая тип и год создания биобанка, его юридическую форму и ведомственную принадлежность, наличие уникальной научной установки (УНУ), центра коллективного пользования (ЦКП) на базе биобанка, а также краткое описание инфраструктуры и типов биоматериала, размещенных на хранение. Второй блок был направлен на изучение степени внедрения в биобанках обязательных процедур системы менеджмента качества (СМК), таких как управление документацией и записями; управление рисками, анализ эффективности и проведение внутренних аудитов; управление ресурсами биобанка (инфраструктура, персонал). Третий и четвертый блоки были посвящены вопросам внедрения, сертификации и аккредитации СМК биобанка. Анкетирование проводилось с июля по август 2025г среди представителей российских биобанков — членов НАСБИО. Для анализа результатов анкетирования применялись методы описательной статистики.

Результаты

В анкетировании приняли участие представители 20 организаций — членов НАСБИО. Все участники опроса письменно подтвердили свое согласие на обработку персональных данных.

Блок 1. "Общая информация об организации"

Раздел включал вопросы о юридической принадлежности учреждения и типе биобанка. При ответе на данные вопросы были допустимы несколько вариантов ответов.

Большинство участников опроса заявили о принадлежности биобанков государственным учреждениям различных ведомств (4 участника — государственные медицинские организации, 5 — государственные научные организации, 4 — государственные научно-медицинские организации, 5 — высшие учебные заведения). Также в опросе приняли участие представители одной частной на-

¹ <https://www.iso.org/committee/4514241/x/catalogue/p/1/u/0/w/0/d/0>.

учно-медицинской компании и одного стартапа в области биотехнологий. Распределение биобанков по типу представлено на рисунке 1.

Важным аспектом деятельности биобанка является стандартизация и гармонизация данных, ассоциированных с образцами. Разработаны руководства по описанию преаналитического этапа работы с биоматериалом, такие как BRISQ (Biospecimen Reporting for Improved Study Quality) [7] и его адаптированная версия на русском языке [8], и SPREC (Standard PREanalytical Code) [9, 10]. Внедрение этих инструментов позволяет упростить обмен данными между различными биобанками, повысить качество биообразцов, а, соответственно, и исследований, в которых эти образцы используются. Опрос показал, что стандарты описания образцов используют лишь в 4 биобанках из 20 (BRISQ — 3 биобанка, SPREC — 1 биобанк), в 6 биобанках в настоящий момент ведется работа по их внедрению.

Для систематизированного сбора и хранения данных в биобанках используют специализированные информационные системы, которые могут представлять собой как простые программы учета и регистрации местоположения биообразцов в хранилище, так и сложные технические платформы, объединяющие несколько баз данных, содержащих различные категории информации, включая медицинские, лабораторные, преаналитические и др. Из 20 опрошенных биобанков представители 5 сообщили, что не используют информационные системы для регистрации и хранения данных, ассоциированных с биообразцами, 4 биобанка используют собственные разработки. Среди оставшихся респондентов, использующих специализированные программные продукты, 4 биобанка заявили об использовании зарубежных программ (FreezerPRO, Samples), 5 биобанков используют российские коммерческие продукты ("Геном Эксперт", "Арктикс"), один биобанк хранит данные в лабораторной информационной системе и один биобанк не указал производителя используемого программного обеспечения.

Блок 2. "Стандартизация процесса биобанкирования"

В данном разделе анкеты респондентам было предложено ответить на вопросы, связанные с процессом биобанкирования и управления биобанком — стандартизация операционной деятельности и организация документооборота (наличие и внедрение в деятельность стандартных операционных процедур (СОП) и регламентированных форм бланков и журналов), наличие процедур контроля качества образцов, управления инфраструктурой биобанка, персоналом, рисками.

В 16 (80%) биобанках процесс биобанкирования (сбор, транспортировка, обработка, хранение,

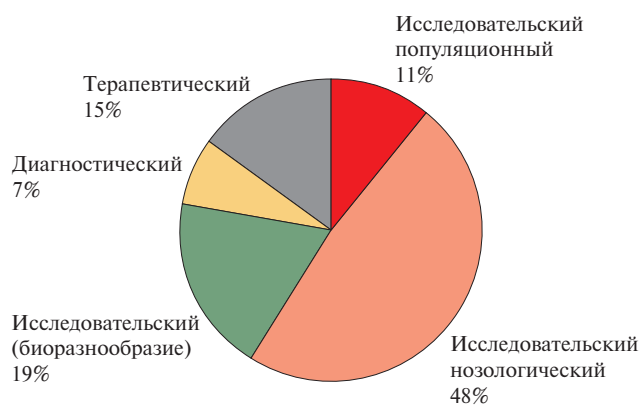


Рис. 1 Распределение биобанков-участников опроса по типу.

выдача биообразцов) осуществляют в соответствии с СОП, представители 3 биобанков сообщили, что СОП находятся на этапе разработки; 70% биобанков используют унифицированные формы бланков и журналов, необходимых для фиксации информации о выполнении этапов биобанкирования и техническом состоянии инфраструктуры.

В большинстве биобанков применяют или внедряют в настоящий момент инструкции по реагированию персонала на аварийные ситуации, что является обязательным требованием большинства стандартов и рекомендаций по биобанкированию [4, 11-13]. Стоит отметить, что для максимальной эффективности этой меры данную СОП необходимо ежегодно пересматривать, вносить необходимые изменения и дополнения и не <2 раз/год проводить инструктаж на рабочем месте и оценку знания сотрудниками содержания инструкции.

Большинство аварийных ситуаций в биобанке тесно связано с техническим состоянием помещений, инженерных коммуникаций и оборудования хранилища. Именно поэтому наличие отлаженной системы планово-предупредительных работ и технического обслуживания объектов инфраструктуры позволяет минимизировать количество сбоев в работе биобанка, снизить расходы на эксплуатацию и внеплановый ремонт, а также обеспечить надежное хранение биоматериала и данных в необходимых условиях. Опрос показал, что процесс управления инфраструктурой стандартизирован в 45% биобанков, и еще в 25% биобанков находится на этапе внедрения.

В последние годы неотъемлемой частью деятельности многих организаций стали мероприятия по управлению рисками, направленные на выявление, анализ и минимизацию событий, реализация которых способна повлечь за собой негативные последствия и убытки. Для биобанка это прежде всего происшествия, которые, в конечном счете, могут негативно повлиять на качество биообразцов и связанных с ними данных [11, 12, 14, 15]. Внедре-

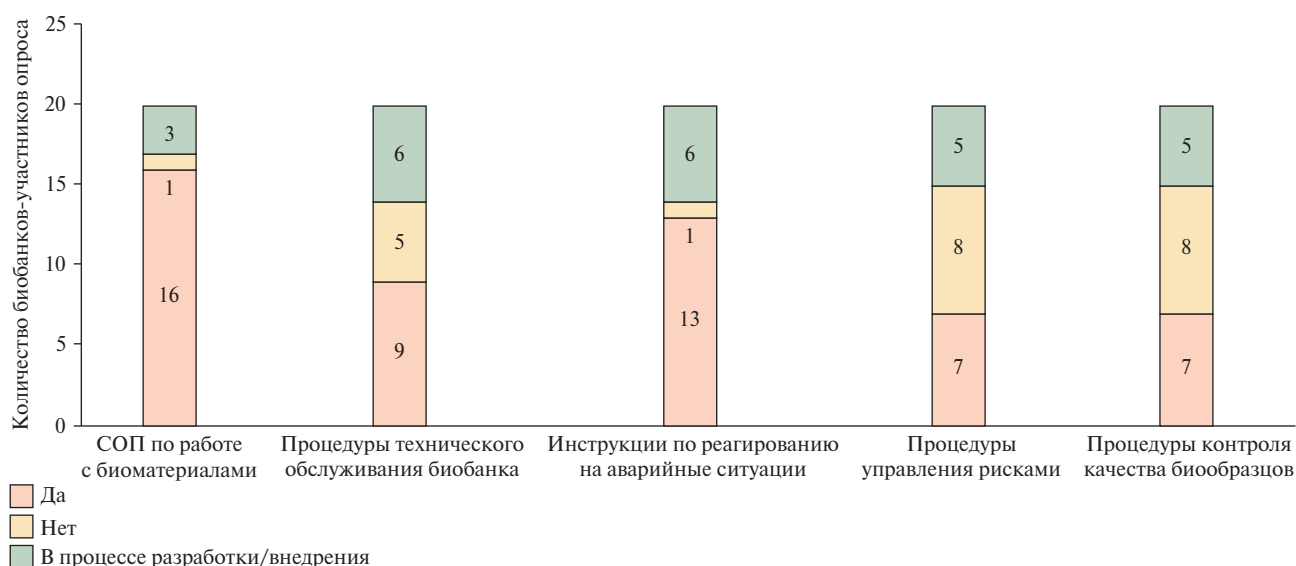


Рис. 2 Распределение ответов биобанков-участников опроса на вопросы, связанные со стандартизацией процесса биобанкирования и управления биобанком.

Примечание: СОП — стандартная операционная процедура.

ние процедур управление рисками — обязательное требование стандартов ISO 9001 и ISO 20387. Разнообразие рисков, способных повлиять на стабильную и эффективную работу современных биобанков, ставит перед специалистами задачи по созданию и внедрению устойчивой системы управления рисками, включающей процедуры идентификации, анализа, оценки и разработки мероприятий, минимизирующих или исключающих потенциальные негативные последствия для процесса биобанкирования и деятельности биобанка в целом. Результаты опроса показали, что процесс управления рисками внедрен лишь в 7 биобанках из 20, в 5 биобанках процедура находится на этапе внедрения. Распределение ответов на вопросы, связанные со стандартизацией процесса биобанкирования и управления биобанком представлено на рисунке 2.

Неконтролируемый рост коллекций, низкая востребованность образцов исследователями, сложные процедуры доступа к ресурсам биобанков потенциально представляют угрозу отрасли биобанкирования, как финансовую, так и этическую [16-18]. Контроль показателя востребованности образцов и усилия по привлечению исследователей к использованию коллекций биобанка — необходимый компонент системы управления его деятельностью. Мы попросили респондентов рассчитать уровень востребованности образцов их биобанков. Для этого было предложено разделить количество использованных образцов на общее количество поступивших образцов и умножить результат на 100%. В результате 7 биобанков заявили об уровне востребованности <10%, 8 биобанков — от 10 до 30%, 3 биобанка предоставили для дальнейших исследований >30% всей коллекции.

Ключевой целью создания и функционирования каждого биобанка является поддержание достижений в области медицины и здравоохранения, поэтому показатели эффективности работы биобанка должны отражать его вклад в достижение этой цели [19, 20]. Респондентам был задан вопрос, по каким критериям и с какой периодичностью они оценивают эффективность своей работы. Представители 4 (20%) биобанков заявили об отсутствии критериев оценки деятельности, 7 (35%) респондентов оставили данный вопрос без ответа, а ответившие (45%) приводили различные критерии, среди которых представлены как параметры и свойства образцов, хранимых в биобанке (целостность и чистота образцов; соблюдение протоколов сбора, обработки и хранения образцов; процент брака; результаты инвентаризации; количество генотипированных и отсекаемых штаммов микроорганизмов; количество штаммов с изученными биологическими свойствами и др.), так и общая оценка деятельности хранилища и его вклада в исследовательскую деятельность организации: количество новых проектов/договоров; общее количество поступивших и выданных образцов; отношение выданных образцов к поступившим (коэффициент использования коллекций); заполненность хранилища; количество публикаций с использованием образцов биобанка; выполнение государственных заданий, научно-исследовательских работ и др. Для большинства биобанков анализ эффективности проводится 1 раз/год и оформляется в форме отчета, а в 1 биобанке — ежемесячно. Стабильность работы технических систем биобанка также является критерием оценки эффективности его деятельности. Были приведены такие параметры, как

стабильность условий хранения (отсутствие аварий и нарушений температурного режима) и общее количество аварийных ситуаций в течение года.

Блок 3. "СМК биобанка"

О наличии в биобанке сертифицированной СМК по стандарту ISO 9001 сообщили представители 4 (20%) биобанков, из них 2 биобанка сертифицированы в рамках сертификации организаций, в структуру которых они входят; 5 биобанков заинтересованы в сертификации по ISO 9001, 6 — в получении аккредитации по ISO 20387.

О планах по разработке и внедрению СМК заявили 11 (55%) биобанков, а о последующей сертификации внедренных СМК — лишь 7 биобанков. В случае, если в организации не выделены дополнительные ресурсы на проведение сертификации и внешних аудитов, но есть цель обеспечить повышение качества услуг биобанкирования, оптимизировать и стандартизировать процессы, привлечь новых потребителей путем улучшения имиджа биобанка, внедрение и поддержание СМК без последующей сертификации является допустимой практикой. Распределение ответов на вопрос о степени готовности биобанка к сертификации/аккредитации было следующим: "скорее готов" — 6; "скорее не готов" — 11; "совершенно не готов" — 2. Из 11 биобанков, неготовых к сертификации, 6 готовы воспользоваться услугами консалтинговых компаний, в случае если будет запланирована сертификация СМК.

Блок 4. "Перспективы сертификации СМК биобанка"

Ответы на вопрос о необходимости сертификации СМК биобанка распределились следующим образом: "да" — 3 (15%), "скорее да" — 15 (75%), "скорее нет" — 2 (10%). Респондентам в свободной форме было предложено ответить на вопрос, каковы, на их взгляд, преимущества сертифицированного/аккредитованного биобанка перед другими. Полученные ответы можно разделить на четыре категории: 1) репутационные ("доверие потребителей", "улучшение имиджа", "статус", "юридическая и этическая надежность"); 2) управленческие ("стандартизация", "оптимизация процессов", "снижение рисков", "повышение эффективности и качества работы"); 3) стратегические ("возможность взаимодействия с другими биобанками, научными организациями", "преимущество при подаче заявок на гранты и заключении договоров с частными компаниями", "возможности трансфера образцов", "привлечение новых клиентов", "сотрудничество на национальном и международном уровне" и т.д.); 4) операционные ("гарантия качества образцов и связанных с ними данных", "подтверждение высокого качества проведения процесса биобанкирования", "возможность получения более надежных данных" и т.д.). При этом два респондента оставили вопрос без ответа, а один

Таблица 1

Результаты опроса участников по блокам "СМК биобанка", "Перспективы сертификации СМК биобанка"

Варианты ответа	Результат, n (%)
Внедрена ли в Вашем биобанке СМК, если нет, планируется ли её разработка и внедрение?	
Да	4 (20)
Нет	5 (25)
Планируется	11 (55)
Если да, пользовались ли услугами консалтинговой компании при разработке и внедрении СМК в Вашем биобанке?	
Да	2 (10)
Нет	10 (50)
Нет ответа	8 (40)
Если планируется, будете ли вы пользоваться услугами консалтинговой компании при разработке и внедрении СМК в Вашем биобанке?	
Да	9 (45)
Нет	6 (30)
Нет ответа	5 (25)
Сертифицирована ли СМК Вашего биобанка, если нет, планируется ли её сертификация?	
Да	2 (10)
Нет	8 (40)
Сертифицирована вся организация	2 (10)
Планируется	6 (30)
Заинтересованы ли Вы в сертификации СМК Вашего биобанка по стандарту ISO 9001 "Системы менеджмента качества — Общие требования"?	
Да	17 (85)
Нет	2 (10)
Нет ответа	1 (5)
Заинтересованы ли Вы в аккредитации Вашего биобанка по стандарту ISO 20387 "Биотехнологии — Биобанкинг — Общие требования"?	
Да	18 (90)
Нет	2 (10)
Выделены ли в организации ресурсы на поддержание СМК биобанка (менеджер по качеству, проведение внешних аудитов, сертификация/аккредитация)?	
Да	4 (20)
Нет	14 (70)
Не знаю	2 (10)
Считаете ли Вы сертификацию СМК биобанка обязательной?	
Да	3 (15)
Скорее да	15 (75)
Скорее нет	2 (10)
Нет	0 (0)
На Ваш взгляд, насколько Ваш биобанк готов в сертификации/аккредитации?	
Совершенно не готов	1 (5)
Скорее не готов	11 (55)
Скорее готов	6 (30)
Полностью готов	0 (0)
Сертифицирован	2 (10)
Считаете ли Вы необходимым внедрение СМК во всех российских биобанках?	
Да	7 (35)
Скорее да	12 (60)
Скорее нет	1 (5)
Нет	0 (0)

Примечание: СМК — система менеджмента качества.

сообщил, что, на его взгляд, в текущий момент преимущества неочевидны.

Большинство биобанков, принявших участие в опросе, ведут научно-исследовательскую работу совместно с другими организациями (80%) и предоставляют услуги биобанкирования внешним потребителям (55%). Одной из форм такого взаимодействия является создание на базе биобанка ЦКП и УНУ. ЦКП и УНУ созданы в 6 (30%) биобанках и еще в 3 (15%) их создание планируется в ближайшее время. Общие результаты опроса по блокам 3 и 4 представлены в таблице 1.

Обсуждение

Развитие биобанкирования в России, как и во всем мире, — надежная основа повышения эффективности и качества биомедицинских исследований. Поэтому внедрение единых стандартов биобанкирования, описания коллекций и управления хранилищем — одна из ключевых задач на пути к созданию российской сети биобанков. Результаты опроса показали, что российские специалисты в области биобанкирования в целом демонстрируют приверженность качеству и заинтересованность в стандартизации деятельности своих биобанков.

Оценка соответствия стандарту — это возможность продемонстрировать компетентность организации в определенной области. Существует три уровня подтверждения соответствия: а) самостоятельное заявление о соответствии (внедрение и поддержание СМК без последующей сертификации); б) независимая оценка соответствия второй стороной (например, потребителем услуг или партнером); в) оценка соответствия третьей стороной, в качестве которой выступает независимый аккредитованный орган по сертификации. При успешном прохождении аудита аккредитованного органа организация получает сертификат соответствия как подтверждение того, что продукт, процесс или услуга соответствуют установленным в стандарте требованиям [5].

На сегодняшний день ни один аккредитованный в России орган по сертификации не предоставляет услуги по оценке соответствия биобанков стандарту ISO 20387/ГОСТ Р ИСО 20387, что, очевидно, связано со значительными затратами на получение соответствующей аккредитации и обучение аудиторов при низкой востребованности среди российских биобанков. В то же время, результаты опроса демонстрируют заинтересованность специалистов в получении сертификатов соответствия ISO 20387, несмотря на довольно неоднозначные аргументы и сомнения в отношении необходимости всеобщей сертификации. Второй важной проблемой на пути внедрения стандартов качества в российских биобанках можно назвать ограниченность ресурсов, как финансовых, так и человеческих. Представители 14 (70%) биобанков сообщили о том, что ресурсы на

разработку и поддержание СМК в биобанке, включая ставку менеджера по качеству и бюджет на дальнейшую сертификацию, не выделяются.

Все больше зарубежных биобанков проходят процесс аккредитации в соответствии со стандартом ISO 20387 для подтверждения своей компетентности в области биобанкирования и повышения доверия к своей деятельности со стороны исследователей, общества и регулирующих органов [21]. Создание масштабных платформ поиска и запроса образцов, таких как BBMRI-ERIC Locator² (Biobanking and BioMolecular resources Research Infrastructure — European Research Infrastructure Consortium) стимулируют данный процесс, формируя для участников проекта требования к качеству образцов и стандартам их описания [22, 23]. В основе создания данной платформы лежит принцип FAIR (Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable), который в последние годы все чаще используется в контексте деятельности биобанков и предполагает обеспечение возможности поиска, доступности, совместимости и повторного использования биообразцов и связанных с ними данных [24–26]. Следование принципу FAIR в биобанкировании решает проблему низкой востребованности образцов и снижает воздействие таких последствий от упущенных возможностей обмена биологическими образцами, как финансовые и временные затраты на дублирование когорт, конкуренцию за инфраструктурные ресурсы, особенно в биобанках, финансируемых из государственного бюджета, а также затраты на доверие пациентов и доноров, предоставляющих свои образцы [26, 27]. Опрос 2017–2018гг, посвященный оценке эффективности работы биобанков и уровня востребованности образцов, участие в котором приняли 276 биобанков по всему миру, показал в целом очень низкий уровень использования образцов, большинство биобанков сообщили об использовании <10% своих коллекций [18]. Результаты нашего опроса вселяют больший оптимизм.

В 2022г экспертная группа НАСБИО проводила опрос, посвященный информатизации работы биобанков и перспективам внедрения единой национальной информационной платформы биобанков России [28]. И, если в 2022г >50% биобанков в России использовали зарубежные программные продукты учета образцов, то в 2025г их число сократилось до 20%.

Предпринимаются попытки стимулирования более эффективного использования ресурсов биобанков. Голландское агентство по финансированию исследований в области здравоохранения ZonMW³ для ряда грантов обязательным условием сделало повторное использование существующих исследовательских

² <https://locator.bbMRI-eric.eu/>.

³ <https://www.zonmw.nl/nl/programma/personalised-medicine>.

инфраструктур [18, 29]. Министерство науки и высшего образования Российской Федерации в рамках реализации Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019-2030 гг провело конкурс исследовательских проектов по созданию и развитию биоресурсных коллекций⁴.

Система стандартизации работы и гармонизации данных многих зарубежных биобанков формируется на базе принятых на государственном уровне законодательных актов [5]. В Российской Федерации в текущий момент отсутствует нормативная база, регулирующие деятельность исследовательских биобанков образцов человека, за исключением некоторых положений ФЗ от 23.06.2016 № 180-ФЗ "О биомедицинских клеточных продуктах"⁵ и Приказа Минздрава России № 842н "Об утверждении требований к организации и деятельности биобанков и правил хранения биологического материала, клеток для приготовления клеточных линий, клеточных линий, предназначенных для производства биомедицинских клеточных продуктов, биомедицинских клеточных продуктов"⁶. Отсутствие четкого правового поля остается ограничивающим фактором для обмена коллекциями, их совместного использования и проведения масштабных многоцентровых исследовательских проектов федерального уровня.

Заключение

Мы надеемся, что информация, представленная в настоящей статье, станет для российского

сообщества специалистов по биобанкированию стимулом к внедрению систем управления и стандартов качества в деятельность биобанков. Однако на пути всеобщей стандартизации биобанкирования в России отмечается наличие нескольких стратегических проблем. Первая из них связана с отсутствием юридического поля, в рамках которого осуществляется деятельность исследовательских биобанков, а вторая — с отсутствием в настоящий момент аккредитованных органов по проведению сертификации биобанков по стандарту ISO 20387.

Поскольку качественные образцы и их подробная аннотация становятся необходимой основой для проведения биомедицинских исследований и разработок, преимущество будет на стороне биобанков, способных продемонстрировать и документально подтвердить приверженность качеству и эффективность своей работы. И стандартизация — это инструмент гармонизации методов пробоподготовки и хранения биоматериала, гарантия полноты и достоверности информации, связанной с образцами, применение прозрачных политик доступа к ресурсам биобанков, способствующий повышению доверия со стороны доноров и исследователей и развитию сотрудничества между биобанками.

Благодарности. От имени участников рабочей группы НАСБИО "Стандартизация и управление качеством" авторы выражают признательность представителям биобанков, принявшим участие в опросе (приложение 1).

Отношения и деятельность. Государственное задание "Свободно циркулирующие микроРНК плазмы крови как диагностические и прогностические биомаркеры ИБС".

⁴ https://minobrnauki.gov.ru/documents/?ELEMENT_ID=96205&sphrase_id=8615597.

⁵ <https://roszdravnadzor.gov.ru/biomedical/documents/70568>.

⁶ <http://publication.pravo.gov.ru/document/0001201804020034>.

Литература/References

1. Simeon-Dubach D, Watson P. Biobanking 3.0: evidence based and customer focused biobanking. Clin Biochem. 2014;47(4-5):300-8. doi:10.1016/j.clinbiochem.2013.12.018.
2. Furuta K, Allocca CM, Schacter B, et al. Standardization and Innovation in Paving a Path to a Better Future: An Update of Activities in ISO/TC276/WG2 Biobanks and Bioresources. Biopreserv Biobank. 2018;16(1):23-7. doi:10.1089/bio.2017.0117.
3. Müller H, Dagher G, Loibner M, et al. Biobanks for life sciences and personalized medicine: importance of standardization, biosafety, biosecurity, and data management. Curr Opin Biotechnol. 2020;65:45-51. doi:10.1016/j.copbio.2019.12.004.
4. Borisova AL, Pokrovskaya MS, Meshkov AN, et al. ISO 20387 biobanking standard. Analysis of requirements and experience of implementation. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Russian Clinical Laboratory Diagnostics]. 2020;65(9):587-92. (In Russ.) Борисова А. Л., Покровская М. С., Мешков А. Н. и др. Стандарт по биобанкированию ISO 20387. Анализ требований и опыт внедрения. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65(9):587-92. doi:10.18821/0869-2084-2020-65-9-587-592.
5. Dagher G. Quality matters: International standards for biobanking. Cell Prolif. 2022;55(8):e13282. doi:10.1111/cpr.13282.
6. Anisimov SV, Meshkov AN, Glotov AS, et al. National Association of Biobanks and Biobanking Specialists: New Community for Promoting Biobanking Ideas and Projects in Russia. Biopreserv Biobank. 2021;19(1):73-82. doi:10.1089/bio.2020.0049.
7. Moore HM, Kelly A, Jewell SD, et al. Biospecimen Reporting for Improved Study Quality. Biopreserv Biobank. 2011;9(1):57-70. doi:10.1089/bio.2010.0036.
8. Sivakova OV, Pokrovskaya MS, Metelskaya VA, et al. International rules for description of biospecimens are an important factor in improving the quality of researches. Russian Journal of Preventive Medicine. 2019;22(6):95-9. (In Russ.) Сивакова О. В., Покровская М. С., Метельская В. А. и др. Международные правила описания биообразцов — важный фактор повышения качества научных исследований. Профилактическая медицина. 2019;22(6):95-9. doi:10.17116/profmed20192206295.
9. Lehmann S, Guadagni F, Moore H, et al. Standard preanalytical coding for biospecimens: review and implementation of the Sample PREanalytical Code (SPREC). Biopreserv Biobank. 2012; 10(4):366-74. doi:10.1089/bio.2012.0012.
10. Betsou F, Bilbao R, Case J, et al. Standard PREanalytical Code Version 3.0. Biopreserv Biobank. 2018;16(1):9-12. doi:10.1089/bio.2017.0109.

11. Henderson MK, Simeon-Dubach D, Zaayenga A. When bad things happen: lessons learned from effective and not so effective disaster and recovery planning for biobanks. *Biopreserv Biobank*. 2013;11(4):193. doi:10.1089/bio.2013.1141.
12. Akyüz K, Chassang G, Goisauf M, et al. Biobanking and risk assessment: a comprehensive typology of risks for an adaptive risk governance. *Life Sci Soc Policy*. 2021;17(1):10. doi:10.1186/s40504-021-00117-7.
13. Parry-Jones A, Allocca CM. Best Practices Make Perfect. *Biopreserv Biobank*. 2023;21(6):533-4. doi:10.1089/bio.2023.29128. editorial.
14. Sargsyan K, Jaksá B, Hartl G, Macheiner T. Risk Management in Biobanks. In: *Risk Management and Assessment*. Eds. Rocha J, Oliveira S, Capinha C. London, IntechOpen. 2020;1-32. ISBN: 978-1-83880-795-5. doi:10.5772/intechopen.91463.
15. Borisova AL, Pokrovskaya MS, Meshkov AN, et al. Risk management in biobanking. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3400. (In Russ.) Борисова А. Л., Покровская М. С., Мешков А. Н. и др. Управление рисками в биобанкировании. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3400. doi:10.15829/1728-8800-2022-3400.
16. Langhof H, Kahrs H, Sievers S, Strech D. Access policies in biobank research: what criteria do they include and how publicly available are they? A cross-sectional study. *Eur J Hum Genet*. 2017;25(3):293-300. doi:10.1038/ejhg.2016.172.
17. Bledsoe MJ, Sexton KC. Ensuring Effective Utilization of Biospecimens: Design, Marketing, and Other Important Approaches. *Biopreserv Biobank*. 2019;17(3):248-57. doi:10.1089/bio.2019.0007.
18. Henderson MK, Goldring K, Simeon-Dubach D. Advancing Professionalization of Biobank Business Operations: Performance and Utilization. *Biopreserv Biobank*. 2019;17(3):213-8. doi:10.1089/bio.2019.0005.
19. Shaw DM, Elger BS, Colledge F. What is a biobank? Differing definitions among biobank stakeholders. *Clin Genet*. 2014;85(3):223-7. doi:10.1111/cge.12268.
20. Rush A, Catchpole DR, Ling R, et al. Improving Academic Biobank Value and Sustainability Through an Outputs Focus. *Value Health*. 2020;23(8):1072-8. doi:10.1016/j.jval.2020.05.010.
21. De Blasio P, Biunno I. New Challenges for Biobanks: Accreditation to the New ISO 20387:2018 Standard Specific for Biobanks. *BioTech (Basel)*. 2021;10(3):13. doi:10.3390/biotech10030013.
22. Meinung B, Martin D, Zimmermann U. Standardization in biobanking — between cooperation and competition. *J Lab Med*. 2019;43(6):317-28. doi:10.1515/labmed-2019-0105.
23. Engels C, Kern J, Dudová Z, et al. The sample locator: A federated search tool for biosamples and associated data in Europe using HL7 FHIR. *Comput Biol Med*. 2024;180:108941. doi:10.1016/j.compbimed.2024.108941.
24. Wilkinson MD, Dumontier M, Aalbersberg IJ, et al. The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship. *Sci Data*. 2016;3:160018. doi:10.1038/sdata.2016.18.
25. Holub P, Kohlmayer F, Prasser F, et al. Enhancing Reuse of Data and Biological Material in Medical Research: From FAIR to FAIR-Health. *Biopreserv Biobank*. 2018;16(2):97-105. doi:10.1089/bio.2017.0110.
26. Rush A, Byrne JA, Watson PH. Applying Findable, Accessible, Interoperable, and Reusable Principles to Biospecimens and Biobanks. *Biopreserv Biobank*. 2024;22(6):550-6. doi:10.1089/bio.2023.0110.
27. Baláž V, Jeck T, Balog M. Economics of Biobanking: Business or Public Good? Literature Review, Structural and Thematic Analysis. *Soc Sci*. 2022;11(7):288. doi:10.3390/socsci11070288.
28. Meshkov AN, Yartseva OYu, Borisova AL, et al. The concept of the national information platform of biobanks of the Russian Federation. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3417. (In Russ.) Мешков А. Н., Ярцева О. Ю., Борисова А. Л. и др. Концепция национальной информационной платформы биобанков Российской Федерации. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3417. doi:10.15829/1728-8800-2022-3417.
29. van der Stijl R, Manders P, Eijdemans EWHM. Recommendations for a Dutch Sustainable Biobanking Environment. *Biopreserv Biobank*. 2021;19(3):228-40. doi:10.1089/bio.2021.0011.

Приложение 1

Представители биобанков, принявшие участие в опросе

ФИО представителя	Наименование организация
Апалько Светлана Вячеславовна	СПб ГБУЗ "Городская больница № 40"
Акопян Гульнара Важавна	ФБГУ "ИНВХ им. В. К. Гусака" Минздрава России
Апарцин Константин Анатольевич	ООО "Байкальский центр биомедицинских исследований"
Белькова Наталья Леонидовна	ФГБНУ "Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека"
Бирулина Юлия Георгиевна	ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России
Борисова Анна Львовна	ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России
Великомолова Юлия Борисовна	ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России
Гаевая Александра Сергеевна	ГБУЗ "Оренбургская областная клиническая станция переливания крови"
Глотов Андрей Сергеевич	ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта"
Гомыранова Наталья Вячеславовна	ФГБУ "НМИЦК им. Е. И. Чазова" Минздрава России
Гусакова Анна Михайловна	НИИ кардиологии Томского НИМЦ
Донников Максим Юрьевич	БУ ВО Сургутский государственный университет
Ковалёв Александр Михайлович	ФГБОУ ВО "Самарский государственный медицинский университет" Минздрава России
Козлова Ирина Валерьевна	ФГБНУ "Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека"
Мальсагова Кристина Ахмедовна	ФГБНУ "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича"
Морозова Татьяна Владимировна	ННЦМБ ДВО РАН
Нехаева Татьяна Леонидовна	ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова" Минздрава России
Потапов Иван Викторович	ПАО "ММЦБ"
Трахтман Павел Евгеньевич	ФГБУ "НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева" Минздрава России
Шумеев Александр Николаевич	АНОО ВО "Университет "Сириус"

Поиск новых биомаркеров для создания технологий в прогнозировании перинатального исхода беременности, осложненной гестационным диабетом

Куценко А. А.¹, Васильева А. Г.¹, Мельх Д. Р.¹, Белокоровый Е. В.¹, Попова И. С.¹, Бирулина Ю. Г.¹, Юрьев С. Ю.¹, Франкевич В. Е.²

¹ФГБОУ ВО "Сибирский государственный медицинский университет" Минздрава России. Томск; ²ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии, перинатологии им. акад. В.И. Кулакова" Минздрава России. Москва, Россия

Цель. Поиск новых маркеров с применением омиксных технологий для использования в качестве предикторов аномалий роста и развития плода при гестационном сахарном диабете (ГСД).

Материал и методы. Долгосрочной целью работы является создание уникальной биологической коллекции образцов, на базе которой можно оценивать риск развития диабетической фетопатии (ДФ) и других негативных перинатальных исходов, выявляя ранние доклинические маркеры. Для реализации данной цели на первом этапе были запланированы следующие исследования: формирование референсной коллекции биоматериала от женщин с известным перинатальным исходом и ее последующий комплексный анализ для идентификации ключевых маркеров. Проведение комплексных экспериментов с использованием генетического, иммунологического и масс-спектрометрического подходов позволяет всесторонне оценить молекулярные механизмы патогенеза ГСД и выявить взаимодополняющие биомаркеры. С целью выполнения исследований была сформирована коллекция образцов плазмы крови беременных в первом триместре, рожениц, амниотической жидкости, плазмы крови пуповинного остатка. Полученные образцы биоматериала замораживали и хранили при температуре не >-80 °С. Из коллекции в настоящее исследование была включена выборка из 100 рожениц в возрасте 18-45 лет, в сроке беременности 34 нед. 1 день — 41 нед. 6 дней из групп с ГСД и без него. Проведен иммуноферментный анализ образцов на ряд регуляторных протеинов, эмбриотропных антител, молекулярно-генетический анализ полиморфизма генов гемостаза, масс-спектрометрический анализ аминокислот.

Результаты. В результате сравнительного анализа выявлено, что беременные с ГСД чаще имели полиморфизм гена фибриногена *FGB 455 G/A* ($p=0,008$), профиль аутоиммунных антител был изменен соответственно супрафизиологическому апоптозу и инсулинорезистентности. При отсутствии макросомии плода в плазме матери с ГСД выявлен более низкий уровень тканевого активатора плазминогена ($p=0,001$). Основными находками масс-спектрометрического

анализа аминокислот в крови рожениц с ГСД были более низкие концентрации триптофана ($p=0,025$) и γ -аминомасляной кислоты ($p=0,023$). В амниотической жидкости и пуповинной крови при ГСД выявлены сниженные концентрации аминокислот, ответственных за синтез белка — лизина и метионина, и повышение концентрации аминокислот, ассоциированных с макросомией.

Заключение. Результаты исследования подтверждают наличие метаболических, иммунных и гемореологических нарушений при ГСД у матери, ассоциированных с нарушением аминокислотного состава пуповинной крови и амниотической жидкости при макросомии новорожденного. Выявленные различия метаболома можно рассматривать как потенциальные маркеры для выявления риска негативных перинатальных исходов.

Ключевые слова: гестационный сахарный диабет, беременность, макросомия, метаболом, биомаркер, биобанкирование.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-64-00006, <http://rscf.ru/project/24-64-00006>.

Поступила 22/05-2025

Рецензия получена 18/06-2025

Принята к публикации 18/09-2025



Для цитирования: Куценко А. А., Васильева А. Г., Мельх Д. Р., Белокоровый Е. В., Попова И. С., Бирулина Ю. Г., Юрьев С. Ю., Франкевич В. Е. Поиск новых биомаркеров для создания технологий в прогнозировании перинатального исхода беременности, осложненной гестационным диабетом. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4454. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4454. EDN: RUUZSZ

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: kutsenko.aa@ssmu.ru

[Куценко А. А. — аспирант кафедры акушерства и гинекологии, ORCID: 0009-0007-6146-561X, Васильева А. Г. — соискатель кафедры акушерства и гинекологии, ORCID: 0009-0006-7975-1115, Мельх Д. Р. — соискатель кафедры акушерства и гинекологии, ORCID: 0009-0002-1624-3122, Белокоровый Е. В. — ординатор кафедры акушерства и гинекологии, ORCID: 0009-0002-7692-1714, Попова И. С. — к.м.н., н.с. центральной научно-исследовательской лаборатории, ORCID: 0009-0008-8900-4943, Бирулина Ю. Г. — к.б.н., зам. заведующего центральной научно-исследовательской лабораторией, ORCID: 0000-0003-1237-9786, Юрьев С. Ю. — д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии, ORCID: 0000-0002-1343-5471, Франкевич В. Е. — д.ф.м.н., руководитель отдела системной биологии и репродукции, ORCID: 0000-0002-9780-4579].

Адреса организационных авторов: ФГБОУ ВО "Сибирский государственный медицинский университет" Минздрава России, Московский тракт, д. 2, Томск, 634050, Россия; ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова" Минздрава России, ул. Академика Опарина, д. 4, Москва, 117997, Россия.

Addresses of the authors' organizations: Siberian State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moskovskoy Trakt, 2, Tomsk, 634050, Russia; V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Akademika Oparina St., 4, Moscow, 117997, Russia.

Search for novel biomarkers for predicting perinatal outcomes in pregnancy complicated by gestational diabetes

Kutsenko A. A.¹, Vasilyeva A. G.¹, Melykh D. R.¹, Belokorovskiy E. V.¹, Popova I. S.¹, Birulina Yu. G.¹, Yuryev S. Yu.¹, Frankevich V. E.²

¹Siberian State Medical University. Tomsk; ²Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology. Moscow, Russia

Aim. To identify new markers using omics technologies for use as predictors of fetal growth and developmental abnormalities in gestational diabetes (GD).

Material and methods. The long-term goal of this study is to create a unique biological sample collection that can be used to assess the risk of diabetic fetopathy (DF) and other adverse perinatal outcomes by identifying early preclinical markers. To achieve this goal, the following studies were planned for the first stage: the formation of a reference collection of biomaterial from women with a known perinatal outcome and its subsequent comprehensive analysis to identify key markers. Conducting complex experiments using genetic, immunological, and mass spectrometric approaches allows for a comprehensive assessment of molecular GD pathogenesis and the identification of complementary biomarkers. For this study, a collection of plasma samples from pregnant women in the first trimester, women in labor, amniotic fluid, and umbilical cord plasma was compiled. The resulting biomaterial samples were frozen and stored at a temperature not exceeding -80 °C. A sample of 100 women aged 18-45 years, at 34 weeks 1 day to 41 weeks 6 days of gestation, from both groups with and without GD, was included in the current study. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed on samples for a number of regulatory proteins and embryotropic antibodies, molecular genetic analysis of hemostasis gene polymorphisms, and mass spectrometric analysis of amino acids.

Results. A comparative analysis revealed that pregnant women with GD were more likely to have the *FGB* 455 G/A fibrinogen gene polymorphism ($p=0,008$), and their autoimmune antibody profile was altered, consistent with supraphysiological apoptosis and insulin resistance. In the absence of fetal macrosomia, maternal plasma levels of tissue plasminogen activator were lower ($p=0,001$). The main findings of mass spectrometry of amino acids in the blood of women with GD were lower concentrations of tryptophan ($p=0,025$) and γ -aminobutyric acid ($p=0,023$). In amniotic fluid and cord blood in GD, decreased concentrations of amino acids responsible for protein synthesis

(lysine and methionine) and increased concentrations of amino acids associated with macrosomia were detected.

Conclusion. The study results confirm metabolic, immune, and hemorheological disturbances in maternal GD, associated with abnormal amino acid composition in cord blood and amniotic fluid in neonates with macrosomia. The identified differences in the metabolome can be considered potential markers for identifying the risk of unfavorable perinatal outcomes.

Keywords: gestational diabetes, pregnancy, macrosomia, metabolome, biomarker, biobanking.

Relationships and Activities. The research was carried out at the expense of the grant of the Russian Science Foundation № 24-64-00006, <http://rscf.ru/project/24-64-00006>.

Kutsenko A. A. * ORCID: 0009-0007-6146-561X, Vasilyeva A. G. ORCID: 0009-0006-7975-1115, Melykh D. R. ORCID: 0009-0002-1624-3122, Belokorovskiy E. V. ORCID: 0009-0002-7692-1714, Popova I. S. ORCID: 0009-0008-8900-4943, Birulina Yu. G. ORCID: 0000-0003-1237-9786, Yuryev S. Yu. ORCID: 0000-0002-1343-5471, Frankevich V. E. ORCID: 0000-0002-9780-4579.

*Corresponding author: kutsenko.aa@ssmu.ru

Received: 22/05-2025

Revision Received: 18/06-2025

Accepted: 18/09-2025

For citation: Kutsenko A. A., Vasilyeva A. G., Melykh D. R., Belokorovskiy E. V., Popova I. S., Birulina Yu. G., Yuryev S. Yu., Frankevich V. E. Search for novel biomarkers for predicting perinatal outcomes in pregnancy complicated by gestational diabetes. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4454. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4454. EDN: RUUZSZ

AT2 — антитела второго порядка, ГАМК — γ -аминоасляная кислота, ГСД — гестационный сахарный диабет, ДФ — диабетическая фетопатия, ИМТ — индекс массы тела, ХГЧ — хорионический гонадотропин человека, KISS1 — кисспептин 1, PAI-1 — plasminogen activator inhibitor, type 1 (ингибитор тканевого активатора плазминогена-1), tPA — tissue plasminogen activator (тканевой активатор плазминогена), PGLF — placental growth factor (плацентарный фактор роста).

Введение

Гестационный сахарный диабет (ГСД) — наиболее распространенное нарушение метаболизма во время беременности, характеризующееся впервые возникшей гипергликемией и нарушением толерантности к глюкозе. Его общая мировая стандартизированная распространенность достигает 14,0% [1]. ГСД ассоциирован с повышенным риском целого ряда осложнений, включая преждевременные роды, преждевременный разрыв плодных оболочек, макросомию и дистресс плода. Макросомия, в свою очередь, повышает риск родового травматизма как для плода (дистоция плечиков), так и для матери (травмы родовых путей, кровопо-

тери), а также увеличивает вероятность оперативного родоразрешения. В отдаленном периоде женщины, перенесшие ГСД, более подвержены риску развития сахарного диабета (СД) 2 типа, ожирения и сердечно-сосудистых заболеваний [1].

Стандартные диагностические тесты на ГСД, такие как определение уровня гликемии и пероральный глюкозотолерантный тест на 24-28 нед. беременности, хотя и снижают риск осложнений при своевременном назначении диеты, не являются гарантией нормогликемии и отсутствия диабетической фетопатии (ДФ) на более поздних сроках [1]. В связи с этим актуальным является поиск ранних и более точных предикторов негативных исходов.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Гестационный сахарный диабет (ГСД) ассоциирован с метаболическими, иммунными и гемореологическими нарушениями, влияющими на рост и развитие плода.
- Стандартные методы диагностики ГСД, такие как глюкозотолерантный тест, не всегда позволяют предсказать негативные перинатальные исходы, включая макросомию.

Что добавляют результаты исследования?

- Найдены выраженные изменения метаболома в крови матери, пуповинной крови и амниотической жидкости при беременности, осложненной ГСД, — снижение концентрации аминокислот, важных для регуляции обменных процессов и воспалительных реакций — триптофана и γ -аминомасляной кислоты, для белкового синтеза — лизина и метионина и накопление аминокислот с разветвленной цепью, усиливающих инсулинорезистентность.
- Биобанкирование материала с первого триместра до родов позволит оценить возможность использования данных метаболитов в качестве ранних маркеров макросомии и диабетической фетопатии.

Key messages

What is already known about the subject?

- Gestational diabetes (GD) is associated with metabolic, immune, and hemorheological disturbances that affect fetal growth and development.
- Standard diagnostic methods for GD, such as the glucose tolerance test, do not always predict adverse perinatal outcomes, including macrosomia.

What might this study add?

- Significant changes in the metabolome were found in maternal blood, cord blood, and amniotic fluid during pregnancies complicated by GD. These changes include decreased concentrations of amino acids important for the regulation of metabolic processes and inflammatory responses (tryptophan and γ -aminobutyric acid); those important for protein synthesis — lysine and methionine; and an accumulation of branched-chain amino acids, which increase insulin resistance.
- Biobanking of material from the first trimester until delivery will make it possible to assess the possibility of using these metabolites as early markers of macrosomia and diabetic fetopathy.

Современные методы диагностики, включая устройства непрерывного мониторинга глюкозы и омиксные технологии, открывают новые возможности для прогнозирования перинатальных исходов у пациенток с ГСД [2, 3]. В частности, успехи, достигнутые с применением мультиомных подходов (геномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика) трансформируют методы раннего выявления ГСД и оценки рисков [4]. Исследования в этой области сосредоточены на идентификации биомаркеров в разные триместры: прогностических молекул на ранних сроках и маркеров диагностики и исходов — на поздних [4].

Ключевым этапом для построения адекватной прогностической модели является валидация качественных и количественных показателей лабораторных и клинических маркеров ГСД и ДФ. Для создания такой модели необходимо формирование банка биологического материала с сопутствующей детальной клинико-анамнестической информацией, начиная с первого триместра беременности. Логика настоящего исследования заключалась в следующем: на первом этапе поиск ключевых метаболитов и маркеров был проведен в материале, полученном в доношенном сроке при известном перинатальном исходе. Результаты исследований

первого этапа представлены в настоящей работе. На следующем этапе планируется измерение найденных маркерных показателей в биологическом материале первого триместра с целью создания ранней диагностической панели.

Материал и методы

В исследование были включено 83 женщины в возрасте 18–45 лет, в сроке беременности 34 нед. 1 день — 41 нед. 6 дней.

Критериями включения в основную группу (ГСД+) являлось наличие ГСД, в группу сравнения (ГСД-) включались практически здоровые беременные с нормовесными плодами.

Из 47 женщин с ГСД в 21 случае зарегистрирована макросомия новорожденного (ГСД+М+), в 26 случаях — нормосомия (ГСД+М-). Масса новорожденных от матерей без ГСД не превышала 90 процентиля.

Критериями невключения в исследование являлись хронические заболевания в стадии декомпенсации, острые инфекционные заболевания и заболевания в стадии обострения, многоплодная беременность, психические расстройства, наличие СД 1 и 2 типов, а также отказ пациентки от участия в исследовании.

Клиническое исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования был одобрен локальным этическим ко-

митетом (протокол № 9417 от 27.03.2023). Все пациенты подписали информированное согласие на исследование.

С целью выполнения исследований были сформированы коллекции образцов плазмы и лейкоцитарной фракции крови беременных, амниотической жидкости, плазмы крови пуповинного остатка. Для получения плазмы крови и лейкоцитарной фракции цельная венозная кровь роженицы и пуповинная кровь забирались в пробирку с антикоагулянтом (K_3 -ЭДТА), амниотическая жидкость — в коническую пробирку. В банке биологического материала выполнялись аликвотирование амниотической жидкости и пробоподготовка цельной крови. Плазму крови и лейкоцитарную фракцию получали путем центрифугирования при 2000 г в течение 15 мин (центрифуга LMC-4200R, BioSan, Латвия), последовательного отбора лейкоцитарной фракции и плазмы, аликвотирования в криопробирку. Полученные образцы биоматериала немедленно замораживали и хранили при температуре не >-80 °C.

Проведены иммуноферментный, молекулярно-генетический, масс-спектрометрический анализ образцов крови матери и пуповинной крови и амниотической жидкости. В материнской плазме исследованы концентрации 6 белков методом иммуноферментного анализа. Использовали соответствующие диагностические тест-системы производства компаний "BlueGene Biotech", "Cloud-Clone Corp." (Китай) для определения уровня ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1), рецептора растворимого эндотелиального фактора роста сосудов (sVEGFR1), гомоцистеина, кисспептина 1 (KISS1), плацентарного фактора роста (PGLF) и тканевого активатора плазминогена (tPA) в соответствии с инструкцией производителя.

Кроме того, в материнской плазме определены уровни естественных регуляторных аутоантител класса IgG, связывающихся с двуспиральной дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК), Fc фрагментом иммуноглобулина (ревматоидный фактор), коллагеном, хорионическим гонадотропином человека (ХГЧ), тиреоглобулином, инсулином, белком S100, β_2 -гликопротеином, мембранным антигеном сперматозоидов SPR, белком паренхимы почек и белком мембран тромбоцитов с использованием набора иммунореагентов ЭЛИ-П-Комплекс (производитель МИЦ "Иммункулус", г. Москва) согласно инструкции.

Для выделения ДНК из лейкоцитарной фракции использовали набор реагентов "ПРОБА-РАПИД-ГЕНЕТИКА" (ООО "ДНК-технология ТС", г. Москва) согласно инструкции. Полиморфизм генов *F2*, *F5*, *F7*, *F13*, *FGB*, *PAI1*, *ITGA2*, *ITGB3*, ассоциированных с нарушениями свертывающей системы крови, выявляли в крови матери при помощи набора реагентов "Генетика гемостаза" (ООО "ДНК-технология ТС", г. Москва) методом полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени и анализе кривых плавления.

В плазме материнской и пуповинной крови, амниотической жидкости проведен масс-спектрометрический анализ метаболитов сыворотки крови в лаборатории трансляционной медицины на тандемном квадрупольном масс-спектрометре Waters Xevo TQ-S Micro в комплекте с ВЭЖХ Acquity UPLC H-Class, Waters Corporation, США, 2023. Использовалось встроенное программное обеспечение MassLynx V4.2 IntelliStart™. Масс-спектрометрические данные были обработаны

с использованием многофакторного (OPLS-DA) анализа. Анализ на масс-спектрометре проводился в режиме мониторинга множественных реакций (MRM), который заключается в выделении иона-предшественника целевого соединения, его распаде в коллизионной ячейке и фильтрации полученных ионов-продуктов, которые попадают в детектор. Единицей измерения в масс-спектрометрии является отношение массы к зарядовому числу (m/z).

Статистическую обработку полученных результатов выполняли с использованием пакета прикладных программ Statistica 12.0. Для описания качественных данных использованы абсолютные и относительные частоты, количественных данных — описательный анализ. Для сравнения качественных данных использовали критерий χ^2 с поправкой Йейтса. Для сравнения непараметрически-распределенных количественных данных применяли критерий Манна-Уитни. Уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты

Общая схема исследования и анализ биоматериала были направлены на комплексную оценку молекулярных нарушений при ГСД по трем основным направлениям: 1) оценка общесоматического статуса и генетической предрасположенности; 2) анализ системы гемостаза и регуляторных белков; 3) изучение метаболического профиля матери и плода. Такой многоуровневый подход позволяет выявить взаимосвязанные патогенетические звенья, ассоциированные с развитием макросомии и других осложнений ГСД.

При анализе клинико-анамнестических данных было установлено, что индекс массы тела (ИМТ) был значимо выше в общей группе рожениц с диагнозом ГСД+ по сравнению с контрольной группой (ГСД-) (таблица 1). Аналогичные различия были отмечены для плазменных концентраций глюкозы и фибриногена. При этом молекулярно-генетический анализ полиморфизма генов системы гемостаза в исследованной выборке не выявил наличия мутаций высокого тромбогенного риска в генах *F5* и *F2*. Ключевой находкой стала ассоциация полиморфизма гена фибриногена (*FGB-455 G/A*) не только с развитием ГСД ($p=0,008$), но и с необходимостью назначения инсулинотерапии для достижения нормогликемии ($p=0,03$).

При сравнении подгрупп с наличием (ГСД+М+) и отсутствием (ГСД+М-) макросомии на фоне ГСД были обнаружены достоверные различия по степени плацентомегалии ($p=0,011$), предполагаемой массе плода ($p=0,001$) и массе новорожденного ($p=0,023$).

Анализ концентрации регуляторных белков в материнской плазме не показал значимых межгрупповых различий в балансе плацентарного фактора роста (PGLF) и его растворимого рецептора (sVEGFR1), а также в уровнях KISS1 и гомоцистеина (таблица 2). При исследовании фибринолитического баланса было выявлено, что нормосомия при ГСД ассоциирована достоверно более низкой

Таблица 1

Основные клинические характеристики участников исследования

Показатель	Основная группа, ГСД+ (n=47)	Контрольная группа, ГСД- (n=36)	p
Возраст, лет, Ме (Q25; Q75)	34 (29; 38)	34 (26; 36)	0,9
Срок беременности, нед., Ме (Q25; Q75)	39 (38; 39)	39 (39; 39)	0,9
ИМТ (кг/м ²), Ме (Q25; Q75)	29,1 (24,9; 36,0)	22,2 (21,5; 25,6)	<0,001
Анемия, n (%)	12 (25,5)	8 (22,2)	0,717
Артериальная гипертензия, n (%)	9 (19,1)	0 (0)	0,002
Ожирение, n (%)	19 (40,4)	5 (13,9)	0,008
Глюкоза, ммоль/л, Ме (Q25; Q75)	4,42 (3,98; 5,07)	3,93 (3,69; 4,15)	0,001
Фибриноген, г/л, Ме (Q25; Q75)	4,11 (3,49; 4,79)	3,68 (2,99; 4,36)	0,037
МВК, мм, Ме (Q25; Q75)	75 (70; 85)	45 (50; 60)	0,015
ПМП, г, Ме (Q25; Q75)	3700 (3300; 4000)	3300 (3100; 3500)	0,001
Масса новорожденного, г, Ме (Q25; Q75)	3670 (3280; 4110)	3410 (3110; 3730)	0,023

Примечание: ГСД- — здоровые, ГСД+ — наличие ГСД, ИМТ — индекс массы тела, МВК — максимальный вертикальный карман, ПМП — предполагаемая масса плода, Ме (Q25; Q75) — медиана (интерквартильный размах).

Таблица 2

Концентрация регуляторных белков в плазме крови матери в группах сравнения

Белок	ГСД- (n=36)	ГСД+М- (n=26)	ГСД+М+ (n=21)	ГСД+ (n=47)	p (ГСД-М-)/ (ГСД+М-)	p (ГСД-)/ (ГСД+М+)	p (ГСД+М-)/ (ГСД+М+)	p (ГСД-)/ (ГСД+)
KISS1, пг/мл	407,41	434,53	421,44	428,68	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
РАИ1, пг/мл	5617,4	4901,82	4798,09	4855,47	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
PGLF, пг/мл	10,22	10,02	10,08	10,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
tPA, нг/мл	0,42	0,33	0,40	0,36	0,02	>0,05	>0,05	>0,05
sVEGFR1, нг/мл	3,92	3,71	3,80	3,75	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Гомоцистеин, мкмоль/л	5,70	5,50	6,07	5,76	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Примечание: ГСД- — здоровые, ГСД+ — наличие ГСД, ГСД+М- — наличие ГСД, нормовесный плод, ГСД+М+ — наличие ГСД и макросомии плода, KISS1 — киспептин 1, PAI-1 — ингибитор активатора плазминогена 1 типа, PGLF — плацентарный фактор роста, sVEGFR1 — растворимый рецептор фактора роста эндотелия сосудов, tPA — тканевой активатор плазминогена.

Таблица 3

Количество образцов плазмы крови матери с супрафизиологической концентрацией аутоиммунных антител в группах сравнения

Антитело	ГСД- (n=36)	ГСД+М- (n=26)	ГСД+М+ (n=21)	ГСД+ (n=47)	p (ГСД- ГСД+М-)	p (ГСД-)/ (ГСД+М+)	p (ГСД+М-)/ (ГСД+М+)	p (ГСД-)/ (ГСД+)
АТ к ХГЧ	7	12	6	18	>0,05	0,032	>0,05	0,05
АТ к инсулину	15	14	5	19	>0,05	>0,05	0,03	>0,05
АТ к S100	20	16	6	22	0,04	0,02	>0,05	>0,05
АТ к тромбоцитам	36	26	18	44	>0,05	0,02	>0,05	>0,05

Примечание: ГСД- — здоровые, ГСД+ — наличие ГСД, ГСД+М- — наличие ГСД, нормовесный плод, ГСД+М+ — наличие ГСД и макросомии плода, АТ — антитела, ХГЧ — хорионический гонадотропин человека.

концентрацией tPA в материнской плазме по сравнению со здоровым контролем (p=0,001). При этом уровень tPA у матерей, родивших новорожденных с макросомией, практически не отличался от показателей контрольной группы. Концентрация ингибитора PAI-1 оставалась относительно стабильной во всех группах.

С помощью иммуноферментного анализа были обнаружены различия в профиле "эмбриотропных" аутоантител в зависимости от метаболического статуса. Аномальный уровень аутоантител к ХГЧ был зарегистрирован в общей группе ГСД+. Кроме

того, макросомия плода в данной выборке ассоциировалась с изменением титра антител к тромбоцитам и белку S100 (таблица 3). При сравнении подгрупп внутри группы ГСД+ было выявлено, что у рожениц с более тяжелым течением ГСД, потребовавшим назначения инсулинотерапии, достоверно изменялись уровни антител к ХГЧ (p=0,02), двухцепочечной ДНК (p=0,03), инсулину (p=0,03) и S100 (p=0,04).

Масс-спектрометрический количественный анализ аминокислот был проведен в биологической жидкости трех типов: плазме материнской крови, пупо-

винной крови и амниотической жидкости. В плазме крови рожениц с ГСД были зарегистрированы статистически значимо более низкие концентрации триптофана и γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) по сравнению с контрольной группой (таблица 4). Детальный анализ показал, что степень снижения концентрации ГАМК имела прямую зависимость как от наличия ГСД у матери в сочетании с макросомией у ребенка ($p=0,025$), так и от превышения матерью порога ИМТ $>25 \text{ кг/м}^2$ ($p=0,011$). Схожая зависимость от ИМТ матери была выявлена и для концентрации триптофана ($p=0,023$).

Масс-спектрометрический анализ пуповинной плазмы выявил значимые различия в концентрации аминокислот как при сравнении групп с ГСД и нормогликемией, так и внутри группы ГСД в зависимости от наличия макросомии (таблица 5). В пуповинной крови новорожденных от матерей с ГСД были зарегистрированы более низкие концентрации метионина. Макросомия ассоциировалась с увеличением концентраций таких аминокислот, как изолейцин, цитруллин, серин и треонин. Исследованные анализы могут рассматриваться в качестве потенциальных маркеров ДФ.

Анализ амниотической жидкости показал, что при ГСД у матери в ней содержится значимо большая концентрация аминокислот валина и лейцина. Макросомия плода была ассоциирована со снижением уровня лизина в околоплодных водах (таблица 6).

Обсуждение

Выявленные в настоящем исследовании различия метаболического статуса, гемостаза, характера аутоиммунных реакций и концентрации регуляторных белков в целом укладываются в современную концепцию ГСД. Можно предположить, что маркерами супрафизиологической инсулинорезистентности беременности и последующего развития ДФ будут метаболиты, ассоциированные с девиацией иммунного ответа в сторону провоспалительных реакций, дисфункцией эндотелия, гиперкоагуляцией и гипофибринолизом.

Так, аналогично нашим данным, в опубликованных исследованиях небольших выборок при ГСД зарегистрировано снижение концентрации триптофана в материнской крови. При СД 2 типа подобный эффект достаточно исследован и связывается, как правило, с активацией индоламин-2,3-диоксигеназы и триптофан-2,3-диоксигеназы за счет провоспалительных цитокинов, повышенным катаболизмом триптофана вследствие активации кинуренинового пути. Один из метаболитов — ксантуреновая кислота — нарушает продукцию и рецепцию инсулина β -клетками поджелудочной железы [5, 6].

В исследованной выборке уровень триптофана отрицательно коррелировал с ИМТ матери. По-

Таблица 4

Статистическая значимость различий уровней аминокислот в плазме крови матери в группах сравнения

Аминокислота	ГСД-	ГСД+	p
Триптофан	ГСД- (n=29)	ГСД+ (n=41)	0,005
Триптофан	ГСД- (n=29)	ГСД+, М+ (n=16)	0,008
ГАМК	ГСД- (n=29)	ГСД+, М+ (n=16)	0,025

Примечание: ГСД- — здоровые, ГСД+ — наличие ГСД, ГСД+М+ — наличие ГСД и макросомии плода, ГАМК — γ -аминомасляная кислота.

Таблица 5

Статистическая значимость различий уровней аминокислот в пуповинной крови в группах сравнения

Аминокислота	Группа 1	Группа 2	p
Метионин	ГСД- (n=33)	ГСД+ (n=43)	0,024
Изолейцин	ГСД- (n=33)	ГСД+ (n=43)	0,004
Изолейцин	ГСД- (n=33)	ГСД+М- (n=25)	0,032
Изолейцин	ГСД- (n=33)	ГСД+М+ (n=18)	0,01
Цитруллин	ГСД- (n=33)	ГСД+М- (n=25)	0,04
Серин	ГСД- (n=33)	ГСД+М+ (n=18)	0,047
Серин	ГСД+М- (n=25)	ГСД+М+ (n=18)	0,05
Треонин	ГСД- (n=33)	ГСД+М+ (n=18)	0,023
Треонин	ГСД+М- (n=25)	ГСД+М+ (n=18)	0,019

Примечание: ГСД- — здоровые, ГСД+ — наличие ГСД, ГСД+М- — наличие ГСД, нормовесный плод, ГСД+М+ — наличие ГСД и макросомии плода.

Таблица 6

Статистическая значимость различий уровней аминокислот в амниотической жидкости в группах сравнения

Аминокислота	ГСД-	ГСД+	p
Валин	ГСД- (n=30)	ГСД+ (n=40)	0,043
Валин	ГСД- (n=30)	ГСД+М+ (n=7)	0,029
Лейцин	ГСД- (n=30)	ГСД+М+ (n=7)	0,049
Лизин	ГСД- (n=30)	ГСД+М+ (n=9)	0,042

Примечание: ГСД- — здоровые, ГСД+ — наличие ГСД, ГСД+М+ — наличие ГСД и макросомии плода.

вышенная потребность в синтезе белка при патологическом увеличении массы тела матери и плода замыкают порочный круг дефицита триптофана и усиления инсулинорезистентности. Дефицит таких производных триптофана, как серотонин и мелатонин, в свою очередь приводит к накоплению активных форм кислорода и цитокинов Th1 профиля. Можно надеяться на клиническую эффективность раннего выявления сниженной концентрации триптофана относительно референсных значений, поскольку экспериментально доказано, что дотация мелатонина позитивно влияет уже на первые этапы эмбриогенеза [7].

Зарегистрированная нами более низкая концентрация ГАМК в материнской плазме с прямой зависимостью степени снижения как от наличия ГСД у матери при макросомии у ребенка, так и от превышения ИМТ матери порога 25 кг/м² также имеет значение в патогенезе метаболических нарушений. ГАМК является важным нейротрансмиттером, который играет ключевую роль в регуляции деятельности нервной системы и метаболических процессов. Крупная молекула не проходит через плаценту, но А-рецептор ГАМК, связываясь с аллопрегнаноном, модулирует плацентарный ионный транспорт и сосудистый тонус, регулируя обменные процессы матери и плода [8]. Во время беременности, осложненной ГСД, гипергликемия может нарушить ГАМК-ергическую систему в префронтальной коре головного мозга, включая синтез нейротрансмиттеров ГАМК и количество нейронов, использующих ГАМК. Последствием нарушений будет дальнейшее подавление секреции инсулина β -клетками поджелудочной железы, нарушение миграции и жизнеспособности трофобласта, долгосрочные изменения в гиппокампе, гипоталамусе и неокортексе плода [9].

В качестве обоснования того, что найденные изменения аминокислотного состава материнской крови можно будет зарегистрировать и в первом триместре для использования в качестве ранних биомаркеров, исследованы основные звенья патогенеза. Так, повышение коагуляционного потенциала, включая накопление фибриногена, характерно в норме для поздних сроков беременности, но при ожирении супрафизиологическая гиперкоагуляция является звеном общего патогенеза и обусловлена взаимосвязанными механизмами, включающими дисбаланс факторов свертывания, нарушение фибринолиза, гиперактивность тромбоцитов, эндотелиальную дисфункцию и воспаление [10]. К примеру, одной из причин повышения уровня фибриногена является зарегистрированная в данной выборке значительная доля носительства аллеля А в гене фибриногена *FGB-455*. Данная генетическая вариация сопряжена с резким увеличением плазменной концентрации первого коагуляционного фактора [11]. Повышенный титр антитромбоцитарных антител, найденный в группе беременных с ГСД, является еще одним свидетельством претромботической готовности вследствие дисфункции эндотелия.

Дисбаланс системы фибринолиза присутствует при нарушении углеводного обмена вне и во время беременности. Опубликованы данные о значительном увеличении уровня PAI-1, который подавляет активность tPA. Это приводит к состоянию гипофибринолиза, повышая риск тромботических осложнений [12]. Физиологически концентрации tPA и PAI-1 растут со сроком беременности до ро-

дов [13]. В данной выборке минимальная концентрация тканевого активатора была в группе "компенсированного" ГСД без макросомии. Учитывая ассоциацию дисбаланса фибринолиза в сторону PAI-1 с плацентарной дисфункцией, подтверждение его в группе с наименьшей массой тела новорожденного можно рассматривать не как отсутствие фетопатии, а как ограничение роста плода. В этой связи целесообразно будет проследить дальнейшее развитие "нормовесных" при рождении детей и провести подобное исследование в группе новорожденных с задержкой роста плода и малых к сроку гестации. Также целесообразна одновременная оценка концентрации tPA и его активности.

Измененный профиль аутоиммунных антител в крови родильниц находит объяснение в патогенезе ГСД и его осложнений. Обнаруженное в изучаемой выборке изменение титра регуляторных аутоантител к ХГЧ было ассоциировано с развитием ГСД и необходимостью инсулинотерапии для достижения нормогликемии. В исследовании Liu Y, et al. показано, что более высокие концентрации ХГЧ на ранних сроках беременности связаны со снижением риска развития ГСД, а далее коррелируют с более низким постпрандиальным уровнем глюкозы во время перорального теста на толерантность к глюкозе [14]. Поддерживая иммунологическую толерантность при беременности, ХГЧ увеличивает присутствие регуляторных Т-клеток, усиливает продукцию интерлейкина-2 и VEGF наивными НК-клетками и за счет противовоспалительного действия снижает вероятность развития и прогрессирования метаболических нарушений [15]. Таким образом, блок рецепции ХГЧ ассоциирован с усилением синтеза провоспалительных цитокинов с последующим окислительным стрессом и усилением апоптоза.

Супрафизиологическому апоптозу соответствует и изменение уровня антител к нативной ДНК и белку S100. Белок S100, который кроме глиальных клеток нервной ткани содержится в адипоцитах, рассматривается как один из маркеров повреждения нервной ткани в отсроченной на 3-5 лет перспективе для детей от матерей с ГСД¹.

Накопление контринсулярных антител второго порядка (AT2) в материнском кровотоке и их трансплацентарный перенос чаще обсуждается при СД 1 типа, но может быть значимым звеном патогенеза и для ГСД, поскольку данные иммуноглобулины способны специфически связываться с инсулиновыми рецепторами, имитируя действие гормона или блокируя его. Их избыток может повышать то-

¹ Папышева О. В. Состояние соматического статуса у детей, родившихся от матерей больных сахарным диабетом: специализация 3.1.21. "Педиатрия": Дисс на соиск докт мед наук. Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова. Москва, 2022. 325 с.

лерантность к глюкозе в краткосрочной перспективе, ингибировать нормальное взаимодействие инсулина с рецепторами, что приводит к инсулинорезистентности. Доказано, что дисбаланс между контринсулярными антителами первого и второго порядка с накоплением АТ2 коррелирует с более тяжелым течением диабета у матери и проявлениями ДФ у плода [16].

Неоднозначные результаты дал анализ баланса регуляторных протеинов материнской крови. В качестве ключевых молекул взяты плацентарный фактор роста PLGF и его растворимый рецептор sFlt, регулирующие основные функции эндотелия микрососудистого русла плацентарного ложа, и кисспептин KISS1 как связующее звено между репродуктивной системой, ангиогенезом и углеводным обменом. В исследованной выборке отсутствовали значимые различия в концентрациях PLGF и sFlt между здоровыми и имеющими диагноз ГСД. Gul Kara SM, et al. опубликовали аналогичные результаты, объясняющие сохранение нормального баланса sFlt/PLGF усиленным при ГСД ангиогенезом [17]. Данный факт подтверждает сформированное при изучении преэклампсии мнение некоторых авторов, что при несомненном наличии эндотелиальной дисфункции и системного воспаления в патогенезе обоих состояний, гипергликемия несколько нивелирует дисфункцию эндотелия, замедляя прогрессирование преэклампсии [18]. Существует и противоположное мнение о выраженном изменении баланса при СД 1 типа и уже развившейся преэклампсии [19, 20]. Вероятно, мультифакториальный характер ГСД делает про- и антиангиогенный баланс sFlt/PLGF менее чувствительным к метаболическим изменениям в организме матери и плода.

Отсутствие значимых различий в концентрации KISS1 в плазме матери, скорее всего, свидетельствует о сравнимом состоянии синцитиотрофобласта в группах. Исследователи расходятся во мнениях по данному вопросу: опубликованы как сходные результаты подобных исследований [21], так и противоположные данные [22]. Также доказана возможность усиления плацентарной экспрессии KISS1 и его рецептора при низком уровне гормона в крови для поддержания функциональной активности [23].

Таким образом, на данном этапе нельзя утверждать, что регуляторные белки могут быть использованы в качестве биомаркеров последующего развития ГСД. Достоверные различия, вероятно, будут найдены в первом триместре, а также в группах критических состояний — задержка роста плода, кардиомиопатия и т.д.

Наличие достоверных межгрупповых различий в метаболоме пуповинной крови и амниотической жидкости подтверждает адекватность подбора групп и позволяет выделить основные пути патогенеза

ДФ. По нашим данным наличие макросомии прямо коррелирует с более высокими концентрациями таких аминокислот как изолейцин, цитруллин, серин и треонин. Связь между метаболитами аминокислот, включая ароматические аминокислоты и аминокислоты с разветвленной цепью, и риском ожирения, инсулинорезистентности и СД была установлена >40 лет назад [24]. Патогенез нарушений, связанных с аминокислотами с разветвленной цепью, ассоциирован с накоплением их окисленных метаболитов и прогрессированием инсулинорезистентности. Ключевую роль в этом играет сигнальный путь PTEN/АКТ/mTOR (компонентами которого являются фосфоинозитид-3-киназа, киназы АКТ и mTOR), регулирующий в т.ч. процессы использования энергетических субстратов и аутофагии [25]. Следует отметить, что достоверных изменений концентрации данных аминокислот в материнской крови перед родами в нашей выборке не обнаружено, хотя доказано, что повышение концентрации этих аминокислот в материнской крови может быть фактором риска развития ГСД [26-28].

В то же время в плазме пуповинной крови новорожденных от матерей с ГСД нами были зарегистрированы более низкие, чем у здоровых, концентрации метионина. Недостаток метионина может приводить к ограничению продукции S-аденозилметионина с последствиями гипометилирования в виде эпигенетических нарушений, к накоплению гомоцистеина с последующей дисфункцией эндотелия и тромбозами. Основными причинами низкого уровня метионина считаются ограничение трансплацентарного переноса материнской аминокислоты плоду и повышенное потребление матерью и плодом. Доказано, что данные процессы опосредованы плацентарными транспортерами глюкозы (например, LAT 1) и регуляторными белками пути mTOR [29]. Низкая концентрация метионина у плода в сочетании с найденным в околоплодных водах дефицитом лизина может служить базой для нарушения белкового синтеза у плода, как одного из проявлений ДФ. Схожие результаты получены несколькими группами ученых [30, 31].

Заключение

Негативное влияние метаболических нарушений на течение беременности, а также на состояние новорожденного и дальнейшее развитие ребенка доказано. В настоящем исследовании нашли подтверждение факты того, что развитие ГСД, формирование макросомии плода опосредованы генетическими особенностями, девиацией аутоиммунных реакций и изменением метаболома матери и плода. Найденные факты соответствуют основным патологическим механизмами ГСД — повышению коагуляционного потенциала, смещению баланса в сторону провоспалительной реакции,

усилению липолиза и апоптоза, тканевой гипоксии, нарушению синтеза белка и эпигенетической регуляции. Зарегистрированные изменения могут служить ориентиром для поиска предикторов негативного перинатального исхода. Сочетание точного дифференцированного прогноза на основании клинических параметров и систем их постоянного мониторинга, данных омиксных технологий с применением современных методов биоинформатики открывают новые возможности профилактики и терапии. Практически тотальное биобанкирование большой выборки материала с ранних сроков беременности является необходимым условием для

такой работы как на этапе исследования, так и при дальнейшей практической работе, поскольку решение о включении в исследование или о необходимости специфической терапии может быть принято позднее. Наличие доступного для анализа биологического материала с ранних сроков беременности до родов позволяет решать научно-практические задачи по поиску новых маркеров метаболических нарушений у матери и плода.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-64-00006, <http://rscf.ru/project/24-64-00006>.

Литература/References

1. Loginova EV, Arakelyan GA, Savenkova IV, et al. Modern view of the health of infants born to mothers with diabetes mellitus. *Akusherstvo i ginekologiya: novosti, mneniya, obucheniye* [Obstetrics and Gynecology: News, Opinions, Training]. 2019;7(3):56-62. (In Russ.) Логина Е. В., Аракелян Г. А., Савенкова И. В. и др. Современные представления о здоровье детей, рожденных матерями с сахарным диабетом. *Акушерство и гинекология: новости, мнения, обучение*. 2019;7(3):56-62. doi:10.24411/2303-9698-2019-13907.
2. Zhang Z, Yang L, Han W, et al. Machine Learning Prediction Models for Gestational Diabetes Mellitus: Meta-analysis. *J Med Internet Res*. 2022;24(3):e26634. doi:10.2196/26634.
3. Di Filippo D, Ahmadzai M, Chang MHY, et al. Continuous Glucose Monitoring for the Diagnosis of Gestational Diabetes Mellitus: A Pilot Study. *J Diabetes Res*. 2022;1:5142918. doi:10.1155/2022/5142918.
4. Sriboonvorakul N, Hu J, Boriboonhirunsarn D, et al. Proteomics Studies in Gestational Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Med*. 2022;11(10):2737. doi:10.3390/jcm11102737.
5. van Zundert SK, Broekhuizen M, Smit AJ, et al. The Role of the Kynurenine Pathway in the (Patho) physiology of Maternal Pregnancy and Fetal Outcomes: A Systematic Review. *Int J Tryptophan Res*. 2022;15:11786469221135545. doi:10.1177/11786469221135545.
6. Gao J, Yang T, Song B, et al. Abnormal tryptophan catabolism in diabetes mellitus and its complications: Opportunities and challenges. *Biomed Pharmacother*. 2023;166:115395. doi:10.1016/j.biopha.2023.115395.
7. Bantounou M, Plascevic J, Galley HF. Melatonin and Related Compounds: Antioxidant and Anti-Inflammatory Actions. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(3):532. doi:10.3390/antiox11030532.
8. Licheri V, Talani G, Gorule AA, et al. Plasticity of GABAA Receptors during Pregnancy and Postpartum Period: From Gene to Function. *Neural Plast*. 2015;2015:170435. doi:10.1155/2015/170435.
9. Liu X-Q, Huang T-Li, Zhang S-Y, et al. Gestational diabetes induces autistic-like behaviors in offspring by disrupting the GABAergic system. *Front Neurosci*. 2025;12;19:1538115. doi:10.3389/fnins.2025.1538115.
10. Abid SJ, Abdulla TN, Sadiq F. The Effect of Maternal Blood Glucose on Umbilical Cord Blood Fibrinogen in Women With Gestational Diabetes. *Cureus*. 2024;16(7):e65020. doi:10.7759/cureus.65020.
11. Schwedler C, Heymann G, Bukreeva L, et al. Association of Genetic Polymorphisms of Fibrinogen, Factor XIII A-Subunit and α_2 -Anti-plasmin with Fibrinogen Levels in Pregnant Women. *Life*. 2021;11:1340. doi:10.3390/life11121340.
12. Batiha GE, Al-Kuraishy HM, Al-Maiah TJ, et al. Plasminogen activator inhibitor 1 and gestational diabetes: the causal relationship. *Diabetol Metab Syndr*. 2022;14(1):127. doi:10.1186/s13098-022-00900-2.
13. Sokolova NV, Zanin SA, Tsymbalov OV. Dynamics concentration fibrinolysis inhibitors activated by thrombin and indicators of hemostasis in pregnancy. *Modern problems of science and education*. 2024;6. (In Russ.) Соколова Н. В., Занин С. А., Цымбалов О. В. Динамика концентрации тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза и показателей гемостаза при беременности. *Современные проблемы науки и образования*. 2024;6. doi:10.17513/spno.33852.
14. Liu Y, Guo F, Maraka S, et al. Associations between Human Chorionic Gonadotropin, Maternal Free Thyroxine, and Gestational Diabetes Mellitus. *Thyroid*. 2021;31(8):1282-8. doi:10.1089/thy.2020.0920.
15. Gridelet V, Perrier d'Hauterive S, Polese B, et al. Human Chorionic Gonadotrophin: New Pleiotropic Functions for an "Old" Hormone During Pregnancy. *Front Immunol*. 2020;11:343. doi:10.3389/fimmu.2020.00343.
16. Protsenko AM. Effects of insulin autoantibodies of different orders in pregnant women with type 1 diabetes mellitus on the condition of the newborn. *Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal*. 2022;66(3):59-68. (In Russ.) Проценко А. М. Влияние аутоантител к инсулину у беременных с сахарным диабетом I типа на состояние новорожденных. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2022;66(3):59-68. doi:10.25557/0031-2991-2022-03-59-68.
17. Gul Kara SM, Alkan Bulbul G, Kirtis E, et al. Maternal and cord serum levels of sFlt-1 and PlGF in pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus: a prospective cohort study. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2025;38(1):2491454. doi:10.1080/14767058.2025.2491454.
18. Anikeev AS, Starceva NM, Grabovskii VM, et al. Metabolic features in women with preeclampsia combined with gestational diabetes mellitus. *Doctor.ru*. 2023;22(1):62-7. (In Russ.) Аникеев А. С., Старцева Н. М., Грабовский В. М. и др. Особенности метаболизма у женщин с преэклампсией, сочетающейся с гестационным сахарным диабетом. *Доктор.Ру*. 2023;22(1):62-7. doi:10.31550/1727-2378-2023-22-1-62-67.
19. Kapustin RV, Tsybuk EM, Chepanov SV, et al. Assessment of the level of soluble fms-like tyrosine kinase-1 and placental growth factor for development prediction of preeclampsia in pregnant women with diabetes mellitus. *Journal of Obstetrics and*

- Women's Diseases. 2021;70(4):43-56. (In Russ.) Капустин Р.В., Цыбук Е.М., Чепанов С.В. и др. Оценка уровня растворимой fms-подобной тирозинкиназы-1 и плацентарного фактора роста для предикции развития преэклампсии у беременных с сахарным диабетом. Журнал акушерства и женских болезней. 2021;70(4):43-56. doi:10.17816/JOWD64108.
20. Nuzzo AM, Giuffrida D, Moretti L, et al. Placental and maternal sFlt1/PlGF expression in gestational diabetes mellitus. *Sci Rep*. 2021;11(2312). doi:10.1038/s41598-021-81785-5.
 21. Abbara A, Al-Memar M, Phylactou M, et al. Changes in Circulating Kisspeptin Levels During Each Trimester in Women With Antenatal Complications. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107(1):e71-83. doi:10.1210/clinem/dgab617.
 22. Hu K-L, Chang H-M, Zhao H-C, et al. Potential roles for the kisspeptin/kisspeptin receptor system in implantation and placentation. *Hum Reprod Update*. 2019;25(3):326-43. doi:10.1093/humupd/dmy046.
 23. Musa E, Matjila M, Levitt NS. Kisspeptins and Glucose Homeostasis in Pregnancy: Implications for Gestational Diabetes Mellitus—a Review Article. *Reprod Sci*. 2022;29(2):321-7. doi:10.1007/s43032-020-00437-7.
 24. Felig P, Marliss E, Cahill GF Jr, et al. Plasma Amino Acid Levels and Insulin Secretion in Obesity. *NEJM*. 1969;281:811-6. doi:10.1056/NEJM196910092811503.
 25. Gong L, Jiang S, Tian J, et al. STZ-induced gestational diabetes exposure alters PTEN/AKT/mTOR-mediated autophagy signaling pathway leading to increase the risk of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *Reprod Toxicol*. 2024;123:108494. doi:10.1016/j.reprotox.2023.108494.
 26. Kong X, Zhu Q, Dong Y, et al. Analysis of serum fatty acid, amino acid, and organic acid profiles in gestational hypertension and gestational diabetes mellitus via targeted metabolomics. *Front Neurosci*. 2022;26:9:974902. doi:10.3389/fnnt.2022.974902.
 27. Li N, Li J, Wang H, et al. Branched-Chain Amino Acids and Their Interactions With Lipid Metabolites for Increased Risk of Gestational Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;10:107(7):e3058-65. doi:10.1210/clinem/dgac141.
 28. Zhou Y, Zhao R, Lyu Y, et al. Serum and Amniotic Fluid Metabolic Profile Changes in Response to Gestational Diabetes Mellitus and the Association with Maternal-Fetal Outcomes. *Nutrients*. 2021;18;13(10):3644. doi:10.3390/nu13103644.
 29. Rosario FJ, Urschitz J, Powell TL, et al. Overexpression of the LAT1 in primary human trophoblast cells increases the uptake of essential amino acids and activates mTOR signaling. *Clin Sci (Lond)*. 2023;137(21):1651-64. doi:10.1042/CS20230490.
 30. Xing Xn, Duan Y, Wang Y, et al. The Association between Macrosomia and Amino Acids' Levels in Maternal and Cord Sera: A Case-Control Study. *Nutrients*. 2023;15(15):3440. doi:10.3390/nu15153440.
 31. Vladu IM, Clenciu D, Mitrea A, et al. Maternal and Fetal Metabolites in Gestational Diabetes Mellitus: A Narrative Review. *Metabolites*. 2022;22;12(5):383. doi:10.3390/metabo12050383.

Возможности и перспективы использования биомедицинских ресурсных коллекций, полученных от пациентов детского возраста, в клинических и научных целях

Мельник О. В., Злотина А. М., Фетисова С. Г., Фомичева Ю. В., Сокольников П. С., Колесов А. А., Вершинина Т. Л., Васичкина Е. С., Костарева А. А., Конради А. О.

ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова" Минздрава России. Санкт-Петербург, Россия

Цель. Продемонстрировать пути создания и перспективы применения биомедицинских ресурсных коллекций биоматериала пациентов детского возраста, а также возможности их дифференцированного использования в клинических и научных целях в условиях многопрофильного стационара на базе научно-исследовательского центра федерального уровня.

Материал и методы. В работу был включен биоматериал пациентов детского возраста, а также их родственников первой линии родства, забанкированный в период с 2016 по 2025 гг. в рамках реализации научных проектов НМИЦ им. В. А. Алмазова Минздрава России в области клинической генетики и педиатрии. Выделенная из образцов цельной крови и сухих пятен крови дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) использовалась для генетического тестирования с применением современных методов молекулярно-генетической диагностики.

Результаты. Возможности применения биоресурсных коллекций биоматериала пациентов детского возраста продемонстрированы на примере семейных случаев редких моногенных заболеваний, для которых ранее собранный биоматериал биобанка был использован для постановки диагноза и определения тактики дальнейшего наблюдения членов семьи, определения рисков для будущего потомства, углубления знаний по ведению пациентов с конкретным наследственным синдромом. В дополнение — возможность предполагать наличие новых фенотипов, ассоциированных с известным геном, и наоборот, раскрывать связь новых генов с известным фенотипом продемонстрирована на примерах семейных заболеваний, где биоматериал биобанка обеспечил возможность проведения сегрегационного анализа. На примере биоматериала когорты пациентов с определенной патологией проиллюстрирована возможность создания новых диагностических алгоритмов и лабораторных тест-систем, дифференцированного подхода к выбору таргетной генетической панели для диагностики, а также выявления новых клинико-генетических особенностей заболевания. Показана возможность определения мутации основателя на примере патологии, выявленной в конкретной этнической группе с потенциал-

ной возможностью описания времени ее возникновения и особенностей географического распространения.

Заключение. Создание биоресурсных коллекций, полученных от детского контингента, является сложной, но крайне важной, клинически необходимой и перспективной научной задачей. Ее реализация способствует проведению трансляционных научно-исследовательских работ как для усовершенствования методов диагностики, понимания патогенеза, особенностей течения заболеваний детского возраста, влияния факторов окружающей среды на их формирование, поиска новых генетических причин развития наследственной патологии и описания новых фенотипов, ассоциированных с известными генами, выявления предикторов тяжести течения и прогноза, так и в долгосрочной перспективе — для поиска новых терапевтических подходов и понимания механизмов развития заболеваний у взрослых.

Ключевые слова: биобанк, биомедицинские коллекции, биоматериал, детский возраст, генетическая диагностика.

Отношения и деятельность. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 25-15-00552.

Поступила 31/08-2025

Рецензия получена 30/09-2025

Принята к публикации 06/11-2025



Для цитирования: Мельник О. В., Злотина А. М., Фетисова С. Г., Фомичева Ю. В., Сокольников П. С., Колесов А. А., Вершинина Т. Л., Васичкина Е. С., Костарева А. А., Конради А. О. Возможности и перспективы использования биомедицинских ресурсных коллекций, полученных от пациентов детского возраста, в клинических и научных целях. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4567. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4567. EDN: SILFWO

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: orangelove@yandex.ru

[Мельник О. В.* — к.м.н., с.н.с., руководитель НИГ лабораторной генетики НИЛ молекулярной кардиологии и генетики Института молекулярной биологии и генетики, ORCID: 0000-0001-6727-4231, Злотина А. М. — к.б.н., руководитель НИЛ молекулярной кардиологии и генетики Института молекулярной биологии и генетики, ORCID: 0000-0002-2029-1197, Фетисова С. Г. — врач-детский кардиолог отделения кардиологии и медицинской реабилитации детского лечебно-реабилитационного комплекса Института перинатологии и педиатрии, ORCID: 0000-0002-2207-8920, Фомичева Ю. В. — врач-лабораторный генетик центральной клиничко-диагностической лаборатории, ORCID: 0000-0001-8950-8617, Сокольников П. С. — врач-лабораторный генетик центральной клиничко-диагностической лаборатории, ORCID: 0000-0001-7833-7840, Колесов А. А. — главный врач станции переливания крови университетской клиники, зав. Биобанком, ORCID: 0009-0008-9993-3789, Вершинина Т. Л. — зав. отделением кардиологии и медицинской реабилитации детского лечебно-реабилитационного комплекса Института перинатологии и педиатрии, ORCID: 0000-0003-1311-2020, Васичкина Е. С. — д.м.н., профессор кафедры перинатологии и педиатрии Института медицинского образования, гл.н.с. НИО сердечно-сосудистых заболеваний у детей, ORCID: 0000-0001-7336-4102, Костарева А. А. — д.м.н., директор Института молекулярной биологии и генетики, доцент кафедры внутренних болезней Института медицинского образования, ORCID: 0000-0002-9349-6257, Конради А. О. — д.м.н., профессор, академик РАН, зам. генерального директора по научной работе, зав. НИО артериальной гипертензии, зав. кафедрой организации управления и экономики здравоохранения Института медицинского образования, ORCID: 0000-0001-8169-7812].

Адреса организаций авторов: ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова" Минздрава России, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, 197341, Россия.
Addresses of the authors' institutions: Almazov National Medical Research Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Akkuratova str., 2, St. Petersburg, 197341, Russia.

Potential and prospects for using biomedical resource collections obtained from pediatric patients for clinics and research

Melnik O. V., Zlotina A. M., Fetisova S. G., Fomicheva Yu. V., Sokolnikova P. S., Kolesov A. A., Vershinina T. L., Vasichkina E. S., Kostareva A. A., Konradi A. O.

Almazov National Medical Research Center. St. Petersburg, Russia

Aim. To demonstrate the development and potential applications of biomedical resource collections of pediatric patient biomaterials, as well as the potential for their differentiated use for clinical and research purposes in a multidisciplinary hospital setting at a federal research center.

Material and methods. The study included biomaterial from pediatric patients and their first-degree relatives, banked between 2016 and 2025 as part of research projects at the Almazov National Medical Research Center in the field of clinical genetics and pediatrics. Deoxyribonucleic acid (DNA) isolated from whole blood samples and dried blood spots was used for genetic testing using modern molecular genetic diagnostic methods.

Results. The potential of using bioresource collections of pediatric patient biomaterial was demonstrated using familial cases of rare monogenic diseases, for which previously collected biomaterial from the biobank was used to establish a diagnosis and determine follow-up strategies for family members, identify risks to future offspring, and receive advance data on the management of patients with specific hereditary syndromes. Additionally, the ability to predict new phenotypes associated with a known gene, and conversely, to uncover the relationship of new genes with a known phenotype, was demonstrated using examples of familial diseases, where biobank biomaterial enabled segregation analysis. Using biomaterial from cohorts of patients with a specific pathology, the potential for developing novel diagnostic algorithms and laboratory test systems, a differentiated approach to selecting a targeted genetic panel for diagnosis, and the identification of new clinical and genetic disease features was showed. A founder mutation was showed to be identified in a pathology determined in a specific ethnic group, with the potential to describe the onset time and geographic distribution.

Conclusion. The creation of bioresource collections obtained from pediatric populations is a complex, yet extremely important, clinically necessary, and promising scientific task. Its implementation facilitates translational research aimed at improving diagnostic methods, under-

standing the pathogenesis and progression of childhood diseases, and the influence of environmental factors on their development. It also facilitates the search for new genetic causes of hereditary pathologies and the description of new phenotypes associated with known genes. It also identifies predictors of disease severity and prognosis. In the long term, it facilitates the search for novel therapeutic approaches and understanding the disease pathogenesis in adults.

Keywords: biobank, biomedical collections, biomaterial, childhood, genetic diagnostics.

Relationships and Activities. This work was supported by Russian Science Foundation grant 25-15-00552.

Melnik O. V.* ORCID: 0000-0001-6727-4231, Zlotina A. M. ORCID: 0000-0002-2029-1197, Fetisova S. G. ORCID: 0000-0002-2207-8920, Fomicheva Yu. V. ORCID: 0000-0001-8950-8617, Sokolnikova P. S. ORCID: 0000-0001-7833-7840, Kolesov A. A. ORCID: 0009-0008-9993-3789, Vershinina T. L. ORCID: 0000-0003-1311-2020, Vasichkina E. S. ORCID: 0000-0001-7336-4102, Kostareva A. A. ORCID: 0000-0002-9349-6257, Konradi A. O. ORCID: 0000-0001-8169-7812.

*Corresponding author: orangelove@yandex.ru

Received: 31/08-2025

Revision Received: 30/09-2025

Accepted: 06/11-2025

For citation: Melnik O. V., Zlotina A. M., Fetisova S. G., Fomicheva Yu. V., Sokolnikova P. S., Kolesov A. A., Vershinina T. L., Vasichkina E. S., Kostareva A. A., Konradi A. O. Potential and prospects for using biomedical resource collections obtained from pediatric patients for clinics and research. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025; 24(11):4567. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4567. EDN: SILFWO

БРК — биоресурсная(ые) коллекция(и), ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, ВВМРИ-ERIC — Biobanking and BioMolecular resources Research Infrastructure-European Research Infrastructure Consortium, DSP — desmoplakin (десмоплакин).

Введение

На сегодняшний день известно >7000 редких заболеваний, <5% из которых имеют эффективные терапевтические подходы. Большинство редких заболеваний дебютируют в детском возрасте и многие из них приводят к тяжелой инвалидизации, либо летальному исходу [1]. Недавний беспрецедентный прогресс научных и лабораторных методов исследования генома, успехи разработки и внедрения генной терапии и фермент-заместительной терапии обусловили рост научного интереса к редким заболеваниям, поскольку раннее подтверждение диагноза приводит к своевременному и целенаправленному назначению терапии (если она доступна для конкретного случая), и, соответственно, к значительному улучшению прогноза и качества жизни пациента. Для разработки и внедрения новых под-

ходов к терапии редких заболеваний также необходимо накопление знаний о естественном течении заболеваний, однако перспективы использования новых подходов ограничены малочисленностью когорт пациентов [1]. Исследования в области этиологии, изучения механизмов развития и подходов к терапии редких заболеваний могут способствовать прогрессу в лечении распространенных заболеваний.

Проведение исследований на биологических образцах, полученных от детского контингента, позволяет расширить знания о генетических заболеваниях и взаимодействии генов с окружающей средой, что, в свою очередь, способствует улучшению как клинической, так и лабораторной диагностики, а также совершенствованию терапевтических подходов и созданию специальных методов лечения [2].

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Биологические образцы, полученные от пациентов детского возраста, являются необходимым материалом для проведения ценных трансляционных исследований в области педиатрии.
- Создание отдельных биоресурсных педиатрических коллекций и педиатрических биобанков, долгосрочное хранение биоматериала контингента детского возраста сопряжено с рядом этических-юридических сложностей.

Что добавляют результаты исследования?

- Демонстрируют возможность, обосновывают целесообразность создания биомедицинских ресурсных коллекций биоматериала пациентов детского возраста в условиях многопрофильного стационара на базе научно-исследовательского центра федерального уровня.
- Проведение генетических исследований с применением современных методик на биоматериале, целенаправленно собранном в течение длительного времени, позволило расширить представления о клинико-генетическом ландшафте редких заболеваний, разработать дифференцированный подход к выбору размера генетической таргетной панели для генетического тестирования полигенно обусловленной патологии, выявить новую, ранее не описанную мутацию с эффектом основателя, характерную для популяции определенного региона.

Key messages

What is already known about the subject?

- Biological samples obtained from pediatric patients are essential material for valuable translational research in pediatrics.
- The creation of separate pediatric bioresource collections and pediatric biobanks, as well as the long-term storage of biomaterial from children, is associated with a number of ethical and legal challenges.

What might this study add?

- They demonstrate the feasibility and justify creating biomedical resource collections of pediatric patient biomaterial in a multidisciplinary hospital setting at a federal research center.
- Conducting genetic research using modern techniques on biomaterial purposefully collected over a long period of time made it possible to expand our understanding of the clinical and genetic landscape of rare diseases, develop a differentiated approach to selecting the size of a target panel for genetic testing of polygenic pathologies, and identify a new, previously undescribed founder-effect mutation characteristic of the population of a specific region.

Педиатрия — сложная область в биобанкировании в силу ряда причин. Прежде всего, это сопряжено с этическими-юридическими аспектами, поскольку информированное согласие на взятие, хранение и использование биоматериала детей дают их законные представители. Имеют ли право родители давать широкое информированное согласие или должны давать его под конкретный проект? Достаточно ли информированного согласия от одного из родителей или необходимо брать согласие у обоих вследствие получения ребенком равного генетического материала от каждого из них? Должно ли родительское информированное согласие быть ограничено временем наступления совершеннолетия ребенка? Необходимо ли брать повторное информированное согласие у пациента по достижении им совершеннолетия с правом отзыва родительского согласия, биологических образцов пациента из биобанка и их утилизации? Имеют ли родители этическое право подвергать ребенка процедуре взятия биоматериала против его воли, невзирая на страх ребенка

перед болезненностью процедуры? Помимо этических-юридических вопросов существуют технические сложности — невозможность получения достаточного количества биоматериала для биобанкирования у определенной категории пациентов (например, новорожденные и недоношенные дети), страх ребенка перед медицинскими манипуляциями, страх перед болью, брезгливость и отвращение к биологическим жидкостям.

Международные рекомендации по биобанкированию в основном касаются взрослых участников, и даже если речь идет о детском контингенте, документы не имеют обязательной силы, противоречивы или содержат лишь ограниченные рекомендации по ряду вопросов, касающихся детских биобанков. Национальные рекомендации по биобанкированию с особым вниманием к педиатрии имеют несколько стран: Австралия, Италия, Великобритания, Ирландия, Германия, Швейцария, Япония. В основном они носят рекомендательный характер, кроме Австралии, Великобритании и Японии, где подлежат к исполнению [3].

Таблица 1

Количество организаций и коллекций биоматериала доноров детского возраста по данным BVMRI-ERIC в зависимости от параметров фильтрации поиска

	Количество организаций	Количество коллекций
Всего:	403	3550
Параметры фильтрации:		
Категория "Paediatrics"	123	440
Категория "Paediatrics" + тип материала "Whole blood"	63	155
+ тип материала "DNA"	98	319
Категория "Paediatrics" + тип материала "Whole blood" + тип коллекции "Hospital"	28	39
+ тип материала "DNA"	30	67
Категория "Paediatrics" + тип материала "Whole blood" + тип коллекции "Birth cohort"	11	14
+ тип материала "DNA"	15	22
Категория "Paediatrics" + тип материала "Whole blood" + тип коллекции "Population-based"	22	32
+ тип материала "DNA"	31	52
Категория "Paediatrics" + тип материала "Whole blood" + тип коллекции "Twin-study"	6	6
+ тип материала "DNA"	9	9

Примечание: BVMRI-ERIC — Biobanking and BioMolecular resources Research Infrastructure-European Research Infrastructure Consortium, DNA — deoxyribonucleic acid (дезоксирибонуклеиновая кислота, ДНК).

Этические вопросы, возникающие при создании коллекций биоматериала, полученного от пациентов детского возраста, отличаются более сложным устройством, чем у пациентов взрослой когорты, и охватывают такие аспекты, как: информированное согласие, повторное согласие по достижении совершеннолетия, последствия результатов генетических исследований для ребенка и членов его семьи [4]. Информированное согласие в случае участника детского возраста дает его законный представитель. С юридической точки зрения согласия одного из родителей достаточно как в Российской Федерации, так и за рубежом, однако лучшей практикой является получение информированного согласия от обоих родителей [5]. Вопрос юридической силы родительского информированного согласия и необходимости повторного получения согласия у самого ребенка по достижении им совершеннолетия остается дискуссионным [6, 7]. Согласно результату исследования по опросу подростков (11–21 лет) в Великобритании, 76,5% опрошенных предпочли бы дать повторное согласие, когда станут достаточно зрелыми для этого, даже если ранее было получено согласие родителей [8]. Именно по причине того, что дети не могут самостоятельно дать согласие и отказаться от права на отзыв в момент донорства, право на отзыв для детей важнее, чем право на отзыв для взрослых доноров [9].

Вышеизложенные трудности обуславливают немногочисленность педиатрических биомедицинских коллекций в мире. Так, согласно данным общенационального опроса биобанков США 2012г,

44% из них хранят биообразцы, собранные у участников в возрасте до 18 лет и только в 2% биобанков хранятся исключительно педиатрические образцы, однако численность коллекций не приводится [10].

По данным BVMRI-ERIC (Biobanking and BioMolecular resources Research Infrastructure-European Research Infrastructure Consortium)¹ в разделе поиска образцов и данных представлено 403 организации и 3550 коллекций. При фильтрации поиска по категории "Педиатрия" ("Paediatrics") количество организаций уменьшается до 123, коллекций до 440. При выборе фильтра помимо категории "Педиатрия" тип материала "Цельная кровь" ("Whole blood"), количество организаций сокращается до 63, коллекций до 155. Данные таблицы 1 демонстрируют изменение количества организаций и коллекций по данным BVMRI-ERIC, имеющих педиатрические биообразцы, в зависимости от параметров фильтрации поиска.

Педиатрические биоресурсные коллекции (БРК) в европейских биобанках представлены преимущественно биообразцами пациентов с конкретным заболеванием, либо собранных случайно в определенной больнице во время стационарного лечения у пациентов, чьи законные представители дали информированное согласие на взятие и хранение биоматериала. Однако некоторые страны-участницы BVMRI-ERIC располагают коллекциями биоматериала детского населения, созданными в рамках

¹ BVMRI-ERIC Directory <https://directory.bbmri-eric.eu/ERIC/directory/#/catalogue>.

не только нозологических проектов, но и исследований здоровья детей и подростков и средовых факторов, влияющих на него, а также близнецовых когорт (Нидерланды, Финляндия, Чешская Республика, Швеция, Германия, Мальта).

Еще сложнее получить информацию о наличии педиатрических биомедицинских коллекций в российских биобанках. При анализе пресс-релизов биобанков-членов НАСБИО (Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию), нам удалось лишь у 6 найти сведения о хранении биообразцов, полученных от детского контингента, среди которых и биобанк НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России².

Все вышеизложенное отражает колоссальное значение создания БРК биологического материала, полученного от пациентов и здоровых доноров детского возраста для клинической и научной медицины. А значимость биобанков, как ключевой составляющей реализации долгосрочных научно-исследовательских проектов, к которым относятся преимущественно генетические исследования, является неоспоримой.

Цель исследования — продемонстрировать пути создания и перспективы применения биомедицинских ресурсных коллекций биоматериала пациентов детского возраста, а также возможности их дифференцированного использования в клинических и научных целях в условиях многопрофильного стационара на базе научно-исследовательского центра федерального уровня.

Материал и методы

Биоматериал от пациентов детского возраста в биобанке НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России начал кумулироваться с 2016г, когда стартовали первые генетические проекты в области педиатрии. После разработки дизайна исследования, критериев включения и исключения, каждый проект проходил этап согласования с руководством учреждения, процедуру одобрения Независимым этическим комитетом. Наша практика реализации генетических исследований включает в себя: получение широкого информированного согласия законных представителей на взятие биоматериала; сбор и хранение цельной крови пробанда и выделенной из нее дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) — долгосрочное хранение при температуре -20 °С; дифференцированное выделение и хранение РВМС (peripheral blood mononuclear cells, мононуклеарные клетки периферической крови) — долгосрочное хранение при температуре -80 °С — для возможного проведения дальнейших генетических и функциональных исследований; получение информированного согласия и биоматериала родителей, сибсов и ближайших родственников (если они доступны) в случаях больших родословных. Мы не используем полную анонимизацию биообразцов, а применяем кодированную систему, поскольку работа с детскими когортами зачастую подразумевает динамическое наблюдение

за участниками, а также, при необходимости, обеспечивает возможность повторного генетического тестирования. Данные полноэкзомного секвенирования, таргетного секвенирования панелей генов хранятся на сервере учреждения на диске "Биобанк", что по необходимости в дальнейшем позволяет проведение реанализа. Клинико-анамнестические и лабораторные данные хранятся в системе qMS, ассоциированной с программным обеспечением Биобанка.

В настоящее исследование выборочно был включен биоматериал пациентов детского возраста, а также их родственников первой линии родства, забанкированный в период с 2016 по 2025гг в рамках реализации генетических проектов НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России в области педиатрии: проекта по генотипированию редких генетических синдромов (1 семья), проекта по генотипированию пациентов детского возраста с аритмологическими синдромами (1 семья с прогрессирующим нарушением проводимости, ассоциированным с вариантом гена *DSP*, кодирующего десмоплакин), проекта по генотипированию пациентов детского возраста с дилатационной кардиомиопатией — ДКМП (1 семья), научно-исследовательской работы по генотипированию пациентов с гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП), в т.ч. уникальной группы детей с дебютом ГКМП в возрасте до 1 года и проекта по изучению семейных случаев первичной цилиарной дискинезии. Для биобанкирования использовалась цельная кровь в объеме от 1 до 4 мл (в зависимости от возраста и состояния пациента), взятая одновременно с плановыми анализами крови в клинических целях, чтобы избежать дополнительной травматизации ребенка. В случаях сбора биоматериала из регионов, к биобанкированию принимались сухие пятна крови. Из образцов цельной крови и сухих пятен крови выделялась ДНК, которая в последующем использовалась для генетического тестирования с применением различных методов: таргетное секвенирование гена интереса по Сэнгеру, метод секвенирования нового поколения с целевым обогащением на приборе Illumina MiSeq с помощью целевых панелей генов, а также полноэкзомное секвенирование. Остаточный биоматериал (цельная кровь, ДНК) повторно принимался в биобанк для дальнейшего ответственного хранения.

Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации. Письменное информированное согласие было получено у законных представителей детей, включенных в данное исследование, а также у каждого взрослого участника.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 25-15-00552 (роль источника финансирования — анализ и интерпретация данных).

Результаты

БРК биоматериала пробандов детского возраста в Биобанке НМИЦ им. В.А. Алмазова сформировалась в ходе реализации отдельных проектов в области педиатрии, начиная с 2016г, и на сегодняшний день составляет >1500 образцов цельной крови и геномной ДНК, а также, в ряде случаев, плазмы, мочи, тканей, и охватывает такие нозологии, как все виды кардиомиопатий (ГКМП,

² Члены НАСБИО <http://nasbio.ru/chlenstvo/chleny-nasbio>.

ДКМП, рестриктивная), аритмологические синдромы (синдром Бругада, синдром удлиненного интервала QT), множественные врожденные пороки, редкие генетические синдромы, неоплазии. Возможности использования данной коллекции представлены в нижеизложенных клинических примерах, демонстрирующих как научный, так и клинический потенциал коллекций, а также перспективы применения персонализированного подхода в современной медицине и, в частности, в области редких и орфанных нозологий.

Пример использования биоматериала БРК редких заболеваний для проведения медико-генетического консультирования

В 2018г нами был описан клинический случай синдрома Барта (OMIM#302060, ORPHA:111) у мальчика с отягощённым семейным анамнезом по внезапной смерти на фоне инфекционного заболевания внучатого дяди пробанда и летальным исходом пробанда от внезапной смерти на фоне эпизода инфекционного заболевания в возрасте 12 мес. [11]. Синдром Барта — X-сцепленное наследственное рецессивное заболевание с частотой встречаемости 1:300000-400000 живорожденных, обусловленное вариантами в гене тафазина (*TAZ*). Вовремя собранный и забанкированный биоматериал пробанда и родственников первой линии родства (родители, старший брат по матери) позволил, при появлении технических и лабораторных возможностей, провести полноценное генетическое тестирование с применением современных методов генетической диагностики. В биоматериале пробанда была детектирована ранее неописанная замена в гене *TAZ* (chrX:153648584, NM_000116:exon9:c.680dupA:p. Y227_F228delinsX) в гемизиготной форме, носительство данного варианта было установлено у матери пациента.

Спустя 2 года, во время третьей беременности, к нам обратились родители пробанда с просьбой проведения пренатальной диагностики. На сроке 12 нед. была выполнена биопсия ворсин хориона с последующим выделением ДНК плода, кариотипированием и секвенированием по Сэнгеру гена *TAZ*. В результате диагностики был установлен мужской кариотип 46XY, вместе с тем, замен в гене интереса обнаружено не было. Беременность благополучно завершилась рождением здорового мальчика.

В настоящее время в биобанке хранится цельная кровь и ДНК пробанда, а также всех обследованных членов семьи.

Пример использования биоматериала БРК, позволивший расширить представления о возможных клинических фенотипах DSP-ассоциированной патологии

В 2016г нами был опубликован семейный случай DSP-ассоциированного прогрессирующего нарушения сердечной проводимости, где пробан-

дом был пациент с повторяющимися обмороками с подросткового возраста [12]. У пациента был диагностирован синдром слабости синусового узла и атриовентрикулярная блокада 2 ст. Вследствие симптоматической брадикардии ему был имплантирован кардиостимулятор. Семейный анамнез был отягощен случаями внезапной сердечной смерти (два брата пробанда и его племянник скончались в возрасте 18 и 19 лет). Матери пациента в возрасте 42 лет был имплантирован кардиостимулятор из-за преходящей атриовентрикулярной блокады, а у еще одного брата на электрокардиограмме был выявлен синдром слабости синусового узла. На основании данных клинической картины было заподозрено семейное прогрессирующее нарушение проводимости (болезнь Ленегра) и определены показания к проведению генетического тестирования. У пробанда и всех доступных членов семьи (брата и матери) был детектирован один и тот же вариант в гене *DSP* (Chr6:7581474, rs1135401735, NM_004415.4:c.A5051G:p.His1684Arg) в гетерозиготном состоянии. На тот момент данный ген был описан исключительно в связи с развитием аритмогенной кардиомиопатии (OMIM#125647), сообщений о его связи с развитием синдрома слабости синусового узла или изолированным нарушением проводимости не было. Проведение сегрегационного анализа в комплексе с функциональным исследованием индуцированных плюрипотентных клеток [13, 14], дифференцированных в кардиогенном направлении, позволило подтвердить патогенную роль выявленного генетического варианта и благодаря семейному случаю заболевания впервые описать новый клинический фенотип для гена *DSP*.

Пример использования биоматериала БРК для проведения каскадного скрининга членов семьи и выявления новых случаев заболевания

В рамках проекта по генотипированию когорты детей с ДКМП наблюдали мальчика 16 лет, который до 15 лет рос и развивался без особенностей, когда после перенесенного инфекционного перикардита произошло ремоделирование сердца с формированием дилатационного фенотипа кардиомиопатии со снижением сократительной способности, наличием трикуспидальной недостаточности 3 ст., признаками застойной сердечной недостаточности.

В результате генетического тестирования был выявлен вариант нуклеотидной последовательности в гене *JPH2*, кодирующем белок юнктофилин-2 (Chr20:42815068, rs1131692244, NM_020433.4:c.G278A:p.Arg93His) (OMIM#605267), в гетерозиготном состоянии. При генетическом тестировании родителей пробанда, носительство детектированного у пациента генетического варианта было обнаружено у его фенотип-отрицательной матери, благодаря чему, мать пробанда была включена в скрининговую программу динамического наблюдения.

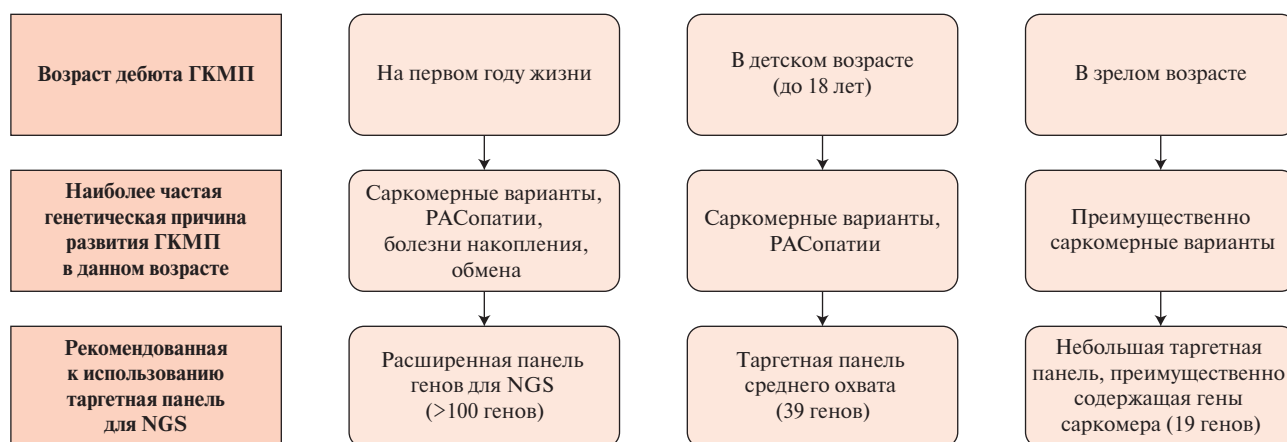


Рис. 1 Дифференцированный подход к выбору таргетных панелей для NGS-диагностики ГКМП в зависимости от возраста дебюта заболевания и данных об этиологической структуре ГКМП в возрастном аспекте.

Примечания: ГКМП — гипертрофическая кардиомиопатия, NGS — next generation sequencing (секвенирование следующего поколения). РАСопатии — группа фенотипически схожих генетических синдромов, вызванных мутациями в генах, кодирующих компоненты и регуляторы RAS-MAPK сигнального пути (РАС/митоген-активируемая протеинкиназа), ответственного за пролиферацию, дифференцировку, старение и апоптоз клеток и обеспечивающего этим нормальное развитие клеток и тканей организма в целом в эмбриональном и постнатальном периодах.

При отсутствии жалоб, в возрасте 45 лет у нее были обнаружены участки фиброза миокарда, акинезия и незначительное снижение систолической функции без предшествующего инфаркта миокарда или других причин, что позволило включить асимптомного носителя патогенного варианта в программу активного диспансерного наблюдения и, в последующем, вовремя инициировать терапию.

На момент генетического тестирования пробанда в 2017г в мировой научной литературе варианты в гене юнктофилина ассоциировали с развитием ГКМП. Позднее, в результате накопления данных, была показана роль гена *JPH2* в развитии ДКМП.

Пример использования биоматериала БРК для анализа редких когорт пациентов и разработки дифференцированного подхода к выбору панели для генетического тестирования в зависимости от возраста дебюта заболевания

Десять лет назад был описан летальный случай тяжелой ГКМП с внутриутробным дебютом, обусловленный двойной мутацией в генах RAS-сигнального пути, у мальчика 10- мес. возраста [15]. Этот случай определил научный интерес к изучению генетического пейзажа ранних дебютов ГКМП и положил начало созданию БРК биоматериала, полученного от детей с дебютом ГКМП в возрасте до 1 года. За последующие 9 лет нам удалось собрать репрезентативную по численности на мировом уровне [16-18] и наиболее полно охарактеризованную когорту данной патологии [19].

При анализе клинико-генетических данных этой группы детей было показано примерно одинаковое распределение случаев заболевания, обусловленных патогенными и вероятно-патогенными

вариантами в генах саркомера и генах *RAS-MAPK* сигнального пути; при этом более благоприятный прогноз характерен для пациентов с саркомер-ассоциированной ГКМП, тогда как наименьшая 1- и 5-летняя выживаемость, обусловленная прогрессирующей сердечной недостаточностью, имела место в случаях ГКМП, детерминированных причинными вариантами в метаболических генах [19].

В дополнение в рамках проекта по генотипированию группы детей в возрасте от 0 до 18 лет включительно с гипертрофическим фенотипом кардиомиопатии, в результате анализа собственных данных и доступных литературных данных нами был предложен алгоритм дифференцированного подхода к использованию таргетных панелей для NGS (next generation sequencing, секвенирование следующего поколения)-диагностики ГКМП в зависимости от возраста дебюта заболевания и сведений об этиологической структуре ГКМП в возрастном аспекте (рисунок 1) [20]. Наши данные внесли вклад в написание последних клинических рекомендаций по лечению и диагностике ГКМП [21], а также были внедрены в практическую деятельность стационара НМИЦ им. В.А. Алмазова.

Пример использования биоматериала БРК, для идентификации природы и времени возникновения мутации-основателя

В 2024г в рамках проекта по изучению генетической природы врожденных пороков при генотипировании 21 семьи с диагнозом "первичная цилиарная дискинезия" из разных регионов Российской Федерации, мы впервые описали интронный вариант с.2052+3G>T в гене *DNAH5*, кодирующем денин тяжелой цепи 5 (OMIM#603335) на стыке 14 экзона и 14 интрона. Согласно анализу секвени-

рования мРНК-транскриптов реснитчатых клеток дыхательных путей, данный вариант приводит к аномальному сплайсингу с пропуском экзона 14 и сдвигом рамки считывания. Вариант был детектирован у 4-х неродственных семей, проживающих на территории Удмуртии (г. Ижевск и его окрестности), в 3-х из которых пробанды были компаунд-гетерозиготами, а в одной — гомозиготой. Во всех 4-х случаях вариант с.2052+3G>T не был заменой *de novo*, а был унаследован пробандами от их родителей. Это позволило предположить, что данный вариант представляет собой мутацию основателя в удмуртской популяции. Анализ гаплотипов пробандов, проведенный с помощью SNP (Single Nucleotide Polymorphism)-генотипирования, подтвердил, что пациенты не имеют генетического родства по всему геному, но имеют общий гаплотип протяженностью ~6,25 млн п.н. (250-300 SNPs) в локусе *DNAH5*, что свидетельствует о роли эффекта основателя в распространении этого интронного варианта в популяции Удмуртии. В настоящее время этот вариант отсутствует как в международных, так и в российских общедоступных базах данных о частотах аллелей вариантов. С практической точки зрения, учитывая высокую распространённость мутации с.2052+3G>T среди российских пациентов с первичной цилиарной дискинезией из Удмуртской Республики, её следует учитывать при разработке генетических тестов для конкретных групп населения [22].

Обсуждение

Биобанки обеспечивают главнейшее условие реализации научно-исследовательских работ — долгосрочное хранение образцов биоматериала, что в большей степени касается биообразцов для генетических исследований и особо ценно в случае столь проблематичного создания коллекций биоматериала, полученного от пациентов детского возраста.

Мы в своей практике, при обсуждении с родителями и ребенком (если это уместно по возрасту и развитию ребенка) вопросов о необходимости взятия биоматериала у ребенка с последующим биобанкированием, стараемся брать письменное информированное согласие у обоих родителей (в случае их доступности), уведомляя при этом о бессрочности хранения биообразцов в нашем биобанке и о возможности отзыва согласия при личном обращении в биобанк как родителями в любое время, так и самим пациентом по достижении им совершеннолетия. Получение повторного информированного согласия пациента по достижении им совершеннолетия, безусловно, представляется необходимым, но, в то же время, является сложно осуществимой задачей в силу переездов семей, неактуальности контактной информации и пр. Однако мы считаем правильной и оправданной практику повторного получения информирован-

ного согласия у пациентов по достижении ими совершеннолетия, особенно в случае использования их биоматериала в генетических исследованиях, несмотря на отсутствие таковой практики в нашей стране. Согласно нашему опыту, родители/законные представители охотнее соглашаются на биобанкирование в случаях, когда осведомлены о вероятной генетической природе заболевания ребенка и имеют возможность получить генетическую диагностику, результаты которой будут обезличены в возможных научных публикациях. Мы разделяем позицию национального комитета по биоэтике Италии (NBC — National Bioethics Committees), призывающего запретить третьим лицам доступ к данным педиатрических биобанков [3], и полагаем, что уровень доверия биобанкам при лечебных и научно-исследовательских учреждениях с лечебной базой у родителей будет выше, нежели к коммерческим и научным биобанкам.

Приведенные нами примеры раскрывают не только научное предназначение биобанкирования биоматериала, полученного от контингента детского возраста, но и клиническую, этическую, моральную стороны, имеющие главенствующую роль для доноров биообразцов. Каждый пациент и каждая семья, включенные в настоящую работу, бесплатно получили дорогостоящую генетическую диагностику жизнеугрожающего заболевания, высококвалифицированную медицинскую помощь, динамическое наблюдение всех генотип-положительных членов их семей в условиях медицинского центра федерального уровня.

В первом примере исследование биоматериала членов семьи, хранившегося в биобанке, позволило установить причину редкого заболевания. Для описанной семьи это дает понимание необходимости семейного генетического скрининга в дальнейшей перспективе, возможность принимать обоснованные решения в планировании жизни и деторождении. Вместе с тем, возможность получения бесплатной пренатальной диагностики в центре с высоким уровнем доверия для данной семьи имела колоссальное этическое-моральное значение в виде снижения уровня страха и тревожности не только беременной женщины, но и всей семьи. Вышеизложенные аспекты улучшают качество жизни семей с редким заболеванием. С научной позиции, этот пример является частью накопления общемировых данных по конкретному синдрому. Так, в генетическую базу данных Barth Syndrome Foundation³, предоставляющую информацию о синдроме Барта клиницистам и исследователям по всему миру, внесен описанный нами вариант в гене *TAZ*⁴.

³ Home: Barth Syndrome Foundation <https://www.barthsyndrome.org/>.

⁴ Human TFAZZIN Variants Database <https://www.barthsyndrome.org/research/tafazzindatabase.html>.

Второй пример, благодаря семейному случаю заболевания, позволил впервые описать новый клинический фенотип для гена *DSP*. На сегодняшний момент данный ген ассоциирован с целым рядом наследственных заболеваний миокарда, одним из которых является прогрессирующее нарушение проводимости с риском последующего неблагоприятного ремоделирования миокарда. Данный пример демонстрирует, что семейные случаи с возможностью проведения сегрегационного исследования, позволяют предположить связь гена с определенным, возможно, новым и ранее не описанным фенотипом, тем самым, расширяя сведения о генетических заболеваниях.

Третий пример дал возможность заподозрить связь гена *JPH2* не только с развитием ГКМП, но и ДКМП, и этим расширить представление о генетическом разнообразии ДКМП. Он также продемонстрировал обоснованность использования широких таргетных панелей при генетической диагностике ДКМП, поскольку ген *JPH2* отсутствует в перечне рекомендованных к обязательному скринированию при генетическом тестировании пациентов с ДКМП (*LMNA, TTN, MYH7, RBM20, FLNC, SCN5A, BAG3, DSP, VCL, TNNT2, TNNC1, TPM1, ACTC1, PLN, NEXN*), согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению ДКМП [23]. Помимо этого, фенотип-отрицательная, но генотип-положительная мать пробанда была включена в скрининговую программу, благодаря чему, в возрасте 45 лет в ходе планового осмотра у нее были обнаружены ранние изменения миокарда при отсутствии клинических проявлений и жалоб.

Четвертый пример демонстрирует не только реальность создания БРК биоматериала, полученной от редкой когорты пациентов детского возраста, благодаря наличию биобанка в научно-исследовательском учреждении федерального уровня, но и значимость результатов генетического исследования данного биоматериала для практической медицины и научного сообщества, которые нашли отражение в публикации в высокорейтинговом педиатрическом научном журнале *Pediatric Research* [19]. Данное исследование также иллюстрирует, как многолетний опыт наблюдения пациентов определенной нозологической группы, биобанкирование биоматериала пробандов и их родственников первой линии родства и последующая генетическая диагностика дают возможность не только определить особенности клинического течения заболевания, спектр причинных генов, но и оценить эффективность и рациональность применения таргетных панелей генов разного охвата.

Последний пример отображает выход в клиническую практику подтвержденной научной гипотезы. В результате когортного исследования была выявлена новая мутация основателя, характерная для

удмуртской популяции. Эти данные, безусловно, стоит учитывать при разработке популяционных генетических тест-систем. Как известно, при достаточной выборке по мутации с эффектом основателя можно предсказать происхождение мутации, ее примерный возраст, географию распространения, а также миграцию популяций [24]. Данное понимание может быть важно и для внедрения экономически эффективного скрининга с учётом происхождения [24]. Таким образом, этот пример может стать началом большого когортного исследования по определению происхождения, возраста и географии описанной нами мутации.

Среди перспективных направлений биобанкирования биоматериала, полученного от детского контингента, приоритетным представляется создание БРК здоровых доноров детского возраста согласно выделяемым в педиатрии периодам детства. В отличие от научно-исследовательских работ, проводимых на когортах пациентов детского возраста, получение биоматериала здоровых доноров группы контроля и сравнения при проведении научных исследований с использованием БРК, полученных от взрослого контингента, не представляет трудностей. Так, в НМИЦ им. В. А. Алмазова много лет функционирует станция переливания крови с донорской базой >20 тыс. чел., что является неоспоримым преимуществом и позволяет исследователям оперативно получить информированные согласия и собрать коллекцию биоматериала взрослых здоровых доноров определенного возраста с конкретными критериями включения. Однако в нашем биобанке нет биологических образцов, полученных от клинически здоровых доноров детского возраста. Мы считаем создание такой коллекции биоматериала хоть и сложно осуществимой, как юридически, так и технически, но крайне важной задачей для проведения трансляционных исследований в педиатрии. По примеру ряда зарубежных биобанков, создавших профессиональные видеоролики для объяснения основ биобанкирования [7], вероятно, эту задачу возможно реализовать общими усилиями членов НАСБИО путем создания определенного наглядного пособия (например, мультфильма), доступно демонстрирующего детям и их родителям важность донорства биоматериала биобанкам. К примеру, в Бостонской детской больнице такое информационное видео включено в онлайн-согласие в качестве введения в биобанкирование [7].

Заключение

Создание БРК, полученных от детского контингента, особенно условно здоровых доноров, является сложной, но крайне важной, клинически необходимой и перспективной научной задачей для проведения трансляционных научно-исследовательских

работ как в практической педиатрии — для усовершенствования методов диагностики, понимания патогенеза, особенностей течения заболеваний детского возраста, влияния факторов окружающей среды на их формирование, поиска новых генетических причин развития наследственной патологии и описания новых фенотипов, ассоциированных с известными генами, выявления предикторов тяжести течения и прогноза, так и в долгосрочной перспективе — для понимания механизмов развития заболеваний

у взрослых и поиска новых терапевтических подходов. Приоритет в создании таких коллекций принадлежит биобанкам лечебных и научных учреждений с наличием клинической базы в силу более высокой степени доверия законных представителей к таким биобанкам перед коммерческими и научными биобанками.

Отношения и деятельность. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 25-15-00552.

Литература/References

- Kaufmann P, Pariser AR, Austin C. From scientific discovery to treatments for rare diseases — the view from the National Center for Advancing Translational Sciences — Office of Rare Diseases Research. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):196. doi:10.1186/s13023-018-0936-x.
- Cannovo N, Guarino R, Fedeli P. Ethical and deontological aspects of pediatric biobanks: the situation in Italy. *Cell Tissue Bank.* 2020;21(3):469-77. doi:10.1007/s10561-020-09833-4.
- Prince S, Then SN, O'Grady KA. Determining the state of guidance on pediatric biobanking for researchers, HRECS, and families: Regulatory mapping of international guidance. *Eur J Pediatr.* 2024;183(5):2477-90. doi:10.1007/s00431-024-05469-8.
- Tarling TE, Goldenberg A, Ellis A, et al. Ethical Challenges for Pediatric Biobanks. *Biopreserv Biobank.* 2021;19(2):101-5. doi:10.1089/bio.2020.0116.
- Hens K, Cassiman J-J, Nys H, et al. Children, biobanks and the scope of parental consent. *Eur J Hum Genet.* 2011;19(7):735-9. doi:10.1038/ejhg.2011.29.
- Hartsock JA, Schwartz PH, Waltz AC, et al. Anticipatory Waivers of Consent for Pediatric Biobanking. *Ethics Hum Res.* 2019;41(2):14-21. doi:10.1002/eahr.500008.
- Kasperbauer TJ, Halverson C. Adolescent Assent and Reconsent for Biobanking: Recent Developments and Emerging Ethical Issues. *Front Med (Lausanne).* 2021;8:686264. doi:10.3389/fmed.2021.686264.
- van der Velden FJS, Lim E, Gills L, et al. Biobanking and consenting to research: a qualitative thematic analysis of young people's perspectives in the North East of England. *BMC Med Ethics.* 2023;24(1):47. doi:10.1186/s12910-023-00925-w.
- Holm S. Informed consent and the bio-banking of material from children. *Genomics Soc Policy.* 2005;1:16-26. doi:10.1186/1746-5354-1-1-1.
- Henderson GE, Cadigan RJ, Edwards TP, et al. Characterizing biobank organizations in the U.S.: results from a national survey. *Genome Med.* 2013;5(1):3. doi:10.1186/gm407.
- Melnik OV, Loevets TS, Vershinina TL, et al. Barth syndrome in practice of cardiology. *Russian Journal of Cardiology.* 2018;(3):54-9. (In Russ.). Мельник О. В., Лоевец Т. С., Вершинина Т. Л. и др. Синдром Барта в практике кардиолога. *Российский кардиологический журнал.* 2018;(3):54-9. doi:10.15829/1560-4071-2018-3-54-59.
- Kiselev A, Mikhaylov E, Parmon E, et al. Progressive cardiac conduction disease associated with a DSP gene mutation. *Int J Cardiol.* 2016;216:188-9. doi:10.1016/j.ijcard.2016.04.164.
- Khudiakov A, Perepelina K, Klauzen P, et al. Generation of two iPSC lines (FAMRCi004-A and FAMRCi004-B) from patient with familial progressive cardiac conduction disorder carrying genetic variant DSP p.His1684Arg. *Stem Cell Res.* 2020;43:101720. doi:10.1016/j.scr.2020.101720.
- Gusev K, Khudiakov A, Zaytseva A, Perepelina K, et al. Impact of the DSP-H1684R Genetic Variant on Ion Channels Activity in iPSC-Derived Cardiomyocytes. *Cell Physiol Biochem.* 2020;54(4):696-706. doi:10.33594/000000249.
- Pervunina T, Vershinina T, Kiselev A, et al. Neonatal hypertrophic cardiomyopathy caused by double mutation in RAS pathway genes. *Int J Cardiol.* 2015;184:272-3. doi:10.1016/j.ijcard.2015.02.029.
- Norrish G, Kolt G, Cervi E, et al. Clinical presentation and long-term outcomes of infantile hypertrophic cardiomyopathy: a European multicentre study. *ESC Heart Fail.* 2021;8(6):5057-67. doi:10.1002/ehf2.13573.
- Stegeman R, Paauw ND, de Graaf R, et al. The etiology of cardiac hypertrophy in infants. *Sci Rep.* 2021;11(1):10626. doi:10.1038/s41598-021-90128-3.
- Marston NA, Han L, Olivotto I, et al. Clinical characteristics and outcomes in childhood-onset hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J.* 2021;42(20):1988-96. doi:10.1093/eurheartj/ehab148.
- Fetisova S, Melnik O, Vasichkina E, et al. The clinical and genetic spectrum of pediatric hypertrophic cardiomyopathy manifesting before one year of age. *Pediatr Res.* 2025;98(4):1301-12. doi:10.1038/s41390-025-03989-z.
- Fetisova SG, Melnik OV, Fomicheva YV, et al. Comparative informativeness of various targeted panels in the genetic diagnosis of hypertrophic cardiomyopathy in children. *Translational Medicine.* 2025;12(1):6-14. (In Russ.) Фетисова С. Г., Мельник О. В., Фомичева Ю. В. и др. Сравнительная информативность применения различных целевых панелей при генетической диагностике гипертрофической кардиомиопатии у детей. *Трансляционная медицина.* 2025;12(1):6-14. doi:10.18705/2311-4495-2025-12-1-6-14.
- Bokeria LA, Shlyakhto EV, Gabrusenko SA, et al. 2025 Clinical practice guidelines for Hypertrophic cardiomyopathy. *Russian Journal of Cardiology.* 2025;30(5):6387. (In Russ.) Бокерия Л. А., Шлякто Е. В., Габрусенко С. А. и др. Гипертрофическая кардиомиопатия. Клинические рекомендации 2025. *Российский кардиологический журнал.* 2025;30(5):6387. doi:10.15829/1560-4071-2025-6387. EDN: BUUCJT.
- Zlotina A, Barashkova S, Zhuk S, et al. Characterization of pathogenic genetic variants in Russian patients with primary ciliary dyskinesia using gene panel sequencing and transcript analysis. *Orphanet J Rare Dis.* 2024;19(1):310. doi:10.1186/s13023-024-03318-3.
- Chesnikova AI, Sitnikova MYu, Ageev FT, et al. Dilated cardiomyopathy. Guidelines 2025. *Russian Journal of Cardiology.* 2026;31(-):6672. Ahead of print. (In Russ.) Чесникова А. И., Ситникова М. Ю., Агеев Ф. Т. и др. Дилатационная кардиомиопатия. Клинические рекомендации 2025. *Российский кардиологический журнал.* 2026;31(-):6672. doi:10.15829/1560-4071-2026-6672. EDN: DBDNKD. В печати.
- Tuazon AMA, Lott P, Bohórquez M, et al. Haplotype analysis of the internationally distributed BRCA1 c.3331_3334delCAAG founder mutation reveals a common ancestral origin in Iberia. *Breast Cancer Res.* 2020;22(1):108. doi:10.1186/s13058-020-01341-3.

Цитокиновый профиль у пациентов с инфарктом миокарда в возрасте 80 лет и старше

Гусакова А. М., Кравченко Е. С., Сыркина А. Г., Огуркова О. Н., Суслова Т. Е., Рябов В. В.

Научно-исследовательский институт кардиологии, ФГБНУ Томский Национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, Россия

Цель. С использованием биоресурсной коллекции исследовать экспрессию цитокинов, хемокинов и факторов роста у пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) >80 лет и установить их взаимосвязь с развитием неблагоприятных исходов.

Материал и методы. В ретроспективное исследование включены 59 пациентов >80 лет с острым коронарным синдромом (ОКС). Анализировались клинико-демографические данные, лабораторные показатели, динамика биомаркеров при поступлении в стационар и 7 сут. Оценивались 30-дневные исходы. В зависимости от исходов пациенты были разделены на группы: группа 1 (n=11) — пациенты, умершие в течение 30 дней после ОКС, группа 2 (n=48) — остальные пациенты.

Результаты. Динамическое наблюдение в общей группе показало значимое снижение сывороточных уровней интерлейкинов (ИЛ)-6, ИЛ-8, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на 7 сут. после ОКС, а содержание эотаксина, напротив, увеличивалось. Выявлены ассоциации провоспалительных цитокинов с показателями клинических шкал стратификации риска. В группе с летальным исходом отмечены более высокие уровни ИЛ-10, ИЛ-15, фактора некроза опухоли альфа, моноцитарного хемотаксического белка 1, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора, макрофагального колониестимулирующего фактора и N-концевого промозгового натрийуретического пептида на 7 сут. ОКС. Сочетание N-концевого промозгового натрийуретического пептида >1000 пг/мл и ИЛ-15 >25 пг/мл на 7 сут. обладает наибольшей прогностической ценностью для оценки прогноза смерти

пациентов в течение 30 сут. после ОКС с чувствительностью 83,3% и специфичностью 90,6% (площадь под ROC-кривой =0,87).

Заключение. С использованием биоресурсной коллекции и мультиплексной технологии исследована экспрессия цитокинов, хемокинов и факторов роста у пациентов с ИМ >80 лет. Разработана модель, позволяющая прогнозировать развитие неблагоприятных событий у лиц с ИМ.

Ключевые слова: острый коронарный синдром, инфаркт миокарда, пожилые пациенты, старческий возраст, цитокины, хемокины, факторы роста, биоресурсная коллекция.

Отношения и деятельность. Работа выполнена в рамках темы ФНИ 122020300043-1 НИИ кардиологии Томского НИМЦ.

Поступила 21/08-2025

Рецензия получена 18/09-2025

Принята к публикации 23/09-2025



Для цитирования: Гусакова А. М., Кравченко Е. С., Сыркина А. Г., Огуркова О. Н., Суслова Т. Е., Рябов В. В. Цитокиновый профиль у пациентов с инфарктом миокарда в возрасте 80 лет и старше. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4553. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4553. EDN: NNMKHUS

Cytokine profile in patients with myocardial infarction aged 80 years and older

Gusakova A. M., Kravchenko E. S., Syrkina A. G., Ogurkova O. N., Suslova T. E., Ryabov V. V.
Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center. Tomsk, Russia

Aim. Using a bioresource collection, to study the expression of cytokines, chemokines, and growth factors in patients with myocardial infarction (MI) aged 80 years and older and to establish their relationship with unfavorable outcomes.

Material and methods. This retrospective study included 59 patients aged 80 years and older with acute coronary syndrome (ACS). Clinical and demographic data, laboratory parameters, and biomarker dynamics at hospital admission and after 7 days were analyzed. Thirty-

day outcomes were assessed. Patients were divided into groups based on outcomes as follows: group 1 (n=11) — patients who died within 30 days after ACS; group 2 (n=48) — the remaining patients.

Results. Follow-up in the overall group revealed a significant decrease in serum levels of interleukin (IL)-6, IL-8, and granulocyte colony-stimulating factor at day 7 after ACS, while eotaxin levels, conversely, increased. Associations between proinflammatory cytokines and clinical risk stratification scores were revealed. In the fatal group, higher levels

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: anna@cardio-tomsk.ru

[Гусакова А. М.* — к.ф.н., с.н.с. отделения клинической лабораторной диагностики, ORCID: 0000-0002-3147-3025, Кравченко Е. С. — м.н.с. отделения клинической лабораторной диагностики, ORCID: 0000-0002-1235-9956, Сыркина А. Г. — к.м.н., врач функциональной диагностики консультативно-диагностического отделения, ORCID: 0000-0001-5581-5387, Огуркова О. Н. — к.м.н., н.с. отделения клинической лабораторной диагностики, ORCID: 0000-0001-8397-0296, Суслова Т. Е. — к.м.н., зав. отделением клинической лабораторной диагностики, ORCID: 0000-0001-9645-6720, Рябов В. В. — д.м.н., профессор, зам. директора по научной и лечебной работе, руководитель отделения неотложной кардиологии, ORCID: 0000-0002-4358-7329].

Адреса организаций авторов: Научно-исследовательский институт кардиологии — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук", ул. Киевская, 111-А, Томск, 634012, Россия.

Addresses of the authors' institutions: Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences, Kievskaya St., 111a, Tomsk, 634012, Russia.

of IL-10, IL-15, tumor necrosis factor-alpha, monocyte chemotactic protein 1, granulocyte colony-stimulating factor, macrophage colony-stimulating factor, and N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NTproBNP) were noted at day 7 after ACS. The combination of NTproBNP >1000 pg/ml and IL-15 >25 pg/ml on day 7 has the highest prognostic value for predicting patient mortality within 30 days after ACS, with a sensitivity of 83,3% and a specificity of 90,6% (AUC=0,87).

Conclusion. Using a bioresource collection and multiplex technology, the expression of cytokines, chemokines, and growth factors was studied in patients over 80 years of age with myocardial infarction. A model for predicting unfavorable outcomes in patients with myocardial infarction was developed.

Keywords: acute coronary syndrome, myocardial infarction, elderly patients, old age, cytokines, chemokines, growth factors, bioresource collection.

Relationships and Activities. The study was conducted within the Research Project № 122020300043-1 of the Cardiology Research Institute of the Tomsk National Research Medical Center.

Gusakova A. M.* ORCID: 0000-0002-3147-3025, Kravchenko E. S. ORCID: 0000-0002-1235-9956, Syrkina A. G. ORCID: 0000-0001-5581-5387, Ogurkova O. N. ORCID: 0000-0001-8397-0296, Suslova T. E. ORCID: 0000-0001-9645-6720, Ryabov V. V. ORCID: 0000-0002-4358-7329.

*Corresponding author:
anna@cardio-tomsk.ru

Received: 21/08-2025

Revision Received: 18/09-2025

Accepted: 23/09-2025

For citation: Gusakova A. M., Kravchenko E. S., Syrkina A. G., Ogurkova O. N., Suslova T. E., Ryabov V. V. Cytokine profile in patients with myocardial infarction aged 80 years and older. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4553. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4553. EDN: NNMKHUS

БРК — биоресурсная коллекция, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИЛ — интерлейкин, ИМ — инфаркт миокарда, КА — коронарная артерия, ОКС — острый коронарный синдром, ОШН — острая сердечная недостаточность, РКИ — рандомизированные контролируемые исследования, СКФ — скорость клубочковой фильтрации, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ССС — сердечно-сосудистые события, ФНО- α — фактор некроза опухоли альфа, G-CSF — Granulocyte Colony-stimulating Factor (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор), MCP-1 — Monocyte Chemoattractant Protein-1 (моноцитарный хемотаксический белок 1), M-CSF — Macrophage Colony-stimulating Factor (макрофагальный колониестимулирующий фактор), NT-proBNP — N-концевой промозговой натрийуретический пептид, шкала GRACE — Global Registry of Acute Coronary Events.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Биоресурсные коллекции в сочетании с клиническими, демографическими, лабораторными и инструментальными данными являются эффективным инструментом для изучения факторов риска и выявления особенностей патофизиологических механизмов прогрессирования и развития неблагоприятных исходов сердечно-сосудистых заболеваний.
- Пациенты в возрасте >80 лет представляют группу высокого риска развития осложнений после острого коронарного синдрома (ОКС). Выявление пожилых пациентов с секреторным фенотипом, ассоциированным с неблагоприятными сердечно-сосудистыми событиями после ОКС, является актуальным.

Что добавляют результаты исследования?

- С использованием биоресурсной коллекции исследована экспрессия цитокинов, хемокинов и факторов роста у пациентов с ОКС в возрасте >80 лет и установлена их взаимосвязь с развитием неблагоприятных исходов.
- Полученные результаты позволяют выделить приоритетные группы пациентов, различающихся по уровню биомаркеров в постинфарктном периоде, и в дальнейшем разработать подходы, направленные на снижение риска осложнений и неблагоприятных исходов у пожилых пациентов с ОКС.

Key messages

What is already known about the subject?

- Bioresource collections, combined with clinical, demographic, and paraclinical data, are an effective tool for studying risk factors and identifying the pathophysiological mechanisms underlying unfavorable outcomes.
- Patients over 80 years of age represent a high-risk group for developing complications after acute coronary syndrome (ACS). Identifying elderly patients with a secretory phenotype associated with adverse cardiovascular events after ACS is relevant.

What might this study add?

- Using a bioresource collection, the expression of cytokines, chemokines, and growth factors in patients over 80 years of age with ACS was studied, and their relationship with unfavorable outcomes was established.
- The obtained results make it possible to identify priority groups of patients differing in the level of biomarkers in the post-infarction period, and to further develop approaches aimed at reducing the risk of complications and unfavorable outcomes in elderly patients with ACS.

Введение

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), включая инфаркт миокарда (ИМ), по-прежнему остаются ведущей причиной высокой заболеваемости и преждевременной смерти во всем мире [1]. Согласно отчету Американской кардиологической ассоциации по статистике заболеваний сердца и инсультов за 2024г, заболеваемость ССЗ составляла 35-40% у людей в возрасте от 40 до 60 лет, 77-80% у пациентов в возрасте от 60 до 80 лет и >85% у пациентов >80 лет [2].

Возраст является не только фактором риска развития ССЗ, но и одним из основных предикторов госпитальных и отдаленных неблагоприятных исходов после острого коронарного синдрома (ОКС). Пациенты в возрасте ≥ 75 лет составляют ~40% от всех пациентов с ОКС [3] и, согласно данным отечественных исследований, наибольшая доля летальных исходов вследствие ИМ наблюдается в возрастной группе 70-90 лет [4].

Несмотря на широкое применение в клинической практике высокотехнологичных методов ранней реваскуляризации и оптимальной фармакотерапии, пациенты пожилого возраста с ОКС подвержены более высокому риску неблагоприятных исходов [5]. Риск смерти на госпитальном этапе среди пациентов с ОКС увеличивается, в среднем, на 70% на каждые 10 лет увеличения возраста (отношение шансов (OR — odds ratio) 1,70, 95% доверительный интервал (ДИ): 1,52-1,82) [6, 7]. По данным Lawless M, et al. (2023) смертность у пожилых пациентов с диагнозом ОКС была выше, чем у молодых (в стационаре — 3,7 vs 1,8% ($p < 0,001$); через 1 год — 12,8 vs 4,2% ($p < 0,001$); в долгосрочной перспективе — 21 vs 6,4% ($p < 0,001$) [3]. Отсутствие убедительных доказательств безопасности, эффективности вмешательств и оптимального лечения связано с тем, что лица пожилого и старческого возраста часто исключаются из рандомизированных контролируемых исследований (РКИ) ССЗ или недостаточно в них представлены [5, 8-10]. В настоящее время РКИ по оценке пользы инвазивной стратегии у пожилых пациентов с ИМ немногочисленны, а полученные результаты неоднозначны [7, 11-13].

Привлечение пожилых пациентов в РКИ традиционно считается проблематичным. К числу причин относятся: атипичное течение ИМ, высокий риск развития осложнений, распространенность исходной коморбидности и полипрагмазии, старческая астения, когнитивные и функциональные нарушения, распространенность многососудистого поражения, сложная коронарная анатомия и заболевания периферических артерий. Еще одним фактором, обуславливающим гетерогенность данной категории больных, является особенность биомаркерного профиля. Секреторный фенотип, ассоциированный со старением (Senescence-Associated Secretory Phenotype, SASP) заключается в по-

вышенной секреции факторов роста эндотелия сосудов, провоспалительных цитокинов и хемокинов, молекул адгезии, матриксных протеаз и протромботических факторов [14].

Известно, что в ответ на ишемию в миокарде происходят критические изменения на клеточном и молекулярном уровнях. К числу ключевых последствий относится гибель кардиомиоцитов, сопровождающаяся активацией воспалительных клеток и выбросом провоспалительных медиаторов [15, 16]. Изучение ассоциаций биомаркеров с ИМ не только дает представление о молекулярных путях развития заболевания, но и является инструментом диагностики, стратификации риска и идентификации потенциальных терапевтических целей. Биомаркеры также используются в оценке прогноза неблагоприятных исходов у пациентов с ИМ. Понимание того, какие маркеры лучше всего предсказывают риск у пожилых людей, является первоочередной задачей. Доклинические и клинические данные убедительно продемонстрировали участие и динамическую природу провоспалительных цитокинов при многих заболеваниях сердца; однако данные об уровне цитокинов, хемокинов, факторов роста у пациентов с ОКС старческого возраста, по-прежнему, ограничены.

Мультимаркерная стратегия является наиболее перспективным подходом для *in vitro* диагностики неотложных состояний, выявления особенностей патофизиологических механизмов прогрессирования заболевания и изучения дополнительных факторов риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (ССС) [17, 18]. Незаменимым инструментом для этого являются биоресурсные коллекции (БРК) биологического материала, организованные с соблюдением стандартов лабораторной обработки, в сочетании с клиническими, социально-демографическими, лабораторными и инструментальными данными [19]. Таким образом, использование БРК для изучения комплекса биомаркеров, ассоциированного с неблагоприятными ССС у больных с ИМ старшей возрастной группы, является актуальным.

Цель — с использованием БРК НИИ кардиологии Томского НИМЦ исследовать экспрессию цитокинов, хемокинов и факторов роста у пациентов с ИМ >80 лет и установить их взаимосвязь с развитием неблагоприятных исходов.

Материал и методы

Исследование выполнено в рамках проводимого регистра пациентов ≥ 80 лет с ОКС, госпитализированных в порядке скорой и экстренной помощи в отделение неотложной кардиологии НИИ кардиологии Томского НИМЦ с диагнозом ОКС. В одноцентровое ретроспективное исследование включены 59 пациентов. Критерии включения: возраст ≥ 80 лет, клинически установленный

диагноз ОКС на момент госпитализации, согласие на участие в исследовании. Критерии невключения: острый ИМ 5 типа, перевод пациента из другой больницы с длительностью пребывания в ней >24 ч, отказ пациента от участия в исследовании. У каждого пациента фиксировались основные клинико-демографические характеристики, данные анамнеза, объективного осмотра, лабораторные показатели, проводилась оценка лечебных мероприятий.

Включение пациентов в исследование проводилось после подписи пациентом или его законным представителем информированного согласия на участие в исследовании и согласия на обработку персональных данных. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом по биомедицинской этике. Все методы и процедуры применялись в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации.

Диагностика и лечение ИМ у всех пациентов соответствовали действующим рекомендациям ESC (European Society of Cardiology) по лечению ОКС [9]. Для прогнозирования и стратификации риска смерти на госпитальном этапе использовали шкалу GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events), для определения степени левожелудочковой недостаточности — классификацию по Т Killip. Период наблюдения за пациентами составил 1 мес., в течение которого оценивался жизненный статус, получаемое лечение, социальные моменты, собирались и анализировались данные о неблагоприятных событиях и времени их наступления. Конечной точкой являлась смерть от всех причин и смерть от ССЗ. В зависимости от выявленных неблагоприятных исходов пациенты были разделены на две группы: группа 1 (n=11) — пациенты, умершие в течение 30 дней после ОКС группа 2 (n=48) — остальные пациенты.

В состав БРК Криобанка биологических образцов НИИ кардиологии Томского НИМЦ включались следующие типы биообразцов: цельная кровь; сыворотка крови; плазма крови. Сбор образцов периферической крови проводили при поступлении в стационар (Т1) и на 7 сут. ИМ (Т2) в условиях процедурного кабинета с использованием вакуумных систем сбора крови с активатором свертывания крови (для получения сыворотки) и антикоагулянтом К₂-ЭДТА (для получения плазмы и цельной крови). Взятие крови, транспортировку в лабораторию биобанка, регистрацию поступивших в биобанк биообразцов и сопроводительной документации, пробоподготовку, аликвотирование, замораживание полученных биообразцов и внесение данных в информационную систему биобанка проводили в соответствии с разработанными стандартными операционными процедурами. Собранные в процессе динамического наблюдения биообразцы размещались на долговременное хранение при температуре -80 °С.

Индивидуальная регистрационная карта включала следующую информацию: демографические характеристики, клинико-анамнестические данные, время возникновения первых симптомов, первого контакта с медицинским персоналом и поступления в стационар; данные лабораторных и инструментальных исследований, данные коронарографии и чрескожного коронарного вмешательства, сведения о тромболитической и лекарственной терапии, клинические исходы в период стационарного лечения. У всех участников исследования было

получено письменное информированное добровольное согласие на помещение их биоматериала в биобанк с последующим использованием в научных целях.

Для количественного анализа цитокинов, хемокинов и факторов роста были использованы замороженные образцы сыворотки крови БРК Криобанка биологических образцов НИИ кардиологии Томского НИМЦ. Мультиплексный иммуноанализ проводили с использованием системы FLEXMAP 3D® System (Luminex® Corporation) и диагностической панели Human Cytokine/Chemokine/Growth Factor Panel A (НСУТА-60К-РХ48). N-концевой промозговой натрийуретический пептид (NT-proBNP) определяли тест-системой "NT-proBNP" (Biomedica) методом твердофазного иммуоферментного анализа.

Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0. Нормальность распределения количественных показателей оценивалась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Количественные показатели представлены медианой Me и интерквартильным размахом [Q25; Q75]. Категориальные показатели представлены в виде относительных (в %) значений. Для выявления статистически значимых различий количественных переменных между независимыми группами использовался U-критерий Манна-Уитни. Оценку статистической значимости динамических различий выполняли с помощью критерия Уилкоксона. Категориальные переменные в независимых группах сравнивались с помощью точного теста Фишера. Взаимосвязи между количественными переменными оценивались с использованием коэффициента корреляции Спирмена (R). Пороговый уровень значимости при проверке статистических гипотез составлял 0,05. Для выявления независимых предикторов смерти был проведен логистический регрессионный анализ. На первом этапе оценивался широкий спектр клинических и лабораторных параметров; в окончательные модели были включены только те переменные, которые продемонстрировали статистическую значимость в однофакторном анализе (p<0,05). Для количественной оценки силы ассоциаций были рассчитаны OR с 95% ДИ. Качество модели оценивалось с помощью анализа ROC-кривой.

Исследование проведено с использованием оборудования Центра коллективного пользования "Медицинская геномика" Томского НИМЦ.

Результаты

Основные демографические, клинико-анамнестические, лабораторные и функциональные характеристики обследованных пациентов представлены в таблице 1. Подавляющее число больных было женского пола. Более 79% пациентов исследуемой выборки имели избыточную массу тела. Повторный ИМ зафиксирован у 23 (39,0%) больных. Медиана по шкале GRACE составила 183,9 [159,0; 201,0] балла. Из 59 пациентов, включенных в исследование, однососудистое поражение коронарных артерий (КА) было выявлено у 28,8% (n=17) больных, поражение двух сосудов отмечалось у 23,7% (n=14) больных, ≥3 у 40,7% (n=24). У 6,8% (n=4) больных поражение ствола левой КА являлось

Таблица 1

Клинико-anamnestическая характеристика, лабораторные и инструментальные данные пациентов в общей группе и при различном 30-дневном исходе

Показатель	Общая группа (n=59)	Группа 1 (n=11)	Группа 2 (n=48)	p
Демографические данные				
Возраст, лет, Ме [Q25; Q75]	83 [81; 87]	85 [81; 89]	83 [81; 86]	0,425
Женский пол, %	72,9	72,7	72,9	0,628
Индекс массы тела, кг/м ² , Ме [Q25; Q75]	28,0 [25,6; 31,9]	25,4 [22,7; 30,5]	29,2 [26,5; 31,9]	0,054
Факторы риска и сопутствующие заболевания, %				
Гипертония	100	100	100	–
Сахарный диабет	25,4	18,2	27,1	0,426
Инсульт	10,2	18,2	8,3	0,309
Курение	8,5	0	10,4	0,342
Характеристики ИМ				
ИМпСТ, %	57,6	63,6	56,3	0,461
ИМбпСТ, %	42,4	36,4	43,7	0,461
Первичный ИМ, %	61	45,5	64,6	0,202
Время от двери до ПМК, мин., Ме [Q25; Q75]	180 [102; 409]	300 [116; 1240]	180 [90; 400]	0,316
Инструментальные данные, Ме [Q25; Q75]				
САД, мм рт.ст.	134 [117; 146]	143 [119; 146]	130 [115; 144]	0,312
ДАД, мм рт.ст.	76 [68; 86]	70 [65; 86]	77 [70; 86]	0,35
ЧСС, уд./мин	78 [68; 92]	89 [71; 103]	77 [67; 92]	0,143
Фракция выброса, %	50 [42; 59]	45 [42; 56]	50 [42; 60]	0,235
КДО ЛЖ, мл	95 [77; 120]	95 [85; 120]	95 [75; 120]	0,826
КСО ЛЖ, мл	45,5 [34,5; 67]	47 [43; 70]	44 [34; 65]	0,538
Ударный объем, мл	46 [38,5; 54,5]	46 [41; 50]	46 [38; 56]	0,677
Лабораторные данные, Ме [Q25; Q75]				
Тропонин I при поступлении, нг/мл	0,23 [0,02; 0,87]	0,70 [0,01; 1,60]	0,17 [0,03; 0,78]	0,471
Гемоглобин, г/л	123 [112; 141]	128 [107; 146]	122 [113; 135]	0,68
Гематокрит, %	36 [32; 41]	39 [31; 43]	36 [33; 39]	0,666
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	10,3 [7,9; 13,2]	12,4 [10,0; 14,8]	10,1 [7,9; 13,0]	0,213
Креатинин, ммоль/л	111,1 [85,0; 138,1]	133,7 [117,9; 155,2]	104,5 [84,3; 126,5]	0,033
СКФ, мл/мин/1,73 м ²	42,7 [30,0; 56,0]	35,0 [23,0; 43,0]	43,4 [35,7; 58,8]	0,035
Глюкоза, ммоль/л	8,6 [6,8; 11,1]	9,1 [6,1; 11,7]	8,4 [6,8; 11,1]	0,638

Примечание: АД — артериальное давление, ДАД — диастолическое АД, ИМ — инфаркт миокарда, ИМпСТ — ИМ с подъёмом сегмента ST, ИМбпСТ — ИМ без подъёма сегмента ST, КДО ЛЖ — конечно-диастолический объём левого желудочка, КСО ЛЖ — конечно-систолический объём левого желудочка, ПМК — первичный медицинский контакт, САД — систолическое АД, СКФ — скорость клубочковой фильтрации, ЧСС — частота сердечных сокращений.

гемодинамически незначимым. В соответствии с классификацией по T Killip у 71,2% (n=42) пациентов отмечен 1 класс тяжести острой сердечной недостаточности (СН) при ОКС, у 5,1% (n=3) пациентов — 2 класс, у 23,7% (n=14) пациентов — 3 и 4 классы.

В таблице 2 представлены результаты количественного определения исследованных биомаркеров, измеренных при поступлении в стационар и на 7 сут. ОКС. При сравнительном анализе цитокинового профиля обнаружено значимое снижение сыровоточных уровней интерлейкинов (ИЛ)-6, ИЛ-8, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF — Granulocyte Colony-stimulating Factor) на 7 сут. по сравнению с исходным уровнем. Содержание эотаксина, напротив, значимо увеличивалось на 7 сут. после ОКС.

Нами установлены ассоциации G-CSF при поступлении в стационар (R=0,34, p=0,035) и макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF — Macrophage Colony-stimulating Factor) на этапах T1 и T2 (R_{T1}=0,34, p=0,036; R_{T2}=0,35, p=0,032) с риском по шкале GRACE.

Корреляционный анализ выявил взаимосвязь ИЛ-10 с риском по классификации T. Killip (R_{T2}=0,36, p=0,027).

У пациентов с ИМ в анамнезе сыровоточный уровень эотаксина, ИЛ-6, ИЛ-10, моноцитарного хемотаксического белка 1 (MCP-1 — Monocyte Chemoattractant Protein-1) и M-CSF был статистически значимо ниже по сравнению с пациентами с первичным ИМ (рисунок 1).

В общей группе пациентов показаны отрицательные корреляционные взаимосвязи фракции

Таблица 2

Концентрации биомаркеров в сыворотке крови пациентов с ИМ, Ме [Q25; Q75]

Показатель, пг/мл	Исходная концентрация (T1)	Концентрация на 7 сут. ИМ (T2)	p
Эотаксин	62,35 [48,64; 80,09]	75,51 [51,71; 94,90]	0,016
ИЛ-6	15,74 [5,72; 35,55]	10,53 [6,31; 17,91]	0,025
ИЛ-8	4,78 [3,15; 9,88]	2,51 [1,13; 5,55]	0,001
ИЛ-10	6,67 [1,48; 46,88]	2,14 [0,27; 12,36]	0,351
ИЛ-15	11,08 [6,91; 13,84]	10,77 [7,43; 16,99]	0,094
G-CSF	47,55 [13,19; 111,27]	10,54 [0,21; 38,22]	0,001
M-CSF	37,27 [0,14; 96,43]	33,86 [0,14; 117,59]	0,744
MCP-1	262,44 [178,83; 437,92]	213,63 [172,01; 337,80]	0,328
ФНО- α	24,51 [16,78; 42,21]	29,56 [22,07; 42,82]	0,081
NT-proBNP	418,79 [149,95; 1126,24]	406,09 [176,22; 762,89]	0,350

Примечание: ИЛ — интерлейкин (-6, -8, -10, -15), ФНО- α — фактор некроза опухоли альфа, G-CSF — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, M-CSF — макрофагальный колониестимулирующий фактор, MCP-1 — моноцитарный хемотаксический белок 1, NT-proBNP — N-концевой промозговой натрийуретический пептид, Ме [Q25; Q75] — медиана (интерквартильный размах).

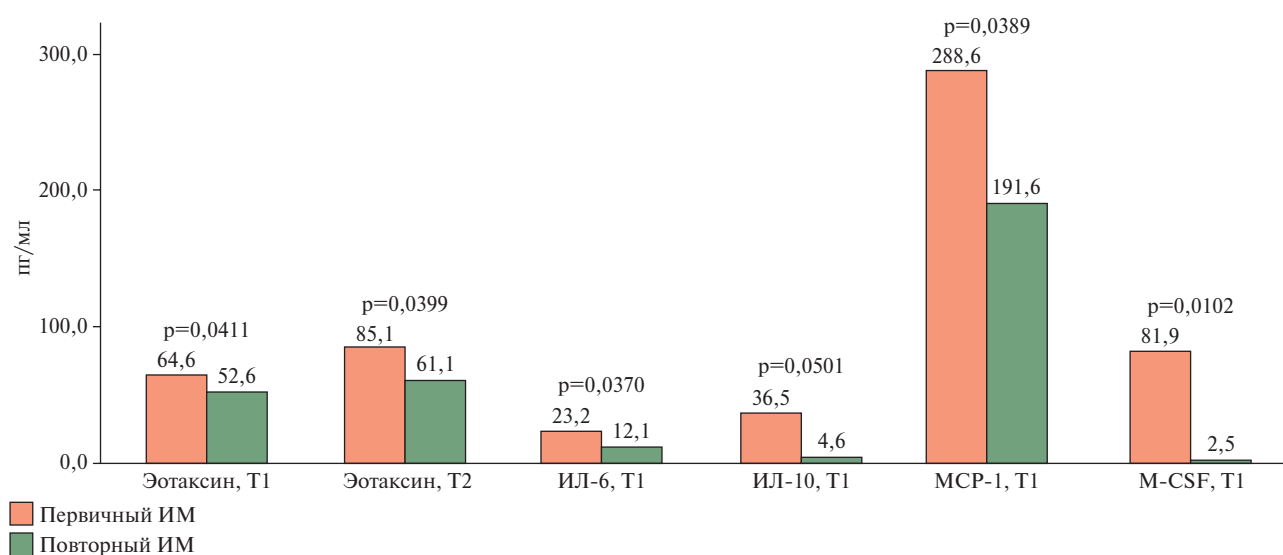


Рис. 1 Концентрации биомаркеров в сыворотке крови пациентов с первичным и повторным ИМ при поступлении в стационар (T1) и на 7 сут. ИМ (T2).

Примечание: ИМ — инфаркт миокарда, ИЛ — интерлейкин (-6, -10), M-CSF — макрофагальный колониестимулирующий фактор, MCP-1 — моноцитарный хемотаксический белок 1.

выброса левого желудочка с сывороточными уровнями NT-proBNP ($R=-0,53$, $p=0,001$), ИЛ-6 ($R=-0,41$, $p=0,011$).

При проведении корреляционного анализа лабораторных данных и результатов мультиплексного исследования в общей группе выявлена взаимосвязь уровня креатинина с содержанием MCP-1 ($p=0,043$) и M-CSF ($p=0,031$); скорости клубочковой фильтрации (СКФ) с уровнем NT-proBNP ($p=0,021$) и ИЛ-6 ($p=0,026$); содержания лейкоцитов с G-CSF ($p=0,015$), ИЛ-6 ($p=0,006$), ИЛ-10 ($p=0,014$); общего холестерина и холестерина липопротеинов низкой плотности с MCP-1 ($p=0,036$ и $p=0,013$).

Была оценена взаимосвязь между уровнем циркулирующих воспалительных цитокинов и клиническими исходами в обследованной когорте паци-

ентов. Через 30 дней после ИМ общая летальность среди пациентов составила 18,6%. Для дальнейшего исследования пациенты были разделены на две группы: группа 1 ($n=11$) — пациенты с 30-дневной летальностью; группа 2 ($n=48$) — остальные пациенты. Характеристика пациентов в исследуемых группах представлена в таблице 1. Пациенты группы 1 отличались высоким уровнем креатинина, низкой СКФ, более частым назначением низкомолекулярного гепарина и петлевых диуретиков, наблюдалась тенденция к увеличению индекса массы тела, однако данные не достигли статистической значимости; по всем остальным анализируемым параметрам, включая анамнестические данные и клиническое состояние, группы пациентов были сопоставимы ($p>0,05$) (таблица 1).

Таблица 3

Концентрации исследованных биомаркеров в сыворотке крови пациентов при поступлении в стационар (Т1) и на 7 сут. ИМ (Т2), Ме [Q25; Q75]

Показатель, пг/мл	Группа 1 (n=11)	Группа 2 (n=48)	p
Эотаксин, Т1	75,88 [63,66; 127,42]	60,74 [48,01; 77,06]	0,200
Эотаксин, Т2	106,42 [63,39; 126,26]	74,07 [51,06; 94,71]	0,238
ИЛ-6, Т1	82,69 [16,71; 162,92]	12,53 [5,71; 29,48]	0,097
ИЛ-6, Т2	52,82 [25,24; 142,42]	8,77 [5,20; 14,83]	0,014
ИЛ-8, Т1	11,00 [3,85; 88,77]	4,73 [3,05; 8,65]	0,123
ИЛ-8, Т2	9,46 [2,54; 18,49]	2,30 [1,06; 5,09]	0,024
ИЛ-10, Т1	29,32 [0,41; 280,41]	0,015 [0,008; 5,44]	0,062
ИЛ-10, Т2	23,39 [0,04; 56,29]	0,009 [0,006; 0,84]	0,006
ИЛ-15, Т1	22,06 [13,84; 26,96]	9,62 [6,67; 13,42]	0,006
ИЛ-15, Т2	23,43 [16,57; 44,83]	8,59 [7,04; 14,96]	0,004
G-CSF, Т1	153,62 [97,36; 642,48]	35,00 [12,85; 94,65]	0,036
G-CSF, Т2	43,54 [27,46; 214,75]	10,32 [0,19; 26,01]	0,036
M-CSF, Т1	190,61 [18,79; 450,04]	28,55 [0,11; 90,96]	0,048
M-CSF, Т2	268,28 [117,59; 458,57]	9,97 [0,13; 64,05]	0,007
MCP-1, Т1	545,96 [308,31; 1150,00]	247,14 [173,52; 349,39]	0,030
MCP-1, Т2	532,69 [335,87; 1480,00]	202,07 [161,95; 267,55]	0,001
ФНО-α, Т1	52,13 [35,96; 79,89]	22,59 [14,45; 37,57]	0,013
ФНО-α, Т2	58,02 [29,87; 102,35]	26,77 [21,36; 39,86]	0,018
NT-proBNP, Т1	1010,14 [318,37; 1654,91]	313,78 [146,63; 986,58]	0,258
NT-proBNP, Т2	1372,27 [762,89; 1859,50]	378,21 [166,30; 596,42]	0,030

Примечание: ИЛ — интерлейкин (-6, -8, -10, -15), ФНО-α — фактор некроза опухоли альфа, G-CSF — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, M-CSF — макрофагальный колониестимулирующий фактор, MCP-1 — моноцитарный хемотаксический белок 1, NT-proBNP — N-концевой промозговой натрийуретический пептид, Ме [Q25; Q75] — медиана (интерквартильный размах).

Таблица 4

Сравнительный анализ моделей бинарной логистической для оценки прогноза смерти пациентов в течение 30 сут. после ОКС

Показатель, пг/мл	OR (95% ДИ)	p	p модели	Чувствительность/ специфичность, %	AUC
Модель 1					
NT-proBNP, Т1	1,001 (1,000-1,002)	0,151	0,001	66,7/100	0,81
M-CSF, Т1	1,012 (1,002-1,022)	0,015			
Константа	-3,964	0,001			
Модель 2					
NT-proBNP, Т2	1,002 (1,000-1,004)	0,041	0,001	83,3/96,9	0,83
M-CSF, Т2	1,006 (1,001-1,012)	0,032			
Константа	-4,517	0,002			
Модель 3					
NT-proBNP, Т1	1,001 (1,000-1,002)	0,206	0,002	33,3/96,9	0,86
ИЛ-15, Т1	1,168 (1,018-1,340)	0,027			
Константа	-4,675	0,001			
Модель 4					
NT-proBNP, Т2	1,002 (1,000-1,004)	0,097	0,001	83,3/98,9	0,87
ИЛ-15, Т2	1,179 (1,014-1,372)	0,033			
Константа	-6,278	0,003			

Примечание: ДИ — доверительный интервал, ИЛ-15 — интерлейкин 15, ОКС — острый коронарный синдром, AUC — Area Under the ROC Curve (площадь под кривой), M-CSF — макрофагальный колониестимулирующий фактор, NT-proBNP — N-концевой промозговой натрийуретический пептид, OR — odds ratio (отношение шансов).

Сравнительная оценка цитокинового профиля в группах 1 и 2 представлена в таблице 3. В группе 1 наблюдалась повышенная экспрессия провоспалительных цитокинов ИЛ-15, ФНО-α, MCP-1, факторов роста G-CSF и M-CSF на этапах Т1 и Т2. На 7 сут. ОКС сывороточный уровень ИЛ-6, -8, -10

и NT-proBNP был выше у пациентов с зарегистрированными летальными исходами.

Нами были построены четыре модели бинарной логистической регрессии для выявления комбинации статистически значимых факторов, ассоциированных с прогнозом смерти в течение 30 дней после ОКС у пациентов старческого возраста (таблица 4).

Все модели включали уровень NT-proBNP, отражающий степень выраженности сердечной дисфункции, а в качестве второго компонента — либо маркер макрофагальной активации M-CSF, либо провоспалительный цитокин ИЛ-15, определяемые как при поступлении в стационар, так и на 7 сут. ОКС. Модели, включающие показатели на 7 сут., продемонстрировали более высокие значения чувствительности и специфичности по сравнению с моделями, построенными на основании исходных данных. Включение провоспалительного цитокина ИЛ-15 в качестве второго предиктора позволило повысить прогностическую значимость модели по сравнению с использованием M-CSF. Особенно высокой диагностической ценностью отличалась модель, основанная на сочетании NT-proBNP и ИЛ-15 на 7 сут. ОКС, которая обеспечила максимальные показатели специфичности и чувствительности, а также наибольшую площадь под ROC-кривой (AUC), что подчеркивает важность динамического наблюдения за данными биомаркерами.

Обсуждение

Результаты настоящего исследования представляют собой профиль цитокинового, хемокинового ответа на ОКС у пациентов старческого возраста на разных этапах ИМ.

Полученные результаты демонстрируют выраженное увеличение концентрации биомаркеров при поступлении в стационар: медианные значения эотаксина, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-15, G-CSF, M-CSF и ФНО- α были выше установленных референсных интервалов, полученных Сушенцевой Н. Н. и др. (2022) при анализе биоматериала из репозитория биобанка СПб ГБУЗ "Городская больница № 40" у пациентов с ССЗ в возрасте >65 лет [20]. Кроме того, установлено, что диапазон концентраций ИЛ-8, ИЛ-15, G-CSF, MCP-1 и ФНО- α в первые сутки ОКС у пациентов старческого возраста соответствует результатам, определенным в крови умерших пациентов с ПЦР (полимеразно-цепная реакция)-подтвержденным COVID-19 (Corona Virus Disease 2019) [21]. Мы показали, что у пациентов старческого возраста ОКС сопровождается значительно более высокими уровнями про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови.

Наблюдаемое повышение цитокина ИЛ-6, возможно, связано с нестабильностью атеросклеротиче-

ской бляшки и свидетельствует о высоком провоспалительном потенциале крови. В проведенном ранее исследовании уровни циркулирующего ИЛ-6 были повышены как при поступлении, так и через 72 ч после ИМ по сравнению с контрольной группой [22].

Повышенные уровни ИЛ-10 в настоящей работе могут указывать на активацию компенсаторных противовоспалительных механизмов. Как известно, ИЛ-10 играет ключевую роль в модуляции иммунных ответов посредством регуляции активности клеток Th1, моноцитов и макрофагов, а также подавления экспрессии таких провоспалительных цитокинов как ИЛ-1 β , ИЛ-6 [23].

Индукция хемокинов, включая ИЛ-8, происходит при постинфарктном воспалительном ответе. Сообщалось, что в первые сутки поступления в стационар у больных ИМ регистрировалось повышение уровня ИЛ-8 [24]. Схожие результаты были получены и в настоящем исследовании.

Медианные значения ИЛ-15 при поступлении в стационар в настоящем исследовании были выше установленного референсного значения 0,00 (0; 0,02) пг/мл [20]. Схожие данные были получены в работе Gokkusu C, et al. (2010), где уровни ИЛ-15 в сыворотке крови были значительно выше у пациентов как с ОКС, так и со стабильным течением ИБС по сравнению с лицами контрольной группы [25].

G-CSF, вырабатываемый в зоне ИМ, играет важную роль в стимуляции пролиферации и дифференцировки нейтрофилов из моноцитов [22]. Нами установлено, что уровень G-CSF у пациентов с ИМ старческого возраста превышал установленные референсные значения 23,22 (0; 26,47) пг/мл [20].

Полученные нами результаты показали, что уровни провоспалительных цитокинов в сыворотке крови претерпевают значимые динамические изменения. В обзоре Smykiewicz P, et al. (2018) сообщается, что экспрессия провоспалительных цитокинов увеличивается на протяжении всей жизни человека, и это увеличение коррелирует с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний и смертностью. Авторы утверждают, что повышенные концентрации циркулирующих провоспалительных цитокинов являются не только маркерами хронического слабовыраженного воспаления, но также отражают важную патофизиологическую связь между сердечно-сосудистым здоровьем и старением [26].

По данным настоящего исследования среди пациентов с ОКС старческого возраста преобладают женщины (72,9%), что может быть обусловлено увеличением доли женского населения среди лиц >65 лет. Полученные результаты согласуются с выводами европейских регистров, демонстрирующих среди пациентов с ИМ с подъемом сегмента ST >75 лет больший процент женщин в сравнении с более молодыми пациентами с аналогичным типом ИМ — 47,2 и 22,7%, соответственно [27].

Анализ полученных нами данных показал, что уровень ИЛ-6, ИЛ-8 и G-CSF в сыворотке крови больных ОКС статистически значимо снижался на 7 сут. ИМ. В публикации Namzic-Mehmedbasic A (2016) многофакторный регрессионный анализ Кокса показал, что сывороточный ИЛ-6 является независимым фактором риска смерти у пациентов с ОКС в возрасте $65,5 \pm 11,6$ лет (HR — hazard ratio (отношение рисков) = 61,7, 95% ДИ: [2,1-1851,0], $p=0,018$) [28].

Результаты динамического наблюдения показали значимое увеличение уровня эотаксина на 7 сут. ОКС. В исследовании Кравченко Е. С. и др. (2023) показана взаимосвязь высоких концентраций эотаксина с повышенным сердечно-лодыжечным сосудистым индексом у пациентов высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска, на основании чего предложено рассматривать эотаксин как фактор, связанный с атерогенезом и сосудистым старением [29].

Применение шкалы риска развития неблагоприятных исходов во время госпитализации у пациентов с ОКС без подъема сегмента ST позволяет оценить риск смерти, нефатального рецидива ИМ, и может использоваться у пациентов при любой тактике реперфузии миокарда. По результатам настоящего исследования, ОКС уровень G-CSF и M-CSF при поступлении были прямо взаимосвязаны с риском по шкале GRACE.

Нами установлено, что увеличение класса по Killip T при ОКС у пациентов в возрасте >80 лет сопровождалось статистически значимым повышением уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-10 ($p<0,05$). Săruntu F, et al. (2021) был проведен многофакторный логистический регрессионный анализ, в котором класс по T Killip ≥ 3 ($p<0,001$), вместе с возрастом ≥ 80 лет ($p<0,001$) и фракцией выброса левого желудочка $<40\%$ ($p<0,001$) были независимыми предикторами внутрибольничных летальных исходов у пациентов с острым ИМ [30].

В настоящем исследовании у пациентов с повторным ИМ показаны сниженные уровни ИЛ-6, ИЛ-10, MCP-1, M-CSF и эотаксина, что может потенциально указывать на истощение продукции и секреции цитокинов вследствие длительной иммунной активации и хронического воспаления, характерных для повторных коронарных событий. Ранее Шальной С. А. и др. (2022) было показано влияние ИМ в анамнезе на развитие фатальных и нефатальных ССС у лиц с ИМ [31]. Слабовыраженное воспаление, сохраняющееся после ИМ, так называемый остаточный воспалительный риск, может влиять на исход заболевания.

Известно, что высокое содержание NT-proBNP ассоциируется с неблагоприятным ранним и отдаленным прогнозом ИМ [32]. При этом увеличение уровня NT-proBNP при ИМ может определяться

не только тяжестью СН, но и рядом других причин, влияющих на формирование миокардиальной дисфункции и отдаленный прогноз острой коронарной катастрофы [33]. Weber M, et al. (2008) показано, что у пациентов с ОКС уровни NT-proBNP предоставляют независимую прогностическую информацию о риске смерти независимо от уровня тропонина [34]. Так, у пациентов с отрицательным результатом теста на тропонин T, умерших в период наблюдения, были выявлены более высокие исходные медианные значения NT-proBNP (2047 [209-3906] vs 154 [59-407] пг/мл; $p<0,001$) по сравнению с выжившими пациентами. В настоящем исследовании в группе пациентов с зарегистрированными летальными исходами показано значимое увеличение уровня NT-proBNP на 7 сут. госпитализации: 1372,27 [762,89; 1859,50] vs 378,21 [166,30; 596,42] пг/мл в группе без неблагоприятных событий ($p=0,030$).

Исследования про- и противовоспалительных факторов на основе мультиплексных панелей позволяют не только измерить большое количество лабораторных биомаркеров, но и выявить различные патогенетические механизмы, лежащие в основе прогрессирования атеросклероза, а также течения ИМ в разные периоды [17, 18]. Однако малоизученным остается вопрос о прогностических уровнях данных биомаркеров у лиц >80 лет. Большинство исследований, в которых изучался риск ИБС у пожилых людей, были относительно непродолжительными. Используемые на данный момент прогностические шкалы неблагоприятных исходов у пациентов с ИМ учитывают возраст пациентов, но не отражают их гериатрический статус и уровень концентрации биомаркеров. По мнению Abo-Aly M, et al. (2023), добавление воспалительных и иммунных параметров в модели клинического прогнозирования позволит повысить их точность [35].

Одной из важных задач настоящей работы было изучение прогностического значения цитокинового статуса у больных с благоприятным и неблагоприятным исходом ОКС. В исследовании впервые продемонстрирована возможность выявления неблагоприятного исхода в течение 30 дней после ИМ с использованием провоспалительного цитокина ИЛ-15 и NT-proBNP, отражающего степень выраженности сердечной дисфункции. По результатам работы была выбрана модель логистической регрессии и проведен ее ROC-анализ, который продемонстрировал высокие значения чувствительности и специфичности для выявления негативного прогноза в течение 30 дней после ИМ у пациентов старческого возраста.

Ограничения исследования. Основным ограничением настоящего исследования является небольшая численность выборки, ретроспективный и одноцентровый дизайн, что может ограничивать трансляцию результатов на более широкие популяции.

Заключение

Полученные данные дают новое представление о про- и противовоспалительном статусе пациентов старческого возраста с ОКС и подчеркивают важность выявления пожилых пациентов с секреторным фенотипом, ассоциированным с неблагоприятными ССС после ОКС.

Разработанная прогностическая модель позволяла на 7 сут. развития ОКС прогнозировать с большой

долей вероятности развитие неблагоприятных событий у лиц с ИМ пожилого и старческого возраста.

Полученные результаты могут позволить более дифференцированно подходить к лечению пожилых пациентов.

Отношения и деятельность. Работа выполнена в рамках темы ФНИ 122020300043-1 НИИ кардиологии Томского НИМЦ.

Литература/References

- Ryabov VV, Vyshlov EV, Alekseeva YV, et al. Fundamental and clinical problems of acute myocardial infarction. Tomsk: Cardiology Research Institute, 2021. p. 170. (In Russ.) Рябов В. В., Вышлов Е. В., Алексеева Я. В. и др. Фундаментальные и клинические проблемы острого инфаркта миокарда. Томск: НИИ кардиологии, Томский НИМЦ, 2021. с. 170. ISBN: 9785604274590.
- Martin SS, Aday AW, Almarazoo ZI, et al. 2024 Heart Disease and Stroke Statistics: A Report of US and Global Data From the American Heart Association. *Circulation*. 2024;149(8):e347-e913. doi:10.1161/CIR.0000000000001209.
- Lawless M, Damluji A, Dirjayanto VJ, et al. Differences in treatment and clinical outcomes in patients aged ≥ 75 years compared with those aged ≤ 74 years following acute coronary syndromes: a prospective multicentre study. *Open Heart* 2023;10:e002418. doi:10.1136/openhrt-2023-002418.
- Samorodskaya IV, Chernyavskaya TK, Kakorina EP, et al. Ischemic heart disease: medical certificate of cause of death analysis. *Russian Journal of Cardiology*. 2022;27(1):4637. (In Russ.) Самородская И. В., Чернявская Т. К., Какорина Е. П. и др. Ишемические болезни сердца: анализ медицинских свидетельств о смерти. *Российский кардиологический журнал*. 2022;27(1):4637. doi:10.15829/1560-4071-2022-4637.
- Sinclair H, Batty JA, Qiu W, Kunadian V. Engaging older patients in cardiovascular research: observational analysis of the ICON-1 study. *Open Heart*. 2016;3(2):e000436. doi:10.1136/openhrt-2016-000436.
- Butuhanova IS, Sodnomova LB. Problems of diagnosis and treatment of acute coronary syndrome in elderly and senile age. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016;(3):12-9. (In Russ.) Бутуханова И. С., Содномова Л. Б. Проблемы диагностики и лечения острого коронарного синдрома в пожилом и старческом возрасте. *Современные проблемы науки и образования*. 2016;(3):12-9.
- Veerasingam M, Edwards R, Ford G, et al. Acute coronary syndrome among older patients: a review. *Cardiol Rev*. 2015;23(1):26-32. doi:10.1097/CRD.000000000000016.
- Mehta SR, Wood DA, Storey RF, et al. Complete Revascularization with Multivessel PCI for Myocardial Infarction. *NEJM*. 2019;381:1411-21. doi:10.1056/nejmoa1907775.
- Byrne RA, Rossello X, Coughlan JJ, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes. *Eur Heart J. Acute Cardiovasc Care*. 2024;13(1):55-161. doi:10.1093/ehjacc/zuad107.
- Biscaglia S, Guiducci V, Escaned J, et al. Complete or Culprit-Only PCI in Older Patients with Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2023;389(10):889-98. doi:10.1056/NEJMoa2300468.
- Duplyakova PD, Pavlova TV, Duplyakov DV. Analysis of outcomes in patients with ST-segment elevation myocardial infarction aged 90 years and older: a single center experience. *Russian Journal of Cardiology*. 2023;28(4S):5706. (In Russ.) Дуплякова П. Д., Павлова Т. В., Дупляков Д. В. Анализ исходов у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST в возрасте 90 лет и старше — опыт одного центра. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(4S):5706. doi:10.15829/1560-4071-2023-5706.
- Kritchevsky SB, Cesari M, Pahor M. Inflammatory markers and cardiovascular health in older adults. *Cardiovasc Res*. 2005;66(2):265-275. doi:10.1016/j.cardiores.2004.12.026.
- Russian Society of Cardiology. 2020 Clinical practice guidelines for acute ST-segment elevation myocardial infarction. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(11):4103. (In Russ.) Российское кардиологическое общество (РКО). Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы. Клинические рекомендации 2020. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(11):4103. doi:10.15829/1560-4071-2020-4103.
- Stoicescu L, Crişan D, Morgovan C, et al. Heart Failure with Preserved Ejection Fraction: The Pathophysiological Mechanisms behind the Clinical Phenotypes and the Therapeutic Approach. *Int J Mol Sci*. 2024;25(2):794. doi:10.3390/ijms25020794.
- Matter MA, Paneni F, Libby P, et al. Inflammation in acute myocardial infarction: the good, the bad and the ugly. *Eur Heart J*. 2024;45(2):89-103. doi:10.1093/eurheartj/ehad486.
- Ryabov V, SamoiloVA Y, Gomboshapova A, et al. Associations Between Plasma Levels of NLRP3 Protein, Interleukin-1 Beta and Features of Acute ST-Elevation Myocardial Infarction. *J Pers Med*. 2024;14(11):1103. doi:10.3390/jpm14111103.
- Nurmohamed NS, Kraaijenhof JM, Mayr M, et al. Proteomics and lipidomics in atherosclerotic cardiovascular disease risk prediction. *Eur Heart J*. 2023;44(18):1594-607. doi:10.1093/eurheartj/ehad161.
- Eggers KM, Lindhagen L, Baron T, et al. Sex-differences in circulating biomarkers during acute myocardial infarction: An analysis from the SWEDEHEART registry. *PLoS ONE*. 2021;16(4):e0249830. doi:10.1371/journal.pone.0249830.
- Gusakova AM, Kravchenko ES, Suslova TE, et al. Biobanks in cardiovascular disease research. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(11):4170. (In Russ.) Гусакова А. М., Кравченко Е. С., Суслова Т. Е. и др. Биобанки в исследованиях сердечно-сосудистых заболеваний. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2024;23(11):4170. doi:10.15829/1728-8800-2024-4170.
- Sushentseva NN, Popov OS, Apalko SV, et al. Biobank as a source of samples for determination of concentration reference ranges for cytokines, chemokines and growth factors circulating in the blood. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3396. (In Russ.) Сушенцева Н. Н., Попов О. С., Апалько С. В. и др. Биобанк как источник образцов для определения референтных интервалов концентраций циркулирующих в крови цитокинов, хемокинов и факторов роста. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3396. doi:10.15829/1728-8800-2022-3396.

21. Arsentieva NA, Liubimova NE, Batsunov OK, et al. Predictive value of specific cytokines for lethal COVID-19 outcome. *Rus J Infect Immun.* 2022;12(5):859-68. doi:10.15789/2220-7619-PVO-2043.
22. Zhang H, Dhalla NS. The Role of Pro-Inflammatory cytokines in the pathogenesis of cardiovascular disease. *Int J Mol Sci.* 2024; 25(2):1082. doi:10.3390/ijms25021082.
23. Lobo-Silva D, Carriche GM, Castro AG, et al. Balancing the immune response in the brain: IL-10 and its regulation. *J Neuro-inflamm.* 2016;13(1):297. doi:10.1186/s12974-016-0763-8.
24. Rajappa M, Sen SK, Sharma A. Role of pro-/anti-inflammatory cytokines and their correlation with established risk factors in South Indians with coronary artery disease. *Angiology.* 2009; 60(4):419-26. doi:10.1177/0003319708321101.
25. Gokkusu C, Aydin M, Ozkok E, et al. Influences of genetic variants in interleukin-15 gene and serum interleukin-15 levels on coronary heart disease. *Cytokine.* 2010;49(1):58-63. doi:10.1016/j.cyto.2009.09.004.
26. Smykiewicz P, Segiet A, Keag M, et al. Proinflammatory cytokines and ageing of the cardiovascular-renal system. *Mech Ageing Dev.* 2018;175:35-45. doi:10.1016/j.mad.2018.07.006.
27. Dorobanțu M, Călmăc L, Bogdan A, et al. Particularities in coronary revascularization in elderly patients presenting with ST segment elevation acute myocardial infarction (STEMI). *Cor Vasa.* 2014; 56(4): e342-7. doi:10.1016/j.crvasa.2014.06.005.
28. Hamzic-Mehmedbasic A. Inflammatory Cytokines as risk factors for mortality after acute cardiac events. *Med Arch.* 2016;70(4): 252-5. doi:10.5455/medarh.2016.70.252-255.
29. Kravchenko ES, Suslova TE, Kologrivova IV, et al. Eotaxin and cardio-ankle vascular index in patients with high and very high cardiovascular risk. *Medical Immunology.* 2023;25(4):971-6. (In Russ.) Кравченко Е. С., Сулова Т. Е., Кологривова И. В. и др. Эотаксин и сердечно-лодыжечный сосудистый индекс у пациентов высокого и очень высокого сердечно-сосудистого риска. *Медицинская иммунология.* 2023;25(4):971-6. doi:10.15789/1563-0625-EAC-2768.
30. Căruntu F, Bordejevic DA, Buz B, et al. Independent predictors of in-hospital and 1-year mortality rates in octogenarians with acute myocardial infarction. *Rev Cardiovasc Med.* 2021;22(2):489-97. doi:10.31083/j.rcm2202056.
31. Shalnova SA, Drapkina OM, Kutsenko VA, et al. Myocardial infarction in the population of some Russian regions and its prognostic value. *Russian Journal of Cardiology.* 2022;27(6):4952. (In Russ.) Шальнова С. А., Драпкина О. М., Куценко В. А. и др. Инфаркт миокарда в популяции некоторых регионов России и его прогностическое значение. *Российский кардиологический журнал.* 2022;27(6):4952. doi:10.15829/1560-4071-2022-4952.
32. Barbarash OL, Usoltseva EN, Shafranskaya KS, et al. N-terminal brain natriuretic propeptide as a marker of multifocal atherosclerosis in patients with ST segment elevation myocardial infarction. *Russian Journal of Cardiology.* 2012;(3):12-8. (In Russ.) Барбараш О. Л., Усольцева Е. Н., Шафранская К. С. и др. Возможность использования n-терминального фрагмента мозгового натрийуретического пропептида как маркера мультифокального атеросклероза у больных инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST. *Российский кардиологический журнал.* 2012;(3):12-8. EDN: OYIKLH.
33. Ruda MY, Shakhnovich RM, Shreyder EV. Prognostic influence of inflammation markers and NT-proBNP indifferent ACS management strategies. *Cardiology bulletin.* 2008;2(3):44-52. (In Russ.) Руда М. Я., Шахнович Р. М., Шрейдер Е. В. Прогностическое влияние маркеров воспаления и NT-проBNP при различных вариантах лечения больных с ОКС. *Кардиологический вестник.* 2008;2(3):44-52.
34. Weber M, Bazzino O, Navarro Estrada JL, et al. N-terminal B-type natriuretic peptide assessment provides incremental prognostic information in patients with acute coronary syndromes and normal troponin T values upon admission. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51(12):1188-95. doi:10.1016/j.jacc.2007.11.054.
35. Abo-Aly M, Shokri E, Chelvarajan L, et al. Prognostic significance of activated monocytes in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Int J Mol Sci.* 2023;24(14):11342. doi:10.3390/ijms241411342.

Использование популяционного биобанка для анализа геногеографической изменчивости в России и мире трех полиморфизмов, связанных с тяжелым течением COVID-19

Балановская Е. В.¹, Воронина М. М.¹, Пономарев Г. Ю.¹, Горин И. О.¹, Борисова А. Л.², Покровская М. С.², Кошель С. М.³, Почешхова Э. А.^{1,4}, Адамов Д. С.¹

¹ФГБНУ Медико-генетический научный центр им. акад. Н. П. Бочкова. Москва; ²ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России. Москва; ³ФГБОУ ВО "Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова". Москва; ⁴ФГБОУ ВО "Кубанский государственный медицинский университет" Минздрава России. Краснодар, Россия

Цель. Изучить геногеографию SNP-маркеров, связанных с тяжелым течением COVID-19 (COroNa Virus Disease 2019), и выявить закономерности их распределения в коренном народонаселении России и мира. Частота генетических полиморфизмов, ассоциированных с осложнениями при COVID-19, неодинакова в разных этнических группах.

Материал и методы. На основе коллекций Биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России и Биобанка Северной Евразии определены частоты аллелей и генотипов генов *NFKB1A*, *TLR3*, *TMPRSS2*, ассоциированных с осложнениями при COVID-19. В анализ включены собственные данные (4207 образцов 186 популяций 97 этносов из России и сопредельных стран) и данные из публикаций (3070 образцов из 227 популяций мира). Данные изучены биоинформатическими, статистическими и картографическими методами.

Результаты. Выявлена высокая частота "рисковой" гомозиготы GG маркера *NFKB1A* (rs696) в популяциях России (0,55) с трендом ее роста с запада на восток в максимально широком диапазоне: от 0,08 у ижоры на северо-западе до 0,92 у эвенов Дальнего Востока. Для населения России характерны высокие значения частот альтернативных гомозигот полиморфизмов *TLR3* (rs3775291) и *TMPRSS2* (rs2070788), не связанных с риском осложнений при COVID-19. Коренное народонаселение Северной Евразии отличается наибольшим генетическим разнообразием среди всех регионов мира. При этом оно гармонично вписано в генофонд Евразийского континента, а Дальний Восток России является

переходной зоной к генофонду коренного населения Северной Америки.

Заключение. Исследование геногеографической изменчивости позволяет выявить регионы России и мира, для которых анализируемые ДНК-маркеры в наибольшей степени являются рискованными при тяжелом течении COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, SNP, геногеография, Россия, мир, биобанк, коренное население.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 10/07-2025

Рецензия получена 20/07-2025

Принята к публикации 08/09-2025



Для цитирования: Балановская Е. В., Воронина М. М., Пономарев Г. Ю., Горин И. О., Борисова А. Л., Покровская М. С., Кошель С. М., Почешхова Э. А., Адамов Д. С. Использование популяционного биобанка для анализа геногеографической изменчивости в России и мире трех полиморфизмов, связанных с тяжелым течением COVID-19. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4503. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4503. EDN: DKSGXD

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: balanovska@mail.ru

[Балановская Е. В. — д.б.н., профессор, зав. лабораторией популяционной генетики человека, ORCID: 0000-0002-3882-8300, Воронина М. М. — лаборант-исследователь, ORCID: 0009-0002-6840-7926, Пономарев Г. Ю. — н.с., ORCID: 0000-0002-0643-4374, Горин И. О. — н.с., ORCID: 0000-0001-9532-8954, Борисова А. Л. — н.с., руководитель лаборатории "Банк биологического материала" Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0003-4020-6647, Покровская М. С. — к.б.н., в.н.с. лаборатории "Банк биологического материала" Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0001-6985-7131, Кошель С. М. — к.г.н., в.н.с. географического факультета, ORCID: 0000-0002-4540-2922, Почешхова Э. А. — д.м.н., доцент, зав. кафедрой биологии и медицинских технологий, ORCID: 0000-0002-8991-7194, Адамов Д. С. — к.ф.-м.н., с.н.с., ORCID: 0009-0009-3527-4195].

Адреса организаций авторов: ФГБНУ Медико-генетический научный центр им. акад. Н. П. Бочкова, Москворечье, д. 1, Москва, 115478, Россия; ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России, Петроверигский пер., 10, Москва, 101990, Россия; ФГБОУ ВО Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Ленинские горы, д. 1, Москва, 119991, Россия; ФГБОУ ВО "Кубанский государственный медицинский университет" Минздрава России, ул. им. Митрофана Седина, д. 4, Краснодар, 350063, Россия.

Addresses of the authors' institutions: Bochkov Medical Genetics Research Center, Moskvorechye, 1, Moscow, 115478, Russia; National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Russian Ministry of Health, Petroverigsky Lane, 10, Moscow, 101990, Russia; Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory, 1, Moscow, 119991, Russia; Kuban State Medical University, Mitrofan Sedina str., 4, Krasnodar, 350063, Russia.

Using a population biobank to analyze genogeographic variability in Russia and globally for three polymorphisms associated with severe COVID-19

Balanovskaya E. V.¹, Voronina M. M.¹, Ponomarev G. Yu.¹, Gorin I. O.¹, Borisova A. L.², Pokrovskaya M. S.², Koshel S. M.³, Pocheshkhova E. A.^{1,4}, Adamov D. S.¹

¹Bochkov Medical Genetics Research Center. Moscow; ²National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow;

³Lomonosov Moscow State University. Moscow; ⁴Kuban State Medical University. Krasnodar, Russia

Aim. To study the genogeography of SNP markers associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) and identify patterns of their distribution in indigenous populations of Russia and worldwide. The frequency of genetic polymorphisms associated with COVID-19 complications varies across ethnic groups.

Material and methods. Using collections from the Biobank of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine and the Biobank of Northern Eurasia, we determined the allele and genotype frequencies of the *NFKBIA*, *TLR3*, and *TMPRSS2* genes associated with COVID-19 complications. The analysis included our own data (4207 samples from 186 populations of 97 ethnic groups from Russia and neighboring countries) and published data (3070 samples from 227 populations worldwide). The data were analyzed using bioinformatics, statistical, and cartographic methods.

Results. A high frequency of the "risky" GG homozygote of the *NFKBIA* marker (rs696) was detected in Russian populations (0,55), with an increasing trend from west to east across the widest range as follows: from 0,08 among the Izhorians in the northwest to 0,92 among the Evens in the Far East. The Russian population is characterized by high frequencies of alternative homozygotes of the *TLR3* (rs3775291) and *TMPRSS2* (rs2070788) polymorphisms, which are not associated with the risk of COVID-19 complications. The indigenous populations of Northern Eurasia possess the greatest genetic diversity of any region in the world. At the same time, they are harmoniously integrated into the gene pool of the Eurasian continent, and the Russian Far East is a transition zone to the gene pool of the indigenous populations of North America.

Conclusion. A study of genogeographic variation makes it possible us to identify regions of Russia and the world for which the analyzed DNA markers pose the greatest risk for severe COVID-19.

Keywords: COVID-19, SNP, genogeography, Russia, world, biobank, indigenous population.

Relationships and Activities: none.

Balanovskaya E. V.* ORCID: 0000-0002-3882-8300, Voronina M. M. ORCID: 0009-0002-6840-7926, Ponomarev G. Yu. ORCID: 0000-0002-0643-4374, Gorin I. O. ORCID: 0000-0001-9532-8954, Borisova A. L. ORCID: 0000-0003-4020-6647, Pokrovskaya M. S. ORCID: 0000-0001-6985-7131, Koshel S. M. ORCID: 0000-0002-4540-2922, Pocheshkhova E. A. ORCID: 0000-0002-8991-7194, Adamov D. S. ORCID: 0009-0009-3527-4195.

*Corresponding author:

balanovska@mail.ru

Received: 10/07-2025

Revision Received: 20/07-2025

Accepted: 08/09-2025

For citation: Balanovskaya E. V., Voronina M. M., Ponomarev G. Yu., Gorin I. O., Borisova A. L., Pokrovskaya M. S., Koshel S. M., Pocheshkhova E. A., Adamov D. S. Using a population biobank to analyze genogeographic variability in Russia and globally for three polymorphisms associated with severe COVID-19. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4503. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4503. EDN: DKSGXD

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, РНК — рибонуклеиновая кислота, мРНК — матричная РНК, COVID-19 — COrona Vlrus Disease 2019 (коронавирусная инфекция 2019г), SNP — Single Nucleotide Polymorphism (однонуклеотидный полиморфизм).

Введение

Новая коронавирусная инфекция, вызываемая вирусом SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus), привела к мировой эпидемии. Ее проявления варьируют от бессимптомного протекания до тяжелой формы острой респираторной вирусной инфекции¹. Генетический фактор играет важную роль в формировании риска осложнений заболевания: доказана связь ряда ДНК-маркеров с тяжестью симптоматики COVID-19 (COrona Vlrus Disease 2019) [1-9]. При этом частота генетических полиморфизмов, ассоциированных с тяжелым течением коронавирусной инфекции, в разных группах мирового народонаселения неоди-

накова: для разных этносов смертность от COVID-19 может различаться в 2-3 раза из-за разной частоты ДНК-маркеров, ассоциированных с тяжестью протекания болезни². Для оценки рисков и улучшения протоколов лечения пациентов, принадлежащих к разным народам, необходимо масштабное изучение распространения ДНК-маркеров, связанных с COVID-19. Оценки этнических частот этих генетических полиморфизмов особенно актуальны для таких полиэтничных регионов, как Северная Евразия, включающая представителей разных рас и народов с очень разной генетической историей [10, 11]. Для выявления закономерностей пространственной изменчивости частот генетических маркеров, ассоциированных с тяжелым течением COVID-19, наиболее эффективны методы геногеографии [3, 12].

¹ WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>.

² European centre for disease prevention and control. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19-pandemic>.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Доказана связь ДНК-маркеров с тяжестью заболевания COVID-19 (Corona Virus Disease 2019). Их частоты различны у народов мира: смертность от COVID-19 может отличаться в два раза из-за разной частоты ДНК-маркеров.

Что добавляют результаты исследования?

- Геногеографические карты указывают регионы России и мира, для которых ДНК-маркеры генов *NFKBIA*, *TLR3* и *TMPRSS2* являются рисковыми при тяжелом течении COVID-19. Коренное народонаселение Северной Евразии отличается наибольшим генетическим разнообразием среди всех регионов мира. При этом оно гармонично вписано в Евразийский генофонд, а Дальний Восток России является переходной зоной к генофонду коренного населения Северной Америки.

Key messages

What is already known about the subject?

- DNA markers have been shown to be associated with COVID-19 severity. Their frequencies vary among populations: mortality from COVID-19 can vary by up to twofold due to different frequencies of DNA markers.

What might this study add?

- Genogeographic maps indicate regions of Russia and the world for which DNA markers of the *NFKBIA*, *TLR3*, and *TMPRSS2* genes pose the greatest risk for severe COVID-19. The indigenous population of Northern Eurasia has the greatest genetic diversity of any region in the world. At the same time, it fits harmoniously into the Eurasian gene pool, and the Russian Far East is a transition zone to the gene pool of the indigenous population of North America.

Исследование геногеографической изменчивости однонуклеотидных замен (SNP (Single Nucleotide Polymorphism)-маркеров), связанных с осложнениями при COVID-19, и установление закономерностей их распределения в народонаселении России и мира позволяют выявлять регионы, для которых определенные генетические полиморфизмы в наибольшей степени являются "рисковыми". Провести такое масштабное исследование возможно только при использовании популяционных биобанков, позволяющих получить репрезентативную информацию о частотах ДНК-маркеров, связанных с тяжелым течением COVID-19, для максимально широкого круга популяций коренного народонаселения России и мира.

Среди генетических маркеров, связанных с тяжелым течением COVID-19, для исследования нами отобраны три SNP-маркера: *NFKBIA* (rs696), *TLR3* (rs3775291) и *TMPRSS2* (rs2070788). Отбор проведен по совокупности трех критериев: А) высокий риск осложнений при COVID-19; Б) наличие собственного массива геномных данных о популяциях коренного населения Северной Евразии (которая включает население России и сопредельных стран бывшего СССР); В) наличие аналогичной геномной информации о коренном народонаселении мира в базе данных "GG-base" Биобанка Северной Евразии³.

Ген *NFKBIA* регулирует активность ядерного фактора Каппа В (NF-κB) —транскрипционно-го фактора, контролирующего экспрессию генов

иммунного ответа и других процессов [13]. SNP-вариант G *NFKBIA* (rs696), вызывая снижение стабильности матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) и ее ингибирующей активности, способствует распространению воспаления, увеличивает риск развития осложнений при COVID-19 и приводит к необходимости госпитализации пациента в отделение интенсивной терапии [3].

Ген *TLR3* кодирует белок из класса толл-подобных рецепторов, которые распознают молекулярные структуры патогенов и участвуют в активации иммунного ответа при инфекции. *TLR3* активирует цитокины при COVID-19 [14]. Замена нуклеотида С на Т в rs3775291 гена *TLR3* снижает активность распознавания вирусной РНК и приводит к ослаблению иммунного ответа [15, 16].

Ген *TMPRSS2* также участвует в иммунном ответе при вирусных инфекциях. Снижение экспрессии гена *TMPRSS2* снижает восприимчивость к SARS-CoV-2 и способствует более легкому течению заболевания [17]. Значительное повышение экспрессии при генотипе GG *TMPRSS2* (rs2070788) приводит к тяжелым формам течения заболевания COVID-19 [18].

В публикациях мирового научного сообщества представлены фрагментарные данные об изменчивости ДНК-маркеров, ассоциированных с COVID-19, в коренном населении мира: по *NFKBIA* (rs696) опубликованы данные для некоторых популяций Европы и Китая; по *TLR3* (rs3775291) для популяций Бразилии, Китая, США, Японии и ряда стран Европы; по *TMPRSS2* (rs2070788) для народов Америки, Европы, Египта, Индии, Ира-

³ GG-base <https://gg-base.org/>.

на [19–22]. В настоящем исследовании значительно расширена исследуемая выборка популяций мира и впервые включены многочисленные детально изученные популяции России. Таким образом, данное исследование впервые полностью охватывает популяции Северной Евразии и позволяет оценить их с учетом мировых паттернов геногеографической изменчивости.

Цель исследования — изучить пространственную изменчивость SNP-маркеров генов *NFKB1A*, *TLR3* и *TMPRSS2*: сформировать репрезентативные массивы данных, определить частоту встречаемости "рисковых" генотипов, провести геногеографический анализ их изменчивости в народонаселении России и рассмотреть выявленные паттерны в контексте коренного населения мира.

Материал и методы

Материал. В анализ включены 7277 образцов из 413 популяций. Массив собственных данных представлен 4207 образцами коллекций Биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России и Биобанка Северной Евразии [12] из 186 популяций 97 этносов коренного народонаселения России и сопредельных стран. Принцип выделения популяций и формирования выборок детально описан ранее [12]: в выборки включены образцы только тех неродственных представителей популяции, все предки которых на глубину не менее трех поколений относились к данному этносу и принадлежали к данной популяции. Коллекции ДНК сформированы по единой технологии в ходе многолетних экспедиционных обследований коренного населения России и сопредельных стран. Все обследования проведены на добровольной основе с письменным информированным согласием индивида, одобренным Этическим комитетом ФГБНУ "Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова" (МГНЦ); заключение от 29.06.2020. Массив литературных данных извлечен из созданной коллективной базы данных "GG-base": 3070 образцов из 227 популяций коренного народонаселения мира, изученных по широкогеномным панелям Illumina³. Популяции для народов мира определялись согласно авторскому описанию в публикациях.

Исследование выполнено при поддержке государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации для МГНЦ (картографический анализ, интерпретация результатов) и Биобанка Северной Евразии (экспедиционное обследование).

Методы. Из всех известных ДНК-маркеров, связанных с тяжелым течением COVID-19, был отобран массив из 237 SNP-маркеров, информация о которых имеется и в геномных данных Биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России и Биобанка Северной Евразии, и в базе данных "GG-base" [12]. Затем из массива были исключены маркеры со средней частотой референсного аллеля в России $\leq 0,2$ и с низким генетическим разнообразием в популяциях России (стандартные отклонения $\leq 0,05$). Этим требованиям соответствовали три SNP-маркера, связанных с тяжелым течением COVID-19: *NFKB1A* (rs696), *TLR3* (rs3775291) и *TMPRSS2* (rs2070788). Расчет частот аллелей проведен с помощью Python 3

и PLINK 1.9 [23]; частоты генотипов рассчитаны согласно закону Харди-Вайнберга.

В таблице (см. Приложение) приведены частоты ДНК-маркеров для популяций разного иерархического уровня (популяция — метапопуляция — регион) в зависимости от размера выборки (размер выборки указан по наиболее изученному маркеру): приведены 93 исходные популяции с выборками ≥ 25 образцов; остальные 322 популяции объединены в 73 метапопуляции, распределенные по 22 регионам. Номера популяций (таблица Приложения) позволяют найти их на картах Северной Евразии; поскольку на картах мира номера популяций привести невозможно, для них в таблице Приложения указан индекс "GG" как ссылка на базу данных "GG-base". По данным таблицы Приложения с помощью программного обеспечения GeneGeo [24] созданы геногеографические карты частот аллелей и генотипов методом средневзвешенной интерполяции со значением степени весовой функции равным 2 и радиусом влияния 1660 км для карт Северной Евразии и радиусом влияния 5632 км для карт мирового народонаселения. На картах холодными (синеголубыми) оттенками обозначены низкие частоты, желтыми — средние частоты (0,3–0,6), оранжевыми и красными — высокие частоты. Исследованные популяции указаны на картах красными кружками: в зависимости от размера выборки им соответствует или ее исходная частота, или частота, присвоенная от более высокой единицы иерархии (метапопуляции или региона).

Результаты и обсуждение

1. Пространственная изменчивость *NFKB1A* (rs696) в коренном населении России и мира

Геногеография аллеля G. Аллель G *NFKB1A* (rs696), ассоциированный с повышенным риском осложнений COVID-19, в коренном населении Северной Евразии (рисунок 1 А, таблица Приложения) достигает очень высоких частот (средняя частота $q_{\text{MEAN}}=0,73$) с ярко выраженным трендом повышения частоты с запада ($q=0,40$ в Румынии) на восток ($q_{\text{MAX}}=0,96$ у охотских эвенов). В популяциях Восточно-Европейской равнины средняя частота составляет $q_{\text{MEAN}}=0,50$, но от популяций Западной Сибири частоты неуклонно растут в направлении к Южной Сибири и к Дальнему Востоку, достигая максимальных частот ($>0,90$) у якутов, нанайцев и эвенов.

В коренном народонаселении мира средняя частота аллеля G *NFKB1A* (rs696) достигает $q_{\text{MEAN}}=0,53$, но варьирует в очень широком диапазоне: от $q_{\text{MIN}}=0,13$ в коренном населении Америки до мирового максимума $q_{\text{MAX}}=0,96$ у эвенов Дальнего Востока России (рисунок 1 Б, таблица Приложения). Низкие частоты аллеля G *NFKB1A* (rs696) характерны для всех коренных народов Америки, и лишь в Мезоамерике они поднимаются до 0,41. Поскольку данные о популяциях Аляски отсутствуют, повышение частоты G на северо-западе Америки вызвано интерполяцией от популяций Дальнего Востока России, но, исходя из генетической истории обоих ре-

гионов, такая интерполяция полностью оправдана. В Евразии видим некоторое снижение частот G от популяций Северной Евразии в разных направлениях: и на юг до Индокитая (с $q_{\text{MIN}}=0,39$), и на запад в Европу (с $q_{\text{MIN}}=0,30$ у ирландцев). Коридор средних частот ($0,50 < q < 0,60$) не только пересекает всю Евразию, но захватывает и население Северной Африки. Южнее Сахары частоты растут до $q_{\text{MAX}}=0,77$ на юге Африки. Слишком малые выборки для популяций Австралии вынудили объединить их с другими популяциями Океании, поэтому на этой и последующих картах их генофонд отражает среднюю частоту для популяций севера Австралии и Океании (таблица Приложения).

Геногеография гомозиготы GG. Наибольший риск развития осложнений COVID-19 связан с носительством гомозиготы GG *NFKB1A* (rs696) (рисунок 1 В, 1 Г, таблица Приложения). Частоты гомозиготы GG в коренном народонаселении Северной Евразии ($q_{\text{MEAN}}=0,55$) растут с запада на восток в максимально широком диапазоне: от $q_{\text{MIN}}=0,08$ (у ижоры на северо-западе) до $q_{\text{MAX}}=0,92$ (у охотских эвенов на Дальнем Востоке). На западе Восточной Европы средняя частота гомозиготы составляет $q_{\text{MEAN}}=0,20$, постепенно повышаясь на восток и северо-восток. В Уральском регионе (при $q_{\text{MEAN}}=0,47$) частоты GG уже достигают 0,61 и дают всплески частоты до $q=0,80$ у хантов Западной Сибири. Для Южной Сибири характерны высокие частоты GG ($q_{\text{MAX}}=0,74$ у тувинцев) с дальнейшим нарастанием на востоке Сибири: у якутов $q=0,84$; нанайцев Амура $q=0,85$; на Камчатке $q=0,91$; у охотских эвенов $q=0,92$.

Геногеографическая карта коренного народонаселения мира (рисунок 1 Г) указывает, что наиболее контрастным регионом мира является Северная Евразия: в ней сосредоточены как максимальные частоты ($q_{\text{MAX}}=0,92$) "рискового" варианта GG *NFKB1A* (rs696), так и крайне низкие ($q_{\text{MIN}}=0,08$). Еще ниже частоты гомозиготы GG опускаются (до $q=0,02$) только в коренном населении Южной Америки, но в целом коренное население обеих Америк однородно по низким частотам GG ($q_{\text{MEAN}}=0,09$). Кроме Северной Евразии некоторое повышение частот "рискового" генотипа GG (но лишь до $q_{\text{MEAN}}=0,51$) обнаруживается только в Африке южнее Сахары. Ярко выражен коридор пониженных частот GG ($0,20 < q < 0,30$), тянущийся от запада Европы и Северной Африки до народов Океании.

Геногеография гетерозиготы GA. Геногеографическая карта распространения в Северной Евразии гетерозиготы GA *NFKB1A* (rs696) (рисунок 1 Д) ожидаемо демонстрирует противоположный и ярко выраженный вектор снижения частот с запада на восток. Почти вся европейская часть занята максимальными частотами GA ($0,45 < q < 0,50$), снижающимися только на Русском Севере и Урале. Тер-

ритории Урала, Западной Сибири и Казахстана окрашены на карте в светло-оранжевые и желтые тона переходных значений частоты GA, продолжающихся в Центральной Азии. Но севернее светло-зеленая зона перехода к низким значениям гетерозиготы ($0,30 < q < 0,35$) сформирована популяциями бурят и эвенов Байкала. Исключение составляют обские угры (ханты и манси) Западной Сибири со снижением частоты GA у хантов до $q=0,19$. В популяциях Южной Сибири (алтайцы, тофалары, тувинцы, хакасы) и коренных народов Восточной Сибири и Дальнего Востока (ительмены, коряки, нанайцы, нивхи, ульчи, эвенки охотские, чукчи, якуты) сосредоточены мировые минимумы гетерозиготы GA ($0,10 < q < 0,20$) со снижением ее частоты у охотских эвенов до $q_{\text{MIN}}=0,08$.

В мировом народонаселении (рисунок 1 Е) понижение частот GA до зеленых тонов ($0,30 < q < 0,35$) обнаруживается только в коренном населении Южной Америки и отдельных племен Северной Америки (у оджибве $q=0,22$; у чипевайан $q=0,32$). Остальные популяции всех континентов относятся к зоне высоких частот ($0,40 < q < 0,50$) гетерозиготы GA *NFKB1A* (rs696).

В целом геногеографические ландшафты аллелей и генотипов *NFKB1A* (rs696) в контексте их связи с COVID-19 отражают сложную картину взаимодействия естественного отбора и генетического дрейфа. Высокая частота "рискового" аллеля G в популяциях Северной Евразии, особенно на Дальнем Востоке, может указывать на селективное преимущество в прошлом, связанное с устойчивостью к другим инфекционным заболеваниям или адаптацией к экстремальным условиям окружающей среды. Миграции и генетический обмен между популяциями играют значительную роль в распределении аллеля G *NFKB1A* (rs696) по всему миру [10, 11, 16]. Аллель G *NFKB1A* (rs696) ассоциируется с повышенным риском осложнений COVID-19, но возраст, сопутствующие заболевания и доступ к медицинской помощи также играют важную роль [19-22]. Изучение генетической истории популяций в контексте функциональных особенностей G *NFKB1A* (rs696) может пролить свет на механизмы адаптации и устойчивости к болезням [16].

2. Пространственная изменчивость TLR3 (rs3775291) в коренном населении России и мира

Геногеография аллеля А. Геногеография варианта А TLR3 (rs3775291), связанного с резким снижением иммунного ответа при COVID-19, выявляет иной характер пространственной изменчивости: в Северной Евразии отсутствует единый вектор динамики частот (рисунок 2 А); в народонаселении мира Северная Евразия является сосредоточием низких мировых частот, а все другие регионы мира — высоких частот "рискового" аллеля А (рисунок 2 Б).

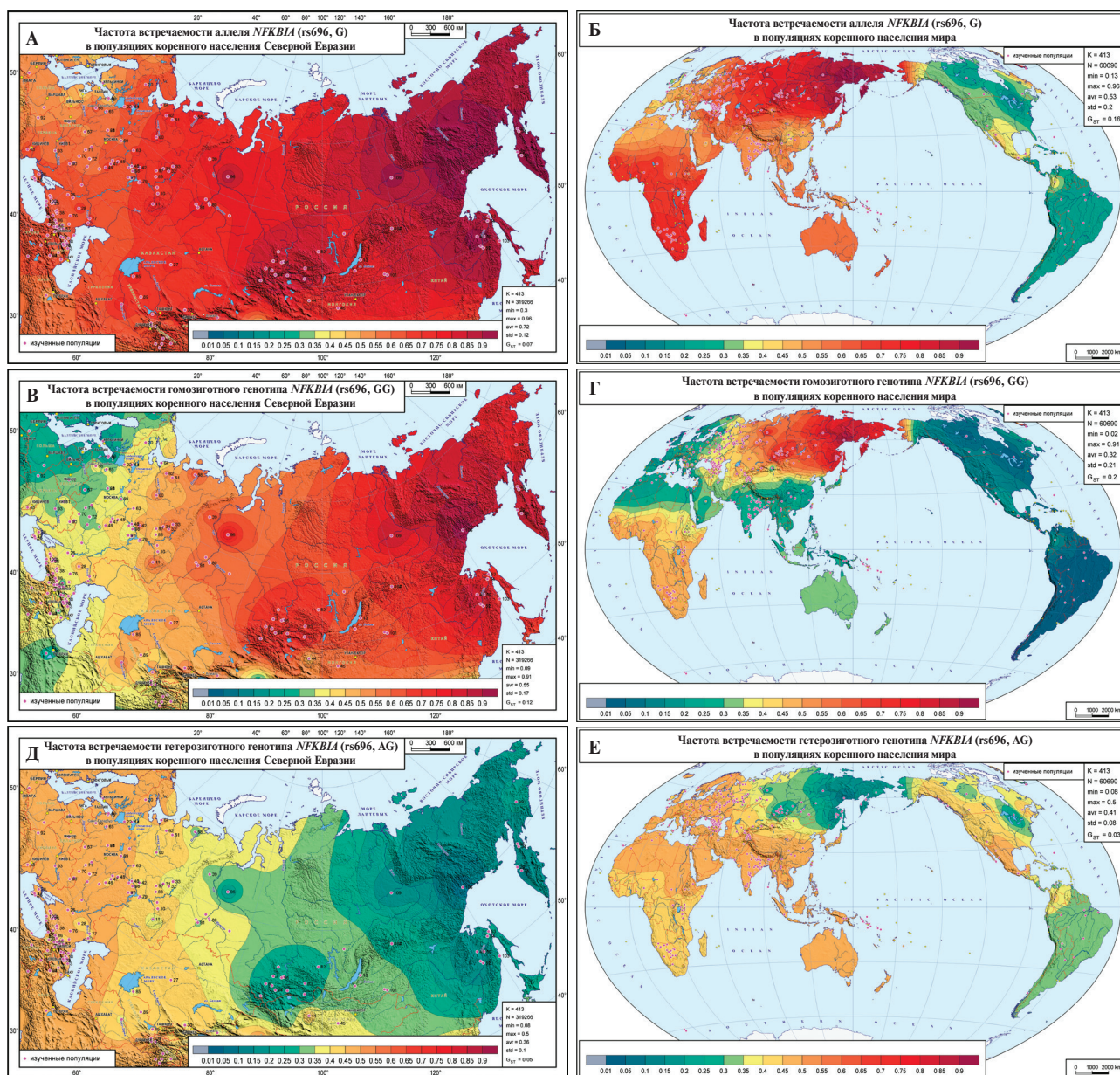


Рис. 1. Геногеография частот аллеля и генотипов *NFKB1A* (rs696), связанных с тяжелым течением COVID-19 в коренном народонаселении Северной Евразии и мира: А, Б — геногеография аллеля G; В, Г — геногеография гомозиготы GG; Д, Е — геногеография гетерозиготы AG. Примечание: на геногеографических картах низкие частоты обозначены холодными тонами, средние частоты (0,3–0,6) — желтыми тонами, высокие частоты — красными тонами. COVID-19 — COrona VIrus Disease 2019 (новая коронавирусная инфекция 2019 г). Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

В Северной Евразии при средней частоте $q_{\text{MEAN}}=0,32$ пониженные значения варианта А ($0,20 < q < 0,30$) сосредоточены в южных регионах. Центры самых низких частот находятся и на Кавказе ($q_{\text{MIN}}=0,14$ у грузин), и в Южной Сибири ($q=0,18$ у тувинцев), и на юге Дальнего Востока ($q=0,20$ у нанайцев). Другая область пониженных частот находится на самом севере европейской части России, которая тянется до обских угров ($q=0,20$ у манси, $q=0,21$ у хантов). Области высоких частот, окрашенные на карте в желто-оранжевые тона ($0,40 < q < 0,50$), расположены по всей периферии

пониженных частот: на западе ($q=0,48$ у эстонцев), на северо-востоке ($q=0,52$ у ительменов и коряков) и на самых южных окраинах Северной Евразии (рисунок 2 А, таблица Приложения).

Эта особенность распространения варианта А *TLR3* (rs3775291) находит объяснение в генетическом ландшафте мирового народонаселения (рисунок 2 Б): все мировые минимумы (зеленые тона) сосредоточены только в Северной Евразии, а от нее во всех направлениях частоты растут, доходя до мирового максимума в Африке южнее Сахары ($q_{\text{MAX}}=1,0$). Области наиболее высоких частот также сосредото-

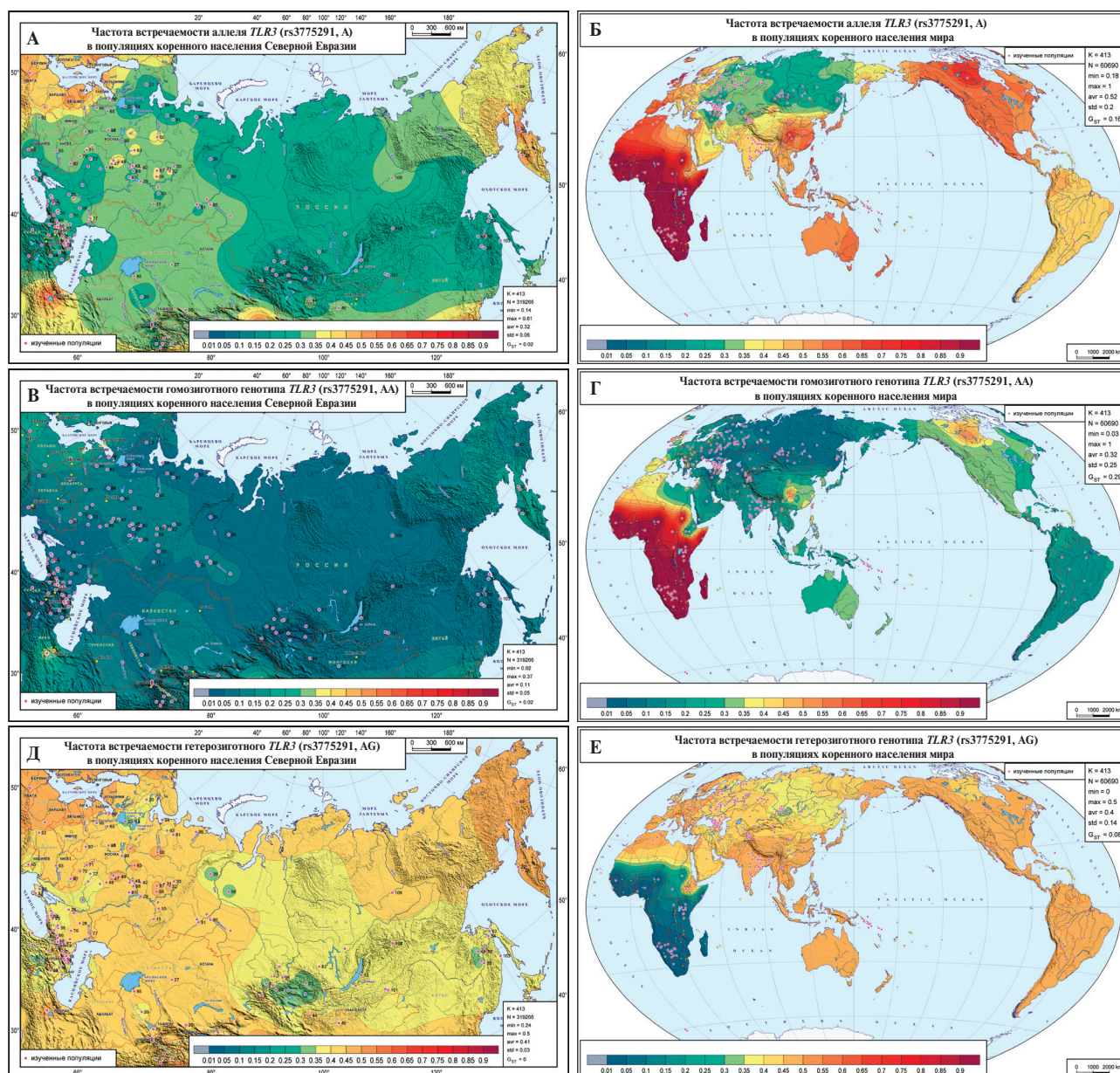


Рис. 2. Геногеография частот аллеля и генотипов *TLR3* (rs3775291), связанных с тяжелым течением COVID-19 в коренном народонаселении Северной Евразии и мира: А, Б — геногеография аллеля А; В, Г — геногеография гомозиготы АА; Д, Е — геногеография гетерозиготы АГ. Примечание: на геногеографических картах низкие частоты обозначены холодными тонами, средние частоты (0,3-0,6) — желтыми тонами, высокие частоты — красными тонами. COVID-19 — COrona Virus Disease 2019 (новая коронавирусная инфекция 2019 г). Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

чены на юго-западе Европы, в Южной Азии и в Северной Америке ($q_{\text{MAX}}=0,73$ у индейцев чипевайан).

Геногеография гомозиготы АА. Наибольший риск резкого снижения иммунного ответа при COVID-19 связан с гомозиготным генотипом АА маркера rs3775291 (рисунок 2 В). Практически на всей территории Северной Евразии частоты гомозиготы очень низки ($q_{\text{MEAN}}=0,12$), несколько повышаясь лишь у коряков и ительменов Камчатки ($q_{\text{MAX}}=0,27$).

В мировом народонаселении (рисунок 2 Г) только коренное население Африки южнее Сахары находится в области повышенного риска

($q_{\text{MAX}}=1,0$). В остальных регионах наблюдаются лишь локальные повышения частот гомозиготы АА до $q=0,50$ в отдельных популяциях Восточной Азии и Северной Америки.

Геногеография гетерозиготы АГ. Генетический ландшафт гетерозиготы АГ *TLR3* (rs3775291) в Северной Евразии в основном повторяет закономерности, описанные для карты рисунка 2 А, варьируя около среднего показателя $q_{\text{MEAN}}=0,42$ с вполне ожидаемым максимумом частот $q_{\text{MAX}}=0,50$ у коряков и ительменов Камчатки и снижением частот у обских угров, в Южной Сибири и в некото-

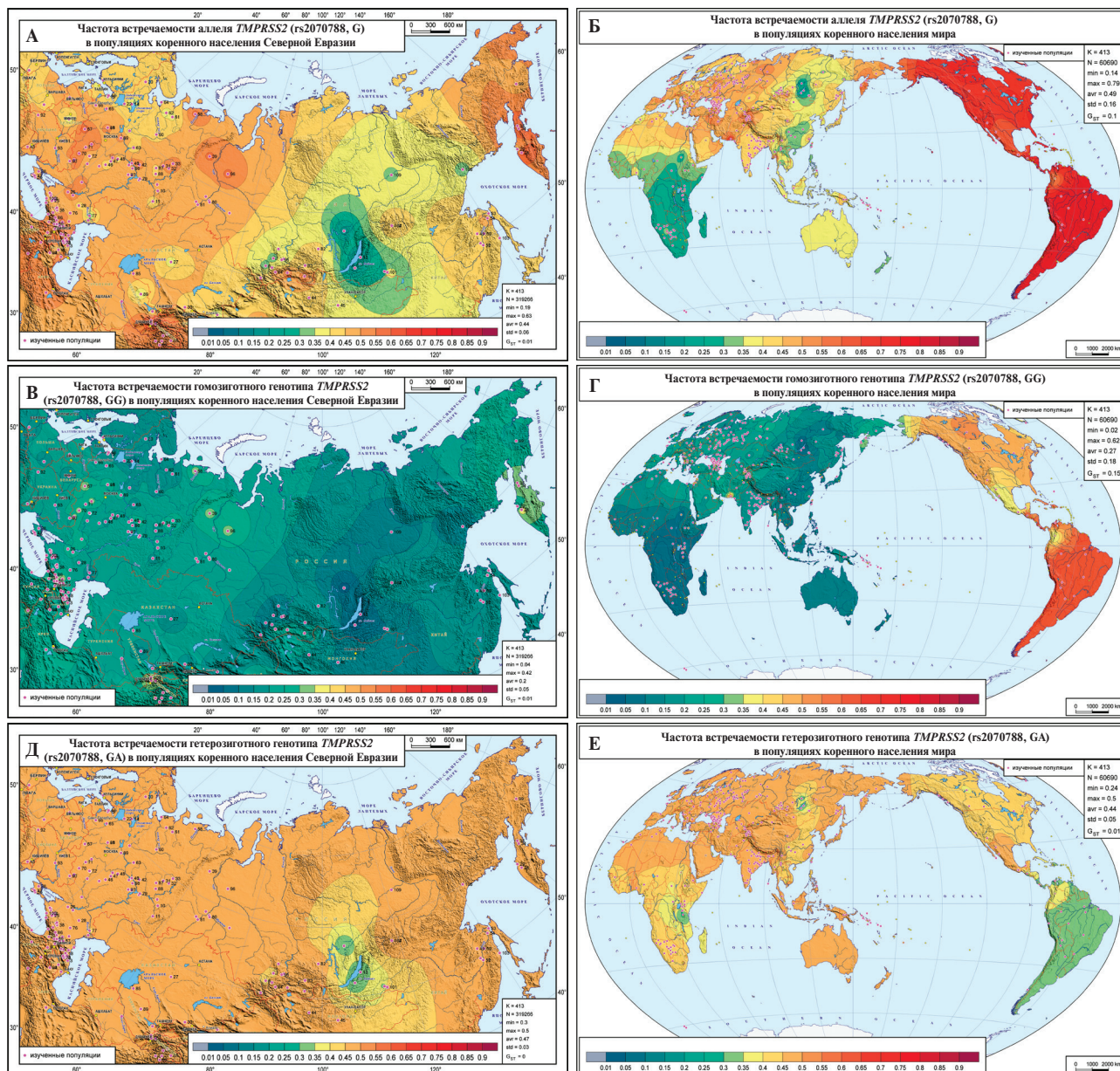


Рис. 3 Геногеография частот аллеля и генотипов *TMPRSS2* (rs2070788), связанных с тяжелым течением COVID-19 в коренном народонаселении Северной Евразии и мира: А, Б — геногеография аллеля G; В, Г — геногеография гомозиготы GG; Д, Е — геногеография гетерозиготы GA.

Примечание: на геногеографических картах низкие частоты обозначены холодными тонами, средние частоты (0,3-0,6) — желтыми тонами, высокие частоты — красными тонами. COVID-19 — Corona Virus Disease 2019 (новая коронавирусная инфекция 2019 г). Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

рых популяциях Кавказа (у грузинских популяций $q_{\text{MIN}}=0,24$).

В мировом народонаселении основная часть популяций находится в узком диапазоне частот гетерозиготы GA ($0,40 < q < 0,50$), падая до $q=0$ у народов Африки южнее Сахары.

В целом геногеографические ландшафты аллелей и генотипов *TLR3* (rs3775291) указывают на сложную историю адаптации человеческих популяций к различным патогенам и экологическим условиям. В Африке южнее Сахары, где наблюдаются максимальные частоты "рискового" аллеля А *TLR3*,

они могут обеспечивать определенные преимущества в борьбе с инфекциями, распространенными в этом регионе. Дальнейшие исследования генетического ландшафта иммунных генов, таких как *TLR3*, в различных популяциях мира помогут лучше понять сложные механизмы адаптации человека к окружающей среде и болезням [19-22].

3. Пространственная изменчивость *TMPRSS2* (rs2070788) в коренном населении России и мира

Геногеография аллеля G. Пространственная изменчивость аллеля G *TMPRSS2* (rs2070788), связанного со снижением иммунного ответа, отлича-

ется волнообразной сменой повышения частот G до 0,8 и их снижения до 0,2 в Северной Евразии (рисунок 3 А). Но основная часть этого региона принадлежит области средних частот ($0,4 < q < 0,5$). Одна волна высоких частот ($0,50 < q < 0,60$) достигает максимума на Камчатке (варьируя $\sim q = 0,60$ у ительменов и коряков). Но другая волна охватывает значительную область от севера Западной Сибири до Кавказа, включая обских угров, сибирских татар, европейских ненцев, часть народов Приуралья, центральные и юго-западные русские популяции, народы Кавказа. Всплески высоких частот выявлены у манси и луговых марийцев ($q_{MAX} = 0,80$), эрзян Мордовии ($q = 0,67$), крымских татар ($q = 0,59$), русских популяций центральной России ($0,59 < q < 0,62$) и юго-западных областей РФ ($q = 0,58$), в Осетии ($q = 0,56$), в Дагестане ($q = 0,56$). Повышенные частоты фиксируются на юге Северной Евразии (рисунок 3 А) не только на Кавказе, но и в Средней Азии ($q = 0,61$ у ягнобцев и таджиков Таджикистана).

Особое внимание привлекает область снижения частот G в Восточной Сибири с региональным минимумом у бурят ($q_{MIN} = 0,19$) и низкими частотами у якутов ($q = 0,35$) и эвенов ($q = 0,34$). Важно подчеркнуть и резкие различия по частотам G в Южной Сибири: снижение частот наблюдается у северных алтайцев и шорцев ($q = 0,31$), а также у хакасов ($q = 0,36$), и дальше продолжается на юг к монголам-халха ($q = 0,37$); однако у тувинцев частоты G выше средней ($q = 0,55$).

Генетический ландшафт аллеля G *TMPRSS2* (rs2070788) (рисунок 3 Б) в коренном населении мира указывает, что область снижения частот в Восточной Сибири продолжается вдоль Восточной Азии до Юго-Восточной Азии и Океании ($q = 0,34$). Основная область минимальных значений сосредоточена в населении Африки южнее Сахары, при этом мировой минимум ($q_{MIN} = 0,14$ у пигмеев хадза) близок к минимуму Северной Евразии ($q_{MIN} = 0,19$ у бурят). Область мировых максимумов (до $q_{MAX} = 0,79$) сосредоточена в коренном населении обеих Америк, что объясняет повышение частот G у народов Дальнего Востока России.

Геногеография гомозиготы GG. Геногеографическая карта встречаемости гомозиготного генотипа GG rs2070788 *TMPRSS2* (рисунок 3 В), ассоциированного с тяжелыми формами течения заболевания COVID-19 [17], демонстрирует невысокие частоты по всей территории Северной Евразии ($q_{MEAN} = 0,20$; $0,04 < q < 0,42$), а области снижения и повышения частот соответствуют ландшафту аллеля G (рисунок 3 А).

Распространение гомозиготного генотипа GG в коренном народонаселении мира (рисунок 3 Г) также вторит геногеографии аллеля G (рисунок 3 Б). Высокие частоты генотипа GG характерны для коренного населения обеих Америк: при средней для

Америки частоте $q_{MEAN} = 0,50$ значения варьируют от $q = 0,36$ в Гренландии до $q = 0,62$ в Южной Америке. Практически вся территория Евразии, Африки, Океании и Австралии окрашена в цвета низких частот, варьируя от $q = 0,02$ в Гренландии до неожиданного всплеска $q = 0,53$ в Пакистане (рисунок 3 Г).

Геногеография гетерозиготы GA. Карта распространения гетерозиготы GA в Северной Евразии (рисунок 3 Д) при сравнении с картой гомозиготы (рисунок 3 В) показывает, что "рисковый" аллель в основном связан именно с гетерозиготным состоянием. При средней частоте $q_{MEAN} = 0,47$ практически весь ареал Северной Евразии занят именно средними частотами GA, причем настолько, что максимальное значение ($q_{MAX} = 0,50$) практически не отличается от среднерегионального. Пониженные частоты обнаруживаются только в Восточной Сибири у бурят ($q_{MIN} = 0,30$), а также локальные минимумы возникают у астраханских татар ($q = 0,41$) и вепсов ($q = 0,45$).

В коренном народонаселении мира видим аналогичную картину (рисунок 3 Е) — на карте преобладают желто-оранжевые тона в интервале $0,40 < q < 0,50$. Понижение частот гетерозиготы GA характерно для коренного населения Южной Америки (до $q = 0,33$), бурят Восточной Сибири ($q = 0,30$) и достигает мирового минимума у пигмеев хадза (охотников-собираателей) в центральных районах Танзании ($q_{MIN} = 0,24$).

В целом геногеографические ландшафты аллелей и генотипов *TMPRSS2* (rs2070788) выявляют сложную картину взаимодействия локальных адаптивных процессов и генетического дрейфа. Контраст в распределении генотипа GG rs2070788 *TMPRSS2* поднимает ряд важных вопросов. Высокая частота GG гомозиготы в коренном населении Америки может указывать на то, что данный генетический вариант давал определенное преимущество в прошлом, возможно, связанное с устойчивостью к инфекциям или способностью адаптироваться к местным условиям. Однако, учитывая связь с повышенным риском при COVID-19, он может отражать ситуацию, когда ранее выгодный вариант становится вредным в новых условиях [19-22]. Неожиданный всплеск частоты GG у народа макрани в Пакистане подчеркивает важность учета генетической истории и миграционных потоков для отдельных популяций.

Заключение

Биоинформатическими, статистическими и картографическими методами проведен анализ информации о коренном населении России и мира, полученной благодаря применению популяционных биобанков.

Рассмотренные геногеографические ландшафты коренного народонаселения Северной Евразии и мира (суммарно представлены >7000 индивидов)

трех генетических ДНК-маркеров, связанных с тяжелым течением COVID-19, прежде всего, указывают на наличие региональных закономерностей, которые важно учитывать при прогнозировании характера течения заболевания COVID-19 у пациентов и риска возникновения осложнений.

Геногеографические карты благодаря цветовой шкале позволяют сразу указать регионы, для коренных народов которых тот или иной маркер не создает ситуации серьезного риска тяжелого течения COVID-19, поскольку редко встречается в данном регионе (сине-голубые тона на карте), и четко выявить регионы с высоким риском (красные и оранжевые тона) тяжелого течения COVID-19. Следующий шаг после выявления общих региональных тенденций — обращение к таблице (Приложение), которая дает уже конкретную информацию о частотах аллелей и генотипов у каждого из изученных народов. Эта информация впервые извлечена биоинформатическими методами из разнообразных источников о генофондах коренного народонаселения мира. Наиболее полно на картах и в таблице представлены коренные народы России и сопредельных стран, благодаря огромному массиву собственных данных (>4000 индивидов), также представленных впервые [16–18, 23, 24].

Геногеографическая изменчивость частоты аллелей и генотипов трех ДНК-маркеров, ассоциированных с тяжелым течением заболевания COVID-19 — *NFKB1A* (rs696), *TLR3* (rs3775291) и *TMPRSS2* (rs2070788), — в коренном народонаселении Северной Евразии (к которой по сложившейся традиции относят население России и сопредельных стран бывшего СССР) отличается наибольшим генетическим разнообразием среди всех регионов мира. Но при этом Северная Евразия органически вписана в закономерности, наблюдаемые на всем евразийском континенте — от Западной и Южной Европы до Южной и Восточной Азии. Эти зако-

номерности находят свое продолжение на других континентах — и на севере Африки, и в Северной Америке, где Дальний Восток России, включая Камчатку, создает переходную зону между коренным населением Евразии и Америки. Особое место из всех региональных генофондов мира занимает коренное население Африки южнее Сахары: как правило, оно гомогенно по исследованным маркерам и отличается от евразийских закономерностей.

Частоты "рисковой" гомозиготы GG маркера *NFKB1A* (rs696) в коренном населении Северной Евразии в среднем высоки ($q_{\text{MEAN}}=0,55$) и растут с запада на восток в максимально широком диапазоне: от $q_{\text{MIN}}=0,08$ (у ижоры на северо-западе России) до $q_{\text{MAX}}=0,92$ (у охотских эвенов на Дальнем Востоке). Для двух других маркеров *TLR3* (rs3775291) и *TMPRSS2* (rs2070788) в популяциях Северной Евразии выявлены высокие значения частот гомозигот, не связанных с повышением риска осложнений COVID-19. Локальные всплески и падения частоты исследованных ДНК-маркеров на в коренном народонаселении Северной Евразии чаще всего наблюдаются у относительно изолированных и малочисленных популяций, что может быть следствием случайного дрейфа генов.

В целом, анализ генетической изменчивости *NFKB1A* (rs696), *TLR3* (rs3775291) и *TMPRSS2* (rs2070788) демонстрирует сложное взаимодействие генетических факторов, географических факторов и исторических событий, которые формируют генетический ландшафт человечества. Понимание этих сложных взаимодействий позволит разработать более эффективные стратегии профилактики и лечения COVID-19, учитывающие генетические особенности различных популяций.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Yildirim Z, Sahin OS, Yazar S, et al. Genetic and epigenetic factors associated with increased severity of Covid-19. *Cell Biol Int*. 2021;45(6):1158-74. doi:10.1002/cbin.11572.
2. Ishak A, Mehendale M, AlRawashdeh MM, et al. The association of COVID-19 severity and susceptibility and genetic risk factors: A systematic review of the literature. *Gene*. 2022;836:146674. doi:10.1016/j.gene.2022.146674.
3. Camblor DG, Miranda D, Albaiceta GM, et al. Genetic variants in the NF- κ B signaling pathway (NFKB1, NFKBIA, NFKBIZ) and risk of critical outcome among COVID-19 patients. *Human Immunol*. 2022;83(8-9):613-7. doi:10.1016/j.humimm.2022.06.002.
4. Tanha HM, Sathyanarayanan A, Mehta D, et al. Shared genetic influences between blood analyte levels and risk of severe COVID-19. *Cell Rep*. 2022;41(8):111708. doi:10.1016/j.celrep.2022.111708.
5. Velavan TP, Pallerla SR, Rüter J, et al. Host genetic factors determining COVID-19 susceptibility and severity. *eBioMedicine*. 2021;72:103629. doi:10.1016/j.ebiom.2021.103629.
6. Gupta K, Kaur G, Pathak T, et al. Systematic review and meta-analysis of human genetic variants contributing to COVID-19 susceptibility and severity. *Gene*. 2022;844:146790. doi:10.1016/j.gene.2022.146790.
7. Cappadona C, Rimoldi V, Paraboschi EM, et al. Genetic susceptibility to severe COVID-19. *Infect Genet Evol*. 2023;110:105426. doi:10.1016/j.meegid.2023.105426.
8. Srivastava S, Kumari B, Garg I, et al. Gene variants in pro-coagulant and anti-coagulant genes could be prognostic genetic markers of COVID-19 susceptibility. *Heliyon*. 2022;8(11):e11536. doi:10.1016/j.heliyon.2022.e11536.
9. Wu P, Ding L, Li X, et al. Trans-ethnic genome-wide association study of severe COVID-19. *Commun Biol*. 2020;4(1):1034. doi:10.1038/s42003-021-02549-5.
10. Balanovsky O, Petrushenko V, Mirzaev K, et al. Variation of Genomic Sites Associated with Severe Covid-19 Across Populations: Global and National Patterns. *Pharmgenomics Pers Med*. 2021;14:1391-402. doi:10.2147/PGPM.S320609.

11. Balanovska EV, Gorin IO, Petrushenko VS, et al. Geographic distribution of the LZTFL1 SNP markers associated with severe COVID-19 in Russia and worldwide. *Bulletin of RSMU*. 2022;5:31-40. (In Russ.) Балановская Е. В., Горин И. О., Петрушенко В. С. и др. Геногеография в России и мире SNP-маркеров гена LZTFL1, ассоциированных с тяжелым течением COVID-19. *Вестник РГМУ*. 2022;5:31-40. doi:10.24075/vrgmu.2022.047.
12. Balanovska EV, Zhabagin MK, Agdzhoayan AT, et al. Population biobanks: organizational models and prospects of application in gene geography and personalized medicine. *Russ J Genet*. 2016;52(12):1227-43. doi:10.1134/S1022795416120024.
13. Courtois G. The NF- κ B signaling pathway in human genetic diseases. *Cell Mol Life Sci*. 2005;62(15):1682-91. doi:10.1007/s00018-005-5031-5.
14. Dhangadamajhi G, Rout R. Association of TLR3 functional variant (rs3775291) with COVID-19 susceptibility and death: a population-scale study. *Human Cell*. 2021;34(3):1025-7. doi:10.1007/s13577-021-00510-6.
15. Abrahão SMJ, Silva VMC, Brito SA, et al. Analysis of associations between the TLR3 SNPs rs3775291 and rs3775290 and COVID-19 in a cohort of professionals of Belém-PA, Brazil. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1320701. doi:10.3389/fcimb.2023.1320701.
16. Teimouri H, Maali A. Single-Nucleotide Polymorphisms in Host Pattern-Recognition Receptors Show Association with Antiviral Responses against SARS-CoV-2, in-silico Trial. *J Med Microbiol Infect Dis*. 2020;8(2):65-70. doi:10.29252/JoMMID.8.2.65.
17. Wulandari L, Hamidah B, Pakpahan C, et al. Initial study on TMPRSS2 p.Val160Met genetic variant in COVID-19 patients. *Hum Genomics*. 2021;15(1):29. doi:10.1186/s40246-021-00330-7.
18. Pandey RK, Srivastava A, Singh PP, et al. Genetic association of TMPRSS2 rs2070788 polymorphism with COVID-19 case fatality rate among Indian populations. *Infect Genet Evol*. 2022;98:105206. doi:10.1016/j.meegid.2022.105206.
19. Pati A, Padhi S, Chaudhury S, et al. TLR3 (rs3775291) variant is not associated with SARS-CoV-2 infection and related mortality: a population-based correlation analysis. *Human Cell*. 2021;34(4):1274-7. doi:10.1007/s13577-021-00530-2.
20. Faridzadeh A, Mahmoudi M, Rahimlou B, et al. Association between TMPRSS2 rs2070788 polymorphism and COVID-19 severity: a case-control study in multiple cities of Iran. *Front Med*. 2024;11:1425916. doi:10.3389/fmed.2024.1425916.
21. Samy W, Gaber OA, Amer RM, et al. Role of ACE2 and TMPRSS2 polymorphisms in clinical severity and outcomes of COVID-19 in Egypt. *Afr J Lab Med*. 2024;13(1):2375. doi:10.4102/ajlm.v13i1.2375.
22. Zhao X, He J, Xie G, et al. Genetic variations in inflammation-related genes and their influence on the susceptibility of pediatric acute lung injury in a Chinese population. *Gene*. 2019;687:16-22. doi:10.1016/j.gene.2018.11.009.
23. Chang CC, Chow CC, Tellier LCAM, et al. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience*. 2015;4;7. doi:10.1186/s13742-015-0047-8.
24. Koshel SM. Geoinformation technologies in gene geography. *Modern Geographical Cartography*. Moscow: "Data+". 2012;158-66. (In Russ.) Кошель С. М. Геоинформационные технологии в геногеографии. В кн: Современная географическая картография. М: Дата+. 2012;158-66.

Приложение

Группа коренного населения	Уровень иерархии	Метапопуляция	Максимальный размер выборки	Номер на карте	Частоты аллелей и генотипов									
					NFKB1A rs696		TLR4 rs3775291		TMPRSS2 rs2070788					
					аллель G	гомози- гота GG	гетерози- гота AG	аллель A	гомози- гота AA	гетерози- гота AG	аллель G	гомози- гота GG	гетерози- гота GA	
РОССИЯ И СОПРЕДЕЛЬНЫЕ СТРАНЫ														
Европейская часть северной Евразии														
Северо-Запад России					регион	216	0,57	0,33	0,49	0,27	0,07	0,39	0,15	0,48
Водь, ижора, вепсы					метопопуляция	79	0,50	0,25	0,50	0,30	0,09	0,42	0,38	0,14
Прибалтийско-финские народы					метопопуляция	137	0,62	0,39	0,47	0,25	0,06	0,38	0,40	0,16
Вепсы					популяция	32	0,69	0,47	0,43	0,22	0,05	0,34	0,34	0,12
Ижора					популяция	39	0,28	0,08	0,40	0,35	0,12	0,45	0,41	0,16
Карелы тверские					популяция	37	-	-	-	0,28	0,08	0,41	-	-
Карелы южные					популяция	58	0,64	0,41	0,46	0,18	0,03	0,30	0,42	0,18
Финны ингерманландцы					популяция	32	0,61	0,37	0,48	0,33	0,11	0,44	0,34	0,12
Эстонцы					популяция	31	0,48	0,23	0,50	0,48	0,23	0,50	0,34	0,11
Север европейской части России					регион	345	0,64	0,41	0,46	0,31	0,10	0,43	0,40	0,16
Русские северные (Архангельская область)					метопопуляция	135	0,72	0,51	0,41	0,30	0,09	0,42	0,39	0,15
Русские северные (Вологодская, Костромская области)					метопопуляция	35	0,66	0,43	0,45	0,39	0,15	0,47	0,39	0,15
Поморы					популяция	161	0,60	0,36	0,48	0,29	0,08	0,41	0,42	0,18
Русские северные (Архангельская область, Красноборский район)					популяция	48	0,73	0,54	0,39	0,40	0,16	0,48	0,42	0,18
Русские северные (Архангельская область, Пинежский район)					популяция	86	0,72	0,52	0,40	0,25	0,06	0,38	0,38	0,14

Группа коренного населения	Уровень иерархии	Метапопуляция	Максимальный размер выборки	Номер на карте	Частоты аллелей и генотипов								
					NFKB1A rs696		TLR43 rs3775291		TMPRSS2 rs2070788				
					аллель G	гомозигота GG	гетерозигота AG	аллель A	гомозигота AA	гетерозигота AG	аллель G	гомозигота GG	гетерозигота GA
Русские популяции центральной и южной России	регион		320		0,58	0,34	0,49	0,30	0,09	0,42	0,53	0,28	0,50
Казаки (донские, кубанские, некрасовские, терские)	метапопуляция	Казаки (донские, кубанские, некрасовские, терские)	55	25	0,63	0,40	0,46	0,20	0,04	0,32	0,53	0,28	0,50
Русские (Белгородская, Калужская, Курская, Орловская области)	метапопуляция	Русские (Белгородская, Калужская, Курская, Орловская области)	44	70	0,59	0,35	0,48	0,36	0,13	0,46	0,58	0,34	0,49
Русские (Брянская, Смоленская, Тверская области)	метапопуляция	Русские (Брянская, Смоленская, Тверская области)	51	67	0,50	0,25	0,50	0,34	0,12	0,45	0,59	0,35	0,48
Русские (Воронежская, Рязанская, Тамбовская области)	метапопуляция	Русские (Воронежская, Рязанская, Тамбовская области)	45	72	0,56	0,31	0,49	0,23	0,05	0,36	0,47	0,22	0,50
Русские (Новгородская, Псковская области)	метапопуляция	Русские (Новгородская, Псковская области)	49	65	0,61	0,37	0,48	0,32	0,10	0,43	0,49	0,24	0,50
Казаки (некрасовские)	популяция	Казаки (донские, кубанские, некрасовские, терские)	27	26	-	-	-	0,22	0,05	0,35	-	-	-
Русские (Нижегородская область)	популяция	-	26	71	-	-	-	0,37	0,13	0,46	-	-	-
Русские (Псковская область)	популяция	Русские (Новгородская, Псковская области)	30	66	0,63	0,40	0,46	0,32	0,10	0,43	0,48	0,23	0,50
Русские (Тверская область)	популяция	Русские (Брянская, Смоленская, Тверская области)	38	68	0,56	0,31	0,49	0,33	0,11	0,44	0,62	0,38	0,47
Русские (Ярославская область)	популяция	-	50	69	-	-	-	0,29	0,08	0,41	-	-	-
Степь европейской части России	регион		141		0,70	0,49	0,42	0,30	0,09	0,42	0,39	0,15	0,48
Европейская степь	метапопуляция	Европейская степь	142	78	0,66	0,44	0,45	0,29	0,08	0,41	0,43	0,18	0,49
Ногайцы ставропольские	популяция	Европейская степь	36	76	0,60	0,36	0,48	0,28	0,08	0,40	0,47	0,22	0,50
Калмыки	популяция	-	66	28	0,73	0,53	0,40	0,29	0,08	0,41	0,39	0,16	0,48
Татары астраханские	популяция	Европейская степь	26	77	-	-	-	0,40	0,16	0,48	0,29	0,08	0,41

Группа коренного населения	Уровень иерархии	Метапопуляция	Максимальный размер выборки	Номер на карте	Частоты аллелей и генотипов								
					NFKB1A rs696		TLRR3 rs3775291		TMPRSS2 rs2070788				
					аллель G	гомози- гота GG	гетерози- гота AG	аллель A	гомози- гота AA	гетерози- гота AG	аллель G	гомози- гота GG	гетерози- гота GA
Европа Восточная	регион		161		0,56	0,31	0,49	0,32	0,10	0,43	0,44	0,20	0,49
Украинцы восточные (левобережье Днепра)	метапопу- ляция	Украинцы восточные (левобережье Днепра)	61	90	0,61	0,37	0,48	0,31	0,10	0,43	0,47	0,22	0,50
Украинцы западные (правобережье Днепра)	метапопу- ляция	Украинцы запад- ные (правобережье Днепра)	51	93	0,54	0,29	0,50	0,34	0,12	0,45	0,48	0,23	0,50
Белорусы	популяция	—	50	12	0,55	0,30	0,50	0,30	0,09	0,42	0,36	0,13	0,46
Украинцы западные (Ивано-Франковская, Львовская, Ровенская, Тернопольская, Хмельницкая области)	популяция	Украинцы запад- ные (правобережье Днепра)	31	92	0,53	0,28	0,50	0,31	0,09	0,43	0,50	0,25	0,50
Украинцы северо-восточные (Полтава, Сумы, Чернигов)	популяция	Украинцы восточные (левобережье Днепра)	45	91	-	-	-	0,32	0,10	0,44	-	-	-
Кавказ и Крым													
Общность													
Кавказ Восточный и Центральный	регион		389		0,62	0,38	0,47	-	-	-	0,52	0,27	0,50
Аваро-андо-цезы (аварцы, дидойцы, пинухцы)	метапопу- ляция	Аваро-андо-цезы (аварцы, дидойцы, пинухцы)	50	1	0,55	0,30	0,49	0,33	0,11	0,44	-	-	-
Восточно-лезгинская группа (агульцы, табасараны, лезгинцы)	метапопу- ляция	Восточно-лезгинская группа (агульцы, табасараны, лезгинцы)	35	2	0,67	0,45	0,44	0,21	0,05	0,34	0,43	0,19	0,49
Даргинская и лакская группы (даргинцы, кайтагцы, кубачин- цы, лакцы)	метапопу- ляция	Даргинская и лакская группы (даргинцы, кайтагцы, кубачинцы, лакцы)	36	18	0,60	0,36	0,48	0,39	0,15	0,48	0,56	0,31	0,49
Западно-лезгинская группа (рутульцы, цахуры)	метапопу- ляция	Западно-лезгинская группа (рутульцы, цахуры)	43	73	-	-	-	0,21	0,04	0,33	-	-	-
Нахские народы (ингуши, чеченцы)	метапопу- ляция	Нахские народы (ингуши, чеченцы)	44	57	0,59	0,35	0,48	0,31	0,09	0,43	0,48	0,23	0,50
Осетины	метапопу- ляция	Осетины	39	59	0,65	0,43	0,45	0,31	0,09	0,43	0,56	0,31	0,49
Фарсиязычные популяции	метапопу- ляция	Фарсиязычные попу- ляция	41	94	0,61	0,37	0,48	0,22	0,05	0,34	0,56	0,32	0,49
Азербайджанцы	популяция	—	70	5	0,54	0,29	0,50	0,22	0,05	0,34	0,46	0,21	0,50

Группа коренного населения	Уровень иерархии	Метапопуляция	Максимальный размер выборки	Номер на карте	Частоты аллелей и генотипов								
					NFKB1A rs696		TLR43 rs3775291		TMPRSS2 rs2070788				
					аллель G	гомозигота GG	гетерозигота AG	аллель A	гомозигота AA	гетерозигота AG	аллель G	гомозигота GG	гетерозигота GA
Лезгины	популяция	Восточно-лезгинская группа (агульцы, табасараны, лезгины)	26	3	-	-	0,21	0,04	0,33	-	-	-	-
Западный Кавказ, Закавказье, Крым	регион		274		0,64	0,40	0,46	-	-	-	0,47	0,22	0,50
Адыгейцы	метапопуляция	Адыгейцы	45	4	-	-	0,26	0,07	0,38	-	-	-	-
Армяне	метапопуляция	Армяне	36	9	0,65	0,43	0,45	0,24	0,06	0,36	0,46	0,21	0,50
Грузия	метапопуляция	Грузия	25	17	0,70	0,49	0,42	0,14	0,02	0,24	0,54	0,29	0,50
Крым	метапопуляция	Крым	67	36	0,59	0,35	0,48	0,23	0,05	0,36	0,47	0,22	0,50
Народы Карачаевско-Черкесской республики (абазинцы, абхазы, кабардинцы, черкесы)	метапопуляция	Народы Карачаевско-Черкесской республики (кабардинцы, черкесы, абазинцы, абхазы)	54	38	0,61	0,37	0,48	0,25	0,06	0,38	0,49	0,24	0,50
Тюрки Кавказа	метапопуляция	Тюрки Кавказа	40	86	0,68	0,46	0,44	0,23	0,05	0,35	0,48	0,23	0,50
Шапсуги, убыхи	метапопуляция	Шапсуги, убыхи	34	100	-	-	-	0,32	0,10	0,44	-	-	-
Татары крымские (горные, южнобережные)	популяция	Крым	39	37	0,55	0,30	0,49	0,22	0,05	0,34	0,59	0,35	0,48
Урал	Общность												
Приуралье	регион		465		0,67	0,45	0,44	0,33	0,11	0,44	0,46	0,21	0,50
Коми-пермяки	метапопуляция	Коми-пермяки	99	31	0,77	0,59	0,36	0,33	0,11	0,44	0,52	0,27	0,50
Марийцы	метапопуляция	Марийцы	96	41	0,67	0,45	0,44	0,33	0,11	0,44	0,53	0,28	0,50
Мордовия	метапопуляция	Мордовия	113	47	0,69	0,47	0,43	0,37	0,14	0,47	0,40	0,16	0,48
Удмурты и башкиры	метапопуляция	Удмурты и башкиры	63	87	0,66	0,43	0,45	0,37	0,13	0,46	0,42	0,18	0,49
Чуваши	метапопуляция	Чуваши	94	97	0,57	0,32	0,49	0,27	0,07	0,40	0,47	0,22	0,50

Группа коренного населения	Уровень иерархии	Метапопуляция	Максимальный размер выборки	Номер на карте	Частоты аллелей и генотипов							
					NFKB1A rs696		TLR4 rs3775291		TMPRSS2 rs2070788			
					аллель G	гетерозигота GG	аллель A	гетерозигота AA	аллель G	гетерозигота GG	аллель G	гетерозигота GA
Коми-пермяки северные	популяция	Коми-пермяки	27	32	-	-	0,37	0,14	0,47	-	-	-
Коми-пермяки южные	популяция	Коми-пермяки	53	33	-	-	0,32	0,10	0,44	-	-	-
Марийцы горные	популяция	Марийцы	33	40	-	-	0,41	0,17	0,48	-	-	-
Марийцы луговые	популяция	Марийцы	61	42	-	-	0,30	0,09	0,42	0,80	0,63	0,32
Мордва-мокша	популяция	Мордовия	31	46	-	-	0,31	0,09	0,43	-	-	-
Мордва-эрзя	популяция	Мордовия	66	48	-	-	0,43	0,19	0,49	0,67	0,45	0,44
Удмурты	популяция	Удмурты и бесермяне	53	88	0,65	0,42	0,37	0,14	0,47	0,43	0,18	0,49
Чуваши средненизовые (анатенчи)	популяция	Чуваши	53	98	0,56	0,31	0,25	0,06	0,38	-	-	-
Южный Урал												
Татары поволжские (казанские, кряшены, мишари, татары Башкирии)	популяция	Татары поволжские (казанские, кряшены, мишари, татары Башкирии)	165	79	0,70	0,49	0,31	0,09	0,42	0,45	0,21	0,50
Татары поволжские (казанские, кряшены, мишари, татары Башкирии)	популяция	Татары поволжские (казанские, кряшены, мишари, татары Башкирии)	55	79	0,67	0,45	0,34	0,11	0,45	0,50	0,25	0,50
Башкиры северные	популяция	—	35	10	-	-	0,27	0,07	0,40	-	-	-
Башкиры южные	популяция	—	75	11	0,78	0,61	0,30	0,09	0,42	0,42	0,18	0,49
Сибирь												
Общность												
Западная Сибирь	регион	—	212	80	0,79	0,62	0,29	0,08	0,41	0,56	0,31	0,49
Татары сибирские	метапопуляция	Татары сибирские	95	80	0,75	0,56	0,33	0,11	0,44	0,49	0,24	0,50
Манси	популяция	—	40	39	-	-	0,20	0,04	0,32	0,80	0,63	0,32
Татары сибирские ялutorовские	популяция	Татары сибирские	29	81	-	-	0,26	0,07	0,38	0,79	0,63	0,33
Ханты	популяция	—	56	96	0,89	0,80	0,21	0,04	0,33	-	-	-
Южная Сибирь												
Алтайцы северные и шорцы	метапопуляция	Алтайцы северные и шорцы	58	7	0,83	0,69	0,24	0,06	0,36	0,41	0,17	0,48
Тувинцы	метапопуляция	Тувинцы	40	84	0,86	0,74	0,18	0,03	0,29	0,55	0,30	0,50
Хакасы	метапопуляция	Хакасы	32	95	0,83	0,69	0,25	0,06	0,38	0,36	0,13	0,46
Алтайцы северные	популяция	Алтайцы северные и шорцы	43	6	-	-	0,21	0,04	0,33	-	-	-
Алтайцы южные	популяция	—	49	8	-	-	0,30	0,09	0,42	-	-	-

Группа коренного населения	Уровень иерархии	Метапопуляция	Максимальный размер выборки	Номер на карте	Частоты аллелей и генотипов								
					NFKB1A rs696		TLRK3 rs3775291		TMPRSS2 rs2070788				
					аллель G	гомозигота GG	гетерозигота AG	аллель A	гомозигота AA	гетерозигота AG	аллель G	гомозигота GG	гетерозигота GA
Тофалары	популяция	—	29	83	-	-	-	0,28	0,08	0,40	-	-	-
Тувиинцы-тоджинцы	популяция	—	44	82	-	-	-	0,18	0,03	0,30	-	-	-
Дальний Восток, Восточная Сибирь													
Восточная Сибирь	регион		133		0,84	0,71	0,27	0,27	0,08	0,40	0,32	0,10	0,43
Буряты	метапопуляция	Буряты	41	13	0,78	0,61	0,34	0,27	0,07	0,39	0,19	0,04	0,30
Эвенки Байкала и хамнигане	метапопуляция	Эвенки Байкала и хамнигане	51	101	0,82	0,67	0,30	0,25	0,06	0,37	0,44	0,20	0,49
Эвенки Забайкалья	популяция	Эвенки Байкала и хамнигане	41	102	-	-	-	0,26	0,07	0,38	-	-	-
Якуты	популяция	—	41	109	0,91	0,84	0,16	0,32	0,10	0,43	0,35	0,12	0,45
Дальний Восток	регион		532		0,90	0,81	0,18	0,33	0,11	0,44	0,46	0,21	0,50
Коряки	метапопуляция	Коряки	82	35	0,91	0,83	0,16	0,51	0,26	0,50	0,56	0,31	0,49
Нанайцы	метапопуляция	Нанайцы	119	49	0,92	0,85	0,15	0,20	0,04	0,32	0,45	0,20	0,49
Народы Амура	метапопуляция	Народы Амура	57	52	0,86	0,74	0,24	0,26	0,07	0,39	0,43	0,18	0,49
Эвенки Дальнего Востока, орочи	метапопуляция	Эвенки Дальнего Востока, орочи	69	103	0,83	0,69	0,28	0,25	0,06	0,37	0,40	0,16	0,48
Ительмены	популяция	—	29	24	0,93	0,87	0,13	0,52	0,27	0,50	0,62	0,39	0,47
Коряки	популяция	Коряки	58	34	0,90	0,80	0,19	0,52	0,27	0,50	0,59	0,35	0,48
Нанайцы (Нижний Амур)	популяция	Нанайцы	26	50	-	-	-	0,33	0,11	0,44	-	-	-
Нанайцы (Верхний, Средний Амур)	популяция	Нанайцы	60	51	0,93	0,86	0,14	0,20	0,04	0,32	0,39	0,15	0,48
Нивхи	популяция	Народы Амура	27	53	0,83	0,69	0,28	0,28	0,08	0,40	0,41	0,17	0,48
Ульчи	популяция	Народы Амура	25	54	0,86	0,74	0,24	0,24	0,06	0,36	0,50	0,25	0,50
Чукчи	популяция	—	60	99	0,88	0,78	0,21	0,35	0,12	0,46	0,49	0,24	0,50
Эвенки Амура	популяция	Эвенки Дальнего Востока, орочи	55	104	0,83	0,68	0,29	0,29	0,08	0,41	0,41	0,17	0,48
Эвены Камчатки	популяция	—	31	105	0,95	0,91	0,09	0,23	0,05	0,35	0,33	0,11	0,44
Эвены охотские	популяция	—	57	106	0,96	0,92	0,08	0,35	0,12	0,46	0,36	0,13	0,46

Группа коренного населения	Уровень иерархии	Метапопуляция	Максимальный размер выборки	Номер на карте	Частоты аллелей и генотипов									
					NFKB1A rs696		TLR3 rs3775291		TMPRSS2 rs2070788					
					аллель G	гомози- гота GG	гетерози- гота AG	аллель A	гомози- гота AA	гетерози- гота AG	аллель G	гомози- гота GG	гетерози- гота GA	
Центральная Азия														
Общность														
Центральная Азия	регион		415			0,72	0,52	0,40	0,32	0,10	0,44	0,38	0,15	0,47
Дунгане, уйгуры	метапопу-ляция	Дунгане, уйгуры	34	19		0,73	0,53	0,39	0,32	0,10	0,44	-	-	-
Народы Памира северные	метапопу-ляция	Народы Памира северные	44	55		-	-	-	0,34	0,12	0,45	-	-	-
Таджики, ягнобцы	метапопу-ляция	Таджики, ягнобцы	41	108		0,59	0,35	0,48	0,31	0,09	0,43	0,61	0,37	0,48
Таджикистан	метапопу-ляция	Таджикистан	118	-		0,68	0,46	0,44	0,30	0,09	0,42	0,52	0,27	0,50
Туркмены, каракалпаки	метапопу-ляция	Туркмены, каракал-паки	30	85		0,74	0,55	0,38	0,32	0,10	0,43	-	-	-
Казахи	популяция	-	55	27		-	-	-	0,33	0,11	0,44	-	-	-
Киргизы	популяция	-	51	30		0,73	0,54	0,39	0,34	0,12	0,45	0,41	0,17	0,48
Монголы (не халха)	популяция	-	102	44		0,69	0,47	0,43	0,31	0,10	0,43	0,45	0,20	0,49
Монголы (халха)	популяция	-	55	45		0,74	0,55	0,38	0,31	0,10	0,43	0,37	0,14	0,47
Народы Памира южные	популяция	-	28	56		-	-	-	0,27	0,07	0,39	-	-	-
Таджики	популяция	Таджики, ягнобцы	30	107		-	-	-	0,25	0,06	0,38	0,58	0,34	0,49
Узбеки	популяция	-	40	89		0,67	0,45	0,44	0,24	0,06	0,36	0,36	0,13	0,46
РЕГИОНЫ МИРА														
Европа														
Общность														
Европа	регион		933			0,42	0,18	0,49	0,55	0,30	0,49	0,46	0,21	0,50
Европа Запад и Юг	метапопу-ляция	Европа Запад и Юг	151	GG		0,64	0,41	0,46	0,24	0,06	0,36	0,47	0,22	0,50
Популяции Северных Балкан	метапопу-ляция	Популяции Северных Балкан	75	GG		0,42	0,17	0,49	0,49	0,24	0,50	0,45	0,20	0,49
Популяции Северной Европы	метапопу-ляция	Популяции Северной Европы	37	GG		-	-	-	0,53	0,28	0,50	0,43	0,19	0,49
Популяции Центральных Балкан	метапопу-ляция	Популяции Центральных Балкан	80	GG		0,52	0,27	0,50	0,33	0,11	0,44	0,47	0,22	0,50
Популяции Центральной Европы	метапопу-ляция	Популяции Центральной Европы	97	GG		0,50	0,25	0,50	0,47	0,22	0,50	0,43	0,19	0,49
Популяции Южных Балкан	метапопу-ляция	Популяции Южных Балкан	97	GG		0,47	0,22	0,50	0,51	0,26	0,50	0,47	0,22	0,50
Славяне Балкан	метапопу-ляция	Славяне Балкан	70	74		-	-	-	0,29	0,09	0,41	-	-	-

Группа коренного населения	Уровень иерархии	Метапопуляция	Максимальный размер выборки	Номер на карте	Частоты аллелей и генотипов								
					NFKB1A rs696		TLR3 rs3775291		TMPRSS2 rs2070788				
					аллель G	гомозигота GG	гетерозигота AG	аллель A	гомозигота AA	гетерозигота AG	аллель G	гомозигота GG	гетерозигота GA
Французы, испанцы, баски	метапопуляция	Французы, испанцы, баски	160	GG	0,41	0,17	0,48	0,64	0,41	0,46	0,51	0,26	0,50
Юго-восточная Европа	метапопуляция	Юго-восточная Европа	177	GG	0,48	0,23	0,50	0,45	0,20	0,49	0,47	0,22	0,50
Баски	популяция	Французы, испанцы, баски	25	GG	-	-	-	-	-	-	0,54	0,29	0,50
Венгры	популяция	Популяции Северных Балкан	34	GG	0,41	0,16	0,48	0,52	0,27	0,50	0,41	0,17	0,48
Греки	популяция	Популяции Южных Балкан	58	GG	0,47	0,22	0,50	0,41	0,17	0,49	0,44	0,19	0,49
Ирландцы	популяция	-	30	GG	0,30	0,09	0,42	0,73	0,54	0,39	0,48	0,23	0,50
Испанцы	популяция	Французы, испанцы, баски	68	GG	0,37	0,14	0,47	0,73	0,53	0,39	0,51	0,26	0,50
Итальянцы	популяция	-	62	GG	0,39	0,15	0,48	0,47	0,22	0,50	0,40	0,16	0,48
Македонцы	популяция	Славяне Балкан	60	75	-	-	-	0,30	0,09	0,42	-	-	-
Поляки	популяция	Популяции Центральной Европы	40	GG	-	-	-	0,46	0,21	0,50	0,41	0,17	0,48
Румыны	популяция	Популяции Северных Балкан	26	GG	0,40	0,16	0,48	0,50	0,25	0,50	0,50	0,25	0,50
Сардинцы	популяция	-	28	GG	-	-	-	-	-	-	0,46	0,22	0,50
Французы	популяция	Французы, испанцы, баски	65	GG	0,41	0,17	0,48	0,68	0,46	0,44	0,52	0,27	0,50
Шотландцы	популяция	-	43	GG	0,33	0,11	0,44	0,73	0,54	0,39	0,50	0,25	0,50
Азия													
Восточная Азия													
Популяции Северного Китая	регион	Популяции Северного Китая	238	GG	0,49	0,24	0,50	0,56	0,32	0,49	0,36	0,13	0,46
Популяции Юго-Восточной Азии	регион	Популяции Юго-Восточной Азии	47	GG	-	-	-	-	-	-	0,47	0,22	0,50
Популяции Южного Китая	регион	Популяции Южного Китая	71	GG	0,55	0,30	0,50	0,48	0,23	0,50	0,31	0,10	0,43
Китайцы (хань)	популяция	-	45	GG	0,48	0,23	0,50	-	-	-	0,31	0,10	0,43
Японцы	популяция	-	29	GG	0,46	0,22	0,50	0,55	0,30	0,50	0,43	0,19	0,49
Южная Азия													
Индийцы	регион	Индийцы	455	GG	0,52	0,27	0,50	0,41	0,17	0,48	0,43	0,19	0,49
	регион	Индийцы	285	GG	0,52	0,27	0,50	0,40	0,16	0,48	0,40	0,16	0,48

Группа коренного населения	Уровень иерархии	Метапопуляция	Максимальный размер выборки	Номер на карте	Частоты аллелей и генотипов								
					NFKB1A rs696		TLRR3 rs3775291		TMPRSS2 rs2070788				
					аллель G	гомози-гота GG	гетерози-гота AG	аллель A	гомози-гота AA	гетерози-гота AG	аллель G	гомози-гота GG	гетерози-гота GA
Пакистанцы	метапопуляция	Пакистанцы	170	GG	0,51	0,26	0,50	0,46	0,21	0,50	0,49	0,24	0,50
Брагуи	популяция	Пакистанцы	25	GG	-	-	-	-	-	-	0,38	0,14	0,47
Бурушо	популяция	Пакистанцы	25	GG	-	-	-	-	-	-	0,54	0,29	0,50
Макрани	популяция	Пакистанцы	25	GG	-	-	-	-	-	-	0,72	0,52	0,40
Средний Восток	регион		398		0,47	0,22	0,50	0,55	0,31	0,49	0,47	0,22	0,50
Арабы	метапопуляция	Арабы	49	GG	0,47	0,22	0,50	0,34	0,11	0,45	0,42	0,18	0,49
Иранцы	метапопуляция	Иранцы	66	GG	0,52	0,28	0,50	0,61	0,37	0,48	0,51	0,26	0,50
Популяции Анатолии и Леванта	метапопуляция	Популяции Анатолии и Леванта	147	GG	0,45	0,20	0,50	0,60	0,36	0,48	0,49	0,24	0,50
Бедуины	популяция	—	46	GG	-	-	-	-	-	-	0,43	0,19	0,49
Друзы	популяция	—	44	GG	-	-	-	-	-	-	0,44	0,20	0,49
Ливанцы	популяция	Популяции Анатолии и Леванта	28	GG	-	-	-	-	-	-	0,50	0,25	0,50
Палестинцы	популяция	—	46	GG	-	-	-	-	-	-	0,47	0,22	0,50
Турки	популяция	Популяции Анатолии и Леванта	83	GG	0,42	0,17	0,49	0,61	0,37	0,48	0,51	0,26	0,50
Америка	Общность												
Америка	регион		351		0,29	0,09	0,41	0,51	0,26	0,50	0,71	0,50	0,41
Индийцы Канады и США	метапопуляция	Индийцы Канады и США	107	GG	0,32	0,10	0,44	0,57	0,32	0,49	0,69	0,47	0,43
Индийцы Мексики	метапопуляция	Индийцы Мексики	79	GG	0,41	0,17	0,48	0,56	0,31	0,49	0,61	0,38	0,47
Индийцы Южной Америки	метапопуляция	Индийцы Южной Америки	126	GG	0,20	0,04	0,32	0,44	0,19	0,49	0,79	0,62	0,33
Гренландцы	популяция	—	39	GG	0,79	0,63	0,33	0,35	0,12	0,45	0,60	0,36	0,48
Олжйба	популяция	Индийцы Канады и США	28	GG	0,13	0,02	0,22	0,54	0,29	0,50	0,70	0,50	0,42
Чилеван	популяция	Индийцы Канады и США	33	GG	0,20	0,04	0,32	0,73	0,53	0,40	0,73	0,53	0,40

Группа коренного населения	Уровень иерархии	Метапопуляция	Максимальный размер выборки	Номер на карте	Частоты аллелей и генотипов									
					NFKB1A rs696		TLR3 rs3775291		TMPRSS2 rs2070788					
					аллель G	гомозигота GG	гетерозигота AG	аллель A	гомозигота AA	гетерозигота AG	аллель G	гомозигота GG	гетерозигота GA	
Океания и Австралия														
Океания и Австралия	регион		212	GG	0,56	0,32	0,49	0,55	0,31	0,49	0,35	0,12	0,46	
Папуа - Новая Гвинея	метапопуляция	Папуа - Новая Гвинея	51	GG	0,49	0,24	0,50	0,45	0,20	0,50	0,42	0,18	0,49	
Соломоновы острова	метапопуляция	Соломоновы острова	93	GG	0,60	0,36	0,48	0,59	0,34	0,49	0,34	0,12	0,45	
Папуасы	популяция	Папуа - Новая Гвинея	30	GG	-	-	-	-	-	-	0,40	0,16	0,48	
Африка														
Северная Африка	регион		91		0,52	0,27	0,50	0,63	0,40	0,47	0,42	0,17	0,49	
Популяции Северной Африки	метапопуляция	Популяции Северной Африки	36	GG	0,48	0,23	0,50	0,63	0,40	0,47	0,42	0,18	0,49	
Египтяне	популяция	Популяции Северной Африки	26	GG	-	-	-	-	-	-	0,42	0,18	0,49	
Марокканцы	популяция	Популяции Северной Африки	27	GG	-	-	-	-	-	-	0,35	0,12	0,46	
Мозабиты (берберы)	популяция	Популяции Северной Африки	29	GG	-	-	-	-	-	-	0,48	0,23	0,50	
Африка южнее Сахары														
Африка южнее Сахары	регион		241		0,72	0,51	0,41	0,99	0,98	0,02	0,33	0,11	0,44	
Популяции Африки южнее Сахары	метапопуляция	Популяции Африки южнее Сахары	348	GG	0,70	0,49	0,42	0,98	0,96	0,04	0,29	0,08	0,41	
Популяции Западной Африки	метапопуляция	Популяции Западной Африки	152	GG	0,69	0,47	0,43	1,00	0,99	0,01	0,32	0,10	0,43	
Эфиопы	метапопуляция	Эфиопы	29	GG	0,62	0,39	0,47	0,47	0,22	0,50	0,34	0,12	0,45	
Жульван	популяция	Популяции Африки южнее Сахары	33	GG	0,77	0,59	0,36	0,98	0,96	0,04	0,39	0,16	0,48	
Йоруба	популяция	Популяции Западной Африки	108	GG	0,71	0,50	0,41	0,99	0,99	0,01	0,36	0,13	0,46	
Сандаве	популяция	Популяции Африки южнее Сахары	28	GG	0,37	0,14	0,47	0,96	0,93	0,07	0,16	0,03	0,27	
Таа	популяция	Популяции Африки южнее Сахары	36	GG	0,71	0,51	0,41	1,00	1,00	0,00	0,22	0,05	0,35	
Халда	популяция	Популяции Африки южнее Сахары	29	GG	0,67	0,45	0,44	1,00	1,00	0,00	0,14	0,02	0,24	

Роль биобанков в изучении частот аллелей в Российской популяции аллелей, ассоциированных с тяжестью течения и исходом COVID-19

Апалько С. В., Шиманский В. С., Попов О. С., Сушенцева Н. Н., Мосенко С. В., Асиновская А. Ю., Щербак С. Г.

Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения "Городская больница № 40 Курортного района". Сестрорецк, Санкт-Петербург, Россия

Цель. Анализ частоты встречаемости четырех полиморфизмов генов *MUC5B* rs35705950, *TERT* rs2736100, *TLR3* rs3775290 и *TLR7* rs179008 в популяции, а также их возможную ассоциацию с тяжестью течения и исходом заболевания COVID-19 (COroNa Virus Disease 2019, коронавирусная инфекция 2019г).

Материал и методы. В исследовании использовались образцы крови 4783 пациентов с диагнозом COVID-19 из биобанка СПб ГБУЗ "Городская больница № 40". Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Генотипирование проведено методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, статистический анализ включал точный критерий Фишера и множественную регрессию.

Результаты. Частоты полиморфизмов сопоставимы с базой gnomAD (Genome Aggregation Database). Среди всех полиморфизмов только генотип AA гена *TLR7* показал статистически значимую ассоциацию с тяжелым течением COVID-19. Дополнительно выявлены два потенциально значимых взаимодействия генотипов: *TERT* AA + *TLR7* T у мужчин и *TERT* CC + *TLR3* CT у женщин.

Заключение. Результаты подчеркивают ценность локальных биобанков для изучения популяционных особенностей распределения

аллелей и выявления генетических факторов, влияющих на течение инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: биобанки, COVID-19, частота аллелей, *TERT*, *TLR3*, *TLR7*, *MUC5B*, популяционное исследование.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 01/09-2025

Рецензия получена 01/10-2025

Принята к публикации 19/11-2025



Для цитирования: Апалько С. В., Шиманский В. С., Попов О. С., Сушенцева Н. Н., Мосенко С. В., Асиновская А. Ю., Щербак С. Г. Роль биобанков в изучении частот аллелей в Российской популяции аллелей, ассоциированных с тяжестью течения и исходом COVID-19. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4570. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4570. EDN: SJMHVP

Role of biobanks in studying frequencies of alleles associated with COVID-19 severity and outcome in the Russian population

Apalko S. V., Shimansky V. S., Popov O. S., Sushentseva N. N., Mosenko S. V., Asinovskaya A. Yu., Shcherbak S. G. City Hospital № 40 of Kurortny District. Sestroretsk, St. Petersburg, Russia

Aim. To analyze the frequency and potential association with the severity and outcome of coronavirus disease (COVID-19) of *MUC5B* rs35705950, *TERT* rs2736100, *TLR3* rs3775290, and *TLR7* rs179008 polymorphisms.

Material and methods. The study included blood samples from 4783 patients diagnosed with COVID-19 from the biobank of City Hospital № 40 (St. Petersburg). All patients signed informed consent to participate in the study. Genotyping was performed using real-time polymerase chain reaction. Statistical analysis included Fisher's exact test and multiple regression.

Results. Polymorphism frequencies are comparable with the Genome Aggregation Database (gnomAD). Among all polymorphisms, only the AA

genotype of the *TLR7* gene showed a significant association with severe COVID-19. Two following potentially significant genotype interactions were also identified: *TERT* AA + *TLR7* T in men and *TERT* CC + *TLR3* CT in women.

Conclusion. The results highlight the value of local biobanks for studying population-based patterns of allele distribution and identifying genetic factors influencing the course of infectious diseases.

Keywords: biobanks, COVID-19, allele frequency, *TERT*, *TLR3*, *TLR7*, *MUC5B*, population-based study.

Relationships and Activities: none.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: svetlana.apalko@gmail.com

[Апалько С. В.* — к.б.н., начальник сектора биобанкирования и трансляционной медицины, зав. ЛМД и АМ, ORCID: 0000-0002-3853-4185, Шиманский В. С. — биолог, ORCID: 0000-0001-5662-8663, Попов О. С. — специалист, ORCID: 0000-0003-1778-0165, Сушенцева Н. Н. — биолог, начальник лаборатории, ORCID: 0000-0002-5100-5229, Мосенко С. В. — зав. отделением, врач-невролог высшей категории, ORCID: 0000-0002-1357-4324, Асиновская А. Ю. — зам. главного врача по науке, ORCID: 0000-0001-5642-621X, Щербак С. Г. — д.м.н., профессор, заслуженный врач РФ, главный врач, ORCID: 0000-0001-5036-1259].

Адреса организаций авторов: Санкт-Петербургское государственное бюджетное учреждение здравоохранения "Городская больница № 40 Курортного района", ул. Борисова, д. 9, лит. Б, г. Сестрорецк, Санкт-Петербург, 197706, Россия.

Addresses of the authors' institutions: City Hospital No. 40 of Kurortny District of Saint Petersburg, Borisova St., 9, lit. B, Sestroretsk, Saint Petersburg, 197706, Russia.

Apalko S. V.* ORCID: 0000-0002-3853-4185, Shimansky V. S. ORCID: 0000-0001-5662-8663, Popov O. S. ORCID: 0000-0003-1778-0165, Sushentseva N. N. ORCID: 0000-0002-5100-5229, Mosenko S. V. ORCID: 0000-0002-1357-4324, Asinovskaya A. Yu. ORCID: 0000-0001-5642-621X, Shcherbak S. G. ORCID: 0000-0001-5036-1259.

For citation: Apalko S. V., Shimansky V. S., Popov O. S., Sushentseva N. N., Mosenko S. V., Asinovskaya A. Yu., Shcherbak S. G. Role of biobanks in studying frequencies of alleles associated with COVID-19 severity and outcome in the Russian population. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4570. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4570. EDN: SJMHVP

*Corresponding author: svetlana.apalko@gmail.com

Received: 01/09-2025

Revision Received: 01/10-2025

Accepted: 19/11-2025

ПЦР — полимеразная цепная реакция, ОНП — однонуклеотидные полиморфизмы, РНК — рибонуклеиновая кислота, gnomAD — Genome Aggregation Database, COVID-19 — COrona Virus Disease 2019 (коронавирусная инфекция 2019г), FDR — false discovery rate.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Генетические вариации в генах врождённого иммунитета, включая TLR-рецепторы, а также в генах, регулирующих интерфероновый ответ и воспаление, могут определять тяжесть COVID-19 (COrona VIRus Disease 2019). Полиморфизмы могут влиять на чувствительность рецепторов к вирусной рибонуклеиновой кислоте, активацию NF-κB и синтез цитокинов. Популяционные различия в частотах аллелей ограничивают возможность трансляции зарубежных данных на российскую выборку.

Что добавляют результаты исследования?

- Генотип AA *TLR7* ассоциирован с более тяжёлым течением COVID-19, что согласуется с его ролью в распознавании вирусной рибонуклеиновой кислоты. Обнаружены генотип-генотип взаимодействия, вероятно связанные с модуляцией NF-κB-зависимых путей при сочетаниях вариантов генов *TERT* с *TLR7* и *TLR3*. Данные подчёркивают важность локальных биобанков для уточнения молекулярно-генетических детерминант тяжёлого течения инфекции.

Key messages

What is already known about the subject?

- Genetic variations in innate immune genes, including TLR receptors, as well as in genes regulating the interferon response and inflammation, may specify the COVID-19 severity. Polymorphisms can influence receptor sensitivity to viral ribonucleic acid, NF-κB activation, and cytokine synthesis. Population differences in allele frequencies limit the applicability of international data to a Russian sample.

What might this study add?

- The AA *TLR7* genotype is associated with a more severe COVID-19 course, consistent with its role in viral ribonucleic acid recognition. Genotype-genotype interactions were detected, likely related to the modulation of NF-κB-dependent pathways when *TERT* gene variants are combined with *TLR7* and *TLR3*. These data highlight the importance of local biobanks for identifying the molecular genetic determinants of severe infection.

Введение

За последние десятилетия роль генетического анализа для широкого спектра медико-генетических исследований сильно выросла. Широкое распространение и удешевление методов секвенирования нового поколения, а также более точечного изучения генетических полиморфизмов путем полимеразной цепной реакции (ПЦР) позволяет нарабатывать большие объемы материала, достаточного для проведения исследований в масштабах целых популяций. Материал аккумулируется в специальных подразделениях — биобанках [1].

Термин "биобанк" определяется как структурированная коллекция биологических образцов и связанных с ними данных, хранящихся для целей

настоящих и будущих исследований [2, 3]. Помимо непосредственно хранения данных, биобанки также играют важную роль в унификации методов. Это особенно актуально в условиях совместных мета-исследований, собирающих данные из лабораторий разных регионов или даже стран. Такие задачи как популяционные исследования, создание общенациональных референсных панелей и внедрение разработок в клиническую практику возможны только при условии соблюдения единых методологических подходов [4].

Биобанки играют ключевую роль в изучении частот аллелей. Они обеспечивают доступ к документированным образцам дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), что позволяет исследователям

Таблица 1

Половозрастная структура пациентов по тяжести заболевания

Группа	Всего	n		Всего	Возраст, лет, M±SD	
		Мужчины	Женщины		Мужчины	Женщины
Легкая	195	109	86	48,8±15,8	48,5±15,9	49,3±15,7
Средняя	2116	1004	1112	62,9±15,5	59,5±15,6	66±14,8
Тяжелая	2472	1291	1181	68,2±14,7	65,4±14,5	71,3±14,3

Таблица 2

Половозрастная структура пациентов по исходам заболевания

Группа	Всего	n		Всего	Возраст, лет, M±SD	
		Мужчины	Женщины		Мужчины	Женщины
Умер	880	457	423	74,3±12,8	71,7±12,7	77,1±12,4
Выжил	3903	1947	1956	63±15,5	59,9±15,3	66,1±15,1

анализировать однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП), собирать статистические данные и находить связь с восприимчивостью к различным заболеваниям, тяжестью их течения и исходами. Например, в геноме человека выявлено 49 полиморфизмов, ассоциированных с более тяжёлым течением COVID-19 (COrona Virus Disease 2019) [5].

Подавляющее большинство баз данных, специализирующихся на сборе информации по полиморфизмам, таких как Genbank, 1000 genomes, Clinvar и т.д., содержат, в основном, данные о европейских и североамериканских популяциях. Следствием этого являются значительные пробелы в знаниях о генетическом разнообразии других регионов, включая Россию. Недостаток данных может ограничивать точность генетической диагностики и эффективность персонализированной медицины для мало представленных или отсутствующих групп, что особенно проявилось в период пандемии, когда "генетические особенности популяций оказались значимым фактором различий в уязвимости к COVID-19" [6]. Для восполнения этих пробелов требуется участие локальных биобанков и инициатив по секвенированию геномов.

В 2017г на базе СПб ГБУЗ "Городская больница № 40" был организован нозологический биобанк, работа которого осуществляется в соответствии с требованиями международных принципов и норм и организована по модели работы признанных во всем мире международных и региональных организаций, таких как:

- Международное общество биологических репозиториях и репозиториях окружающей среды (International Society for Biological and Environmental Repositories, ISBER);

- Европейское, Средневосточное и Африканское общество биоконсервации и биобанкинга (European, Middle Eastern & African Society for Biopreservation & Biobanking, ESBB);

- Национальный институт исследования рака (National Cancer Institute, США).

Биобанкирование — это наукоемкий процесс, для которого необходим не только грамотно организованный и технологически оснащенный репозиторий, но и отлаженный процесс получения, систематизации и хранения клинических и лабораторных данных. Биобанк СПб ГБУЗ "Городская больница № 40" является уникальным репозиторием благодаря представленной коллекции биоматериала и полному комплексу клинической и лабораторной информации, сопровождающей её.

Несмотря на достижения последних лет, COVID-19 остается значительной проблемой для мирового здравоохранения. Пандемия определила необходимость адаптации существующих правил отечественного биобанкирования [7]. Накопленные данные свидетельствуют о том, что, помимо пола, возраста и сопутствующих заболеваний, на тяжесть и исход заболевания влияет ряд генетических факторов, обуславливающих работу врожденного и приобретенного иммунитета [8-10].

Целью настоящей работы является анализ частоты встречаемости 4-х однонуклеотидных полиморфизмов *MUC5B* rs35705950, *TERT* rs2736100, *TLR3* rs3775290 и *TLR7* rs179008 в популяции, а также их возможной ассоциации с тяжестью течения и исходом COVID-19. Эти варианты были выбраны на основании проведенного нами литературного анализа по ассоциации генетических замен с легочным фиброзом и тяжелым течением COVID-19 [11-14].

Материал и методы

В настоящем исследовании использовались образцы крови 4783 пациентов с диагнозом COVID-19 из коллекции биобанка СПб ГБУЗ "Городская больница № 40". Половозрастная структура и разделение пациентов на группы представлены в таблицах 1, 2. Все пациенты подписали информированное добровольное

согласие на участие в исследовании. Форма информированного согласия и иные документы в рамках научно-исследовательского проекта "Биобанкирование и биомедицинские исследования образцов тканей и жидкостей человека" были одобрены на заседании № 119 Экспертного совета по этике СПб ГБУЗ "Городская больница № 40" 09 февраля 2017г.

В группу "случай" были набраны пациенты с диагностированным на момент забора материала COVID-19 тяжелого и крайне тяжелого течения. В группу "COVID-19-контроль" вошли пациенты с COVID-19 средней и легкой тяжести. Группа "популяционный контроль" состоит из условно здоровых доноров биобанка без диагностированного на момент забора материала COVID-19. Дополнительно все пациенты были разделены по исходу заболевания на две категории — с летальным исходом и выжившие.

Анализ полиморфизмов проведен с помощью набора реагентов для мультиплексного определения аллельных полиморфизмов *MUC5B* rs35705950, *TERT* rs2736100, *TLR3* rs3775290 и *TLR7* rs179008 методом ПЦР в режиме реального времени производства ООО "СибДНК". Для анализа использовался прибор CFX96 Touch.

Для оценки статистической значимости различий в частоте встречаемости полиморфизмов между группами использовался точный критерий Фишера и модель множественной логистической регрессии, подобранной с помощью критерия Акаике. При анализе всех возможных комбинаций предикторов применялась поправка на множественное тестирование false discovery rate (FDR) по Бенджамини-Хохбергу. Обработка данных проводилась в программном пакете R.

Результаты

С помощью ПЦР было проведено генотипирование образцов 4793 пациентов по полиморфизмам *MUC5B* rs35705950, *TERT* rs2736100, *TLR3* rs3775290 и *TLR7* rs179008. Результаты представлены в таблицах 3–6.

Рассчитаны аллельные частоты для *MUC5B* rs35705950, *TERT* rs2736100, *TLR3* rs3775290 и *TLR7* rs179008 по всей выборке и по подгруппам тяжести/исхода. Данные по частоте встречаемости близки к информации из базы данных gnomAD (Genome Aggregation Database) версии 4.1. Результаты сравнения в таблице 7.

Первым шагом статистического анализа было сравнение выборок с помощью точного критерия Фишера для количественных данных. Для каждого попарного сравнения выборок было рассчитано р-значение. Результаты приведены в таблице 8. Из всех исследуемых полиморфизмом только генотип AA гена *TLR7* показал статистически значимое влияние на тяжесть заболевания (р-значение=0,009).

Следующим шагом было построение модели логистической регрессии для исходов заболевания (1 — летальный исход, 2 — нелетальный) со следующим набором предикторов: пол, возраст и тяжесть заболевания. Модель без взаимодействия показала статистически значимый вклад всех трех предикто-

Таблица 3

Распределение генотипов гена *TERT*

Генотип	Случай	COVID-19 контроль	Популяционный контроль
AA	1240 (90,05)	63 (4,58)	74 (5,37)
CA	2116 (91,25)	87 (3,75)	116 (5)
CC	986 (90,71)	42 (3,86)	59 (5,43)

Таблица 4

Распределение генотипов гена *TLR7*

Генотип	Случай	COVID-19 контроль	Популяционный контроль
AA	1252 (91,25)	54 (3,94)	66 (4,81)
AT	745 (93,01)	26 (3,25)	30 (3,75)
T	489 (88,27)	27 (4,87)	38 (6,86)
TT	146 (92,99)	6 (3,82)	5 (3,18)
A	1710 (90,05)	79 (4,16)	110 (5,79)

Таблица 5

Распределение генотипов гена *TLR3*

Генотип	Случай	COVID-19 контроль	Популяционный контроль
CC	2023 (91,54)	75 (3,39)	112 (5,07)
CT	1870 (89,77)	98 (4,7)	115 (5,52)
TT	449 (91,63)	19 (3,88)	22 (4,49)

Таблица 6

Распределение генотипов гена *MUC5B*

Генотип	Случай	COVID-19 контроль	Популяционный контроль
GG	3521 (90,63)	164 (4,22)	200 (5,15)
GT	779 (91,54)	26 (3,06)	46 (5,41)
TT	42 (89,36)	2 (4,26)	3 (6,38)

Таблица 7

Частота встречаемости аллелей исследуемых генов

Аллель	Случай, %	COVID-19 контроль, %	Популяционный контроль, %	gnomAD v4.1, %
<i>TERT</i> A	54	55	53	58,72
<i>TLR7</i> T	9	8	10	19
<i>TLR3</i> T	31	35	32	30,2
<i>MUC5B</i> T	9	8	10	10,82

Примечание: gnomAD — Genome Aggregation Database.

Таблица 8

Результаты сравнения выборок по тяжести заболевания с использованием критерия Фишера

Ген	p
<i>TERT</i>	0,425
<i>TLR3</i>	0,942
<i>TLR7</i>	0,009
<i>MUC5B</i>	0,929

ров. У мужчин вероятность летального исхода была выше по сравнению с женщинами. С увеличением возраста также наблюдался рост шансов неблагоприятного исхода. Наиболее выраженное влияние имела тяжесть заболевания: пациенты с тяжёлым течением имели существенно более высокое отношение шансов летального исхода по сравнению с пациентами лёгкой и средней тяжести. Доверительные интервалы для всех трёх коэффициентов не включали единицу, что подтверждает статистическую значимость их вклада в модель.

Далее в модель в качестве дополнительных предикторов были добавлены изучаемые полиморфизмы. В связи с тем, что ген *TLR7* расположен на хромосоме X, статистические модели были построены отдельно для каждого пола. Согласно расчету, по отдельности ни один из полиморфизмов не имел статистически значимого влияния на исход заболевания.

Также было исследовано возможное совместное влияние генотипов на исход заболевания. В данном случае анализ также проводился отдельно для мужчин и женщин. Среди всех изученных комбинаций статистически значимыми в отношении исходов заболевания оказались сочетания вариантов *TERT* AA + *TLR7* T у мужчин ($p=0,02$) и *TERT* CC + *TLR3* CT у женщин ($p=0,045$). Однако после применения FDR-поправки по Бенджамини-Хохбергу эти ассоциации утратили статистическую значимость (скорректированные $p=0,30$ и $0,36$, соответственно).

Обсуждение

В настоящем исследовании были проанализированы 4 ОНП, расположенных в генах *TERT*, *TLR3*, *TLR7* и *MUC5B*. Ген *TLR3* кодирует Toll-подобный рецептор 3, который играет ключевую роль во врождённом иммунитете, распознавая вирусные двуцепочечные рибонуклеиновые кислоты (РНК), образуемые в процессе репликации вирусов, и иницируя TRIF-зависимый сигнальный каскад с последующей активацией транскрипционных факторов и синтезом интерферонов I и III типов. *TLR7* кодирует Toll-подобный рецептор 7, способный идентифицировать вирусную одноцепочечную РНК и активировать MyD88-зависимый путь, ведущий к экспрессии интерферонов и провоспалительных цитокинов, что обеспечивает эффективную противовирусную защиту организма [11, 15]. Согласно исследованию Абрамовой Н. Д. и др., у пациентов с тяжелой формой COVID-19 экспрессия генов *TLR3* и *TLR7* статистически значимо снижена [16].

Белок *MUC5B*, кодируемый одноимённым геном, является высокомолекулярным муцином и одним из основных компонентов мукоцилиарного клиренса дыхательных путей, формирующих барьер,

препятствующий проникновению патогенов. Несмотря на то, что полиморфизм *MUC5B* rs35705950 ассоциирован с повышенным риском развития идиопатического легочного фиброза, исследования других авторов показывают, что носители этого варианта имеют более низкий риск тяжелого течения COVID-19, требующего госпитализации [12, 17].

Ген *TERT* кодирует каталитическую субъединицу теломеразы, обеспечивающую поддержание длины теломер. Помимо этой функции, *TERT* участвует в регуляции транскрипции и иммунного гомеостаза, а его полиморфизмы рассматриваются как возможные генетические детерминанты предрасположенности к фиброзу лёгких, включая случаи, ассоциированные с тяжёлым COVID-19 [14].

Из всех полиморфизмов по отдельности только для генотипа AA гена *TLR7* обнаружена статистически значимая ассоциация с тяжёлым течением COVID-19, что согласуется с предыдущими работами о влиянии полиморфизмов *TLR7* на исходы заболевания [11, 15].

Модели логистической регрессии с учётом пола, возраста и тяжести заболевания не выявили значимого вклада отдельных ОНП в исход COVID-19. При анализе взаимодействий были отмечены два сочетания генотипов, для которых была показана тенденция к ассоциации до коррекции на множественные сравнения: *TERT* AA + *TLR7* T у мужчин и *TERT* CC + *TLR3* CT у женщин. Хотя после FDR-поправки статистическая значимость не сохранилась, эти комбинации могут представлять биологический интерес. Действительно, несмотря на отсутствие прямого взаимодействия между этими генами, имеются общие для *TERT*, *TLR3* и *TLR7* сигнальные каскады. Так, *TLR3* активирует TRIF-зависимый путь с вовлечением IRF3 (interferon regulatory factor 3) и транскрипционного фактора NF-κB [18]. *TERT*, в свою очередь, может взаимодействовать с субъединицей p65 (RelA) NF-κB и усиливать транскрипцию его мишеней, включая интерлейкин-6 и фактор некроза опухоли [19, 20]. Через эту связь активация *TLR3* или *TLR7* может привести к усиленной экспрессии провоспалительных генов в клетках с высоким уровнем экспрессии *TERT* за счет синергии на уровне NF-κB-зависимой регуляции.

Помимо этого, роль *TERT* в активации противовирусных путей также подтверждается его участием в индукции экспрессии эндогенных ретровирусов, формирующих двуцепочечную РНК и активирующих RIG-i/MDA5-зависимый интерфероновый ответ [21]. Практическое проявление функциональной связи *TERT* с *TLR7* видно в иммунотерапии: агонисты *TLR7*, такие как имиквимод, применяются как адъюванты в *hTERT*-вакцинах, усиливая активацию дендритных клеток и специфический Т-клеточный ответ [22-24].

Заключение

Проведенный анализ распределения полиморфизмов *MUC5B* rs35705950, *TERT* rs2736100, *TLR3* rs3775290 и *TLR7* rs179008 в выборке пациентов с COVID-19 показал, что частоты изученных полиморфизмов в целом сопоставимы с данными глобальной базы gnomAD (Genome Aggregation Database). Среди всех полиморфизмов только генотип AA *TLR7* продемонстрировал статистически значимую ассоциацию с тяжелым течением COVID-19.

Модели множественной регрессии не выявили значимого вклада отдельных ОНП в исход заболевания, но анализ совместного влияния показал два потенциально интересных с биологической точки зрения генотип-генотип взаимодействия — *TERT*

AA + *TLR7* T у мужчин и *TERT* CC + *TLR3* CT у женщин.

Полученные результаты подчеркивают ценность локальных биобанков для изучения популяционных особенностей распределения аллелей и выявления генетических факторов, влияющих на течение инфекционных заболеваний. Дальнейшие исследования на независимых выборках, а также функциональная валидация выявленных взаимодействий необходимы для подтверждения их клинической значимости и потенциального применения в персонализированной медицине.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Goodwin S, McPherson JD, McCombie WR. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nat Rev Genet.* 2016;17(6):333-51. doi:10.1038/nrg.2016.49.
2. Parodi B. Biobanks: A Definition. In: Mascalzoni D (ed). *Ethics, Law and Governance of Biobanking.* The International Library of Ethics, Law and Technology, vol 14. Springer, Dordrecht. 2015: 15-9. doi:10.1007/978-94-017-9573-9_2.
3. Meshkov AN, Pokrovskaya MS, Glotov AS, et al. From idea to implementation: the development of biobanking in Russia. *The Cardiovascular Therapy and Prevention journal's top contributing institutions: National Association of Biobanks and Biobanking Specialists (NASBIO).* *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2023;22(11):3864. (In Russ.) Мешков А. Н., Покровская М. С., Глотов А. С. и др. От идеи к внедрению: развитие биобанкирования в России. Сотрудничество ведущих научных центров с журналом "Кардиоваскулярная терапия и профилактика": Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО). *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2023;22(11):3864. doi:10.15829/1728-8800-2023-3864.
4. Daw Elbait G, Henschel A, Tay GK, Al Safar HS. A Population-Specific Major Allele Reference Genome From The United Arab Emirates Population. *Front Genet.* 2021;12:660428. doi:10.3389/fgene.2021.660428.
5. Nikolaeva LI, Stuchinskaya MD, Dedova AV, et al. Association of polymorphic variants of hemostasis genes with the course of COVID-19. *Probl Virol.* 2023;68(5):445-53. (In Russ.) Николаева Л. И., Стучинская М. Д., Дедова А. В. и др. Ассоциация полиморфных вариантов генов системы гемостаза с течением COVID-19. *Проблемы вирусологии.* 2023;68(5):445-53. doi:10.36233/0507-4088-197.
6. Shevchenko AV, Prokofyev VF, Konenkov VI, et al. Association of TLR2, TLR4 and TLR6 gene polymorphisms with SARS-CoV-2 infection in the West Siberian region of Russia. *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2023;13(4):761-78. (In Russ.) Шевченко А. В., Прокофьев В. Ф., Коненков В. И. и др. Ассоциация полиморфизма генов TLR2, TLR4 и TLR6 с инфекцией SARS-CoV-2 в Западно-Сибирском регионе России. *Инфекция и иммунитет.* 2023;13(4):761-78. doi:10.15789/2220-7619-ABT-17871.
7. Samokhina IV, Sagakyants AB. Work within the COVID-19 pandemic — the experience of the biobank of the National Medical Research Center of Oncology. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2020;19(6):2741. (In Russ.) Самохина И. В., Сагакянц А. Б. Работа в условиях пандемии COVID-19 — опыт биобанка ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020;19(6):2741. doi:10.15829/1728-8800-2020-2741.
8. Zhang Q, Bastard P, Liu Z, et al. Inborn errors of type I IFN immunity in patients with life-threatening COVID-19. *Science.* 2020;370(6515):eabd4570. doi:10.1126/science.abd4570.
9. Silverman JD, Hupert N, Washburne AD. Using influenza surveillance networks to estimate state-specific prevalence of SARS-CoV-2 in the United States. *Sci Transl Med.* 2020;12(554):eabc1126. doi:10.1126/scitranslmed.abc1126.
10. Glotov OS, Chernov AN, Shcherbak SG, Baranov VS. Genetic risk factors for the development of COVID-19 infection. *Genetika.* 2021;57(8):871-86. (In Russ.) Глотов О. С., Чернов А. Н., Щербак С. Г., Баранов В. С. Генетические факторы риска развития коронавирусной инфекции COVID-19. *Генетика.* 2021;57(8):871-86. doi:10.1134/S1022795421080056.
11. Alseoudy MM, Elgamel M, Abdelghany DA, et al. Prognostic impact of toll-like receptors gene polymorphism on outcome of COVID-19 pneumonia. *Front Genet.* 2022;13:660428. doi:10.1016/j.clim.2022.108929.
12. Verma A, Minnier J, Wan ES, et al. A *MUC5B* Gene Polymorphism, rs35705950-T, Confers Protective Effects Against COVID-19 Hospitalization but Not Severe Disease or Mortality. *Am J Respir Crit Care Med.* 2022;206(10):1220-9. doi:10.1164/rccm.202109-2166OC.
13. Fadista J, Kraven LM, Karjalainen J, et al. Shared genetic etiology between idiopathic pulmonary fibrosis and COVID-19 severity. *EBioMedicine.* 2021;65:103277. doi:10.1016/j.ebiom.2021.103277.
14. Yetkin NA, Kiraz A, Baran Ketencöglü B, et al. Are *MUC5B* and *TERT* mutations genetic risk factors for pulmonary fibrosis in individuals with severe COVID-19? *Tuberk Toraks.* 2023;71(1):34-40. doi:10.5578/tt.20239905.
15. Al-Tamimi ZHD, Alta'ee AH, Jasim AH. Effect of Toll-Like Receptor 7 Gene Polymorphism and ABO Blood Groups on the Severity of COVID-19 Patients. *Acta Inform Med.* 2022;30(3):191-5. doi:10.5455/aim.2022.30.191-195.
16. Abramova ND, Soshchenko TD, Meremyanina EA, et al. Expression of innate immunity receptors TLR3 and TLR7 in the mucous membranes of the upper respiratory tract in patients with severe COVID-19. *Therapy.* 2023;9(2):7-13. (In Russ.) Абрамова Н. Д., Сощенко Т. Д., Меремьянина Е. А. и др. Экспрессия ре-

- цепторов врожденного иммунитета TLR3 и TLR7 на уровне слизистых оболочек верхних дыхательных путей у пациентов с тяжелой формой COVID-19. *Терапия*. 2023;9(2):7-13. doi:10.18565/therapy.2023.2.7.
17. García-Carmona S, Falfán-Valencia R, Verónica-Aguilar A, et al. COVID-19 Survivor Patients Carrying the Rs35705950 Risk Allele in MUC5B Have Higher Plasma Levels of Mucin 5B. *Curr Issues Mol Biol*. 2022;44(8):3283-90. doi:10.3390/cimb44080226.
 18. Jiang Z, Mak TW, Sen G, Li X. Toll-like receptor 3-mediated activation of NF- κ B and IRF3 diverges at Toll-IL-1 receptor domain-containing adapter inducing IFN- β . *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101(10):3533-8. doi:10.1073/pnas.0308496101.
 19. Ghosh A, Saginc G, Leow SC, et al. Telomerase directly regulates NF- κ B-dependent transcription. *Nat Cell Biol*. 2012;14(12):1270-81. doi:10.1038/ncb2621.
 20. Ding D, Xi P, Zhou J, et al. Human telomerase reverse transcriptase regulates MMP expression independently of telomerase activity via NF- κ B-dependent transcription. *FASEB J*. 2013;27(11):4375-83. doi:10.1096/fj.13-230904.
 21. Mao J, Zhang Q, Wang Y, et al. TERT activates endogenous retroviruses to promote an immunosuppressive tumour microenvironment. *EMBO Rep*. 2022;23:e52984. doi:10.15252/embr.202152984.
 22. Negrini S, De Palma R, Filaci G, et al. Anti-cancer immunotherapies targeting telomerase. *Cancers (Basel)*. 2020;12(8):2260. doi:10.3390/cancers12082260.
 23. Zareian N, Eremin O, Pandha H, et al. A phase 1 trial of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) vaccination combined with therapeutic strategies to control immune-suppressor mechanisms. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2024;249:10021. doi:10.3389/ebm.2024.10021.
 24. Bernhardt SL, Buanes T, Stenmark MH, et al. Telomerase peptide vaccination of patients with non-resectable pancreatic cancer: a dose escalating phase I/II study. *Br J Cancer*. 2006;95(11):1474-82. doi:10.1038/sj.bjc.6603437.

Мониторинг активности специфических антител к возбудителям инфекционных заболеваний по материалам биобанка

Ноздрачева А. В., Семенов Т. А., Ермакова Т. В., Ковтун Л. О.

ФГБУ "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи"
Минздрава России. Москва, Россия

Цель. Изучить влияние температурных режимов хранения (-20 и -70 °С) и длительности экспозиции (6 мес. и 6 лет) на сохранность и стабильность специфических антител класса IgG к HBs-антигену вируса гепатита В (анти-HBs IgG) в образцах сывороток крови, хранящихся в биобанке.

Материал и методы. Проведено экспериментальное исследование 180 образцов сыворотки крови. Уровень анти-HBs IgG определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем ЗАО "Вектор-Бест" (Россия) в нативных образцах и после хранения в соответствии с двумя сценариями: 1) хранение при -20 и -70 °С в течение 6 мес.; 2) хранение при -70 °С в течение 6 мес. и 6 лет. Статистический анализ проводили с использованием непараметрических методов (критерий Уилкоксона, медиана, интерквартильный размах, коэффициент корреляции Спирмена).

Результаты. В исследовании по первому сценарию установлено, что хранение при -20 °С в течение 6 мес. привело к почти 2-кратному увеличению медианного уровня анти-HBs IgG (с 35,5 (7,8-76,8) до 65,3 (26,0-105,0) МЕ/мл) и появлению 9 ложноположительных результатов. В исследовании по второму сценарию хранение при -70 °С в течение 6 мес. сопровождалось незначительным снижением уровня антител (с 72,5 (27,9-132,0) до 49,3 (4,0-98,4) МЕ/мл) без ложных результатов, а после 6 лет хранения при -70 °С отмечено дальнейшее их снижение до 33,3 (6,15-88,4) МЕ/мл, 2 образца стали ложноотрицательными. Выявлена сильная корреляция между уровнем антител в нативных образцах и после хранения ($p=0,97-0,99$; $p<0,05$).

Заключение. Долгосрочное (до 6 лет) хранение образцов сыворотки крови при температуре -70 °С является надежным и не вносит кри-

тических искажений в результаты популяционных серологических исследований распространенности анти-HBs IgG. Хранение при -20 °С допустимо лишь краткосрочно, т.к. уже через 6 мес. приводит к появлению ложноположительных результатов и завышению среднего уровня антител, что делает его непригодным для биобанкирования.
Ключевые слова: биобанк, хранение образцов сывороток крови, сыворотка крови, антитела, IgG, вирусный гепатит В, анти-HBs IgG, стабильность.

Отношения и деятельность. Работа выполнена при поддержке Государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № 124020100117-9.

Поступила 02/09-2025

Рецензия получена 10/09-2025

Принята к публикации 13/10-2025



Для цитирования: Ноздрачева А. В., Семенов Т. А., Ермакова Т. В., Ковтун Л. О. Мониторинг активности специфических антител к возбудителям инфекционных заболеваний по материалам биобанка. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4573. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4573. EDN: TTPBSD

Monitoring the activity of specific antibodies to pathogens based on biobank materials

Nozdracheva A. V., Semenenko T. A., Ermakova T. V., Kovtun L. O.

Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology. Moscow, Russia

Aim. To study the effect of storage temperatures (-20 and -70 °C) and exposure duration (6 months and 6 years) on the preservation and stability of specific anti-hepatitis B virus HBs antigen IgG antibodies (anti-HBs IgG) in serum samples stored in a biobank.

Material and methods. An experimental study was conducted on 180 serum samples. Anti-HBs IgG levels were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using Vector-Best test systems (Russia) in native samples and after storage according to two following

scenarios: 1) storage at -20 and -70 °C for 6 months; 2) storage at -70 °C for 6 months and 6 years. Statistical analysis was performed using nonparametric methods (Wilcoxon test, median, interquartile range, Spearman correlation coefficient).

Results. The study using the first scenario found that storage at -20 °C for 6 months led to an almost 2-fold increase in the median anti-HBs IgG level (from 35,5 (7,8-76,8) to 65,3 (26,0-105,0) IU/ml) and 9 false-positive results. In the second scenario study, storage at -70 °C for

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: nozdracheva@gamaleya.org

[Ноздрачева А. В. — к.м.н., с.н.с., зав. лабораторией неспецифической профилактики инфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0002-8521-1741, Семенов Т. А. — д.м.н., профессор, г.н.с. отдела эпидемиологии, ORCID: 0000-0002-6686-9011, Ермакова Т. В. — лаборант-исследователь отдела эпидемиологии, ORCID: 0009-005-9953-1761, Ковтун Л. О. — лаборант-исследователь отдела эпидемиологии, ORCID: 0009-0005-3696-4658].

Адреса организаций авторов: ФГБУ Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н. Ф. Гамалеи Минздрава России, ул. Гамалеи, д. 18, 123098, г. Москва, Россия.
Addresses of the authors' institutions: Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, 18 Gamaleya St., Moscow, 123098, Russia.

6 months was accompanied by a slight decrease in antibody levels (from 72,5 (27,9-132,0) to 49,3 (4,0-98,4) IU/ml) without false positive results. After 6 years of storage at -70 °C, a further decrease to 33,3 (6,15-88,4) IU/ml was noted, with 2 samples becoming false negative. A strong correlation was found between antibody levels in native samples and after storage ($p=0,97-0,99$; $p<0,05$).

Conclusion. Long-term (up to 6 years) storage of serum samples at -70 °C is reliable and does not critically distort the results of population serological studies of anti-HBs IgG prevalence. Storage at -20 °C is only acceptable for short-term storage, as after just 6 months it leads to false-positive results and an overestimation of the average antibody level, making it unsuitable for biobanking.

Keywords: biobank, storage of serum samples, blood serum, antibodies, IgG, viral hepatitis B, anti-HBs IgG, stability.

Relationships and Activities. The work was supported by the State Assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation № 124020100117-9.

Nozdracheva A.V.* ORCID: 0000-0002-8521-1741, Semenenko T.A. ORCID: 0000-0002-6686-9011, Ermakova T.V. ORCID: 0009-005-9953-1761, Kovtun L.O. ORCID: 0009-0005-3696-4658.

*Corresponding author:
nozdracheva@gamaleya.org

Received: 02/09-2025

Revision Received: 10/09-2025

Accepted: 13/10-2025

For citation: Nozdracheva A.V., Semenenko T.A., Ermakova T.V., Kovtun L.O. Monitoring the activity of specific antibodies to pathogens based on biobank materials. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4573. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4573. EDN: TTBPSD

ИФА — иммуноферментный анализ, Ig — иммуноглобулин(-ы), IgG — Ig класса G, анти-HBs IgG — Ig класса G к HBs антигену вирусного гепатита B, ME/мл — международные единицы/миллилитр, cut off — минимальное положительное значение уровня антител, определяемого в образце при проведении ИФА.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Использование материалов банка сывороток крови позволяет проводить широкомасштабные научные исследования в области эпидемиологии инфекционных болезней, в т.ч. изучение популяционного иммунитета.

Что добавляют результаты исследования?

- Установлено, что хранение образцов сывороток крови в течение 6 лет при температуре -70 °C оказало незначительное влияние на уровень иммуноглобулинов IgG, тогда как хранение при температуре -20 °C в течение 6 мес. в значительной степени исказило результаты исследования, привело к появлению ложноположительных образцов и 2-кратному увеличению среднего уровня антител в выборке.
- Показано, что чем выше был уровень антител в образцах при первичном исследовании, тем более он снизился при повторном исследовании, что, однако, не изменило интерпретацию результатов исследования.

Key messages

What is already known about the subject?

- The use of serum bank materials allows for large-scale research in infectious disease epidemiology, including the study of population immunity.

What might this study add?

- Six-year storage of serum samples at -70 °C had an insignificant effect on IgG level, while 6-month storage at -20 °C significantly distorted the study results, leading to the appearance of false-positive samples and a 2-fold increase in the average antibody level in the sample.
- The higher the antibody level in the samples during the initial study, the more it decreased during the repeat study, which, however, did not change the interpretation of the study results.

Введение

Развитие высокотехнологичных методов исследования в области медицины и биологии является триггером стремительного расширения сети биобанков во всем мире. Материалы отдельных коллекций и крупных биобанков стали значимым ресурсом для проведения научных исследований в области как соматической, так и инфекционной патологии. Особым направлением являются популяционные серологические исследования разных аспектов инфекционных заболеваний (от этиологии и патогенеза

отдельных инфекций до восприимчивости населения страны в отношении актуальных возбудителей) [1]. Основным и наиболее доступным для определения маркером встречи человека с инфекционным агентом является выработка специфических антител (иммуноглобулинов, Ig) класса G (IgG). В зависимости от специфики антигена по наличию и уровню указанных антител можно судить о стадии инфекционного процесса, наличию в анамнезе вакцинации и т.д. В связи с этим ключевую роль для обеспечения достоверности таких исследований по материалам

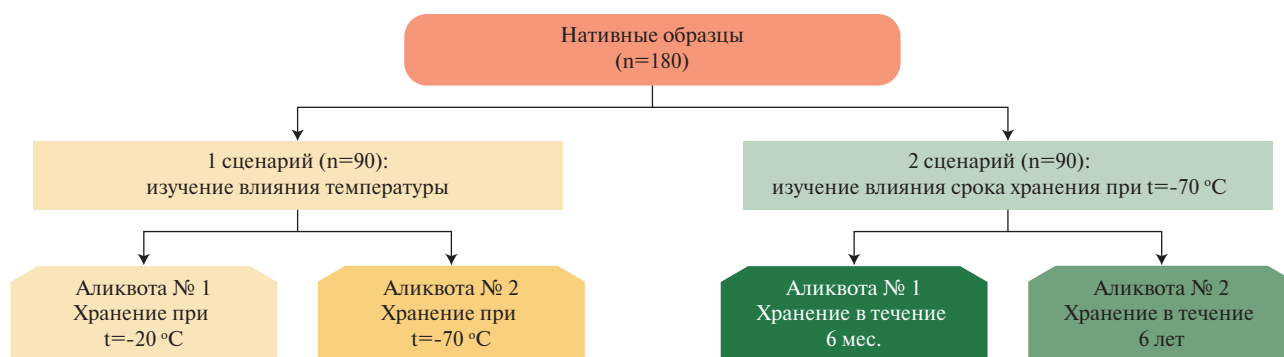


Рис. 1 Схема проведения исследования сохранности anti-HBs-антител.

биобанков играет сохранность антител при низкотемпературном хранении. По данным научной литературы Ig достаточно стабильны при долгосрочном низкотемпературном хранении, однако физические факторы (температура и продолжительность хранения) могут стать причиной искажения результатов исследования [2, 3]. Научные исследования по оптимизации технологического процесса биобанкирования ставят своей целью не только научно обосновать наилучшие условия для обеспечения сохранности антител в биообразцах [4], но и выявить влияние специфики соответствующих антигенов. Температура хранения оказывает значимое влияние на сохранность антител, при этом известно, что предпочтительно использование более низких температур (≤ -70 °C). Тем не менее, в научной литературе имеются данные о том, что температура хранения -20 °C также не оказывает значимого влияния на сохранность специфических антител класса IgG на примере возбудителя бактериальной природы *Leishmania infantum* [5]. В другой работе установлено, что хранение при температуре -20 °C в течение как минимум 15 мес. не оказывает значимого влияния на сохранность антител, специфических к другим бактериальным агентам, таким как гемофильная и пневмококковая инфекции [6].

Исследования стабильности антител, специфичных к антигенам вирусной природы, единичны. Исключением стал COVID-19 (COroNa VIrus Disease 2019), в отношении которого показано, что низкотемпературное хранение сыворотки крови в течение 3 лет [7], а также проведение 16 циклов замораживания/оттаивания биообразцов не приводит к появлению ложноотрицательных результатов [8].

В наших предыдущих работах подробно изложены результаты исследования влияния температуры и длительности хранения образцов сывороток крови в биобанке на сохранность общих антител разных классов [9] и специфических антител IgG в отношении таких вирусных инфекций, как корь и краснуха [10].

Настоящая работа посвящена изучению стабильности антител IgG к HBs-антигену (анти-HBs

IgG), являющихся ключевым серологическим маркером наличия поствакцинального или постинфекционного иммунитета к гепатиту В. Выбор данного показателя обусловлен высокой значимостью этой инфекции, которая остаётся одной из ведущих причин тяжёлых хронических заболеваний печени, включая цирроз и гепатоцеллюлярную карциному [11-13]. Массовая вакцинация, включённая в национальные календари прививок большинства стран, а также противовирусная терапия изменили структуру циркулирующих вариантов вируса, способствуя селекции мутантных форм, которые могут оставаться недетектируемыми с помощью традиционных методов иммунодиагностики HBsAg и обладать сниженной чувствительностью к поствакцинальному иммунитету [14, 15]. Дополнительно в группах лиц с иммунодефицитными состояниями или тяжёлым преморбидным фоном формирование и долговременная сохранность антительного ответа также могут быть ограничены [16-18]. В этих условиях особое значение приобретает систематический мониторинг напряжённости популяционного иммунитета к гепатиту В с помощью определения протективного уровня анти-HBs IgG в сыворотках крови [19, 20] из постоянно пополняемой коллекции биобанка.

Цель исследования — изучить влияние температурных режимов хранения (-20 и -70 °C) и длительности экспозиции (6 мес. и 6 лет) на сохранность и стабильность специфических антител класса IgG к HBs-антигену вируса гепатита В в образцах сывороток крови, хранящихся в биобанке.

Материал и методы

Для проведения исследования использованы образцы сыворотки крови от условно здоровых лиц в возрасте от 18 до 55 лет (47% мужчин, 53% женщин) из коллекции биобанка научно-исследовательского учреждения. Аликвоты образцов сывороток крови хранили в криопробирках (Axugen Scientific, USA) с завинчивающимися крышками, при низких температурах (-20 °C; -70 °C) в морозильных камерах (производство (модель Ultra Low, Sanyo, Япония). Все указанные камеры имеют датчики температуры, значение которой выведено на табло передней па-

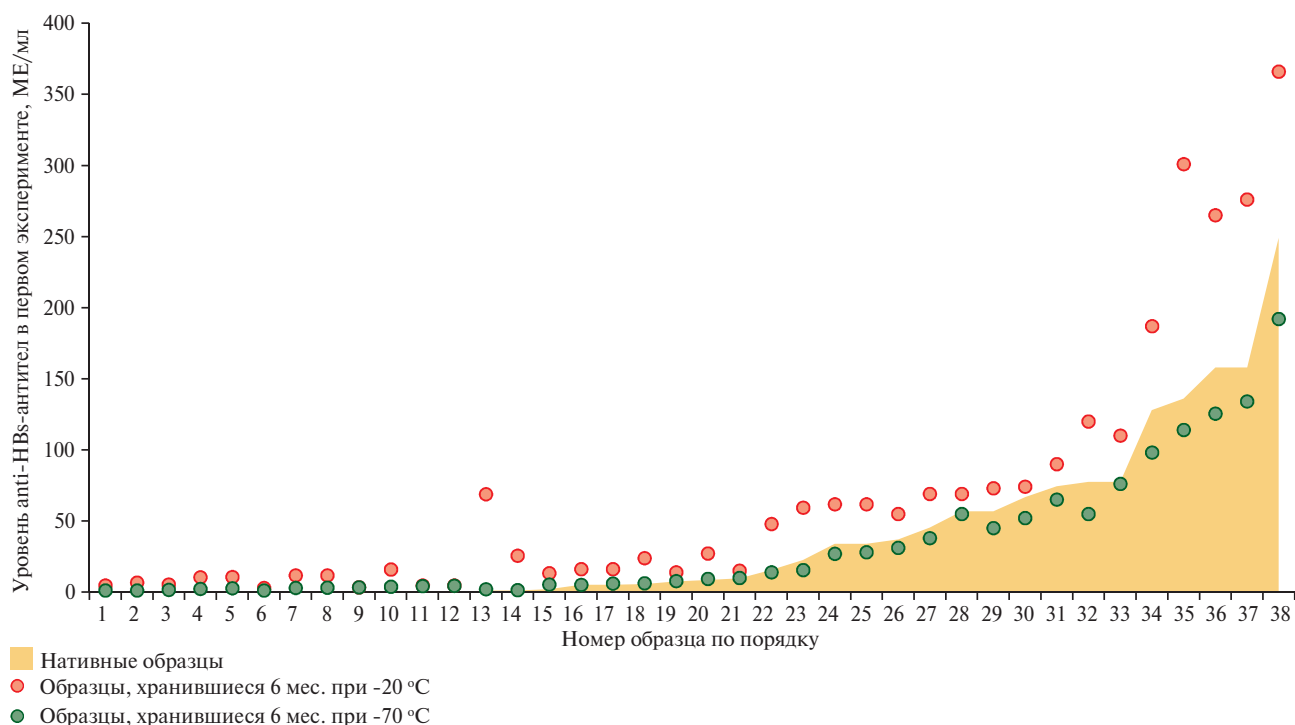


Рис. 2 Результаты исследования по первому сценарию. Распределение уровня anti-HBs IgG в нативных образцах (синяя область) по сравнению с соответствующими значениями в образцах, хранившихся 6 мес. при температуре -20°C и -70°C (образцы упорядочены в соответствии с уровнем антител в нативных аликвотах от меньшего к большему).

Примечание: на рисунке представлены образцы, в которых в первом эксперименте были обнаружены антитела, образцы, в которых антитела в трех исследованиях отсутствовали, не представлены. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

нели. Контроль режима хранения образцов осуществляли сотрудники лаборатории в ежедневном режиме, что отражено в соответствующей внутренней документации.

Образцы сывороток крови ($n=180$) были исследованы сразу после поступления в лабораторию (нативные образцы) и по завершении хранения в разных температурных и временных условиях в соответствии с двумя сценариями исследования (в каждом из них использовали по 90 образцов). Первый сценарий предполагал исследование двух аликвот образцов, после их хранения в течение 6 мес. в двух температурных режимах: при температуре -20°C (первая аликвота) и -70°C (вторая аликвота). Второй сценарий исследования предполагал исследование образцов после хранения при температуре -70°C за два разных по продолжительности периода хранения: 6 мес. (первая аликвота), 6 лет (вторая аликвота) (рисунок 1).

Повторные циклы замораживания/оттаивания образцов были исключены, т.к. для проведения работы использованы разные аликвоты. Размораживание биообразцов проводили в несколько этапов — последовательное выдерживание в температурных интервалах: 1) от -20 до -22°C (сут.); 2) от $+4$ до $+6^{\circ}\text{C}$ (сут.); 3) от $+19$ до $+21^{\circ}\text{C}$ (2 ч).

Определение уровня иммуноглобулинов класса IgG к HBs-Ag вируса гепатита В в образцах сыворотки крови в каждом опыте осуществляли одновременно методом твердофазного непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием соответствующих тест-систем (разных лотов) производства ЗАО "Вектор-Бест" (Россия) в пределах срока годности. Постановку ИФА в двух сценариях исследования осуществлял один и тот же сотрудник.

Проведение работы одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 2 от 4 февраля 2016г).

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью программ Microsoft Excel и STATISTICA 12.0. Уровни значимости α и β установлены равными 5% (т.е. значение $p<0,05$, рассматривается как значимое, а анализ имел 95%-ю мощность). Для статистического анализа полученных значений уровня антител на каждом этапе исследования было оценено распределение исследуемых величин. С помощью критерия Шапиро-Уилка установлено несоответствие распределения уровней антител нормальному закону (распределению Гаусса), в связи с чем использованы непараметрические методы описательной статистики с расчетом медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q25-Q75). Сравнение групп проводили при помощи критерия Уилкоксона (T). Если $T<T_{кр}$, где $T_{кр}$ — табличное значение, зависящее от объема выборки, то различия были статистически значимыми при $p<0,05$. Для оценки корреляционной связи использовали коэффициент корреляции Спирмена (ρ).

Результаты

Первый сценарий исследования

При исследовании нативных образцов сывороток крови в рамках первого сценария исследования ($n=90$) установлено, что в 62 из них не были выявлены антитела к HBs-Ag. При повторном исследовании по истечении 6 мес. хранения в обоих температурных режимах в 12 из них были выявлены

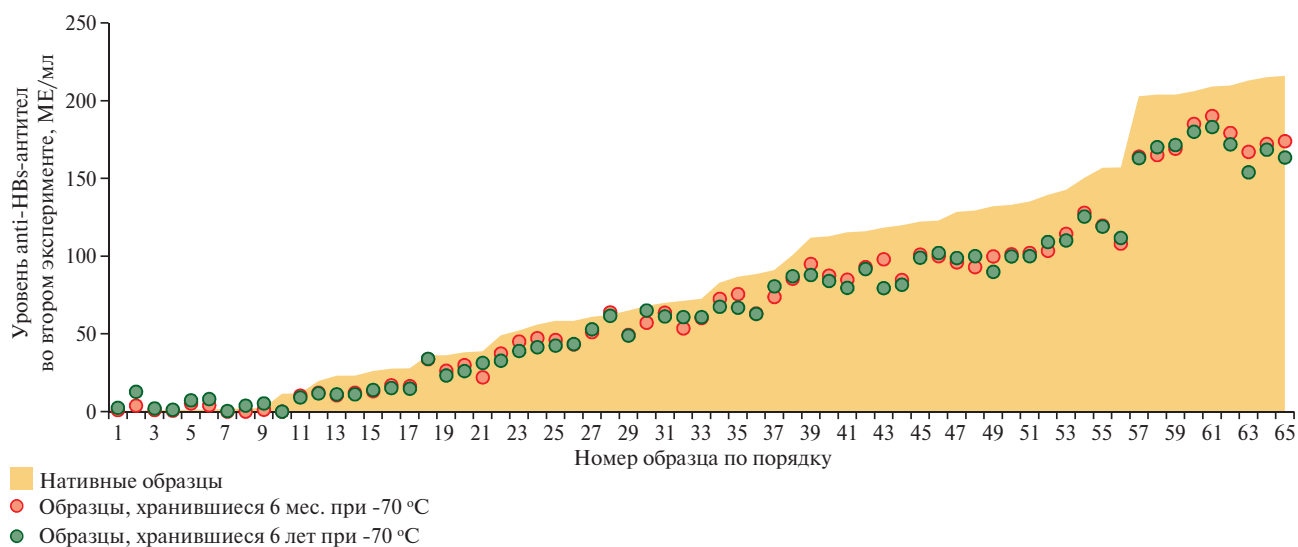


Рис. 3 Результаты исследования по второму сценарию. Распределение уровня anti-HBs IgG в нативных образцах (синяя область) по сравнению с соответствующими значениями в образцах, хранившихся 6 мес. и 6 лет при температуре -70 °C (образцы упорядочены в соответствии с уровнем антител в нативных аликвотах от меньшего к большему).

Примечание: на рисунке представлены образцы, в которых во втором эксперименте были обнаружены антитела, образцы, в которых антитела в трех исследованиях отсутствовали, не представлены. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

анти-HBs IgG на уровне ниже минимального положительного значения ($\text{cut off} = 10$ МЕ/мл). В 9 нативных образцах были выявлены антитела на уровне ниже значения cut off , что не изменилось и при повторном исследовании после хранения их при температуре -60 °C. Однако хранение указанных образцов при температуре -20 °C оказало значимое негативное влияние — все 9 образцов стали положительными (т.е., появилось 9 ложноположительных образцов). Средний уровень anti-HBs-антител в нативных образцах составил 35,5 (7,8-76,8) МЕ/мл. Этот показатель несколько снизился после хранения образцов при температуре -60 °C (29,5 (8,08-62,5) МЕ/мл), а при температуре -20 °C — значительно возрос и составил 65,3 (26,0-105,0) МЕ/мл ($T < T_{\text{кр}}$ при $p < 0,05$). Для наглядности полученных результатов образцы были упорядочены по мере увеличения уровня антител в нативных аликвотах, которые представлены на графике в виде закрашенной области, тогда как значения, полученные при повторном исследовании, изображены в виде точек (рисунок 2).

Видно, что уровень антител в образцах, хранившихся при -20 °C, значительно варьировал и всегда превышал значение, полученное для соответствующих нативных аликвот. Тем не менее, между уровнями антител в нативных образцах и уровнем антител после 6 мес. хранения при температурах -20 и -60 °C выявлена корреляционная связь, коэффициент составил $t = 0,97$ при $p < 0,05$ и $t = 0,99$ при $p < 0,05$, соответственно.

Второй сценарий исследования

90 нативных образцов после исследования на anti-HBs IgG были аликвотированы на две аликвоты и заложены на хранение при температуре -60 °C.

Одна из них была разморожена и исследована через 6 мес. хранения, а вторая — через 6 лет хранения. В 25 нативных образцах anti-HBs IgG не были выявлены, в 15 из них появились антитела на уровне, не превышающем значения cut off , по истечении двух периодов хранения. После 6 лет хранения осталось только два образца, в которых антитела не определялись, а в двух образцах уровень антител превысил пограничное значение cut off и они стали положительными.

Медианный уровень anti-HBs- IgG в нативных образцах (исследованных сразу после поступления в лабораторию) составил 72,5 (27,9-132,0) МЕ/мл. Этот показатель снизился после хранения образцов при температуре -60 °C в течение 6 мес. до значения 49,3 (4,0- 98,4) МЕ/мл (различия статистически значимы, $T < T_{\text{кр}}$ при $p < 0,05$), и 6 лет — до 33,3 (6,15-88,4) МЕ/мл (различия статистически значимы, $T < T_{\text{кр}}$ при $p < 0,05$). При этом основной вклад в процесс снижения антител внесли именно первые 6 мес. низкотемпературного хранения.

На рисунке 3 видно, что чем выше был уровень антител в нативных образцах, тем более выраженное его снижение произошло после хранения, что согласуется с данными, полученными нами ранее для других инфекций [9, 10].

Обсуждение

Наряду со многими преимуществами, которые может обеспечить биобанк для проведения исследований с использованием репрезентативных коллекций биообразцов, отвечающих отраслевым и международным стандартам качества, существуют опасения, что длительный период хранения мо-

жет оказать негативное влияние на активность исследуемых маркеров, в т.ч. Ig [21]. Кроме того, для максимального замедления всех биохимических процессов и предотвращения деградации биологических молекул предпочтительным является хранение образцов при очень низкой температуре (от -70 до -196 °С (температура жидкого азота)). Наиболее распространенным для большинства биобанков и отдельных коллекций биообразцов является хранение биоматериала при температуре в пределах от -20 до -90 °С [22]. В связи с этим экспериментальное обоснование допустимости указанной температуры и значительной продолжительности хранения образцов сывороток крови при проведении сероэпидемиологических исследований повышает доверие исследователей к биобанкированию.

Полученные данные согласуются с результатами наших предыдущих исследований [9, 10] и данными других авторов о снижении уровня антител при долгосрочном хранении при температуре -70 °С. Так, в комплексном исследовании Aladawu AI, et al. было показано, что содержание антител, как и других значимых специфических и неспецифических маркеров инфекционного процесса, при хранении сыворотки крови снижается [23]. Однако указанное снижение не приводит к изменению интерпретации результатов и появлению ложноотрицательных результатов. Как и в предыдущих наших работах, в отношении антител к HBs — Ag гепатита В установлено, что наибольшее снижение их уровня происходило в образцах с высоким уровнем в нативных аликвотах. Объяснением этому явлению может служить следующее. В соответствии с данными научной литературы, процесс денатурации антител более выражен в тех образцах, где они имеют низкий уровень. Однако при средних и высоких титрах IgG негативное влияние длительного низкотемпературного хранения минимально [24].

Следует отметить, что наиболее заметное падение среднего уровня антител наблюдалось в первые 6 мес. хранения. В последующий 6-летний период регистрировалось лишь незначительное снижение их содержания. При этом появление двух ложноотрицательных образцов (со значениями, близкими к пограничным) в общей выборке (n=90) не оказывает существенного влияния на результаты популяционных исследований.

Температура хранения -20 °С неблагоприятно отразилась на уровне изучаемых антител, что не

только привело к появлению 9 ложноположительных образцов, но выразилось в 2-кратном увеличении среднего уровня антител в выборке: с 35,5 (7,8-76,8) до 65,3 (26,0-105,0) МЕ/мл. Это, в конечном итоге, может привести к искажению результатов популяционных исследований при использовании материалов биобанка. Тем не менее, это не вполне согласуется с результатами других авторов об отсутствии значимого влияния указанной температуры хранения на стабильность антител [5, 6]. Однако заметим, что приведенные исследования проводились в отношении антител, выработанных в ответ на антиген бактериальной природы, тогда как полученные нами данные характеризуют антитела IgG на вирусные инфекционные агенты.

Ограничения исследования связаны с изучением только одного специфического маркера встречи с возбудителем гепатита В. Для уточнения выявленных зависимостей целесообразно расширение перечня исследуемых маркеров, в т.ч. специфических иммуноглобулинов класса IgM. Кроме того, оптимальным было бы одномоментное исследование образцов сывороток крови на наличие антител к возбудителям бактериальной и вирусной природы.

Заключение

Таким образом, установлено, что использование образцов сывороток крови из биобанков является надёжным инструментом для проведения сероэпидемиологических исследований и обеспечивает достоверность получаемых популяционных данных. Установлено, что хранение образцов при температуре -70 °С в течение 6 лет не оказывает существенного влияния на точность полученных результатов определения уровня анти-HBsAg IgG. В то же время хранение при -20 °С может рассматриваться лишь как краткосрочный вариант: уже через 6 мес. наблюдается удвоение уровня антител и появление ложноположительных результатов. Строгое соблюдение международных и национальных стандартов по условиям хранения биообразцов является необходимым условием обеспечения репрезентативности и достоверности сероэпидемиологических исследований распространённости антител IgG среди населения.

Отношения и деятельность. Работа выполнена при поддержке Государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации № 124020100117-9.

Литература/References

1. Semenenko TA, Akimkin VG. Seroepidemiology in the surveillance of vaccine-preventable diseases. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2018;95(2):87-94. (In Russ.) Семеновко Т.А., Акимкин В.Г. Сероэпидемиологические исследования в системе надзора за вакциноуправляемыми инфекциями.

2. Hörber S, Klein R, Peter A. Effects of Long-Term Storage on Serum Free Light Chain Stability. *Clin Lab*. 2019;65(5). doi:10.7754/Clin.Lab.2018.181107. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2018;95(2):87-94. doi:10.36233/0372-9311-2018-2-87-94.

3. Kozlova VA, Metelskaya VA, Pokrovskaya MS, et al. Stability of serum biochemical markers during standard long-term storage and with a single thawing. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(6):2736. (In Russ.) Козлова В.А., Метельская В.А., Покровская М.С. и др. Изучение стабильности биохимических маркеров при непрерывном длительном хранении сыворотки крови и при однократном размораживании. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(6): 2736. doi:10.15829/1728-8800-2020-2736.
4. Hendriks J, Stals C, Versteilen A, et al. Stability studies of binding and functional anti-vaccine antibodies. *Bioanalysis*. 2014; 6(10):1385-93. doi:10.4155/bio.14.96.
5. Olmeda P, Díaz-Regañón D, Villaescusa A, et al. Evaluating the stability of antibody titres against *Leishmania infantum* determined by IFAT in long-term stored canine frozen samples. *Parasit Vectors*. 2025;18(1):327. doi:10.1186/s13071-025-06982-x.
6. Engelmaier A, Butterweck HA, Weber A. Stability assessment of anti-bacterial antibodies in immunoglobulin G-depleted serum with validated immunoassays. *Immunotherapy*. 2023;15(17): 1459-76. doi:10.2217/imt-2023-0127.
7. Laner-Plamberger S, Siller A, Lauth W, et al. Stable SARS-CoV-2 antibody levels and functionality in serum and COVID-19 convalescent plasma after long-term storage. *Vox Sang*. 2025; 120(8):784-92. doi:10.1111/vox.70059.
8. Shurrab FM, Al-Sadeq DW, Amanullah F, et al. Effect of multiple freeze-thaw cycles on the detection of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies. *J Med Microbiol*. 2021;70(8):001402. doi:10.1099/jmm.0.001402.
9. Nozdracheva AV, Semenenko TA. Assessment of the reliability of serological monitoring results based on biobank materials. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3709. (In Russ.) Ноздрачева А.В., Семенов Т.А. Оценка надежности результатов серологического мониторинга по материалам биобанка. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023; 22(11):3709. doi:10.15829/1728-8800-2023-3709.
10. Nozdracheva AV, Semenenko TA. Influence of long-term storage of blood serum samples in a biobank for population-based sero-epidemiologic studies. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3407. (In Russ.) Ноздрачева А.В., Семенов Т.А. Влияние длительного хранения образцов сывороток крови в условиях биобанка для проведения популяционных серо-эпидемиологических исследований. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3407. doi:10.15829/1728-8800-2022-3407.
11. Akimkin VG, Semenenko TA, Nikitina Gyu, et al. Epidemiology of hepatitis B and C in health care institutions. Moscow. 2013. p. 216. (In Russ.) Акимкин В.Г., Семенов Т.А., Никитина Г.Ю. и др. Эпидемиология гепатитов В и С в лечебно-профилактических учреждениях. Москва, Бионика. 2013. с. 216. ISBN: 978-5-9903962-1-0.
12. Tu T, Douglas MW. Hepatitis B Virus Infection: From Diagnostics to Treatments. *Viruses*. 2020;12(12):1366. doi:10.3390/v12121366.
13. Lin CL, Kao JH. Development of hepatocellular carcinoma in treated and untreated patients with chronic hepatitis B virus infection. *Clin Mol Hepatol*. 2023;29(3):605-22. doi:10.3350/cmh.2022.0342.
14. Qin Y, Liao P. Hepatitis B virus vaccine breakthrough infection: surveillance of S gene mutants of HBV. *Acta Virol*. 2018; 62(2):115-21. doi:10.4149/av_2018_210.
15. Bazhenov AI, Elgort DA, Feldsherova AA, et al. Detection of antibodies to mutant forms of HBsAg in persons immunized against hepatitis B with vaccines of different subtypes. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2011;5(60):49-53. (In Russ.) Баженов А.И., Эльгорт Д.А., Фельдшерова А.А. и др. Выявление антител к мутантным формам HBsAg у лиц, иммунизированных против гепатита В вакцинами разных субтипов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011;5(60):49-53.
16. Connors EE, Panagiotakopoulos L, Hofmeister MG, et al. Screening and Testing for Hepatitis B Virus Infection: CDC Recommendations, 2023. *MMWR Recomm Rep*. 2023;72(1):1-25. doi:10.15585/mmwr.rr7201a1.
17. Kochetova EO, Shamsheva OV, Polesko IV, et al. Features of the formation of specific immunity after vaccination against viral hepatitis B in children and young people. *Lechaschi Vrach*. 2023;26(6):7-15. (In Russ.) Кочетова Е.О., Шамшева О.В., Полеско И.В. и др. Особенности формирования специфического иммунитета после вакцинации против вирусного гепатита В у детей и лиц молодого возраста. *Лечащий врач*. 2023; 26(6):7-15. doi:10.51793/OS.2023.26.6.001.
18. Semenenko TA. Immune response after vaccination against hepatitis B in patients with immunodeficiency. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2011;1(56):51-8. (In Russ.) Семенов Т.А. Иммунный ответ при вакцинации против гепатита В у лиц с иммунодефицитными состояниями. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011;1(56):51-8.
19. Marjani A, Alavian SM, Nassiri Toosi M, et al. Hepatitis B virus infection after immunization: How serious it is? An updated review. *Clin Exp Med*. 2025;25(1):113. doi:10.1007/s10238-025-01645-8.
20. Soloviev DV, Korabelnikova MS, Kudryavtseva EN, et al. Serological monitoring as an indicator of population immunity against hepatitis B in the population of the Russian Federation in 2017–2022. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2024;23(5):24-32. (In Russ.) Соловьев Д.В., Корабельникова М.С., Кудрявцева Е.Н. и др. Серологический мониторинг как индикатор популяционного иммунитета против гепатита В у населения Российской Федерации в 2017–2022гг. *Эпидемиология и Вакцинопрофилактика*. 2024;23(5):24-32. doi:10.31631/2073-3046-2024-23-5-24-32.
21. Cuhadar S, Koseoglu M, AtayA, Dirican A. The effect of storage time and freeze-thaw cycles on the stability of serum samples. *Biochem Med*. 2013;23(1):70-7. doi:10.11613/bm.2013.009.
22. Anisimov SV, Granstrem OK, Meshkov AN, et al. National association of biobanks and biobanking specialists: new community for promoting biobanking ideas and projects in Russia. *Biopreserv Biobank*. 2021;19(1):73-82. doi:10.1089/bio.2020.0049.
23. Aladawy AI, Elnakib M, Fattah MA, et al. Impact of -20 °C cryopreservation on serum factors from schistosomiasis patients at different storage durations: insights into serum bio-banking. *J Parasit Dis*. 2025;49(1):162-72. doi:10.1007/s12639-024-01734-7.
24. Castro AR, Jost HA. Effect of multiple freeze and thaw cycles on the sensitivity of IgG and IgM immunoglobulins in the sera of patients with syphilis. *Sex Transm Dis*. 2013;40(11):8701. doi:10.1097/OLQ.0000000000000036.

Получение клеточных культур из семенников крысы для исследований и разработки биологических лекарственных препаратов для восстановления сперматогенеза

Монакова А. О., Басалова Н. А., Сагарадзе Г. Д., Шарутин И. В., Liang Yingying, Попов В. С., Ефименко А. Ю.

ФГБОУ ВО "Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова". Москва, Россия

Цель. Создание охарактеризованных по фенотипам и функциональной активности коллекций клеток семенников крыс для определения оптимальных условий их использования в моделях оценки специфической активности лекарственных препаратов, направленных на восстановление сперматогенеза.

Материал и методы. Для выделения разных типов клеток из семенников крысы использовали последовательную ферментативную обработку тканей семенников. Иммуноцитохимический анализ выделенных культур клеток проводили на канонические и неканонические маркеры. Измерение уровня секреции тестостерона клетками Лейдига на 2, 4 и 7 день культивирования осуществляли методом иммуоферментного анализа. Разработанная модель для оценки биологической активности лекарственных препаратов на клетках Лейдига была валидирована в соответствии с требованиями Решения Коллегии ЕЭК от 17 июля 2018г № 113.

Результаты. Были получены из семенников крыс и охарактеризованы следующие культуры клеток: клетки Лейдига, экспрессирующие специфические маркеры CYP11A1 и LHR, резидентные мезенхимные стромальные/стволовые клетки, экспрессирующие маркеры CD73, CD90 и PDGFRb, клетки Сертоли, экспрессирующие маркеры inhibin beta B и Sox9, сперматогониальные стволовые клетки, экспрессирующие маркеры GDNFR, c-kit и щелочную фосфатазу, перитубулярные миоидные клетки, экспрессирующие αSMA. Было показано, что клетки Лейдига при выделении в культуру начинали экспрессировать винкулин, а при длительном культивировании и пассировании приобретали маркеры Sox9 и виментин. Также было установлено, что клетки Лейдига в культуре в течение недели резко снижают способность секретировать тестостерон. С учетом этих данных была оптимизирована и валидирована разработанная нами ранее *in vitro* модель оценки специфической активности лекарственных препаратов для восстановления сперматогенеза.

Заключение. Используемые подходы позволяют сформировать охарактеризованные коллекции клеток разного типа, выделенных из семенников лабораторных животных. Однако при выделении из

ткани за счёт потери специфического микроокружения со временем культивирования могут измениться фенотипические и функциональные свойства клеток, что стоит учитывать при создании и дальнейшем использовании клеточных коллекций. Было проведено исследование фенотипа клеток семенников, а также секреторной активности клеток Лейдига. На основании этого разработан метод оценки специфической активности *in vitro* и оптимальная стратегия биобанкирования.

Ключевые слова: клетки Лейдига, мезенхимные стромальные/стволовые клетки, перитубулярные миоидные клетки, клетки Сертоли, сперматогониальные стволовые клетки, специфическая активность, тестостерон, валидация.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 19-75-30007, <https://rscf.ru/project/19-75-30007/> (получение и характеристика клеточных коллекций) и при поддержке государственного задания МГУ им. М. В. Ломоносова (валидация модели для оценки биологической активности лекарственных препаратов на клетках Лейдига).

Поступила 27/08-2025

Рецензия получена 12/09-2025

Принята к публикации 25/09-2025



Для цитирования: Монакова А. О., Басалова Н. А., Сагарадзе Г. Д., Шарутин И. В., Liang Yingying, Попов В. С., Ефименко А. Ю. Получение клеточных культур из семенников крысы для исследований и разработки биологических лекарственных препаратов для восстановления сперматогенеза. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4561. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4561. EDN: ENDXDA

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: efimenkoay@my.msu.ru

[Монакова А. О.* — лаборант-исследователь Центра регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ORCID: 0000-0002-7123-6374, Басалова Н. А. — к.б.н., м.н.с. Центра регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ORCID: 0000-0002-2597-8879, Сагарадзе Г. Д. — к.б.н., м.н.с. Центра регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ORCID: 0000-0003-2551-5118, Шарутин И. В. — зав. отделом физико-химических и биологических методов исследования, Медицинский научно-образовательный институт, ORCID: 0000-0002-6005-4962, Liang Yingying — аспирант кафедры биоинженерии, биологический факультет; Университет МГУ-ППИ, Шэньчжэнь, Китайская народная республика, ORCID: 0009-0006-1864-6557, Попов В. С. — к.б.н., зав. межфакультетской научно-исследовательской лабораторией трансляционной медицины, в.н.с. Центра регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ORCID: 0000-0002-5039-7152, Ефименко А. Ю. — д.м.н., зав. лабораторией репарации и регенерации тканей Центра регенеративной медицины, Медицинский научно-образовательный институт, ORCID: 0000-0002-0696-1369].

Адреса организационных авторов: ФГБОУ ВО "Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова", Ленинские горы, д. 1, Москва, 119991, Россия.
Addresses of the authors' institutions: Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory, 1, Moscow, 119991, Russia.

Obtaining rat testicular cell cultures for research and development of biological drugs for spermatogenesis restoration

Monakova A. O., Basalova N. A., Sagaradze G. D., Sharutin I. V., Liang Yingying, Popov V. S., Efimenko A. Yu.
Lomonosov Moscow State University. Moscow, Russia

Aim. To create rat testicular cell collections characterized by phenotypes and functional activity to determine optimal conditions for their use in models for assessing the specific activity of spermatogenesis restoration drugs.

Material and methods. To isolate different cell types from rat testes, sequential enzymatic treatment of testicular tissue was used. Immunocytochemical analysis of the isolated cell cultures was performed for canonical and non-canonical markers. Testosterone secretion by Leydig cells was measured on days 2, 4, and 7 of culture using enzyme-linked immunosorbent assay. The developed model for assessing the biological activity of drugs in Leydig cells was validated in accordance with the requirements of the Eurasian Economic Commission Decision dated July 17, 2018, № 113.

Results. The following cell cultures were isolated from rat testes and characterized: Leydig cells expressing specific CYP11A1 and LHR markers; resident mesenchymal stromal/stem cells expressing CD73, CD90, and PDGFRb markers; Sertoli cells expressing inhibin beta B and Sox9 markers; spermatogonial stem cells expressing GDNFR, c-kit, and alkaline phosphatase markers; and peritubular myoid cells expressing αSMA. It was shown that Leydig cells, when isolated in culture, began expressing vinculin, and with prolonged cultivation and passaging, they acquired the Sox9 and vimentin markers. In addition, Leydig cells in culture sharply reduced their ability to secrete testosterone within a week. Based on these data, our previously developed *in vitro* model for assessing the specific activity of drugs for spermatogenesis restoration was optimized and validated.

Conclusion. The approaches used enable the formation of characterized collections of different cell types isolated from the testes of laboratory animals. However, when isolated from tissue, due to the loss of a specific microenvironment, the phenotypic and functional properties of the cells may change over time in culture. This should be taken into account when creating and subsequently using cell collections. A study

was conducted on the phenotype of testicular cells, as well as the secretory activity of Leydig cells. Based on this, a method for assessing specific activity *in vitro* and an optimal biobanking strategy were developed.

Keywords: Leydig cells, mesenchymal stromal/stem cells, peritubular myoid cells, Sertoli cells, spermatogonial stem cells, specific activity, testosterone, validation.

Relationships and Activities. This study was supported by grant № 19-75-30007 from the Russian Science Foundation, <https://rscf.ru/project/19-75-30007/> (obtaining and characterizing cell collections) and by a state assignment from Lomonosov Moscow State University (validation of a model for assessing the biological activity of drugs on Leydig cells).

Monakova A.O.* ORCID: 0000-0002-7123-6374, Basalova N.A. ORCID: 0000-0002-2597-8879, Sagaradze G.D. ORCID: 0000-0003-2551-5118, Sharutin I.V. ORCID: 0000-0002-6005-4962, Liang Yingying ORCID: 0009-0006-1864-6557, Popov V.S. ORCID: 0000-0002-5039-7152, Efimenko A.Yu. ORCID: 0000-0002-0696-1369.

*Corresponding author: efimenkoay@my.msu.ru

Received: 27/08-2025

Revision Received: 12/09-2025

Accepted: 25/09-2025

For citation: Monakova A. O., Basalova N. A., Sagaradze G. D., Sharutin I. V., Liang Yingying, Popov V. S., Efimenko A. Yu. Obtaining rat testicular cell cultures for research and development of biological drugs for spermatogenesis restoration. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4561. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4561. EDN: ENDXDA

DMEM — среда Игла, модифицированная Дульбекко, ИФА — иммуноферментный анализ, МСК — мезенхимные стромальные/стволовые клетки, ССК — сперматогониальные стволовые клетки, ФБС — фетальная бычья сыворотка, ФСБ — фосфатно-солевой буфер, ЩФ — щелочная фосфатаза, CYP11A1 — цитохром P450 11A1, LHR — рецептор лютеинизирующего гормона, PDGFRb — рецептор тромбоцитарного фактора роста бета, Sox9 — SRY-related HMG-box 9, GDNFR — рецептор глиального нейротрофического фактора, αSMA — α-гладкомышечный актин.

Введение

В России и мире мужское бесплодие в половине случаев является причиной бесплодия пар, которое по разным оценкам достигает 10-20%. В некоторых случаях мужское бесплодие диагностируется как идиопатическое, и для него не существует эффективной терапии. Зачастую мужское бесплодие связано с повреждением сперматогониальных стволовых клеток (ССК) и их специфического микроокружения — ниши, которая обеспечивает гомеостаз стволовых клеток [1]. Ранее на животных моделях было показано, что мезенхимные стромальные/стволовые клетки (МСК) за счёт секреции комплекса биологически активных молекул — секрета, способны стимулировать восстановление ниши ССК и, как следствие, сперматогенез и фертильность самцов [2-4].

Согласно Решению Совета ЕЭК от 03.11.2016 № 89, основные продукты регенеративной медицины — тканевой и клеточной терапии, а также "бесклеточной терапии", одним из инструментов которой является секретом МСК, относятся к биологическим лекарственным препаратам, поскольку выделяются из биологических источников — тканей человека¹. Изучение механизмов действия биологических препаратов *in vivo* и *in vitro* является необходимым этапом для их трансляции в клиническую практику. Кроме того, для биологических препаратов критическим является разработка методов

¹ Решение Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 89 "Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза".

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Протокол последовательной ферментативной обработки семенников крысы позволяет выделить фракции основных клеток семенника: клетки Лейдига, мезенхимные стромальные клетки, перитубулярные миоидные клетки, клетки Сертоли и сперматогониальные стволовые клетки, специфичные по классическим маркерам.

Что добавляют результаты исследования?

- Использование клеток Лейдига без пассирования позволяет сохранить фенотип и функциональную активность максимально сходными с *in vivo*.
- При заморозке клетки Лейдига сохраняют морфологию, жизнеспособность, уровень секреции тестостерона, а также способность отвечать на регенераторные стимулы.

Key messages

What is already known about the subject?

- A protocol for sequential enzymatic processing of rat testes allows for the isolation of following major testicular cell fractions: Leydig cells, mesenchymal stromal cells, peritubular myoid cells, Sertoli cells, and spermatogonial stem cells, specific for classical markers.

What might this study add?

- Using Leydig cells without passaging allows for the preservation of the phenotype and functional activity as close as possible to *in vivo* ones.
- When frozen, Leydig cells retain their morphology, viability, testosterone secretion levels, and ability to respond to regenerative stimuli.

оценки специфической активности *in vitro*, которая должна отражать или имитировать механизм действия препарата в организме¹. Для этих целей методы должны быть воспроизводимы, чувствительны и специфичны, поэтому рациональным является использование охарактеризованных клеточных линий.

В мире существуют международные банки клеточных коллекций для тестирования биологических препаратов. Например, ATCC (American Type Culture Collection) и ECACC (European Collection of Authenticated Cell Cultures) включают >3000 клеточных линий, используемых для тестирования биологических препаратов для лечения иммунных и онкологических заболеваний, включая возможность оценки цитотоксичности, пролиферативной и рецепторной активности. В частности, в ATCC есть клеточные линии клеток семенника TM3 (мышинные клетки Лейдига) и TM4 (мышинные клетки Сертоли), эти клетки выделены из неполовозрелых самцов возрастом 11-13 дней². В клеточных банках Германии (DSMZ) и Японии (JCRB) есть опухолевые линии клеток, выделенных из семенника человека (например, SUSA и GCT-27) и грызунов (например, LC540 — клетки Лейдига мыши)^{3,4}. Опухолевые тестикулярные линии клеток мыши (F9) встречаются в клеточном банке РФ Института цитологии РАН⁵. Однако использование неполово-

зрелых или опухолевых клеток может являться нерелевантным для изучения процессов, происходящих во взрослом организме ввиду существенных фенотипических и функциональных различий клеток [5]. Таким образом, для изучения сперматогенеза и разработки препаратов для восстановления сперматогенеза, в т.ч. секретома МСК, необходимо создание коллекций клеток семенников из половозрелых животных. Согласно ГОСТ Р ИСО 20387-2021 используемые клеточные культуры должны быть хорошо охарактеризованы по фенотипическим и функциональным признакам⁶.

В то же время, специфические маркеры и секреторная активность, предлагаемые как уникальные для определённой популяции клеток *in vitro*, могут со временем и в зависимости от условий культивирования меняться. С учетом возможных изменений фенотипа и функции клеток в культуре, ключевым является определение допустимого временного диапазона их использования в методах оценки специфической активности *in vitro* и, соответственно, разработки оптимальной стратегии биобанкирования клеточных культур.

Цель работы — создание охарактеризованных по фенотипам и функциональной активности коллекций клеток семенников крыс для определения оптимальных условий их использования в моделях оценки специфической активности лекарственных препаратов, направленных на восстановление сперматогенеза. Для достижения этой цели мы проанализировали фенотип клеток семенников,

² ATCC: The Global Bioresource Center | ATCC. <https://www.atcc.org/>.

³ German Collection of Microorganisms and Cell Cultures. <https://www.dsmz.de/>.

⁴ Japanese Collection of Research Bioresources (JCRB) Cell Bank. <https://cellbank.nibn.go.jp/english>.

⁵ Клеточные линии КККП ИНЦ РАН. <https://incras-ckp.ru/catalog/>.

⁶ ГОСТ Р ИСО 20387 — 2021. Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования.

а также секреторную активность некоторых из них в процессе культивирования.

Материал и методы

Выделение фракций клеток из семенников грызунов.

Семенник состоит из семенных канальцев, которые содержат ССК, клетки Сертоли, перитубулярные миоидные клетки, и интерстициального пространства между ними с клетками Лейдига, стромальными клетками, включая МСК, и иммунными клетками [6]. Оптимизированный нами протокол выделения клеток подразумевает этапы последовательной ферментативной обработки семенника, начиная с внешнего интерстициального слоя, как описано в статьях других авторов [7-9].

Животные. В работе использовали самцов крыс породы Wistar в возрасте 100-120 дней. Животных содержали в стандартных условиях в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях.

Выделение клеток Лейдига и МСК семенника. После эвтаназии у животных забирали семенники и помещали в раствор Хэнкса с 5% смесью антибиотиков (пенициллин-стрептомицин). В чашке Петри снимали белочную оболочку и отделяли крупные сосуды, затем промывали оставшиеся семенные канальцы раствором Хэнкса с 5% антибиотиком 2-3 раза. Затем канальцы переносили в стерильную пробирку, добавляли среду Игла, модифицированную Дульбекко (DMEM), содержащую 2,5 мг/мл трипсина и ДНКазу (дезоксирибонуклеазу) 10 мкг/мл и инкубировали при температуре 34-35 °С в течение 4-10 мин, периодически помешивая до тех пор, пока канальцы не станут рыхлыми. Для ингибирования ферментов добавляли среду DMEM с 10% фетальной бычьей сывороткой (ФБС), аккуратно перемешивали переворачиванием пробирки. Далее оставляли пробирку в вертикальном положении для осаждения канальцев. После оседания канальцев жидкость над канальцами, содержащую интерстициальные клетки, отбирали в новую пробирку. Повторяли пункт отмывки 5 раз. Полученную суспензию интерстициальных клеток центрифугировали 300 g в течение 10 мин и фильтровали через 100 мкм фильтр. Затем суспензию разделяли на градиенте Перколлы с плотностью 60, 34, 26 и 21%. Наслаивали 2 мл суспензии клеток на верхний слой градиента. Центрифугировали при 800 g при 4 °С в течение 20 мин, а затем при 100 g при 4 °С в течение 10 мин, используя медленное ускорение и замедление. Отбирали в отдельную пробирку слой между 21 и 26% градиентами Перколлы, содержащий, в основном, стромальные клетки. Добавляли 20 мл раствора Хэнкса, пипетировали и центрифугировали при 300 g в течение 10 мин для удаления частиц Перколлы. Данный этап промывки повторяли дважды. Конечный осадок ресуспендировали в DMEM-Ф12 с добавлением 10% ФБС и 1× антибиотик пенициллин-стрептомицин.

В отдельную пробирку собирали слой между 30 и 60% градиентами Перколлы, который, в основном, содержал клетки Лейдига. Добавляли 20 мл раствора Хэнкса, пипетировали и центрифугировали при 300 g в течение 10 мин для удаления частиц Перколлы. Последний этап повторяли дважды. Полученный осадок ресуспендировали в среде DMEM-Ф12 с добавлением 2% ФБС. 1× инсулина-

трансферрина-селена и 1× антибиотиком пенициллин-стрептомицин.

Выделение перитубулярных клеток. После отделения интерстициальных клеток в ходе выполнения предыдущего пункта протокола к осадку канальцев добавляли ферментативный раствор: коллагеназа I типа до концентрации 1 мг/мл, гиалуронидаза до концентрации 1 мг/мл и ДНКазу 10 мкг/мл в фосфатно-солевом буфере (ФСБ) и инкубировали при температуре 34-35 °С в течение 10-20 мин, периодически помешивая до тех пор, пока канальцы не станут короче, а края канальцев шероховатыми. Затем ингибировали воздействие ферментов раствором DMEM + 10% ФБС и аккуратно перемешивали. После оседания канальцев в отдельную пробирку отбирали жидкость над канальцами. Повторяли пункты отмывки 5 раз. Полученную суспензию, содержащую преимущественно перитубулярные клетки, центрифугировали при 300 g в течение 10 мин. Полученный осадок ресуспендировали в DMEM-Ф12 с добавлением 10% ФБС и пропускали суспензию 10 раз через иглу размером не <18 G.

Выделение клеток Сертоли и ССК. Канальцы после отмывок после окончания выделения клеток Лейдига перемешали в среду DMEM, содержащую гиалуронидазу до концентрации 1 мг/мл и ДНКазу 10 мкг/мл, и инкубировали при температуре 34-35 °С в течение 5-10 мин, а затем останавливали ферментативную реакцию добавлением DMEM с 10% ФБС и центрифугировали при 300 g в течение 10 мин. Полученный осадок ресуспендировали в среде DMEM/F12 и пропускали суспензию 10 раз через иглу диаметром не <18 G. Затем суспензию фильтровали через фильтр размером 70 мкм, на фильтре предположительно оставалась фракция клеток Сертоли. Культуру клеток Сертоли крысы собирали в среду DMEM/F12, содержащей 2% ФБС и 1× антибиотик пенициллин-стрептомицин.

Через фильтр проходила суспензия ССК, которую собирали в среду DMEM с высоким содержанием глюкозы 4,5 г/л (Gibco), содержащей 1% ФБС, и высаживали на культуральный пластик, покрытый желатином.

Все типы клеток семенника культивировали в специальных условиях с учетом особенностей температурного режима для семенников — 5% CO₂; 35 °С.

Иммуноцитохимический анализ. Исследуемые клетки после выделения высаживали в лунки 96-луночного планшета в состоянии 60-70% конфлюента. Через 48 ч культивирования отбирали питательную среду и промывали культуру раствором ФСБ. Фиксировали клеточную культуру 3,7% раствором забуференного параформальдегида на ФСБ. Для пермеабилзации в случае исследования внутриклеточных белков использовали 0,2% раствор Triton X-100. Блокирование неспецифического связывания вторых антител проводили в течение 1 ч, применяя нормальную 10%-ую сыворотку животного-донора вторых антител (Abscam), приготовленную на 1% растворе бычьего сывороточного альбумина. Для детекции исследуемых мишеней применяли соответствующие антитела:

— маркеры клеток Лейдига: цитохром P450 11A1 (CYP11A1, Bioss, bs-3608R-Biotin), рецептор лютеинизирующего гормона (LHR, Bioss, bs-6431R),

— маркеры МСК: CD73 (abcam, ab175396), CD90 (PA5-80127, Invitrogen),

— маркер стромальных клеток: рецептор тромбоцитарного фактора роста бета (PDGFRb, abcam, ab32570),

— маркеры клеток Сертоли: ингибин бета (inhibin beta B, Bioss, bs-1825R), SRY-related HMG-box 9 (Sox9, abcam, ab185230),

— маркер перитубулярных миоидных клеток: α -гладкомышечный актин (α SMA, Biolegend, 904601),

— маркеры ССК: рецептор глиального нейротрофического фактора (GDNFR, Bioss, bs-0201r), c-kit (bs-0672R), щелочная фосфатаза (ЩФ) (SK-5400),

— иммунотипические контроли: IgG rabbit isotype control (Bioss, bs-0295P-Biotin и Biolegend, 910801), IgG1 mouse (BioLegend, 401402).

Детекцию антител проводили при использовании вторых антител, конъюгированных с флуоресцентной меткой, в течение 1 ч при комнатной температуре в темноте: антитела козла против кролика (Invitrogen, A11034), козла против мыши (Invitrogen, A11001, A11032), streptavidin-Alexa488. Ядра окрашивали раствором DAPI (Sigma). Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Leica DMi8, снабженного камерой Leica DFC 7000 T (Leica Microsystems GmbH), используя репрезентативные поля зрения для получения фотографий.

Окрашивание ССК ЩФ. Фракцию, обогащённую ССК, высаживали в 96-луночный планшет. В качестве среды культивирования использовался ДМЕМ с высоким содержанием глюкозы 4,5 г/л (Gibco), содержащей 1% ФБС. Для оценки пролиферативной активности ССК клетки на 4 день после смены среды были фиксированы 10% формалином и окрашены хромогеном — субстратом ЩФ, т.к. известно, что недифференцированные стволовые клетки отличаются повышенным содержанием ЩФ на их клеточной мембране. Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Leica DMi8, снабженно камерой Leica DFC 7000 T (Leica Microsystems GmbH), используя репрезентативные поля зрения для получения фотографий.

Окрашивание клеток Лейдига липофильным красителем Oil Red. Клетки Лейдига предварительно высаживали в лунки 96-луночного планшета. Через 48 ч культивирования питательную среду удаляли и культуру промывали раствором ФСБ. Фиксировали клеточную культуру 3,7% раствором забуференного параформальдегида на PBS. После этого к клеткам добавляли изопропанол, промывали и добавляли готовый раствор Oil Red (МиниМед) до появления окраски. Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Leica DMi8, снабженного камерой Leica DFC 7000 T (Leica Microsystems GmbH), используя репрезентативные поля зрения для получения фотографий.

Криоконсервация клеток Лейдига. Свежевыделенные клетки Лейдига криоконсервировали в криопробирках стандартной концентрации 1 млн в 1 мл в среде для заморозки 10% ДМСО (диметилсульфоксид) в ФБС.

Оценка секреторной активности клеток Лейдига и модель специфической активности *in vitro*. Клетки Лейдига после выделения (день 0) рассаживали в лунки 48-луночного планшета в среде роста ДМЕМ/Ф12 (Gibco), 1× ITS (ПанЭко) и 2% ФБС (Cytiva). На следующий день после выделения (день 1) все лунки промывали 3 раза раствором Хэнкса по 0,5 мл и проводили смену среды. В лунках группы "контроль 2 дня" клетки ставили на кондиционирование — добавляли среду ДМЕМ с низким содержанием глюкозы 1 г/л без фенолового красного (Gibco). На 2 день собирали среду с лунок группы "контроля 2 дня",

центрифугировали при 300 g в течение 10 мин для осаждения клеточного дебриса. Затем собирали супернатант и закладывали на хранение при температуре -80 °С. Некоторые лунки ставили на кондиционирование (объём образца в одной лунке 0,35 мл), для этого добавляли среду ДМЕМ с низким содержанием глюкозы "контроль 4 дня" или секрета МСК. На 4 день собирали среду с лунок каждой группы, центрифугировали при 300 g в течение 10 мин для осаждения клеточного дебриса.

Аналогичным образом в данном эксперименте на 2 день оставшиеся лунки ставили на кондиционирование и на 7 день собирали среду с последующим центрифугированием для осаждения клеточного дебриса. Затем собирали супернатанты и закладывали на хранение при температуре -80 °С. В полученных образцах после размораживания определяли количество тестостерона методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Валидация аналитической методики. Аналитическая методика определения тестостерона методом ИФА была валидирована в соответствии с требованиями Решения Коллегии ЕЭК от 17.07.2018 № 113. Для этого измерение тестостерона в среде клеток Лейдига с помощью ИФА набора (DVC, Канада) тестировали по критериям: специфичность, линейность, правильность, внутрилабораторная прецизионность⁷.

Получение секрета МСК человека. СК от разных доноров были получены из биобанка Центра регенеративной медицины МНОИ МГУ им. М. В. Ломоносова, который пополняется согласно разрешению институционального локального этического комитета (Этический комитет МНОИ МГУ им. М. В. Ломоносова, IRB00010587) (протокол № 4, дата заседания 04.06.2018), с получением добровольного информированного согласия у всех доноров. Клетки культивировали в среде, поддерживающей рост недифференцированных мезенхимных прогениторов клеток Advance Stem Cell Basal Medium (HyClone) с добавлением 10% Advance Stem Cell Growth Supplement (HyClone) и 100 ед./мл пенициллина/стрептомицина (Gibco). Для получения секрета МСК жировой ткани человека 5 пассажа, достигшие 80% конfluenceности, промывали 3-кратно раствором Хэнкса. Затем в чашки добавляли среду ДМЕМ с низким содержанием глюкозы. Клетки культивировали в течение 7 дней, после чего кондиционированную среду, содержащую компоненты секрета МСК, собирали, очищали от клеточного дебриса путём центрифугирования при температуре 4 °С в течение 10 мин при 300 g, а затем 2000 g в течение 30 мин. Для концентрирования секрета МСК использовали фильтры-концентраторы с размером пор, предназначенным для отсеивания молекул размером <10 кДа "JetSpin" (Jet Bio-Filtration). Секретом МСК помещали в фильтры и откручивали его на фильтрах на скорости 3000 g до уменьшения объёма концентрата в необходимое число раз по сравнению с начальным для дальнейшего использования.

Статистический анализ. Экспериментальные данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (Q25; Q75). Т критерий Стьюдента, U-критерий

⁷ Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 № 113 "Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств".

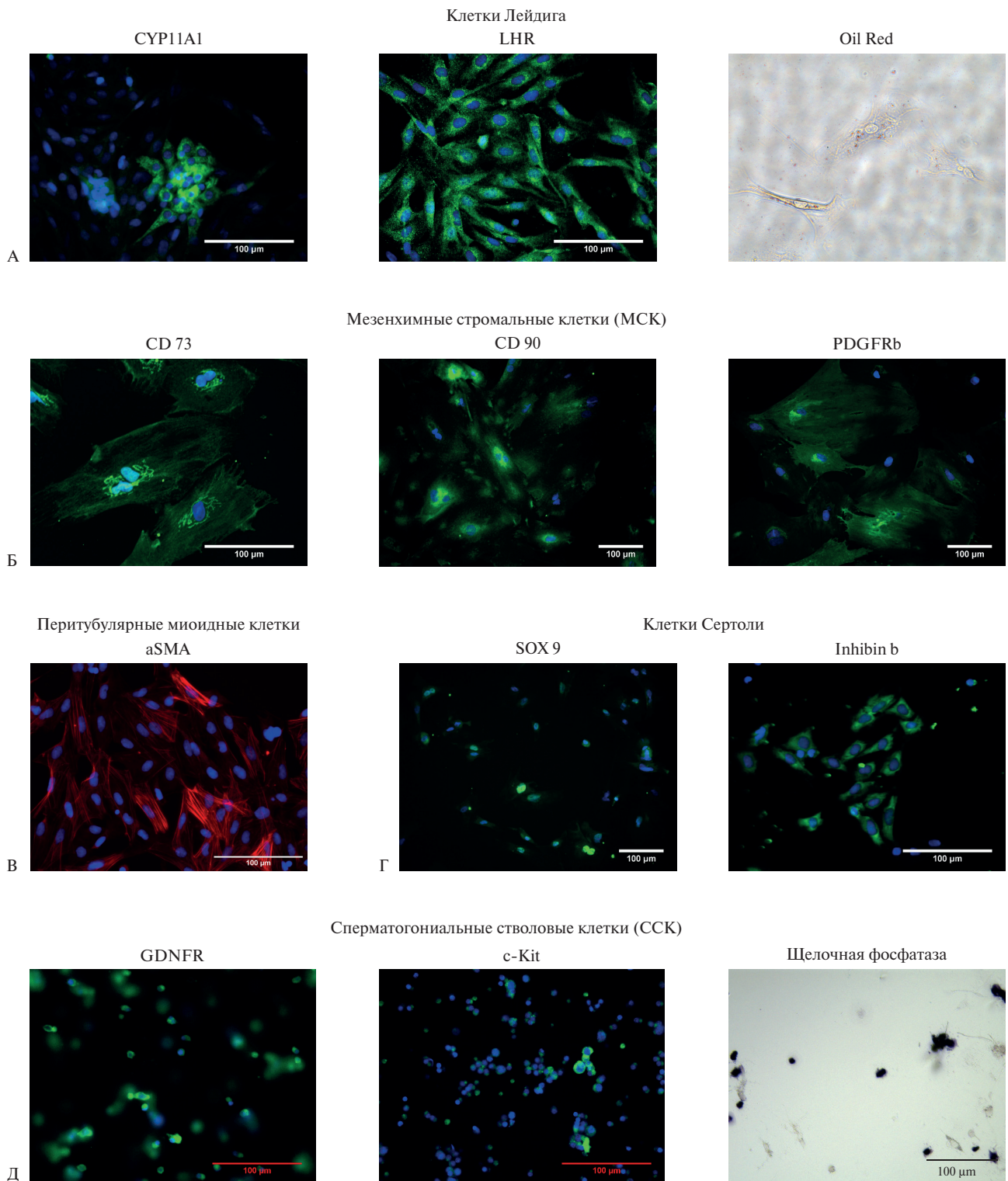


Рис. 1 Иммуноцитохимический анализ выделенных клеточных линий с помощью антител против специфических маркеров клеток семенника. *А* — Клетки Лейдига, меченные антителами против Cyp11A1, LHR (зелёный), липофильным красителем Oil Red (красный). *Б* — МСК, меченные антителами против CD73, CD90, PDGFRb (зелёный). *В* — перитубулярные миоидные клетки, меченные антителами против aSMA (красный). *Г* — клетки Сертоли, меченные антителами против Sox9 (зелёный). *Д* — ССК, меченные антителами против GDNFR, c-kit и окрашенные на активность щелочной фосфатазы (тёмная окраска). Ядра клеток докрашены DAPI (синий).

Примечание: МСК — мезенхимные стромальные/стволовые клетки, ССК — сперматогонияльные стволовые клетки. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

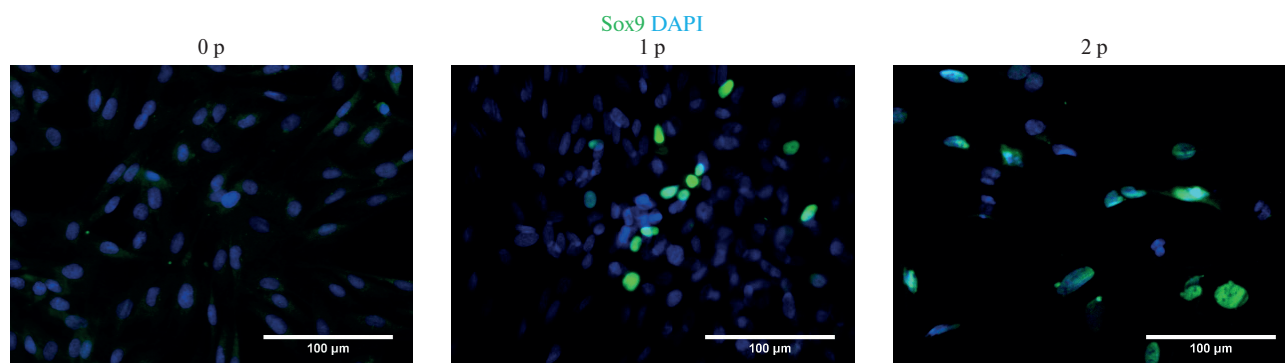


Рис. 2 Иммуноцитохимический анализ экспрессии Sox9 в клетках Лейдига крысы. Репрезентативные фотографии, отражающие присутствие Sox9 положительных клеток Лейдига при нулевом пассаже (0 p), первом пассаже (1 p) и втором пассаже (2 p). Примечание: цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

Манна-Уитни и многопараметрический анализ с использованием критерия Краскела-Уоллиса с применением критерия Данна для учета множественных групп сравнения был выполнен с использованием программного обеспечения Prism GraphPad (GraphPad Software, США), различия результатов считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Характеристика клеточных фракций из семенника по специфическим маркерам

Выделенные фракции клеток из семенников крыс были охарактеризованы по экспрессии специфических маркеров [10-13]. Клетки Лейдига окрашиваются на маркеры Cyp11A1, LHR (рисунок 1 А). Одной из основных функций клеток Лейдига является секреция тестостерона. Цикл синтеза тестостерона начинается в цитоплазме, предшественником является холестерин, который является липофильным веществом и запасается в жировых каплях [14]. Наличие множества небольших жировых капель, окрашиваемых липофильным красителем Oil Red, является специфическим признаком клеток Лейдига. МСК окрашиваются на специфические маркеры CD73, CD90 и PDGFRb, которые являются маркерами стромальных клеток (рисунок 1 Б). Клетки Сертоли имеют маркеры inhibin beta B и Sox9 (рисунок 1 Г), перитубулярные миоидные клетки — α SMA (рисунок 1 В), а ССК окрашиваются на GDNFR, c-kit и ШФ (рисунок 1 Д).

У некоторых животных наблюдали вариабельность в соотношении маркеров одной клеточной культуры. Так, интересно отметить, что на подавляющем большинстве клеток выделенной популяции клеток Лейдига экспрессия специфичного маркера LHR была явно выражена. Однако в этой же клеточной культуре наблюдали только небольшой процент клеток, экспрессирующих специфичный маркер CYP11A1 — фермент, участвующий в катаболизме холестерина и последующем синтезе тестостерона.

Клетки Лейдига могут приобретать неспецифические маркеры при культивировании *in vitro*

Ранее *in vivo* было показано, что при введении секрета МСК животным под белочную оболочку яичка биораспределение происходит преимущественно в интерстиции, большую часть которого занимают клетки Лейдига [4]. В связи с этим в дальнейших экспериментах проводили более подробное изучение фенотипа и функциональной активности клеток Лейдига как возможной первичной мишени для лекарственных препаратов с таким путём введения.

Было показано, что некоторые из проанализированных маркеров могут иметь нехарактерную экспрессию. Так, Sox9 считается уникальным маркером клеток Сертоли в яичках [15]. Действительно, при выделении в культуру на нулевом пассаже только популяция, обогащенная клетками Сертоли, экспрессирует данный маркер в ядре. Однако уже на первом пассаже клетки с ядрами, положительными по Sox9, детектируются и в культуре клеток Лейдига. Представленность таких клеток увеличивается при долговременном культивировании (рисунок 2).

Винкулин и виментин также являются типичными маркерами, используемыми для характеристики клеток Сертоли *in vivo* [16]. Однако по нашим данным винкулин экспрессируется в культуре клеток Лейдига *in vitro* уже в первые дни культивирования. Кроме того, мы показали появление экспрессии виментина в клетках Лейдига *in vitro* к 2 пассажу (рисунок 3).

Выявленный феномен кросс-специфичности следует учитывать при характеристике и стандартизации культур, выделенных из тканей семенника. Также можно сделать вывод о том, что использование клеток Лейдига без пассирования может быть более релевантным с точки зрения сохранения максимально сходными с *in vivo* фенотипом и функциональной активностью.

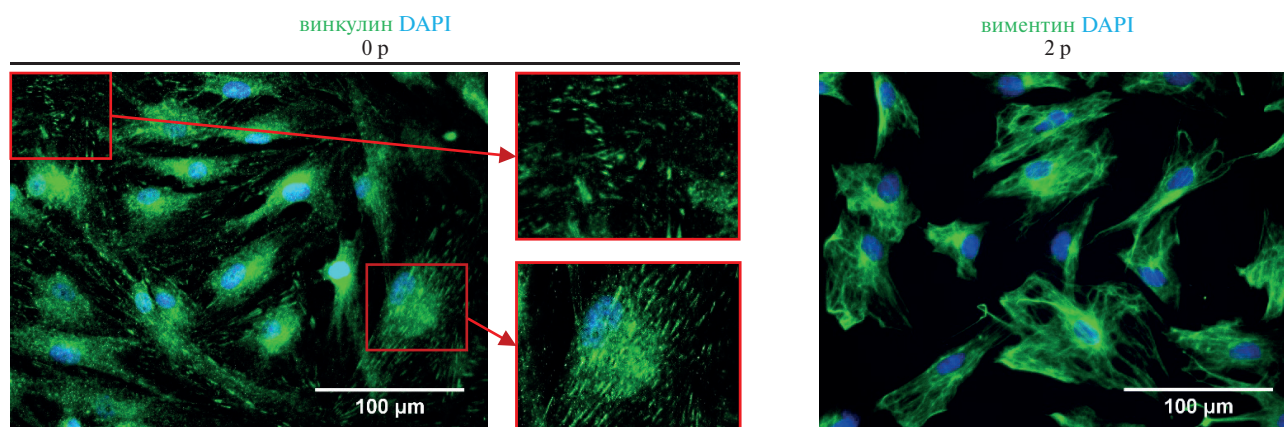
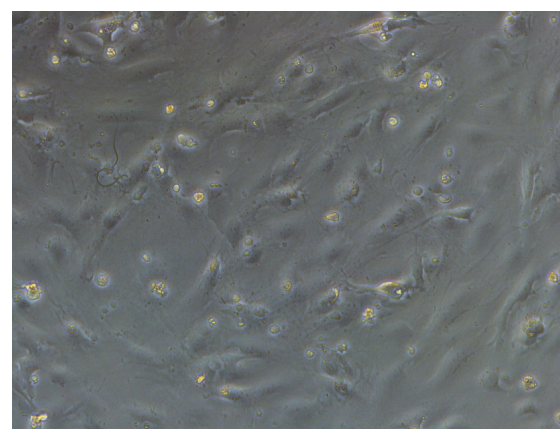
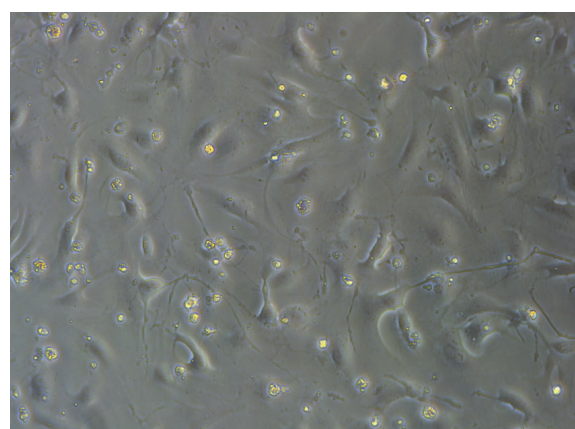
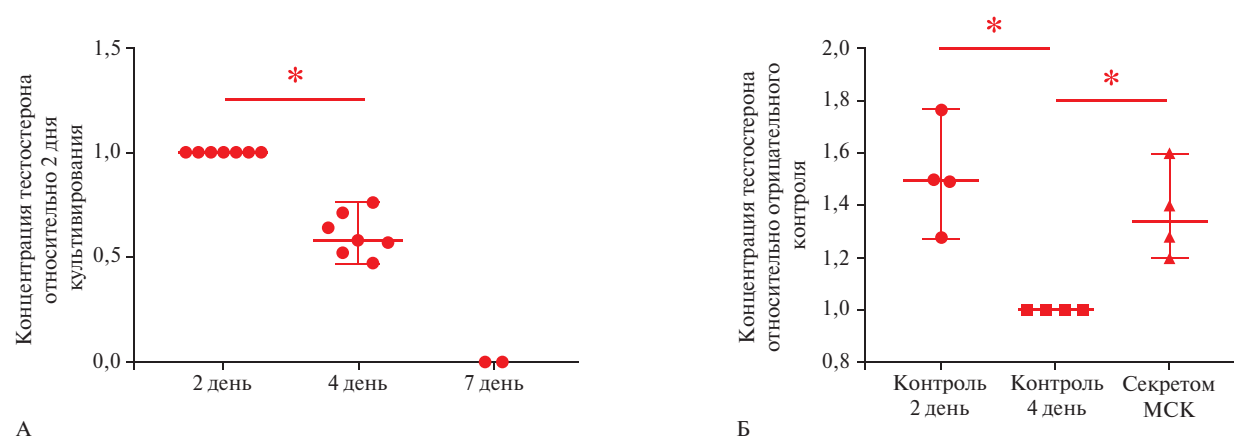


Рис. 3 Иммуноцитохимический анализ экспрессии винкулина и виментина в клетках Лейдига крысы. Репрезентативные фотографии, отражающие присутствие клеток Лейдига, положительных по винкулину, на нулевом пассаже (0 p), по виментину на втором пассаже (2 p).

Примечание: цветное изображение доступно в электронной версии журнала.



В 2 день клетки Лейдига после выделения из ткани

Г 2 день клетки Лейдига после разморозки

Рис. 4 А — Оценка изменения концентрации тестостерона в среде клеток Лейдига на 4 и 7 день после выделения относительно первоначального уровня на 2 день. Данные представлены как Ме (Q25; Q75). * — $p < 0,05$. Б — Модель на размороженных клетках Лейдига для оценки специфической активности *in vitro* препаратов, направленных на восстановление сперматогенеза (относительные значения, концентрация контроля 4 дня принята за единицу). Данные представлены как Ме (Q25; Q75). * — $p < 0,05$. В, Г — Репрезентативные микрофотографии, отражающие морфологию клеток Лейдига на 2 день культивирования после выделения из ткани (В) и размороженных клеток Лейдига на 2 день культивирования после разморозки (Г).

Примечание: цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

Таблица 1

Валидационные характеристики аналитической методики количественного определения тестостерона

	Среднее значение содержания тестостерона, нг/мл	Дисперсия	Коэффициент вариации, %	Доверительная вероятность	Коэффициент Фишера (не >5,05)
1 (n=6)	2,815	0,0125	3,98		
2 (n=6)	2,643	0,0048	2,63	0,95	2,60

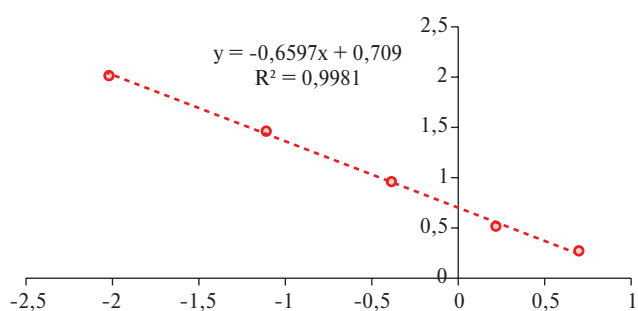


Рис. 5 График зависимости оптической плотности от логарифма концентрации тестостерона.

Уменьшение секреторной активности клеток Лейдига при культивировании *in vitro*

Помимо фенотипического профиля при культивировании изменяется способность клеток Лейдига к секреции тестостерона. Было показано, что на 4 день культивирования уровень секретируемого клетками Лейдига тестостерона в среде значительно снижается. На 7 день культивирования концентрация тестостерона снижается критически, достигая уровня ниже детектируемого методом ИФА (рисунки 4 А, 4 В). Такое резкое снижение продукции тестостерона может быть связано с потерей специфического микроокружения, которое регулирует выработку тестостерона за счёт паракринных и контактных межклеточных взаимодействий. Ранее было показано, что добавление секрета МСК может восстанавливать уровень секреции тестостерона, сопоставимый с первоначальным уровнем на 2 день культивирования. На основании этого была разработана модель специфической активности для оценки лекарственных средств, направленных на восстановление сперматогенеза [4].

Оптимизация и валидация модели для оценки специфической активности терапевтических агентов для восстановления сперматогенеза

Для рутинного контроля качества лекарственных препаратов выделение свежих клеток Лейдига из семенников крыс является нецелесообразным и сложным процессом. Кроме того, теряется большое количество ценного биологического материала. По нашим данным, из семенников одной крысы выделяется несколько десятков млн клеток Лейдига, при этом для одного анализа специфической активности используется, в среднем, несколько млн

клеток. В связи с этим мы протестировали возможность использования для анализа замороженных сразу после выделения клеток Лейдига. При размораживании аликвот клеток Лейдига их жизнеспособность составляет ~70%. При этом сохраняются их морфология, уровень секреции тестостерона, а также способность отвечать на регенераторные стимулы (рисунки 4 Б, 4 Г).

Полученные результаты дают возможность использования клеток Лейдига, выделенных из семенников одного животного, для проведения десятка тестов по изучению специфической активности лекарственных препаратов *in vitro*. Это приводит к уменьшению количества используемых животных и вариабельности результатов между тестами.

При выполнении валидации аналитической методики определения тестостерона методом ИФА установлено, что коэффициент регрессии составляет 0,998 (критерий приемлемости не >0,995), как показано на графике (рисунок 5). Значение коэффициентов вариации результатов представлены в таблице 1 и составляют в полученных двух выборках (n=6) 2,63 и 3,98% при допустимом критерии не >5%. Различия между дисперсиями средних результатов двух выборок определения содержания тестостерона статистически незначимы при расчете F-критерия Фишера.

Таким образом, аналитическая методика определения тестостерона методом ИФА валидирована по критериям: специфичность, линейность, правильность, внутрилабораторная прецизионность, что позволяет использовать её в фармацевтической практике для изучения и контроля качества лекарственных препаратов, направленных на восстановление сперматогенеза.

Обсуждение

Использованные нами подходы позволили последовательно выделить культуры клеток из тканей семенников крыс: клетки Лейдига, резидентные МСК, перитубулярные миоидные клетки, клетки Сертоли и ССК. Для создания клеточных коллекций необходима подробная фенотипическая и функциональная характеристика полученных культур, которая была проведена сразу после выделения культуры клеток. При выделении из органа или ткани клетки теряют специфические сигналы микроокружения, которые сложно полноценно воспроизвести *in vitro*.

Длительное культивирование и пассирование может приводить к изменению состава и соотношения клеточных маркеров и секреторной активности, что было показано в исследовании на клетках Лейдига.

Можно предположить, что нетипичная экспрессия Sox9, винкулина или виментина в культивируемых клетках Лейдига также связана именно с культивированием на культуральной посуде, без покрытия специальным мягким матриксом. Данное предположение коррелирует с данными литературы. Экспрессия Sox9 практически не выявляется в интерстиции и клетках Лейдига *in situ* при ИГХ анализе нормальных тканей [17]. Однако Sox9 выявляется, например, при долговременном культивировании в иммортализованной линии MA-10 Leydig cell, экспрессия виментина показана для иммортализованной линии Leydig cell line TTE1 и при исследовании различных опухолевых патологий [18-20].

Для того чтобы на клеточных моделях получать результаты, максимально релевантные процессам, происходящим в организме, по-видимому, следует использовать клетки непосредственно после выделения из семенников, избегая длительного культивирования и пассирования. Ещё одной стратегией является создание условий микроокружения, наиболее приближенных к нативным. Среди примеров можно выделить использование внеклеточного матрикса для 2D- и 3D-культивирования клеток семенника и модели со-культивирования [21-23]. Отдельной развивающейся областью является по-

лучение для исследований клеточных сфероидов, содержащих разные типы клеток семенника и имитирующих процессы сперматогенеза [24].

Заключение

Клеточные культуры или более сложные структуры на их основе являются основой для изучения механизмов действия *in vitro* и дальнейшей разработки моделей специфической активности биологических лекарственных препаратов. Например, была разработана модель на клетках Лейдига, которая основана на их способности под действием терапевтического агента восстанавливать снижающуюся во время культивирования способность секретировать тестостерон. Возможность криоконсервации клеток Лейдига, с сохранением всех ключевых свойств клеточной линии, позволяет создавать стандартизованные коллекции первичных клеток и облегчает процесс валидации биологической методики для оценки специфической активности.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 19-75-30007, <https://rscf.ru/project/19-75-30007/> (получение и характеристика клеточных коллекций) и при поддержке государственного задания МГУ им. М. В. Ломоносова (валидация модели для оценки биологической активности лекарственных препаратов на клетках Лейдига).

Литература/References

1. Agarwal A, Baskaran S, Parekh N, et al. Male infertility. *Lancet*. 2021;397:319-33. doi:10.1016/S0140-6736(20)32667-2.
2. Sagaradze GD, Grigorieva OA, Efimenko AY, et al. Therapeutic potential of human mesenchymal stromal cells secreted components: a problem with standardization. *Biomed Khim*. 2015; 61(6):750-9. (In Russ.) Сагарадзе Г.Д., Григорьева О.А., Ефименко А.Ю. и др. Терапевтический потенциал секреторных компонентов мезенхимных стромальных клеток человека: проблема стандартизации. *Биомедицинская химия*. 2015; 61(6):750-9. doi:10.18097/PBMC20156106750.
3. Sagaradze G, Basalova N, Kirpatovsky V, et al. A magic kick for regeneration: Role of mesenchymal stromal cell secretome in spermatogonial stem cell niche recovery. *Stem Cell Res Ther*. 2019;10:342. doi:10.1186/s13287-019-1479-3.
4. Monakova A, Sagaradze G, Basalova N, et al. Novel Potency Assay for MSC Secretome-Based Treatment of Idiopathic Male Infertility Employed Leydig Cells and Revealed Vascular Endothelial Growth Factor as a Promising Potency Marker. *Int J Mol Sci*. 2022;23(16):9414. doi:10.3390/ijms23169414.
5. Bhattacharya I, Dey S. Emerging concepts on Leydig cell development in fetal and adult testis. *Front Endocrinol*. 2023;13:1086276. doi:10.3389/fendo.2022.1086276.
6. Sagaradze GD, Basalova NA, Kirpatovsky VI, et al. Application of rat cryptorchidism model for the evaluation of mesenchymal stromal cell secretome regenerative potential. *Biomed Pharmacother*. 2019;109:1428-36. doi:10.1016/j.biopha.2018.10.174.
7. Ge R-S, Dong Q, Sottas CM, et al. In search of rat stem Leydig cells: Identification, isolation, and lineage-specific development. *Proc Natl Acad Sci*. 2006;103:2719-24. doi:10.1073/pnas.0507692103.
8. Anway MD, Folmer J, Wright WW, et al. Isolation of Sertoli Cells from Adult Rat Testes: An Approach to Ex Vivo Studies of Sertoli Cell Function. *Biol Reprod*. 2003;68:996-1002. doi:10.1095/biolreprod.102.008045.
9. Bhushan S, Aslani F, Zhang Z, et al. Isolation of Sertoli Cells and Peritubular Cells from Rat Testes. *J Vis Exp JoV E*. 2016:e53389. doi:10.3791/53389.
10. Kobayashi A, Chang H, Chaboissier M, et al. Sox9 in Testis Determination. *Ann NY Acad Sci*. 2005;1061:9-17. doi:10.1196/annals.1336.003.
11. Chen H, Wang Y, Ge R, et al. Leydig cell stem cells: Identification and differentiation. *Mol Cell Endocrinol*. 2017;445:65-73. doi:10.1016/j.mce.2016.10.010.
12. Eliveld J, Van Den Berg EA, Chikhovskaya JV, et al. Primary human testicular PDGFR α cells are multipotent and can be differentiated into cells with Leydig cell characteristics in vitro. *Hum Reprod*. 2019;34:1621-31. doi:10.1093/humrep/dez131.
13. Holt WV, Waller J, Moore A, et al. Smooth muscle actin and vimentin as markers of testis development in the harbour porpoise (*Phocoena phocoena*). *J Anat*. 2004;205:201-11. doi:10.1111/j.0021-8782.2004.00328.x.
14. Andric SA, Kostic TS. Regulation of Leydig cell steroidogenesis: intriguing network of signaling pathways and mitochondrial

- signalosome. *Curr Opin Endocr Metab Res.* 2019;6:7-20. doi:10.1016/j.coemr.2019.03.001.
15. Hemendinger RA, Gores P, Blacksten L, et al. Identification of a specific Sertoli cell marker, Sox9, for use in transplantation. *Cell Transplant.* 2002;11:499-505.
16. Sluka P, O'Donnell L, Bartles JR, et al. FSH regulates the formation of adherens junctions and ectoplasmic specialisations between rat Sertoli cells in vitro and in vivo. *J Endocrinol.* 2006;189:381-95. doi:10.1677/joe.106634.
17. Banco B, Grilli G, Giudice C, et al. Immunophenotyping of Rabbit Testicular Germ and Sertoli Cells Across Maturational Stages. *J Histochem Cytochem.* 2016;64:715-26. doi:10.1369/0022155416669918.
18. Daigle M, Roumaud P, Martin LJ. Expressions of Sox9, Sox5, and Sox13 transcription factors in mice testis during postnatal development. *Mol Cell Biochem.* 2015;407:209-21. doi:10.1007/s11010-015-2470-7.
19. Ohta S, Tabuchi Y, Yanai N, et al. Establishment of Leydig cells line, TTE1, from transgenic mice harboring temperature-sensitive simian virus 40 large T-antigen gene. *Arch Androl.* 2002;48:43-51. doi:10.1080/014850102753385206.
20. Peters M, Teerds K, Van Der Gaag I, et al. Use of antibodies against LH receptor, 3beta-hydroxysteroid dehydrogenase and vimentin to characterize different types of testicular tumour in dogs. *Reproduction.* 2001;121:287-96. doi:10.1530/rep.0.1210287.
21. Murdock MH, David S, Swinehart IT, et al. Human Testis Extracellular Matrix Enhances Human Spermatogonial Stem Cell Survival *In Vitro.* *Tissue Eng Part A.* 2019;25:663-76. doi:10.1089/ten.tea.2018.0147.
22. Diaz ES, Pellizzari E, Meroni S, et al. Effect of extracellular matrix proteins on in vitro testosterone production by rat Leydig cells. *Mol Reprod Dev.* 2002;61:493-503. doi:10.1002/mrd.10111.
23. Veisi M, Mansouri K, Assadollahi V, et al. Evaluation of co-cultured spermatogonial stem cells encapsulated in alginate hydrogel with Sertoli cells and their transplantation into azoospermic mice. *Zygote.* 2022;30:344-51. doi:10.1017/S0967199421000733.
24. Cham T-C, Ibtisham F, Fayaz MA, et al. Generation of a Highly Biomimetic Organoid, Including Vasculature, Resembling the Native Immature Testis Tissue. *Cells.* 2021;10:1696. doi:10.3390/cells10071696.

Поиск диагностических микроРНК для идентификации опухолей головного мозга на базе низкотемпературного банка плазмы крови

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

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

Цель. Оценить уровень циркулирующих микроРНК (малых некодирующих молекул рибонуклеиновой кислоты), выявленных ранее как дифференциально экспрессирующиеся в NGS (Next Generation Sequencing)-профилях различных типов опухолей головного мозга, с использованием валидационной когорты, сформированной на базе низкотемпературного банка биологических образцов.

Материал и методы. Биоархивирование плазмы крови проводили от пациентов, получавших лечение по поводу опухолей головного мозга на базе ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России в период с апреля 2018г по декабрь 2024г. Методом полимеразной цепной реакции с предварительной обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) был определен уровень 10 микроРНК в образцах плазмы 40 человек. Лица, вошедшие в исследование, были разделены на 5 групп по 8 человек: с диагнозом глиобластома, астроцитомы, олигодендроглиома, доброкачественная менингиома, а также условно-здоровые доноры. В исследуемых группах пациентов было 17 женщин и 15 мужчин, медиана возраста составила 52,5 лет. В контрольной группе: 7 женщин и 1 мужчина, медиана возраста — 53 года.

Результаты. В плазме крови были определены уровни miR-30c-5p, miR-128-3p, miR-186-5p, miR-194-5p, miR-484, miR-19b-3p, miR-431-5p, miR-3168, let-7c-5p, miR-363-3p, отобранных по данным NGS-исследования 58 образцов плазмы крови (Гвалдин, 2024). В итоге, на валидационной когорте было выявлено разнонаправленное изменение экспрессии четырех микроРНК (miR-128-

3p, miR-194-5p, miR-19b-3p, miR-363-3p), обнаруженное в исследуемых группах.

Заключение. Дифференциальная экспрессия циркулирующих miR-128-3p, miR-194-5p, miR-19b-3p, miR-363-3p ассоциирована с онкогенезом опухолей головного мозга и может быть использована для их диагностики.

Ключевые слова: биобанкинг, глиальные опухоли, биомаркеры, микроРНК.

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

Поступила 29/08-2025

Рецензия получена 05/10-2025

Принята к публикации 29/10-2025



Для цитирования: Кит О. И., Тимошкина Н. Н., Омельчук Е. П., Гвалдин Д. Ю., Петрусенко Н. А., Новикова И. А., Росторгуев Э. Е. Поиск диагностических микроРНК для идентификации опухолей головного мозга на базе низкотемпературного банка плазмы крови. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4565. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4565. EDN: PSHXTX

Search for diagnostic microRNAs for brain tumor identification using a low-temperature plasma bank

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

Aim. To assess the level of circulating small non-coding ribonucleic acids (microRNAs), previously identified as differentially expressed in next-generation sequencing (NGS) profiles of various brain tumor types, using a validation cohort formed from a low-temperature plasma bank.

Material and methods. Plasma bioarchiving was performed on patients treated for brain tumors at the National Medical Research Center of Oncology from April 2018 to December 2024. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to determine the levels

of 10 microRNAs in plasma samples from 40 individuals. Participants were divided into five groups of eight individuals as follows: those diagnosed with glioblastoma, astrocytoma, oligodendroglioma, benign meningioma, and healthy controls. The study groups included 17 women and 15 men, with a median age of 52.5 years. The control group included seven women and one man, with a median age of 53 years.

Results. Plasma levels of miR-30c-5p, miR-128-3p, miR-186-5p, miR-194-5p, miR-484, miR-19b-3p, miR-431-5p, miR-3168, let-7c-5p, and miR-363-3p were determined using NGS data from 58 plasma samples

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: ekaterina.omelchuck@yandex.ru

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

Адреса организаций авторов: ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии" Минздрава России, ул. 14-я Линия, 63, Ростов-на-Дону, 344037, Россия.

Addresses of the authors' institutions: National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, 14 liniya str., 63, Rostov-on-Don, 344037, Russia.

(Gvaldin, 2024). The validation cohort revealed differential expression changes for four microRNAs (miR-128-3p, miR-194-5p, miR-19b-3p, and miR-363-3p) across the study groups.

Conclusion. Differential expression of circulating miR-128-3p, miR-194-5p, miR-19b-3p, and miR-363-3p is associated with brain tumor oncogenesis and can be used for their diagnosis.

Keywords: biobanking, glial tumors, biomarkers, microRNA.

Relationships and Activities. This work was carried out within the state assignment from the Russian Ministry of Health (№ 123030200082-9).

Kit O. I. ORCID: 0000-0003-3061-6108, Timoshkina N. N. ORCID: 0000-0001-6358-7361, Omelchuk E. P.* ORCID: 0000-0003-0786-9684, Gvaldin D. Yu. ORCID: 0000-0001-8633-2660, Petrusenko N. A. ORCID:

0000-0001-7919-6111, Novikova I. A. ORCID: 0000-0002-6496-9641, Rostorguev E. E. ORCID: 0000-0003-2937-0470.

*Corresponding author: ekaterina.omelchuck@yandex.ru

Received: 29/08-2025

Revision Received: 05/10-2025

Accepted: 29/10-2025

For citation: Kit O. I., Timoshkina N. N., Omelchuk E. P., Gvaldin D. Yu., Petrusenko N. A., Novikova I. A., Rostorguev E. E. Search for diagnostic microRNAs for brain tumor identification using a low-temperature plasma bank. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11): 4565. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4565. EDN: PSHXTX

микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, ОТ-ПЦР — полимеразная цепная реакция с предварительной обратной транскрипцией, NGS — Next Generation Sequencing (секвенирование нового поколения).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Нейроонкологические биобанки необходимы для развития персонализированной медицины.
- Циркулирующие микроРНК (малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты) являются перспективными неинвазивными маркерами первичных опухолей головного мозга.

Что добавляют результаты исследования?

- Используя материал биобанка образцов плазмы крови пациентов с опухолями головного мозга, провели отбор и валидацию биологических маркеров опухолевого процесса (циркулирующие микроРНК).
- Уровень экспрессии miR-128-3p, miR-194-5p, miR-19b-3p, miR-363-3p достоверно дифференцировал исследуемые и контрольную группы.

Key messages

What is already known about the subject?

- Neuro-oncology biobanks are essential for the development of personalized medicine.
- Circulating small non-coding ribonucleic acids (microRNAs) are promising non-invasive markers of primary brain tumors.

What might this study add?

- Using a biobank of plasma samples from patients with brain tumors, we selected and validated biological markers of the tumor process (circulating microRNAs).
- The expression levels of miR-128-3p, miR-194-5p, miR-19b-3p, and miR-363-3p significantly differentiated the study and control groups.

Введение

Опухоли глиального ряда, и особенно глиомы высокой степени злокачественности, являются чрезвычайно агрессивными и имеют неблагоприятный прогноз [1]. Создание биобанка образцов опухолей головного мозга — это одно из перспективных направлений в нейроонкологии, поскольку он служит основой для прецизионной медицины и длительных проспективных исследований.

Биобанки представляют собой обширные коллекции биологических материалов человека, связанных с соответствующей личной и медицинской информацией, хранящихся для использования преимущественно в медицинских исследованиях. Важными аспектами функционирования биобанка являются: соблюдение принципов биоэтики, конфиденциальность данных, стандартизация процессов отбора и хранения проб, а также контроль качества на каждом этапе [2].

Основным видом биологического материала в биобанках онкологического профиля выступают образцы как свежезамороженных, так и фиксированных в формалине и залитых в парафин тканей. Кроме того, биобанки могут содержать линии опухолевых клеток и образцы биологических жидкостей, представленных, в основном, периферической кровью [2]. За последние годы опубликован ряд исследований [3, 4], в которых биомаркеры глиомы, экстрагируемые из крови больных, использовались для различных целей. Это соответствует развивающейся области так называемых "жидких биопсий". Было обнаружено, что циркулирующие биомаркеры глиом полезны в качестве диагностических (включая маркеры степени дифференцировки опухоли), а также прогностических, предиктивных и мониторинговых инструментов [3, 4]. МикроРНК (малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты) являются одними из наиболее перспективных жид-

Таблица 1

Характеристика групп исследования

Группа	Grade (степень злокачественности опухоли)	Пол (мужчины/женщины)	Возраст, лет, Me (Q25-Q75)
1 Глиобластома, n=8	4	5/3	53 (44-72)
2 Астроцитомы, n=8	2-4	3/5	53 (22-75)
3 Олигодендроглиома, n=8	2-3	2/6	52,5 (38-85)
4 Доброкачественная менингиома, n=8	1	5/3	52,5 (27-73)
Всего пациентов		15/17	52,5 (22-85)
5 Контрольная, n=8	–	1/7	53 (36-56)

Примечание: Me (Q25-Q75) — медиана (интерквартильный размах).

Таблица 2

Последовательности праймеров для ОТ и ПЦР

МикроРНК	Последовательности праймеров для ОТ	Последовательности прямых праймеров для ПЦР	Последовательности обратных праймеров для ПЦР
hsa-miR-19b-3p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACTCAGTT	AACCGGTGTGCAAATCCATG	GTCGTATCCAGTGCAGGGT
hsa-miR-128-3p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACAAAGAG	AACCTCCTCACAGTGAACCG	
hsa-miR-194-5p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACTCCACA	AACGGCTGTAACAGCAACTC	
hsa-miR-363-3p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACTACAGAT	ACACTACGAATTGCACGGTATCC	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCC
hsa-miR-431-5p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACTGCATGA	ACTGCTTGTCTGCAGGCCG	
hsa-miR-484	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACATCGGGA	AGTCGTTTCAGGCTCAGTCCC	
hsa-miR-3168	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACGTCTGAC	AGCCAGCGGAGTTCTACAGTC	
hsa-let-7c-5p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACAACCATTA	CGCGGCATGAGGTAGTAGGT	
hsa-miR-30c-5p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACGCTGAGA	AGCCAGCGTGTAACATCCTAC	
hsa-miR-186-5p	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACAGCCCAA	ATCGTGCGCAAAGAATTCTCCTT	
hsa-miR-16-5p <i>референс</i>	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACCGCCAAT	ACCACCGTAGCAGCACGTAA	
hsa-miR-39-3p <i>референс</i>	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACCAAGCTG	GTGCGGTACCGGGGTGTAAA	
hsa-miR-103a-3p <i>референс</i>	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATT CGCACTGGATACGACTCATAGC	ACCGAGGTAGCAGCATTGTACA	

Примечание: дизайн праймеров осуществляли с применением miRBase v.22 и sRNAPrimerDB. МикроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, ОТ — обратная транскрипция, ПЦР — полимеразная цепная реакция.

костных биомаркеров глиом [1]. К преимуществам циркулирующих микроРНК по сравнению с другими маркерами можно отнести их стабильность во внешних условиях и защищенность от воздействия рибонуклеаз внутри организма, а также доступность биологических жидкостей [4]. В проведенной нами ранее работе методом NGS (Next Generation Sequencing, секвенирования нового поколения) были выявлены уникальные паттерны экспрессии микроРНК в крови пациентов с глиомами разной степени злокачественности [5]. Для этапа валидации данных запланировали сформировать выборки из

биоматериала, депонированного в биобанке образцов плазмы крови, созданном в НМИЦ онкологии Минздрава России, г. Ростов-на-Дону [6]. На момент написания настоящей статьи биобанк включал 1100 проб от 550 человек: по 2 аликвоты плазмы на каждый случай. Самую обширную группу составили первичные опухоли головного мозга (475 человек, 950 проб). В выборке глиальных опухолей преобладали глиобластомы, а доброкачественные опухоли были всего у 85 человек (170 проб). В группу вторичных злокачественных новообразований вошли пациенты с метастазами в головной мозг рака мо-

лочных желез и рака легких (57 человек, 114 проб). Контрольную группу составили 18 лиц без онкопатологии (36 проб).

Цель работы — оценка уровня циркулирующих микроРНК, выявленных ранее как дифференциально экспрессирующиеся в NGS-профилях различных типов опухолей головного мозга, с использованием валидационной когорты, сформированной на базе низкотемпературного банка биологических образцов.

Материал и методы

В настоящую работу включено 8 здоровых доноров без онкопатологии и 32 пациента, которые были разделены на 4 группы по 8 человек в соответствии с Классификацией опухолей центральной нервной системы (5-е издание) Всемирной организации здравоохранения¹. Характеристика групп представлена в таблице 1. Критерии включения для формирования депозитария плазмы крови больных с глиальными опухолями: подписанное информированное согласие на включение в исследование; наличие морфологической верификации диагноза C71.0-C71.9, D33.0-D33.4; возраст ≥ 18 лет; отсутствие специализированного лечения по основному заболеванию. Критерием невключения являлось отсутствие информированного согласия либо его отзыв.

В работе соблюдались этические принципы, предьявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 1964, ред. 2013). Проведение исследования было одобрено этическим комитетом НМИЦ онкологии. От всех участников исследования получено "Информированное согласие на обработку персональных данных и передачу сведений, составляющих врачебную тайну, и на передачу биологического материала".

Процедура биобанкирования образцов, порядок проведения высокопроизводительного секвенирования и отбора целевых микроРНК подробно описаны в предыдущих работах [5-7].

Исследование экспрессии циркулирующих микроРНК осуществляли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с предварительной обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Последовательности праймеров представлены в таблице 2. Статистическую обработку первичных данных проводили согласно рекомендациям, опубликованным в статье Taylor SC, et al. [8]. Уровень экспрессии микроРНК рассчитывали методом $2^{-\Delta\Delta CT}$. Различия в уровнях экспрессии микроРНК при сравнении исследуемых групп оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса и критерия Мана-Уитни-Уилкоксона с поправкой Бонферрони для множественных сравнений в программной вычислительной среде R 4.5.1, пакет "rstatix". При $p < 0,05$ различия считали статистически значимыми.

Результаты

Целевые микроРНК были выбраны на основе проведенных ранее высокопроизводительного

секвенирования, машинного обучения и биоинформационного анализа [5, 7]. Для валидации методом ОТ-ПЦР отобрано 10 дифференциально экспрессирующихся микроРНК: hsa-miR-128-3p, hsa-miR-30c-5p, hsa-miR-194-5p, hsa-miR-186-5p — для глиобластомы, hsa-miR-484 — для астроцитомы, hsa-miR-431-5p, hsa-miR-19b-3p, hsa-miR-3168 — для олигодендроглиомы и hsa-let-7c-5p, hsa-miR-363-3p — для менингиомы. В таблице 3 приведена подробная характеристика экспрессии данных микроРНК в исследуемых и контрольной группах.

При сравнении уровня экспрессии 10 микроРНК во всех пяти группах значимые различия демонстрировали miR-128-3p, miR-194-5p, miR-19b-3p и miR-363-3p (таблица 3). В результате попарного сравнения полученных данных обнаружен более высокий уровень циркулирующих hsa-miR-128-3p (рисунок 1 А) и miR-194-5p ($p=0,022$) (рисунок 1 Б) в группе пациентов с глиобластомой по сравнению с контрольной группой. В целом повышенный уровень этих микроРНК был характерен и для других групп с патологией, однако широкое варьирование показателей экспрессии не позволило достичь статистической значимости на исследованном объеме выборок (рисунок 1 А и Б). Отмечен в 2-2,5 раза более высокий уровень miR-363-3p в плазме крови больных менингиомой (рисунок 1 В), статистически значимыми эти различия были при сравнении с контрольной группой ($p=0,025$) и группой больных олигодендроглиомой ($p=0,028$).

Обсуждение

Создание биобанка представляется особенно важным для изучения опухолей головного мозга вследствие их труднодоступного внутричерепного положения [2]. Жидкостная биопсия является приемлемым вариантом для получения достаточно репрезентативного представления об опухоли, позволяя улучшить понимание гетерогенности опухоли и молекулярных изменений в режиме реального времени [4, 9]. Процедура получения крови менее инвазивна по сравнению с традиционной биопсией. Однако, несмотря на простоту процедуры получения крови, требуется стандартизация сбора биологических жидкостей и выбора анализируемого маркера [9]. Согласно рекомендациям RANO (Response Assessment in Neuro-Oncology) забор крови осуществляется в научных целях в основном для выявления биомаркеров и мониторинга лечения. Кровь должна быть обработана в течение 3 ч и храниться при температуре -80°C [10]. Мы ужесточили требования к отбору и первичной обработке плазмы на основании предыдущих исследований [6].

Изменение уровня экспрессии микроРНК при глиальных опухолях может выступать в качестве

¹ <http://publications.iarc.who.int/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/Central-Nervous-System-Tumours-2021>.

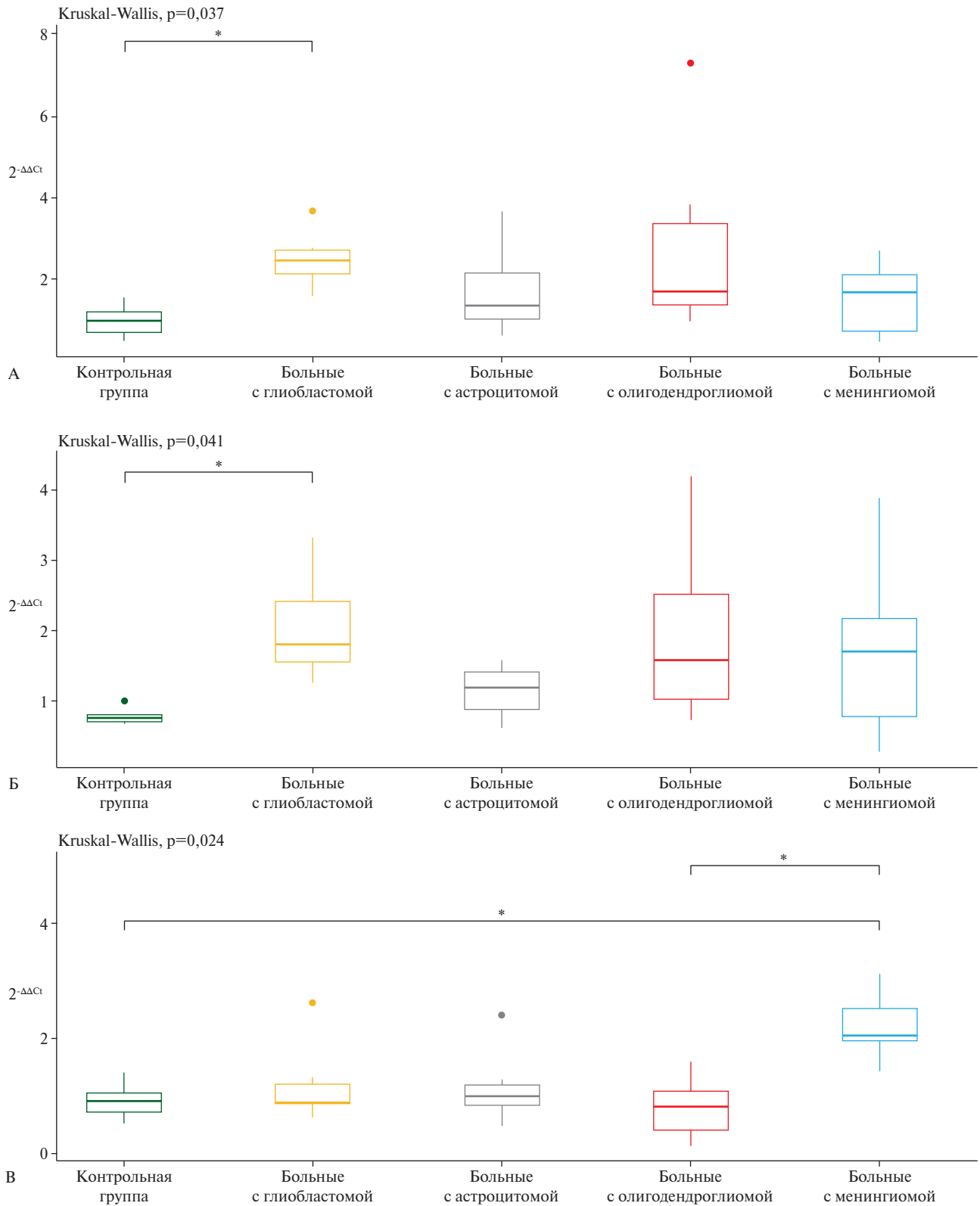


Рис. 1 Уровень экспрессии трёх микроРНК в плазме крови пациентов с опухолями головного мозга (А — hsa-miR-128-3p, Б — hsa-miR-194-5p, В — hsa-miR-363-3p).

Примечание: синий цвет — контрольная группа, желтый цвет — больные с глиобластомой, серый цвет — больные с астроцитомой, красный цвет — больные с олигодендроглиомой, голубой цвет — больные с менингиомой; микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

Таблица 3

Характеристика экспрессии микроРНК в исследуемых группах

МикроРНК	Группа	2 ^{-ΔΔCt} , Ме (Q25-Q75)	Попарные сравнения (U-критерий Манна-Уитни), р с поправкой Бонферрони	Критерий Краскела-Уоллиса, р
miR-30c-5p	контроль	0,994 (0,833-1,24)	–	0,69
	1	1,17 (0,764-2,01)		
	2	1,07 (0,791-1,62)		
	3	0,673 (0,599-1,18)		
	4	1,13 (0,685-1,57)		
miR-128-3p	контроль	0,981 (0,698-1,20)	0,012 (контроль vs группы 1)	0,037
	1	2,46 (2,13-2,71)		
	2	1,34 (1,02-2,14)		
	3	1,70 (1,38-3,35)		
	4	1,70 (0,732-2,12)		
miR-186-5p	контроль	0,692 (0,601-2,01)	–	0,204
	1	0,753 (0,264-1,09)		
	2	1,08 (0,818-1,42)		
	3	0,605 (0,43-0,894)		
	4	0,708 (0,549-0,807)		
miR-194-5p	контроль	0,749 (0,695-0,789)	0,022 (контроль vs группы 1)	0,041
	1	1,80 (1,54-2,41)		
	2	1,18 (0,866-1,40)		
	3	1,57 (1,01-2,52)		
	4	1,70 (0,765-2,17)		
miR-484	контроль	0,956 (0,733-1,02)	–	0,21
	1	1,33 (1,05-1,80)		
	2	1,07 (0,744-1,34)		
	3	0,828 (0,258-1,03)		
	4	1,34 (0,783-1,41)		
miR-19b-3p	контроль	1,02 (0,485-1,90)	–	0,015
	1	3,18 (1,91-4,57)		
	2	2,39 (1,70-4,75)		
	3	3,74 (2,86-5,38)		
	4	1,52 (1,28-2,21)		
miR-431-5p	контроль	0,773 (0,692-1,04)	–	0,297
	1	1,28 (0,614-1,86)		
	2	1,35 (1,06-1,86)		
	3	0,917 (0,705-1,04)		
	4	1,14 (0,883-1,44)		
miR-3168	контроль	1,00 (0,954-1,05)	–	0,252
	1	1,08 (0,624-1,35)		
	2	1,29 (1,05-1,99)		
	3	0,949 (0,583-1,26)		
	4	1,32 (1,02-1,72)		
let-7c-5p	контроль	0,857 (0,774-1,41)	–	0,735
	1	1,75 (0,843-2,41)		
	2	1,16 (0,853-1,69)		
	3	0,641 (0,547-1,33)		
	4	1,16 (0,556-1,87)		
miR-363-3p	контроль	0,917 (0,721-1,05)	0,025 (контроль vs группы 4)	0,024
	1	0,891 (0,86-1,19)		
	2	0,993 (0,845-1,19)	0,028 (группа 3 vs группы 4)	
	3	0,812 (0,407-1,08)		
	4	2,05 (1,95-2,51)		

Примечание: микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, Ме (Q25-Q75) — медиана (интерквартильный размах).

диагностического маркера [3]. На предыдущем этапе исследования были определены полные профили микроРНК в плазме крови пациентов с глиомами, доброкачественными опухолями головного мозга в сравнении с плазмой здоровых людей [5, 7]. В настоящей работе подтверждено достоверное различие в уровнях 4-х из 10 циркулирующих микроРНК (miR-128-3p, miR-194-5p, miR-363-3p и miR-19b-3p), дифференцирующих контрольную группу и группы первичных опухолей головного мозга. Роль вышеперечисленных микроРНК в процессе канцерогенеза неоднократно обсуждалась другими исследователями (таблица 4). В результате анализа литературных данных нами были выделены ключевые процессы онкогенеза глиальных опухолей, которые характеризуются аномальной экспрессией вышеперечисленных микроРНК (рисунок 2).

Изменение уровня экспрессии miR-128-3p может служить маркером как нейродегенеративных, так и злокачественных новообразований, поскольку её функционирование отмечено в клетках, происходящих из нейронной линии. Согласно некоторым исследованиям miR-128-3p является одной из наиболее дефицитных микроРНК при глиобластоме, что указывает на ее роль в патогенезе данного заболевания [11]. Однако в метаанализе Hasani F, et al. показано, что экспрессия циркулирующей miR-128 при глиальных опухолях может как снижаться, так и повышаться [3]. В настоящем исследовании уровень miR-128-3p был статистически значимо в 2,5 раза выше у больных с глиобластомой по сравнению с контрольной группой.

Во многих исследованиях микроРНК семейства miR-192, включая miR-194, предлагаются в качестве диагностических маркеров раковых опухолей. Экспрессия miR-194 изменяется при гепатоцеллюлярной карциноме, немелкоклеточном раке легкого, раке желудка, яичников, груди, почек и других. Также было установлено изменение уровня miR-194 в глиальных опухолях [12]. В настоящей работе выявлено повышение уровня экспрессии miR-194-5p в 2,4 раза в группе пациентов с глиобластомой по сравнению со здоровым контролем.

Доказано, что miR-363-3p играет роль в прогрессировании различных видов рака, таргетируя различные мишени, включая SPOCK2, Dickkopf 3, BTG2, SOX-4 и SphK2. При колоректальном раке, раке легкого и гепатоцеллюлярной карциноме miR-363-3p действует в качестве онкосупрессора. Напротив, при лейкемии, раке желудка и глиоме miR-363-3p выступает как онкоген, способствующий развитию заболевания. Уровень ее экспрессии зачастую повышен при глиоме и напрямую связан со степенью злокачественности [13]. Нами был обнаружен более высокий уровень miR-363-3p в плазме пациентов с диагнозом менингиома в 2,2 раза по сравнению

Таблица 4

Участие miR-128-3p, miR-194-5p, miR-19b-3p, miR-363-3p в процессах онкогенеза глиальных опухолей (анализ литературы)

микроРНК	Процесс	Ссылка на источник
hsa-miR-194	пролиферация	[15, 22, 23]
	апоптоз	
	ангиогенез	
	эпителиально-мезенхимальный переход	[18]
	миграция	[21]
	инвазия	[22]
hsa-miR-363	пролиферация	[23]
	апоптоз	[16]
	эпителиально-мезенхимальный переход	[20]
hsa-miR-19b-3p	пролиферация	[17]
	апоптоз	
miR-128-3p	ангиогенез	[19]

Примечание: микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты.

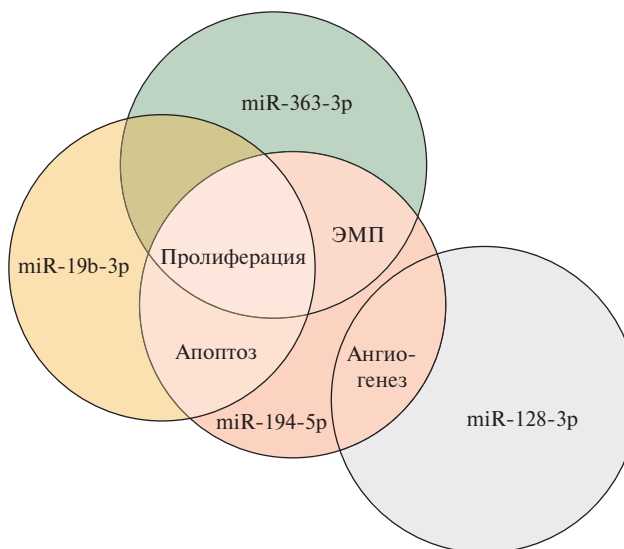


Рис. 2 Общие биологические процессы для miR-128-3p, miR-194-5p, miR-19b-3p и miR-363-3p (согласно литературным данным).

Примечание: ЭМП — эпителиально-мезенхимальный переход. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

с контрольной группой и в 2,5 раза по сравнению с группой пациентов с олигодендроглиомой.

miR-19b относится к кластеру miR-17-92, дисрегуляция которого наблюдается при злокачественных новообразованиях лёгких, молочной железы, толстой кишки, простаты, поджелудочной и щитовидной железы. Подтверждено, что miR-19b является ключевой онкогенной микроРНК в этом кластере. Khayamzadeh M, et al. выявили, что внеклеточные везикулы, содержащие miR-19b, способ-

ны стимулировать прогрессирование глиобластомы [14]. В нашей работе miR-19b-3p показала себя в качестве дифференциального диагностического маркера первичных опухолей головного мозга.

Несмотря на небольшой объем исследуемой выборки, который является основным ограничением настоящей работы, проведенный анализ литературы указывает на вовлеченность выбранных микроРНК в процессы глиоматоза. Следовательно, определение дифференциальной экспрессии miR-128-3p, miR-194-5p, miR-19b-3p, miR-363-3p в крови пациентов с первичными опухолями головного мозга может быть использовано в научных целях и для разработки диагностического теста.

Литература/References

- Omel'chuk EP, Timoshkina NN, Rostorguev EE, et al. Circulating biomarkers of gliomas (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (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.
- 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 = Zhurnal voprosy neurokhirurgii imeni N. N. Burdenko*. 2022;86(6):91-8. (In Russ.) Карандашов И. В., Гольбин Д. А., Горайнов С. А. и др. Принципы биобанкирования и биобанки опухолей нервной системы в мировой практике. *Вопросы нейрохирургии имени Н. Н. Бурденко*. 2022;86(6):91-8. doi:10.17116/neiro20228606191.
- Hasani F, Masrouf M, Jazi K, et al. MicroRNA as a potential diagnostic and prognostic biomarker in brain gliomas: a systematic review and meta-analysis. *Front Neurol*. 2024;15:1357321. doi:10.3389/fneur.2024.1357321.
- Ali H, Harting R, de Vries R, et al. Blood-based biomarkers for glioma in the context of gliomagenesis: a systematic review. *Front Oncol*. 2021;11:665235. doi:10.3389/fonc.2021.665235.
- Gvaldin DYu, Petrusenko NA, Rostorguev EE, et al. Comparative analysis of the profile of circulating microRNAs in the blood plasma of patients with gliomas. *Research and 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. *Research'n Practical Medicine Journal*. 2024;11(2):36-45. doi:10.17709/2410-1893-2024-11-2-3. EDN: LEHTGP.
- Omelchuk EP, Timoshkina NN, Gvaldin DYu, et al. Creation of a plasma collection for the search of diagnostic biomarkers of glial tumors. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024; 23(11):4171. (In Russ.) Омельчук Е. П., Тимошкина Н. Н., Гвалдин Д. Ю. и др. 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.
- Gvaldin DYu, Omelchuk EP, Petrusenko NA, et al. Machine learning models for brain tumors differential diagnosis. *The Russian Journal of Preventive Medicine*. 2025;28(9):87-93. (In Russ.) Гвалдин Д. Ю., Омельчук Е. П., Петрусенко Н. А. и др. Модели машинного обучения для дифференциальной диагностики опухолей головного мозга. *Профилактическая медицина*. 2025;28(9):87-93. doi:10/17116/profmed20252809187.
- Taylor SC, Nadeau K, Abbasi M, et al. The ultimate qPCR experiment: producing publication quality, reproducible data the first time. *Trends Biotechnol*. 2019;37(7):761-74. doi:10.1016/j.tibtech.2018.12.002.
- Soffietti R, Bettgowda C, Mellinghoff IK, et al. Liquid biopsy in gliomas: a RANO review and proposals for clinical applications. *Neuro Oncol*. 2022;24(6):855-71. doi:10.1093/neuonc/noac004.
- Karschnia P, Smits M, Reifenberger 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):e43850. doi:10.1016/S1470-2045(23)00453-9.
- Kiel K, Król SK, Bronisz A, et al. MiR-128-3p—a gray eminence of the human central nervous system. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2024;35(1):102141. doi:10.1016/j.omtn.2024.102141.
- Mishan MA, Tabari MAK, Parnian J, et al. Functional mechanisms of miR-192 family in cancer. *Genes Chromosomes Cancer*. 2020; 59(12):722-35. doi:10.1002/gcc.22889.
- Pourrahimi M, Hesari M, Houshmandpour H, et al. Inducer microRNAs in the glioma development: a concise review of mechanisms and insights into targeted therapy. *J Egypt Natl Canc Inst*. 2025;37(1):55. doi:10.1186/s43046-025-00308-9.
- Khayamzadeh M, Niazi V, Hussen BM, et al. Emerging role of extracellular vesicles in the pathogenesis of glioblastoma. *Metab Brain Dis*. 2023;38(1):177-84. doi:10.1007/s11011-022-01074-6.
- Yang J, Yu D, Liu X, et al. LncRNA PCED1B-AS1 activates the proliferation and restricts the apoptosis of glioma through cooperating with miR-194-5p/PCED1B axis. *J Cell Biochem*. 2020;121(2):1823-33. doi:10.1002/jcb.29417.
- Bi Y, Mao Y, Su Z, et al. Long noncoding RNA HNF1A-AS1 regulates proliferation and apoptosis of glioma through activation of the JNK signaling pathway via miR-363-3p/MAP2K4. *J Cell Physiol*. 2021;236(2):1068-82. doi:10.1002/jcp.29916.
- Li T, Ge H, Yang Q, et al. Oncogenic role of microRNA-19b-3p-mediated SOCS3 in glioma through activation of JAK-STAT pathway. *Metab Brain Dis*. 2023;38(3):945-60. doi:10.1007/s11011-022-01136-9.
- Wang C, Chen Y, Wang Y, et al. Inhibition of COX-2, mPGES-1 and CYP4A by isoliquiritigenin blocks the angiogenic Akt signaling in glioma through ceRNA effect of miR-194-5p and lncRNA NEAT1.

Заключение

Биобанк плазмы крови, созданный на базе ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России, послужил основой для поиска биомаркеров опухолей головного мозга. Уровень экспрессии циркулирующих miR-128-3p, miR-194-5p, miR-363-3p и miR-19b-3p позволил дифференцировать пациентов с первичными опухолями головного мозга различной степени злокачественности от контрольной группы без онкопатологии.

Отношения и деятельность. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (тема № 123030200082-9).

- J Exp Clin Cancer Res. 2019;38(1):371. doi:10.1186/s13046-019-1361-2.
19. Zhao H, Wang Y, Liang C, et al. LncRNA FOXD3-AS1/miR-128-3p axis-mediated IGF2BP3 in glioma stimulates cancer angiogenesis and progression. *Folia Neuropathol.* 2023;61(2):168-84. doi:10.5114/fn.2023.126862.
20. Fan B, Su B, Song G, et al. miR-363-3p induces EMT via the Wnt/ β -catenin pathway in glioma cells by targeting CELF2. *J Cell Mol Med.* 2021;25(22):10418-29. doi:10.1111/jcmm.16970.
21. Zhang X, Wei C, Li J, et al. MicroRNA-194 represses glioma cell epithelial-to-mesenchymal transition by targeting Bmi1. *Oncol Rep.* 2017;37(3):1593-600. doi:10.3892/or.2017.5376.
22. Jing Y, Shang-Guan HC, Cai J, et al. Hsa_circ_0059511 promote glioma cell proliferation and migration through hsa-miR-194-5p/HBEGF axis. *Cancer Cell Int.* 2025;25(1):219. doi:10.1186/s12935-025-03815-w.
23. Jiang G, Dong H, Dong Y, et al. Long non-coding RNA Unigene56159 promotes glioblastoma multiforme cell proliferation and invasion through negatively regulating microRNA-194-5p. *Mol Med Rep.* 2020;21(2):768-76. doi:10.3892/mmr.2019.10852.

Оптимизация протокола приготовления библиотек для секвенирования циркулирующих микроРНК плазмы и сыворотки

Киселева А. В.¹, Сотникова Е. А.¹, Жарикова А. А.^{1,2}, Куценко В. А.¹, Борисова А. Л.¹, Шальнова С. А.¹, Ершова А. И.¹, Мешков А. Н.¹, Драпкина О. М.¹

¹ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России. Москва; ²ФГБОУ ВО "Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова". Москва, Россия

Цель. Оптимизировать протокол приготовления библиотек для секвенирования микроРНК (малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты) на основе коммерческого набора QIAseq miRNA UDI Library Kit для повышения качества получаемых данных.

Материал и методы. Образцы плазмы и сыворотки крови четырех участников исследования были отобраны из коллекции биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России. Выделение рибонуклеиновой кислоты (РНК) проводилось для каждого образца параллельно из 200 и 300 мкл. Из каждого образца РНК с помощью набора QIAseq miRNA UDI Library Kit были приготовлены две библиотеки для секвенирования по двум вариантам протокола производителя: для 1 нг РНК с уменьшенным числом циклов амплификации и для 10 нг РНК. Секвенирование проводилось на NextSeq 550.

Результаты. При сравнении групп образцов, приготовленных с использованием разных версий протокола, статистически значимо различались показатели тегов на млн прочтений (TPM, tags per million reads) на образец по генам человека (версия ENCODE v47) и по генам микроРНК ($p < 0,001$).

Заключение. Показано, что при использовании биообразцов плазмы и сыворотки крови основным параметром, влияющим на более высокие показатели секвенирования микроРНК, является уменьшение количества циклов полимеразной цепной реакции при приготовлении библиотек.

Ключевые слова: микроРНК, малые некодирующие РНК, плазма, сыворотка, секвенирование следующего поколения, оптимизация.

Отношения и деятельность. Государственное задание "Свободно циркулирующие микроРНК плазмы крови как диагностические и прогностические биомаркеры ИБС".

Поступила 25/08-2025

Рецензия получена 22/09-2025

Принята к публикации 23/09-2025



Для цитирования: Киселева А. В., Сотникова Е. А., Жарикова А. А., Куценко В. А., Борисова А. Л., Шальнова С. А., Ершова А. И., Мешков А. Н., Драпкина О. М. Оптимизация протокола приготовления библиотек для секвенирования циркулирующих микроРНК плазмы и сыворотки. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4557. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4557. EDN: DVGAAK

Optimization of a library preparation protocol for sequencing circulating plasma and serum microRNAs

Kiseleva A. V.¹, Sotnikova E. A.¹, Zharikova A. A.^{1,2}, Kutsenko V. A.¹, Borisova A. L.¹, Shalnova S. A.¹, Ershova A. I.¹, Meshkov A. N.¹, Drapkina O. M.¹

¹National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow; ²Lomonosov Moscow State University. Moscow, Russia

Aim. To optimize a library preparation protocol for sequencing small non-coding ribonucleic acids (microRNAs) based on the commercial QIAseq miRNA UDI Library Kit to improve the quality of the obtained data.

Material and methods. Plasma and serum samples from four study participants were collected from the biobank collection of the National Medical Research Center for Therapeutic and Preventive Medicine. Ribonucleic acid (RNA) was isolated for each sample in parallel, using

200 and 300 μ l aliquots. Two sequencing libraries were prepared from each RNA sample using the QIAseq miRNA UDI Library Kit by two manufacturer's protocol versions as follows: one for 1 ng of RNA with a reduced number of amplification cycles and one for 10 ng of RNA. Sequencing was performed on a NextSeq 550.

Results. When comparing groups of samples prepared using different protocol versions, there was a significant difference in the tags

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: sanyutabe@gmail.com

[Киселева А. В.* — к.б.н., руководитель лаборатории молекулярной генетики Института персонализированной терапии и профилактики, в.н.с., ORCID: 0000-0003-4765-8021, Сотникова Е. А. — с.н.с. лаборатории молекулярной генетики Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0002-8395-4146, Жарикова А. А. — к.б.н., в.н.с. лаборатории молекулярной генетики Института персонализированной терапии и профилактики, старший преподаватель факультета биоинженерии и биоинформатики, ORCID: 0000-0003-0723-0493, Куценко В. А. — к.ф.-м.н., с.н.с. лаборатории биостатистики отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0001-9844-3122, Борисова А. Л. — руководитель лаборатории "Банк биологического материала" Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0003-4020-6647, Шальнова С. А. — д.м.н., профессор, руководитель отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0003-2087-6483, Ершова А. И. — д.м.н., зам. директора по фундаментальной науке, руководитель лаборатории клиномики, ORCID: 0000-0001-7989-0760, Мешков А. Н. — д.м.н., руководитель Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0001-5989-6233, Драпкина О. М. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430].

Адреса организаций авторов: ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России, Петровверигский пер., д. 10, стр. 3, Москва, 101990, Россия; ФГБОУ ВО "Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова", Ленинские горы, д. 1, Москва, 119991, Россия.

Addresses of the authors' institutions: National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petroverigsky Lane, 10, bld. 3, Moscow, 101990, Russia; Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory, 1, Moscow, 119234, Russia.

per million reads (TPM) per sample for human (ENCODE v47) and microRNA genes ($p < 0,001$).

Conclusion. We showed that when using plasma and serum biosamples, the main parameter influencing higher microRNA sequencing rates is a reduction in the number of polymerase chain reaction cycles during library preparation.

Keywords: microRNA, small non-coding RNA, plasma, serum, next-generation sequencing, optimization.

Relationships and Activities. State assignment "Circulating MicroRNAs in Plasma as Diagnostic and Prognostic Biomarkers of CAD".

Kiseleva A. V.* ORCID: 0000-0003-4765-8021, Sotnikova E. A. ORCID: 0000-0002-8395-4146, Zharikova A. A. ORCID: 0000-0003-0723-0493, Kutsenko V. A. ORCID: 0000-0001-9844-3122, Borisova A. L. ORCID: 0000-0003-4020-6647, Shalnova S. A. ORCID: 0000-0003-2087-6483,

Ershova A. I. ORCID: 0000-0001-7989-0760, Meshkov A. N. ORCID: 0000-0001-5989-6233, Drapkina O. M. ORCID: 0000-0002-4453-8430.

*Corresponding author:
sanyutabe@gmail.com

Received: 25/08-2025

Revision Received: 22/09-2025

Accepted: 23/09-2025

For citation: Kiseleva A. V., Sotnikova E. A., Zharikova A. A., Kutsenko V. A., Borisova A. L., Shalnova S. A., Ershova A. I., Meshkov A. N., Drapkina O. M. Optimization of a library preparation protocol for sequencing circulating plasma and serum microRNAs. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4557. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4557. EDN: DVGA AK

микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, ПЦР — полимеразная цепная реакция, РНК — рибонуклеиновая кислота, ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота, NGS — next generation sequencing (секвенирование следующего поколения), PCA — principal component analysis (анализ главных компонент), TPM — tags per million reads (теги на миллион прочтений), UMI — unique molecular identifiers (уникальные молекулярные идентификаторы).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Секвенирование следующего поколения обеспечивает высокую чувствительность и специфичность, а также возможность количественного определения и обнаружения новых малых некодирующих молекул рибонуклеиновой кислоты (микроРНК).
- Приготовление библиотек для секвенирования микроРНК может значительно влиять на получаемые результаты, в т.ч. на покрытие и спектр детектируемых микроРНК.

Что добавляют результаты исследования?

- При использовании в исследовании биообразцов с низким содержанием микроРНК оптимизация протокола приготовления библиотек для секвенирования может значительно улучшить получаемые результаты.

Key messages

What is already known about the subject?

- Next-generation sequencing provides high sensitivity and specificity, as well as the ability to quantify and detect new small non-coding ribonucleic acids (microRNAs).
- Library preparation for microRNA sequencing can significantly impact the results obtained, including the coverage and profile of detected microRNAs.

What might this study add?

- When using low miRNA content biosamples in research, optimization of the sequencing library preparation protocol can significantly improve the results obtained.

Введение

Малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты (микроРНК) относятся к малым некодирующим рибонуклеиновым кислотам (РНК) (длина ~22 нуклеотида) и участвуют в регуляции экспрессии генов [1]. Циркулирующие микроРНК плазмы и сыворотки крови защищены от деградации с помощью включения в экзосомы и микровезикулы, или же связью с белковыми комплексами [2]. В настоящее время наблюдается значительный рост количества исследований, посвященных изучению потенциала циркулирующих микроРНК в качестве биомаркеров различных заболеваний [3-5].

Накопленные научные данные демонстрируют существенное влияние на профиль циркулирующих микроРНК преаналитических и ана-

литических факторов, таких как использование биологических образцов разных типов, различных методических подходов, а также отсутствие единых стандартов проведения исследований [6-9].

Секвенирование следующего поколения (NGS, next-generation sequencing) — метод, обеспечивающий высокую чувствительность и специфичность, а также возможность количественного определения и обнаружения новых микроРНК [10]. Этап приготовления библиотек для секвенирования микроРНК может значительно влиять на получаемые результаты, в т.ч. может отражаться на таких параметрах, как покрытие и спектр детектируемых микроРНК [11, 12].

На сегодняшний день на рынке представлен ряд коммерческих наборов для подготовки библио-

тек микроРНК [10, 11, 13-17]. Среди них одним из наиболее широко используемых и цитируемых в научных публикациях является набор QIAseq miRNA UDI Library Kit (Qiagen, Германия) (далее — QIAseq), важной особенностью которого является наличие уникальных молекулярных идентификаторов (unique molecular identifiers, UMI), позволяющих детектировать дубли, возникающие в ходе полимеразной цепной реакции (ПЦР). Библиотеки, полученные с помощью набора QIAseq, характеризуются большим разнообразием выявляемых микроРНК, высоким количеством сырых чтений и процентом чтений, картированных на гены микроРНК, а также относительно низким уровнем технических артефактов и более высокой корреляцией с данными количественной ПЦР [10, 11, 13, 15-17].

Несмотря на наличие стандартизированных протоколов от производителей, исследования последних лет демонстрируют, что оптимизация отдельных этапов подготовки библиотек может существенно повысить качество и воспроизводимость данных секвенирования [12, 18]. Это особенно актуально при работе с образцами из коллекций биобанков, хранившихся в течение длительного времени, поскольку их качество и степень деградации нуклеиновых кислот могут варьироваться в зависимости от условий хранения и особенностей пробоподготовки [7, 8]. Таким образом, даже при использовании коммерчески доступных решений адаптация методики под конкретные исследовательские задачи остается важным аспектом получения достоверных результатов.

Цель настоящего исследования — оптимизировать протокол приготовления библиотек для секвенирования микроРНК на основе коммерческого набора QIAseq miRNA UDI Library Kit для повышения качества получаемых данных.

Материал и методы

Биообразцы. В исследование были включены биообразцы четырех пациентов категории очень высокого сердечно-сосудистого риска из коллекции биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России [19]. Забор венозной крови был проведен в 2013-2014гг. Исследование одобрено Независимым Этическим Комитетом ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России (протокол № 07-03/12 от 03.07.2012). Все участники дали письменное информированное согласие.

Для получения плазмы кровь собирали в пробирки с антикоагулянтом (K_2 ЭДТА), а для сыворотки — в пробирки с разделительным гелем, после чего оставляли при комнатной температуре на 30 мин с последующим центрифугированием в течение 15 мин при 1200 g при +4 °C, а затем отбирали плазму и сыворотку. Далее все образцы хранились в биобанке при температуре -70 °C.

Выделение РНК. В 2025г из образцов была выделена тотальная РНК, включая микроРНК. До выделения РНК образцы плазмы и сыворотки после разморозки были подвергнуты центрифугированию при 16000 g в течение

15 мин при +4 °C. Супернатант был перенесен в новые пробирки, свободные от нуклеаз. Для выделения был использован набор miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit (Qiagen, Германия). Для каждого типа образца РНК была выделена параллельно дважды из одной и той же аликвоты плазмы или сыворотки — из 200 и из 300 мкл.

После выделения концентрацию микроРНК измеряли с помощью набора Qubit microRNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США) на флуориметре Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США).

Секвенирование следующего поколения. Из каждого из образцов РНК (плазма/сыворотка, 200 мкл/300 мкл) с помощью QIAseq miRNA UDI Library Kit (Qiagen, Германия) были приготовлены две библиотеки для секвенирования по двум вариантам протокола производителя: для 1 нг РНК с уменьшенным числом циклов ПЦР (22 цикла) и для 10 нг РНК (19 циклов ПЦР).

Для оценки качества приготовленных библиотек определяли их концентрацию на флуориметре Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США) с помощью набора Qubit 1X dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США) и длину на Bioanalyzer 2100 (Agilent, США) согласно протоколам производителей. NGS было проведено на NextSeq 550 (Illumina, США) по протоколу High Output 1×75 п.н.

Биоинформатический анализ. Обработка UMI проводилась с использованием пакета UMI-tools [20]. Чтения длиной не <14 нуклеотидов были отфильтрованы программой cutadapt [21]. Одноконцевые чтения (fastq) выравнивались на референсный геном GRCh38 с помощью STAR (версия 2.7.10a_alpha_220506) [22]. Далее файлы с выравниванием сортировались и индексировались с использованием Samtools [23]. Аннотирование генов выполнялось программой featureCounts (v2.0.1) [24] с учетом цепь-специфичности и параметрами: -O--largestOverlap -s 1 -t gene -g gene_id. Использовалась аннотация ENCODE v47 [25]. Визуализация данных осуществлялась пакетом ggplot2 в среде R [26].

Статистический анализ. Статистический анализ проводился в среде R 4.2. Непрерывные параметры представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q25; Q75]); дискретные — в виде абсолютных значений и относительных частот. Анализ главных компонент (PCA, principal component analysis) выполнялся для центрированных и нормированных данных. Оценка различий между двумя зависимыми выборками проведена при помощи критерия Вилкоксона. Поправка на множественные сравнения проведена методом Холма. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Дизайн исследования

При проведении пилотного секвенирования микроРНК с использованием биообразцов с длительным сроком хранения был выявлен ряд проблем, в т.ч. низкая концентрация получаемых библиотек, большое количество димеров адаптеров, выявляемое на этапе контроля качества библиотек, малое количество чтений на образец (<5 млн). Ранее было показано, что, увеличив исходное количество РНК при приготовлении библиотек и снизив количество циклов ПЦР для уменьшения количества

Таблица 1

Описание образцов в исследовании

Тип образца	Объем образца, из которого выделяли РНК, мкл	Протокол приготовления библиотек	Названия образцов
Сыворотка (S), n=16	200, n=8	для 1 нг РНК, 22 цикла ПЦР (v1), n=4	n1_S200_v1-n4_S200_v1
		для 10 нг РНК, 19 циклов ПЦР (v10), n=4	n1_S200_v10-n4_S200_v10
	300, n=8	для 1 нг РНК, 22 цикла ПЦР (v1), n=4	n1_S300_v1-n4_S300_v1
		для 10 нг РНК, 19 циклов ПЦР (v10), n=4	n1_S300_v10-n4_S300_v10
Плазма (PE), n=16	200, n=8	для 1 нг РНК, 22 цикла ПЦР (v1), n=4	n1_PE200_v1-n4_PE200_v1
		для 10 нг РНК, 19 циклов ПЦР (v10), n=4	n1_PE200_v10-n4_PE200_v10
	300, n=8	для 1 нг РНК, 22 цикла ПЦР (v1), n=4	n1_PE300_v1-n4_PE300_v1
		для 10 нг РНК, 19 циклов ПЦР (v10), n=4	n1_PE300_v10-n4_PE300_v10

Примечание: РНК — рибонуклеиновая кислота, ПЦР — полимеразная цепная реакция.

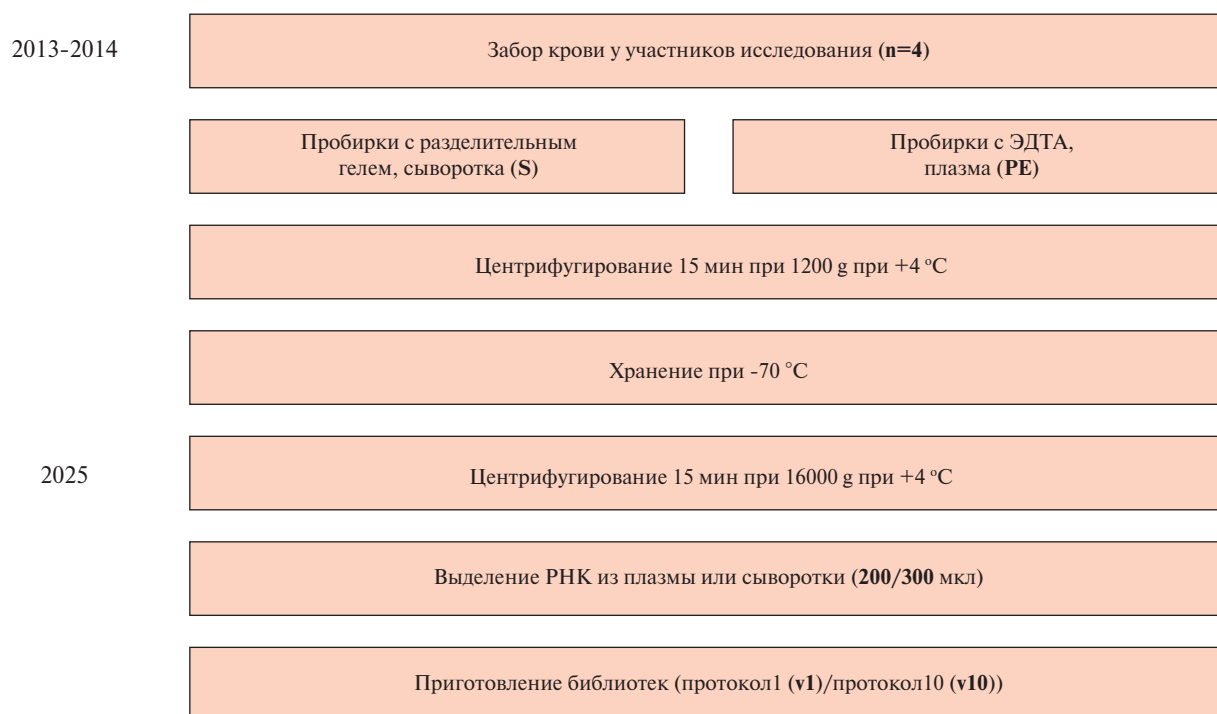


Рис. 1 Дизайн исследования.

Примечание: суффикс "S" обозначает сыворотку, "PE" — плазму с ЭДТА, "200" или "300" — объем исходного биообразца перед выделением РНК, "v1" или "v10" — версия протокола для приготовления библиотек; РНК — рибонуклеиновая кислота, ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота.

димеров адаптеров, можно улучшить показатели качества при секвенировании [12]. Одним из способов увеличения количества получаемой при выделении РНК является увеличение используемого объема плазмы или сыворотки, поэтому помимо стандартного объема в 200 мкл, мы использовали объем 300 мкл, выбор которого обусловлен тем, что он не приводил к увеличению времени выделения из-за ограничения, накладываемого ёмкостью колонки.

Производитель предлагает пять версий протокола QIAseq, как для ручного, так и автоматического исполнения, различающихся между собой в зависимости от исходного количества микроРНК (500 нг, 100 нг, 10 нг, 1 нг, 5 мкл элюата для сыво-

ротки или плазмы), по степени разбавления адаптеров и праймеров, а также по количеству циклов ПЦР. В качестве возможных альтернатив использовали модифицированный вариант для 1 нг с уменьшенным количеством циклов ПЦР: 3' адаптер — 1:20; 5' адаптер — 1:10; праймер — 1:20; 22 цикла, далее "протокол-1нг". Также использовали модифицированный вариант и для 10 нг: 3' адаптер — 1:5; 5' адаптер — 1:2,5; праймер — 1:5; 19 циклов, далее "протокол-10нг". Протокол для сыворотки/плазмы ("Serum/Plasma2), используемый изначально, отличается от версии для 10 нг только количеством циклов ПЦР (22 цикла), поэтому он не рассматривался далее для оптимизации.

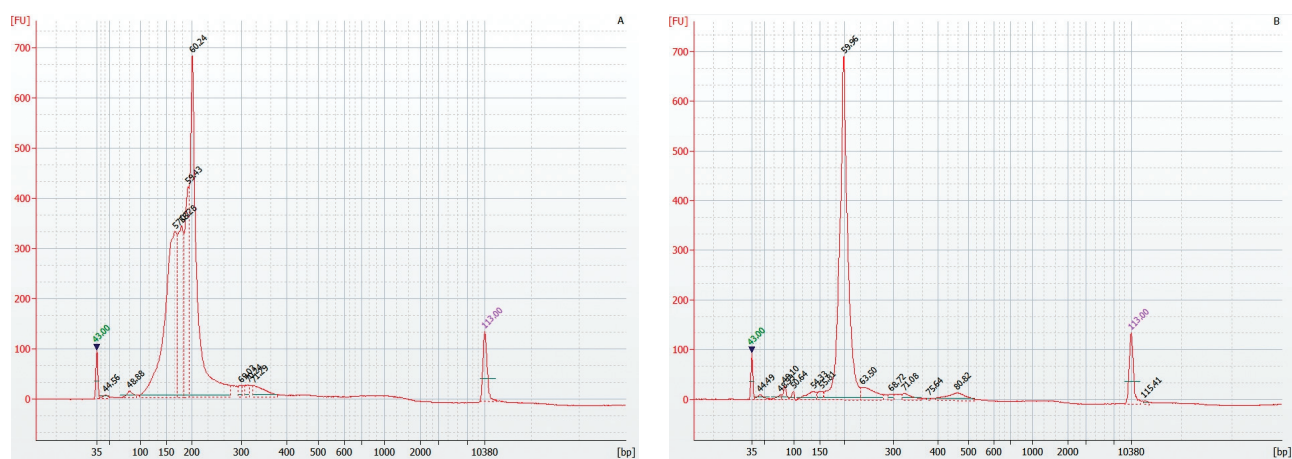


Рис. 2 Капиллярный электрофорез библиотек для секвенирования микроРНК одного и того же образца, приготовленных с использованием индексов из набора А и В, соответственно.

Примечание: bp — base pairs (пара нуклеотидов), FU — fluorescent units (единицы флуоресценции); микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты.

Таблица 2

Характеристика исследуемых групп

Показатель, Me [Q25; 75]	S200_v1, n=4	S200_v10, n=4	S300_v1, n=4	S300_v10, n=4	PE200_v1, n=4	PE200_v10, n=4	PE300_v1, n=4	PE300_v10, n=4
Концентрация микроРНК, нг/мкл	2,3 [1,7; 3,1]	2,3 [1,7; 3,1]	3,5 [2,3; 5,5]	3,5 [2,3; 5,5]	1,3 [1,1; 1,5]	1,3 [1,1; 1,5]	2,2 [1,8; 2,4]	2,2 [1,8; 2,4]
Концентрация библиотек, нг/мкл	0,75 [0,61; 0,80]	0,99 [0,62; 1,4]	1,3 [0,87; 1,9]	1,3 [1,1; 1,3]	1,1 [0,81; 1,4]	0,9 [0,61; 1,8]	1,8 [1,43; 2,2]	1,9 [1,8; 2,1]
Исходное количество микроРНК, нг	11,4 [8,5; 15,3]	11,4 [8,5; 15,3]	17,3 [1,5; 27,4]	17,3 [1,5; 27,4]	6,7 [5,5; 7,6]	6,7 [5,5; 7,6]	11,1 [8,9; 12,0]	11,1 [8,9; 12,0]
Количество чтений на образец (размер библиотеки), млн	2,4 [2,1; 2,8]	2,3 [1,6; 2,9]	2,8 [2,6; 2,9]	2,8 [2,5; 3,0]	2,7 [2,5; 2,9]	2,6 [2,4; 3,1]	3,1 [2,8; 3,2]	3,4 [3,2; 3,6]
Количество чтений длиной >14 нуклеотидов после удаления UMI дубликатов, млн	1,9 [1,7; 2,2]	1,7 [1,1; 2,2]	2,048 [1,8; 2,3]	1,9 [1,7; 2,1]	2,0 [1,9; 2,1]	1,8 [1,8; 2,0]	2,2 [1,9; 2,5]	2,3 [2,1; 2,4]
Количество картированных чтений, млн	1,6 [1,4; 1,6]	1,3 [0,7; 1,8]	1,7 [1,4; 1,8]	1,5 [1,3; 1,6]	1,3 [1,2; 1,5]	1,3 [1,2; 1,5]	1,4 [1,2; 1,5]	1,5 [1,3; 1,5]
Количество картированных чтений, попавших в границы генов*, млн	0,087 [0,071; 0,11]	0,15 [0,097; 0,22]	0,15 [0,078; 0,12]	0,21 [0,13; 0,28]	0,13 [0,12; 0,17]	0,24 [0,19; 0,28]	0,12 [0,09; 0,17]	0,23 [0,22; 0,25]
TRM на образец (по генам человека) [†]	0,013 [0,005; 0,021]	0,030 [0,015; 0,047]	0,016 [0,011; 0,027]	0,04 [0,030; 0,067]	0,024 [0,013; 0,039]	0,059 [0,033; 0,098]	0,035 [0,030; 0,041]	0,14 [0,11; 0,15]
TRM на образец (по генам микроРНК)	84,5 [68,3; 90,6]	187,5 [174,5; 215,6]	92,7 [71,6; 109,7]	275,7 [237,8; 291,3]	77,4 [73,1; 78,9]	216,0 [209,1; 218,7]	65,7 [57,0; 72,2]	201,4 [188,7; 214,1]
Количество экспрессированных микроРНК (>=2 чтений на микроРНК)	114,5 [106,0; 127,3]	155,0 [140,3; 168,5]	135,5 [174,5; 215,6]	162,5 [151,8; 166,3]	131,0 [124,3; 141,3]	160,0 [156,3; 163,5]	117,0 [100,8; 136,3]	152,5 [148,5; 157,8]
Количество экспрессированных микроРНК (>50 чтений на микроРНК)	31,5 [29,3; 34,3]	56,5 [38,5; 75,5]	40,5 [33,3; 48,0]	64,0 [48,8; 76,0]	38,5 [35,5; 45,5]	58,0 [53,3; 68,5]	32,0 [23,8; 43,5]	51,5 [49,0; 56,5]

Примечание: * — рассчитано для генов, на которые картировано хотя бы 2 чтения и как минимум в четверти образцов из выборки, [†] — версия ENCODE v47; микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, Me — медиана [интерквартильный размах], TRM — tags per million reads (теги на млн прочтений), UMI — unique molecular identifiers (уникальные молекулярные идентификаторы).

Таблица 3

Характеристика объединенных групп

Показатель, Me [Q25; 75]	S, n=16	PE, n=16	p S vs PE	200, n=16	300, n=16	p 200 vs 300	v1, n=16	v10, n=16	p v1vs10
Концентрация микроРНК, нг/мкл	2,7 [1,7; 3,9]	1,6 [1,2; 2,1]	0,002*	1,7 [1,4; 2,0]	2,4 [1,9; 3,0]	<0,001*	1,9 [1,5; 2,6]	1,9 [1,5; 2,6]	—
Концентрация библиотек, нг/мкл	0,92 [0,68; 1,3]	1,6 [0,81; 1,93]	0,065	0,82 [0,66; 1,3]	1,69 [1,2; 1,9]	0,058	0,92 [0,70; 1,7]	1,28 [0,71; 1,9]	0,98
Исходное количество микроРНК, нг	13,4 [8,5; 19,7]	8,0 [5,8; 10,7]	0,002*	8,3 [6,9; 10,0]	12,2 [9,6; 15,1]	<0,001*	9,5 [7,4; 13,1]	9,5 [7,4; 13,1]	—
Количество чтений на образец (размер библиотеки), млн	2,7 [2,1; 2,9]	3,0 [2,6; 3,3]	0,013	2,7 [2,2; 2,9]	3,0 [2,7; 3,3]	0,051	2,8 [2,2; 3,1]	2,9 [2,4; 3,3]	0,86
Количество чтений длиной >14 нуклеотидов после удаления УМІ дубликатов, млн	1,9 [1,6; 2,3]	2,0 [1,8; 2,4]	0,065	1,9 [1,7; 2,2]	2,1 [1,9; 2,4]	0,093	2,0 [1,8; 2,4]	2,0 [1,8; 2,3]	0,46
Количество картированных чтений, млн	1,6 [1,1; 1,7]	1,3 [1,2; 1,5]	0,53	1,4 [1,2; 1,7]	1,5 [1,3; 1,6]	0,30	1,5 [1,2; 1,6]	1,4 [1,2; 1,6]	0,50
Количество картированных чтений, попавших в границы генов [†]	0,13 [0,074; 0,23]	0,20 [0,13; 0,26]	0,039	0,14 [0,11; 0,22]	0,21 [0,093; 0,25]	0,46	0,12 [0,089; 0,167]	0,21 [0,17; 0,28]	0,002*
TRM на образец (по генам человека) [§]	0,020 [0,012; 0,044]	0,043 [0,03; 0,090]	0,002*	0,023 [0,012; 0,047]	0,043 [0,027; 0,078]	0,008	0,023 [0,012; 0,043]	0,052 [0,03; 0,12]	0,001*
TRM на образец (по генам микроРНК)	131,3 [87,4; 215,6]	134,0 [74,2; 213,4]	0,32	129,1 [78,8; 202,0]	131,27 [75,7; 214,1]	0,71	78,23 [64,03; 83,8]	213,46 [188,7; 231,9]	<0,001*
Количество экспрессированных микроРНК (не <2 чтений на микроРНК)	141,0 [126,0; 161,3]	151,5 [130,3; 158,5]	0,59	141,0 [126,8; 163,0]	147,0 [127,8; 157,8]	0,82	128,0 [106,0; 140,8]	158,5 [148,8; 165,8]	<0,001*
Количество экспрессированных микроРНК (>50 чтений на микроРНК)	39,5 [32,5; 60,8]	51,0 [39,6; 56,0]	0,42	40,5 [32,5; 62,0]	48,0 [35,2; 54,8]	0,95	36,5 [29,3; 41,3]	54,0 [49,0; 72,5]	<0,001*

Примечание: * — значимость $p < 0,05$ после поправки Холма на множественные сравнения, [†] — рассчитано для генов, на которые картировано хотя бы 2 чтения и как минимум в четверти образцов из выборки, [§] — версия ENCODE v47, микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, Me [Q25; 75] — медиана [интерквартильный размах], TRM — tags per million reads (теги на млн прочтений), УМІ — unique molecular identifiers (уникальные молекулярные идентификаторы), vs — против.

Таким образом, для каждого типа образца (плазма/сыворотка) было 4 варианта оптимизации (200 мкл/300 мкл; протокол-1нг/протокол-10нг). В каждом варианте оптимизации использовались аликвоты одних и тех же образцов от 4-х человек. При приготовлении библиотек использовалось 5 мкл выделенной РНК, при этом исходное количество микроРНК варьировало от 6 до 21 нг. Дизайн исследования представлен на рисунке 1 и в таблице 1.

Димеры адаптеров

Изначально при работе с набором QIAseq был использован протокол для сыворотки/плазмы и индексы QIAseq miRNA 96 Index Kit IL UDI-A (Qiagen, Германия). При анализе качества и длины

полученных библиотек с помощью капиллярного электрофореза был виден пик, соответствующий димерам адаптеров (178 п.н.). Проверка всех реагентов показала, что использование другого набора индексов — QIAseq miRNA 96 Index Kit IL UDI-B (Qiagen, Германия), привело к значительному уменьшению количества димеров адаптеров. Выявленные различия в работе индексов из разных наборов, отчасти, можно объяснить независимым от нас несоблюдением условий хранения и/или транспортировки наборов компаниями-поставщиками. Пример результатов капиллярного электрофореза для библиотек, приготовленных параллельно из одного и того же образца РНК при использовании ин-

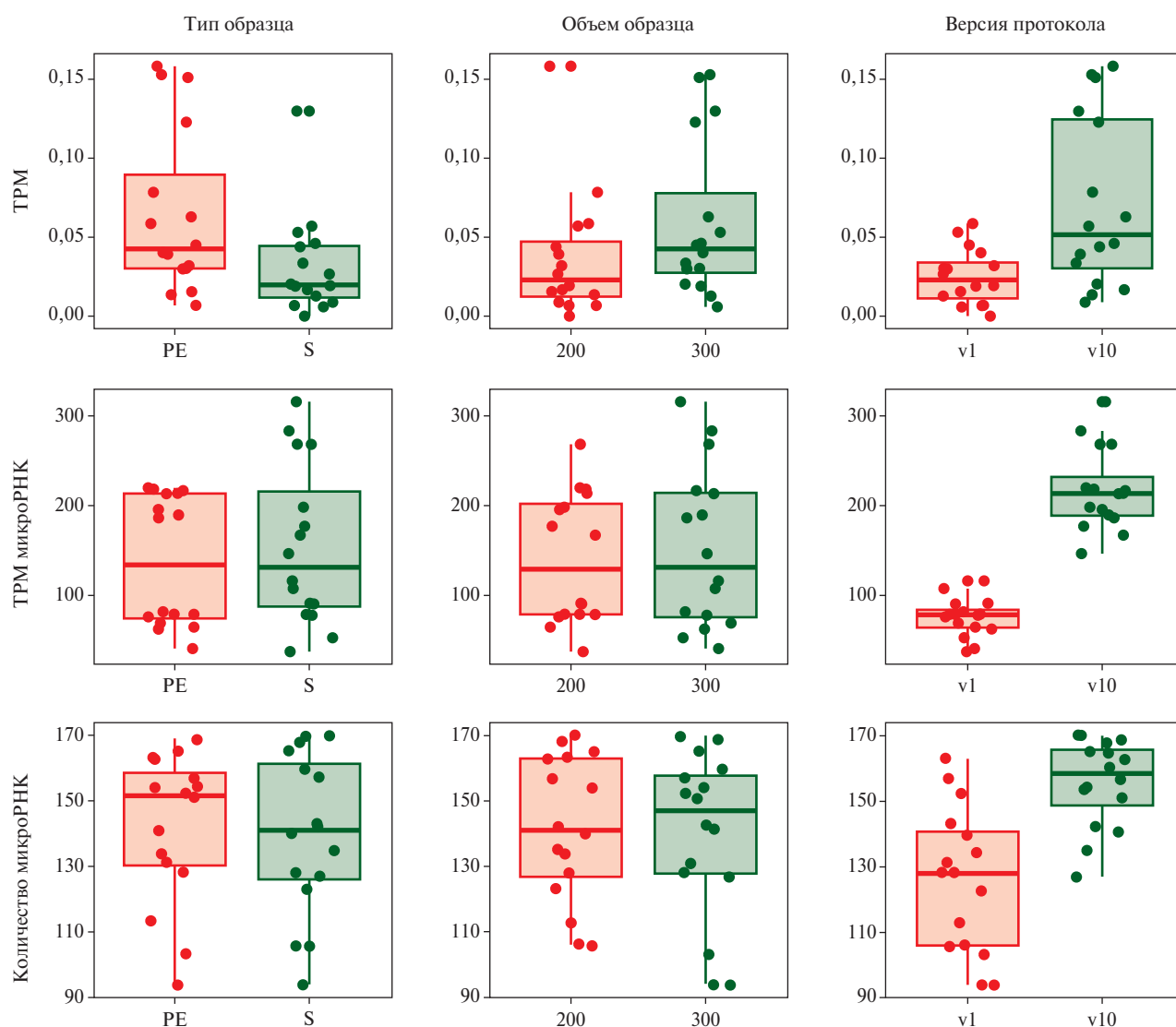


Рис. 3 Распределение медианных значений показателей в группах сравнения; точками представлены медианные значения для каждого из образцов.

Примечание: TPM — TPM на образец (по генам человека), версия ENCODE v47, TPM микроРНК — TPM на образец (по генам микроРНК), количество микроРНК — количество экспрессированных микроРНК (не <2 чтений на микроРНК), "S" — сыворотка, "PE" — плазма с ЭДТА, "200" или "300" — объем исходного биообразца перед выделением РНК, "v1" или "v10" — версия протокола для приготовления библиотек. РНК — рибонуклеиновая кислота, микроРНК — малые некодирующие молекулы РНК, ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота, TPM — tags per million reads (теги на млн прочтений).

дексов из разных наборов, приведен на рисунке 2. Несмотря на уменьшение концентрации димеров адаптеров, у некоторых образцов были выявлены другие пики (185-192 п.н. и 208 п.н.), соответствующие фрагментам РНК и другим малым РНК, включая наиболее крупный класс микроРНК (piРНК, (piwi-interacting), отличные от целевого пика (200 п.н.), что, вероятно, также может приводить к снижению количества чтений, картированных на гены микроРНК [11].

Сравнение разных вариантов оптимизации протокола

Сравнительные характеристики исследуемых групп приведены в таблицах 2 и 3, а также на ри-

сунке 3. Статистически значимых различий между 8 группами (по 4 образца в каждой) получено не было. Это может быть объяснено небольшим размером выборки и использованием рангового теста Вилкоксона, что, на наш взгляд, оправдано в силу сложности распределения исследуемого параметра (таблица 2).

В таблице 3 представлены результаты по группам, объединенным по следующим параметрам (n=16): тип биообразца (плазма/сыворотка); объем биообразца, использовавшийся при выделении РНК (200/300 мкл); протокол приготовления библиотек (протокол-1нг/протокол-10нг). При сравнении групп сыворотки и плазмы статистически

значимо различались показатели концентрации микроРНК после выделения тотальной РНК и количество тегов на млн прочтений (TPM, tags per million reads) на образец по генам человека; при сравнении групп, в которых для выделения РНК были использованы 200 и 300 мкл исходного биообразца (сыворотки или плазмы) — показатели концентрации микроРНК после выделения тотальной РНК; при сравнении групп образцов, приготовленных с использованием разных версий протокола — количество картированных чтений, попавших в границы генов, показатели TPM на образец по генам человека и по генам микроРНК, а также количества экспрессированных микроРНК.

Анализ с помощью метода главных компонент

Для определения однородности полученных данных был использован метод PCA, с помощью которого на основании данных об уровне экспрессии генов микроРНК человека (версия генома ENCODE v47) была показана относительная однородность изучаемых групп (рисунок 4).

Обсуждение

Согласно результатам ряда сравнительных исследований, набор QIAseq miRNA Library Kit обеспечивает высокое качество подготовки библиотек [10, 11, 13-17]. Однако при работе с образцами с низким содержанием микроРНК (плазма или сыворотка крови) или биообразцов с длительным сроком хранения для улучшения показателей секвенирования может потребоваться дополнительная оптимизация протокола [18]. Поиск литературы показал, что было опубликовано два исследования, направленных на оптимизацию протокола приготовления библиотек QIAseq miRNA Library Kit: Rodgers O, et al. (2025) [18] и Hasby F, et al. (2025) [12].

В исследовании Rodgers O, et al. (2025) проводили оптимизацию для образцов плазмы небольшого объема (100 мкл), используемых в педиатрии [18]. В работе было изучено влияние ряда модификаций протокола на выход библиотек: предварительное концентрирование образцов РНК, использование разных разведений адаптеров и праймеров для обратной транскрипции и количества циклов амплификации. Кроме того, были внесены изменения в этапы очистки с использованием магнитных частиц, однако их влияние сравнительной оценке не подвергалось. Наибольшая концентрация библиотек была достигнута при использовании версии протокола производителя для 1 нг РНК (1:20-1:10-1:20-24 цикла), который был выбран авторами для дальнейшего использования. Однако отсутствие данных по показателям секвенирования затрудняет сопоставление их результатов с нашими.

В работе Hasby F, et al. (2025) для 10 нг исходной микроРНК максимальные концентрации библиотек и количество сырых чтений были получе-

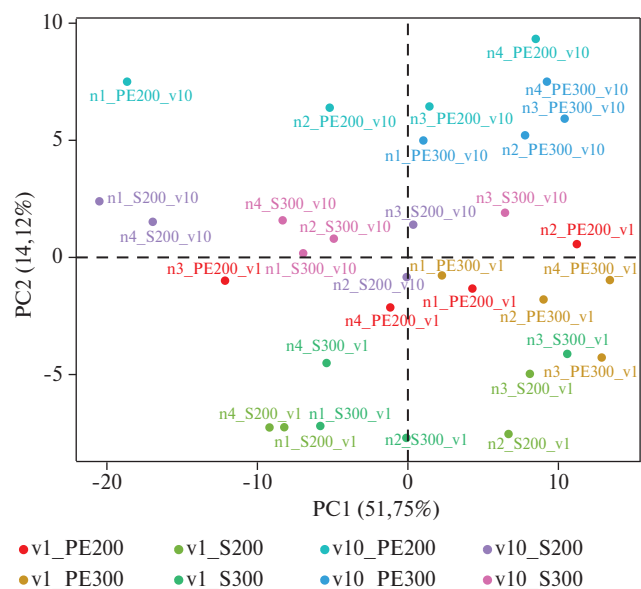


Рис. 4 PCA на основании данных об уровне экспрессии генов микроРНК человека.

Примечание: PC — principal component (главная компонента), суффикс "n" в названии образцов обозначает номер участника, "S" — сыворотку, "PE" — плазму с ЭДТА, "200" или "300" — объем исходного биообразца перед выделением РНК, "v1" или "v10" — версия протокола для приготовления библиотек; РНК — рибонуклеиновая кислота, микроРНК — малые некодирующие молекулы РНК, ЭДТА — этилендиаминтетрауксусная кислота, PCA — principal component analysis (анализ главных компонент). Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

ны при использовании протокола с наибольшим числом циклов амплификации. В то же время для 1 нг исходной микроРНК, при увеличении числа циклов амплификации и степени разведения адаптеров, возрастала доля димеров адаптеров. Также при увеличении числа циклов амплификации и степени разведения адаптеров как при 10 нг, так и при 1 нг исходной микроРНК, возрастала доля чтений, исключаемых из анализа после дедупликации по UMI и снижалось количество детектируемых микроРНК [12].

В настоящем исследовании сравнение двух версий протокола (протокол-1нг и протокол-10нг) выявило статистически значимые различия для показателей количества картированных чтений, попавших в границы генов, TPM на образец по генам человека и по генам микроРНК, а также по количеству экспрессированных микроРНК. Наилучшие результаты были получены при использовании протокола-10нг, который предусматривал: в 4 раза более высокие концентрации адаптеров и праймеров для обратной транскрипции; на 3 цикла ПЦР меньше. Протокол производителя для 10 нг исходной РНК даже при меньшем фактическом количестве показал более высокие значения TPM, что согласуется с выводами Hasby F, et al. (2025) [12].

В этой же работе [12] показано, что с увеличением исходного количества микроРНК возрастают концентрации получаемых библиотек, снижается доля димеров адаптеров и доля чтений, элиминируемых при дедупликации, а также увеличивается число детектируемых микроРНК. Однако в этом исследовании использовался коммерческий образец тотальной РНК с 10-кратными различиями в количестве (1, 10 и 100 нг).

При работе с образцами с низким содержанием микроРНК одним из возможных подходов к увеличению исходного количества микроРНК может быть концентрирование. Однако данные о его эффективности противоречивы. Так, Rodgers O, et al. (2025) продемонстрировали, что концентрирование РНК увеличивает концентрации получаемых библиотек [18], тогда как Grieco GE, et al. (2021) не наблюдали улучшения показателей при сокращении объема с 18 мкл до 5 мкл. В их работе концентрирование не повлияло на выход библиотек малых РНК, качество секвенирования и распределение типов малых РНК [27]. Кроме того, в работе [18] не было выявлено значимых различий в результатах секвенирования между образцами, полученными из 100 и 200 мкл плазмы.

Согласно рекомендациям производителя используемого нами набора, для выделения РНК miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit (Qiagen, Германия), увеличения выхода РНК можно добиться, увеличив объем плазмы или сыворотки. Однако отмечается, что увеличение объема образца нежела-

тельно в связи с тем, что увеличение количества контаминантов может повлиять на процесс очистки.

Полученные нами результаты показали, что увеличение объема биообразцов при выделении РНК, хотя и привело к повышению концентрации выделенной микроРНК, а после секвенирования — к повышению числа ТРМ на образец по генам человека, в то же время не оказало влияния на значение показателя ТРМ на образец при анализе генов микроРНК.

Кроме того, поскольку в нашем исследовании использовались парные образцы сыворотки и плазмы крови от одних и тех же доноров, было возможно сравнить их характеристики. В результате количество РНК после выделения было выше для сыворотки, однако количество чтений и ТРМ на образец было выше для плазмы крови.

Заключение

Оптимизация существующих протоколов подготовки библиотек для биообразцов с низким содержанием микроРНК может значительно улучшить показатели секвенирования. В настоящем исследовании ключевым фактором, обеспечившим повышение эффективности, стало сокращение числа циклов ПЦР.

Отношения и деятельность. Государственное задание "Свободно циркулирующие микроРНК плазмы крови как диагностические и прогностические биомаркеры ИБС".

Литература/References

- Matias-Garcia PR, Wilson R, Mussack V, et al. Impact of long-term storage and freeze-thawing on eight circulating microRNAs in plasma samples. *PLoS One*. 2020;15:e0227648. doi:10.1371/journal.pone.0227648.
- O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, et al. Overview of MicroRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:402. doi:10.3389/fendo.2018.00402.
- Mikhailina VI, Meshkov AN, Kiseleva AN, et al. MicroRNA as biomarkers of coronary artery disease in real-world practice. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(12):4225. (In Russ.) Михайлина В. И., Мешков А. Н., Киселева А. В. и др. МикроРНК как биомаркеры ишемической болезни сердца для использования в клинической практике. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(12):4225. doi:10.15829/1728-8800-2024-4225.
- Kiseleva AV, Sotnikova EA, Kutsenko VA, et al. Circulating microRNAs and collateral circulation in coronary chronic total occlusion. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(10):4190. (In Russ.) Киселева А. В., Сотникова Е. А., Куценко В. А. и др. Циркулирующие микроРНК и развитие коллатерального кровообращения при хронической окклюзии коронарной артерии. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2024;23(10):4190. doi:10.15829/1728-8800-2024-4190.
- Wang J, Chen J, Sen S. MicroRNA as biomarkers and diagnostics. *J Cell Physiol*. 2016;231:25-30. doi:10.1002/jcp.25056.
- Chan S-F, Cheng H, Goh KK-R, et al. Preanalytic Methodological Considerations and Sample Quality Control of Circulating miRNAs. *J Mol Diagn*. 2023;25:438-53. doi:10.1016/j.jmoldx.2023.03.005.
- Sotnikova EA, Kiseleva AV, Meshkov AN. Effect of plasma and serum storage conditions on circulating microRNA levels. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(11):4180. (In Russ.) Сотникова Е. А., Киселева А. В., Мешков А. Н. Влияние условий хранения плазмы и сыворотки на уровни циркулирующих микроРНК. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2024;23(11):4180. doi:10.15829/1728-8800-2024-4180.
- Sotnikova EA, Kiseleva AV, Meshkov AN. Preanalytical factors affecting the plasma and serum levels of circulating microRNAs. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(11):4179. (In Russ.) Сотникова Е. А., Киселева А. В., Мешков А. Н. Факторы преаналитического этапа, влияющие на уровни циркулирующих микроРНК плазмы и сыворотки крови. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2024;23(11):4179. doi:10.15829/1728-8800-2024-4179.
- Suzuki K, Yamaguchi T, Kohda M, et al. Establishment of preanalytical conditions for microRNA profile analysis of clinical plasma samples. *PLoS One*. 2022;17:e0278927. doi:10.1371/journal.pone.0278927.
- Androvic P, Benesova S, Rohlova E, et al. Small RNA-sequencing for analysis of circulating miRNAs: benchmark study. *J Mol Diagn*. 2022;24:386-94. doi:10.1016/j.jmoldx.2021.12.006.
- Coenen-Stass AML, Magen I, Brooks T, et al. Evaluation of methodologies for microRNA biomarker detection by next generation

- sequencing. *RNA Biol.* 2018;15:1133-45. doi:10.1080/15476286.2018.1514236.
12. Hasby F, Bachmann J, Wang C, et al. Adapter dilution and input optimization for Qiagen QIAseq miRNA Library kit. *bioRxiv.* 2025. doi:10.1101/2025.04.30.651388.
 13. Benesova S, Kubista M, Valihrach L. Small RNA-sequencing: Approaches and considerations for miRNA analysis. *Diagnostics (Basel).* 2021;11:964. doi:10.3390/diagnostics11060964.
 14. Barberán-Soler S, Vo JM, Hogans RE, et al. Decreasing miRNA sequencing bias using a single adapter and circularization approach. *Genome Biol.* 2018;19:105. doi:10.1186/s13059-018-1488-z.
 15. Herbert ZT, Thimmapuram J, Xie S, et al. Multisite evaluation of next-generation methods for small RNA quantification. *J Biomol Tech.* 2020;31:47-56. doi:10.7171/jbt.20-3102-001.
 16. Wong RKY, MacMahon M, Woodside JV, et al. A comparison of RNA extraction and sequencing protocols for detection of small RNAs in plasma. *BMC Genomics.* 2019;20:446. doi:10.1186/s12864-019-5826-7.
 17. Heinicke F, Zhong X, Zucknick M, et al. Systematic assessment of commercially available low-input miRNA library preparation kits. *RNA Biol.* 2020;17:75-86. doi:10.1080/15476286.2019.1667741.
 18. Rodgers O, Watson CJ, Waterfield T. MiRNA library preparation optimisation for low-concentration and low-volume paediatric plasma samples. *Noncoding RNA.* 2025;11. doi:10.3390/ncrna11010011.
 19. Kopylova OV, Ershova AI, Pokrovskaya MS, et al. Population-nosological research biobank of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine: analysis of bio-samples, principles of collecting and storing information. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2022;20(8):3119. (In Russ.)
 20. Копылова О. В., Ершова А. И., Покровская М. С. и др. Популяционно-нозологический исследовательский биобанк "НМИЦ ТПМ": анализ коллекций биообразцов, принципы сбора и хранения информации. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2022;20(8):3119. doi:10.15829/1728-8800-2021-3119.
 20. Smith T, Heger A, Sudbery I. UMI-tools: modeling sequencing errors in Unique Molecular Identifiers to improve quantification accuracy. *Genome Res.* 2017;27:491-9. doi:10.1101/gr.209601.116.
 21. Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet J.* 2011;17:10. doi:10.14806/ej.17.1.200.
 22. Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, et al. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics.* 2013;29:15-21. doi:10.1093/bioinformatics/bts635.
 23. Danecek P, Bonfield JK, Liddle J, et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience.* 2021;10:giab008. doi:10.1093/gigascience/giab008.
 24. Liao Y, Smyth GK, Shi W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics.* 2014;30:923-30. doi:10.1093/bioinformatics/btt656.
 25. ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature.* 2012;489:57-74. doi:10.1038/nature11247.
 26. Wickham H. *Ggplot2: Elegant graphics for data analysis.* New York, NY: Springer; 2009. ISBN: 978-0-387-98141-3.
 27. Grieco GE, Sebastiani G, Fignani D, et al. Protocol to analyze circulating small non-coding RNAs by high-throughput RNA sequencing from human plasma samples. *STAR Protoc.* 2021;2:100606. doi:10.1016/j.xpro.2021.100606.

Сравнительный анализ наборов для выделения нуклеиновых кислот из образцов крови и тканей животных

Кумар Н. А., Тарасова Д. А., Буханова А. А., Маралова Е. Д., Циммер О. Я., Илларионов Р. А., Ивашечкин А. А., Емельянова Н. Б., Махотенко А. В., Азарян В. Б., Снигирь Е. А., Мухин В. Е., Юдин В. С.

ФГБУ "Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью" ФМБА России. Москва, Россия

Цель. Провести сравнительный анализ эффективности коммерческих наборов для выделения дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) из крови и тканей, а также рибонуклеиновой кислоты (РНК) из тканей мышей, и оценить влияние постмортального интервала (ПМИ) на качество и количество извлекаемых нуклеиновых кислот (НК).

Материал и методы. Использовали образцы крови и тканей (мозг, сердце, печень, почки, легкие, мышцы, семенники) 12 мышей линии Balb/C. Забор материала проводили сразу (0 ч) и через 24 ч после эвтаназии. Для выделения ДНК протестировали 10 коммерческих наборов (российских и зарубежных), для выделения РНК — набор RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия). Контроль качества включал измерение концентрации (флуориметрия), чистоты (спектрофотометрия) и целостности (электрофорез) НК.

Результаты. Наборы на основе спин-колонок (QIAamp DNA Blood Mini Kit, Qiagen, США, D-Blood-5) показали наивысший выход ДНК из крови. Для тканей наибольший выход ДНК обеспечили наборы на магнитных частицах (GM Tissue, Tissue M), но колоночный метод (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Германия) дал лучшие показатели чистоты и стабильности при увеличении ПМИ. Увеличение ПМИ до 24 ч привело к значительному снижению концентрации и целостности как ДНК, так и РНК во всех тканях, кроме семенников. Наиболее выраженная деградация РНК (падение индекса RIN (RNA integrity number, степень деградации РНК) до 2,5–2,8) наблюдалась в почках и мышцах.

Заключение. Эффективность выделения НК существенно зависит от типа набора, биоматериала и ПМИ. Выбор оптимального метода должен основываться на этих факторах. Полученные данные критически важны для планирования преаналитического этапа исследований.

Ключевые слова: ДНК, РНК, постмортальный интервал, качество нуклеиновых кислот, коммерческие наборы, мыши, ткани, кровь, RIN, DIN.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 03/09-2025

Рецензия получена 08/09-2025

Принята к публикации 22/09-2025



Для цитирования: Кумар Н. А., Тарасова Д. А., Буханова А. А., Маралова Е. Д., Циммер О. Я., Илларионов Р. А., Ивашечкин А. А., Емельянова Н. Б., Махотенко А. В., Азарян В. Б., Снигирь Е. А., Мухин В. Е., Юдин В. С. Сравнительный анализ наборов для выделения нуклеиновых кислот из образцов крови и тканей животных. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4568. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4568. EDN: PNPOAD

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: rillarionov@cspfmbaru

[Кумар Н. А. — аналитик 2 категории лаборатории биобанкирования и мультиомиксных методов исследований, ORCID: 0000-0003-2225-8515, Тарасова Д. А. — аналитик лаборатории биобанкирования и мультиомиксных методов исследований, ORCID: 0000-0002-6996-8891, Маралова Е. Д. — аналитик лаборатории биобанкирования и мультиомиксных методов исследований, ORCID: 0009-0008-9095-7346, Циммер О. Я. — аналитик лаборатории биобанкирования и мультиомиксных методов исследований, ORCID: 0009-0008-4126-1801, Илларионов Р. А.* — аналитик 2 категории лаборатории биобанкирования и мультиомиксных методов исследований, ORCID: 0000-0003-2711-748X, Ивашечкин А. А. — аналитик 1 категории лаборатории биобанкирования и мультиомиксных методов исследований, ORCID: 0000-0002-0148-1112, Емельянова Н. Б. — к.б.н., зав. виварием, ORCID: 0000-0003-1920-0363, Махотенко А. В. — к.б.н., аналитик 1 категории лаборатории биобанкирования и мультиомиксных методов исследований, ORCID: 0000-0002-7894-9422, Азарян В. Б. — аналитик 2 категории лаборатории биобанкирования и мультиомиксных методов исследований, ORCID: 0009-0002-2757-8147, Снигирь Е. А. — к.б.н., руководитель лаборатории биобанкирования и мультиомиксных методов исследований, ORCID: 0000-0003-1245-7764, Мухин В. Е. — к.м.н., начальник управления экспериментальной биотехнологии и геномной инженерии, ORCID: 0000-0001-8973-7890, Юдин В. С. — к.б.н., директор института синтетической биологии и геномной инженерии, ORCID: 0000-0002-9199-6258].

Адреса организаций авторов: ФГБУ "Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью" ФМБА России, ул. Погодинская, д. 10, стр. 1, Москва, 119121, Россия.
Addresses of the authors' institutions: Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks of the Federal medical and biological agency, Pogodinskaya st., 10, bld. 1, Moscow, 119121, Russia.

A comparative analysis of kits for nucleic acid extraction from animal blood and tissue samples

Kumar N. A., Tarasova D. A., Bukhanova A. A., Maralova E. D., Zimmer O. Ya., Illarionov R. A., Ivashechkin A. A., Emelyanova N. B., Makhotenko A. V., Azaryan V. B., Snigir E. A., Mukhin V. E., Yudin V. S.

Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks. Moscow, Russia

Aim. To conduct a comparative analysis of the effectiveness of commercial kits for deoxyribonucleic acid (DNA) extraction from blood and tissue, as well as ribonucleic acid (RNA) from mouse tissue, and to evaluate the effect of the postmortem interval (PMI) on the quality and quantity of extracted nucleic acids (NA).

Material and methods. Blood and tissue samples (brain, heart, liver, kidneys, lungs, muscle, and testes) from 12 Balb/C mice were used. Samples were collected immediately (0 h) and 24 h after euthanasia. Ten commercial kits (Russian and international) were tested for DNA extraction, and the RNeasy Mini Kit (Qiagen, Germany) was used for RNA extraction. Quality control included measuring the concentration (fluorometry), purity (spectrophotometry), and integrity (electrophoresis) of the DNA.

Results. Spin-column-based kits (QIAamp DNA Blood Mini Kit, Qiagen, USA, D-Blood-5) demonstrated the highest DNA yield from blood. For tissue, magnetic particle kits (GM Tissue, Tissue M) provided the highest DNA yield, but the column-based method (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Germany) yielded better purity and stability with increasing PMI. Increasing the PMI to 24 hours resulted in a significant decrease in the concentration and integrity of both DNA and RNA in all tissues except the testes. The most pronounced RNA degradation (a decrease in RNA integrity number to 2,5-2,8) was observed in the kidneys and muscles.

Conclusion. The efficiency of NA isolation significantly depends on the type of kit, biomaterial, and PMI. The selection of the optimal method should be based on these factors. The data obtained are critical for planning the preanalytical stage of the study.

Keywords: DNA, RNA, postmortem interval, nucleic acid quality, commercial kits, mice, tissue, blood, RIN, DIN.

Relationships and Activities: none.

Kumar N. A. ORCID: 0000-0003-2225-8515, Tarasova D. A. ORCID: 0009-0007-5479-4212, Bukhanova A. A. ORCID: 0000-0002-6996-8891, Maralova E. D. ORCID: 0009-0008-9095-7346, Zimmer O. Ya. ORCID: 0009-0008-4126-1801, Illarionov R. A.* ORCID: 0000-0003-2711-748X, Ivashechkin A. A. ORCID: 0000-0002-0148-1112, Emelyanova N. B. ORCID: 0000-0003-1920-0363, Makhotenko A. V. ORCID: 0000-0002-7894-9422, Azaryan V. B. ORCID: 0009-0002-2757-8147, Snigir E. A. ORCID: 0000-0003-1245-7764, Mukhin V. E. ORCID: 0000-0001-8973-7890, Yudin V. S. ORCID: 0000-0002-9199-6258.

*Corresponding author:
rillarionov@csfpmba.ru

Received: 03/09-2025

Revision Received: 08/09-2025

Accepted: 22/09-2025

For citation: Kumar N. A., Tarasova D. A., Bukhanova A. A., Maralova E. D., Zimmer O. Ya., Illarionov R. A., Ivashechkin A. A., Emelyanova N. B., Makhotenko A. V., Azaryan V. B., Snigir E. A., Mukhin V. E., Yudin V. S. A comparative analysis of kits for nucleic acid extraction from animal blood and tissue samples. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4568. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4568. EDN: PNPOAD

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, НК — нуклеиновая кислота, ПМИ — постмортальный интервал, РНК — рибонуклеиновая кислота, DIN — DNA Integrity Number (степень деградации ДНК), RIN — RNA Integrity Number (степень деградации РНК).

Введение

Молекулярно-генетические исследования требуют качественного выделения нуклеиновых кислот (НК), что является критически важным этапом любого анализа. Выбор оптимального метода экстракции зависит от множества факторов, в т.ч. простоты, скорости, возможности автоматизации и стоимости процедуры [1].

Современные наборы для выделения НК представлены широким ассортиментом, различающимися по составу реактивов, протоколам обработки материалов и эффективностью выделения [2]. На выход НК влияет принцип работы и качество реактивов самого набора, тип ткани, из которого происходит экстракция, а также условия отбора биологического материала [1, 3].

Помимо вышеуказанных причин, на концентрацию и качество выделенных НК влияет постмортальный интервал (ПМИ) — период времени между наступлением смерти и моментом, когда проводится исследование или консервация биоматериала. После смерти дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибо-

нуклеиновая (РНК) кислоты разрушаются нуклеазами, присутствующими в клетках организма или во внешних источниках (бактерии или другие загрязнители окружающей среды) [4]. В зависимости от органа, из которого выделяются НК, скорость деградации различается, например, в поджелудочной железе и печени из-за повышенного содержания рибонуклеазы деградация РНК происходит быстрее, чем в мозге, где наблюдается высокая стабильность РНК после смерти [5]. В живом организме деградация НК контролируется механизмами репарации, которые останавливаются после смерти [6], таким образом для планирования преаналитического этапа исследования следует четко регламентировать ПМИ, в течение которого необходимо заложить биоматериал на хранение или начать экстракцию НК.

Настоящее исследование направлено на проведение сравнительного анализа эффективности коммерческих наборов для выделения ДНК из крови и тканей, а также РНК из тканей мышей, и оценить влияние ПМИ на качество и количество извлекаемых НК.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Качество выделения дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой кислот критически зависит от метода и типа биоматериала. После смерти животного нуклеиновые кислоты (НК) деградируют с разной скоростью в разных тканях.
- Существует множество коммерческих наборов для выделения НК, различающихся по принципу работы (магнитные частицы, спин-колонки) и эффективности.

Что добавляют результаты исследования?

- Прямое сравнение 10 наборов на одном материале выявило лидеров: для крови — колоночные наборы от производителей Qiagen (Германия) и Биолабмикс (Россия), для тканей — наборы GM Tissue (Биолабмикс, Россия) (максимальный выход) и QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Германия) (стабильность при автолизе).
- 24-часовой постмортальный интервал серьезно снижает количество и качество НК во всех тканях, кроме семенников. Наибольшая деградация рибонуклеиновой кислоты обнаружена в почках и мышцах.

Key messages

What is already known about the subject?

- The quality of deoxyribonucleic and ribonucleic acid extraction critically depends on the method and type of biomaterial. After death, nucleic acids (NA) degrade at different rates in different tissues.
- Numerous commercial RNA extraction kits exist, varying in their operating principles (magnetic particles, spin columns) and efficiency.

What might this study add?

- A direct comparison of 10 kits using the same material revealed the following leaders: for blood, column kits from Qiagen (Germany) and Biolabmix (Russia); for tissue, the GM Tissue kits (Biolabmix, Russia) (maximum yield) and the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Germany) (stable during autolysis).
- A 24-hour postmortem interval significantly reduces the quantity and quality of RNA in all tissues except the testes. The greatest degradation of RNA was found in the kidneys and muscles.

Материал и методы

Сбор биоматериала. Для отбора образцов использовали 12 мышей, самцов линии Balb/C, возрастом 7-9 нед. В виварии мышей содержали в системах индивидуально вентилируемых клеток на стандартном рационе, в контролируемом микроклимате.

Животных разделили на 2 группы по 6 голов в каждой. Эвтаназия проводилась методом цервикальной дислокации. Отбор биологического материала проводили сразу после эвтаназии (0 часов) и спустя сутки (24 ч). В течении суток тушки животных хранились при комнатной температуре (+20 ... +22 °C), что позволяет воссоздать условия внезапной гибели экспериментального животного, от которого необходимо провести забор материала.

Для отбора образцов крови проводили декапитацию. Кровь собирали в вакутейнеры с K₂-ЭДТА, аликвотировали в криопробирки и помещали на хранение при -20 °C. НК выделяли из печени, сердца, почек, легких, скелетных мышц, мозга, семенников. Часть тканей помещали в пустые маркированные криопробирки, которые сразу помещали в жидкий азот на долгосрочное хранение для дальнейшего выделения ДНК, остальную часть тканей помещали в криопробирки, содержащие раствор РНК-стабилизатора RNA-protect Tissue Reagent (Qiagen, Германия), после чего инкубировали при температуре +4 °C в течение 20 ч, удаляли раствор, а затем криопробирку с тканью помещали в жидкий азот для долгосрочного хранения.

Работу с лабораторными животными проводили в соответствии с Правилами лабораторной практики

в Российской Федерации (Приказ Минздрава России от 23.08.2010г № 706н) и правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей ETS № 123 (Страсбург, 18.03.1986г).

Выделение НК. Для сравнительного анализа проводили выделение ДНК из образцов крови, выделение ДНК и РНК из образцов тканей мышей. Для выделения ДНК были протестированы 10 коммерческих российских и зарубежных наборов, для выделения РНК из образцов тканей использовали только набор RNeasy Mini Kit (Qiagen, Германия) (таблица 1). В каждом случае выделение НК проводили вручную согласно протоколу производителя с обязательным контролем качества после завершения процедуры.

Контроль качества выделенных НК. Концентрацию ДНК измеряли флуориметрически на приборе Quantus (Promega Corporation, США) с помощью набора реагентов Quantifluor ONE dsDNA System (Thermo Fisher Scientific Inc., США), концентрацию РНК — на флуориметре Qubit (Thermo Fisher Scientific Inc., США) с помощью набора реагентов Qubit RNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Оценку показателей чистоты A260/A230 и A260/A280 проводили на приборе NanoDrop 8000 (Thermo Fisher Scientific, США). Оценку показателей целостности НК (DIN — степень деградации ДНК, RIN — степень деградации РНК) выполняли с помощью системы автоматического электрофореза 4200 TapeStation (Agilent Technologies, США), с использованием наборов реагентов Genomic DNA Reagents (Agilent Technologies, США), High Sensitivity D5000 Reagents (Agilent Technologies, США) для

Таблица 1

Краткая характеристика протестированных наборов для выделения НК

№	Название набора	Принцип выделения	Производитель	Страна производителя	Тип биоматериала	Тип НК
1	QIAamp DNA Blood Mini Kit	Колоночный метод	Qiagen	Германия	Кровь	ДНК
2	MagMAX DNA Multi-Sample Kit	Магнитные частицы	Thermo Fisher Scientific Inc	США	Кровь и др.	ДНК
3	PrepFiler Forensic DNA Extraction Kit	Магнитные частицы	Applied Biosystems	США	Кровь и др.	ДНК
4	M-Сорб	Магнитные частицы	Синтол	Россия	Кровь, ткани млекопитающих и др.	ДНК
5	MagAttract HMW DNA Kit	Магнитные частицы	Qiagen	Германия	Кровь	ДНК
6	D-Blood-5	Колоночный метод	Биолабмикс	Россия	Кровь и др.	ДНК
7	MagBlood-5	Магнитные частицы	Биолабмикс	Россия	Кровь	ДНК
8	QIAamp DNA Mini Kit	Колоночный метод	Qiagen	Германия	Ткань млекопитающих и др.	ДНК
9	GM Tissue	Магнитные частицы	Raissol Bio	Россия	Ткань млекопитающих и др.	ДНК
10	Tissue M	Магнитные частицы	Raissol Bio	Россия	Ткань млекопитающих и др.	ДНК
11	RNeasy Mini Kit	Колоночный метод	Qiagen	Германия	Ткань млекопитающих и др.	РНК

Примечание: ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, НК — нуклеиновая кислота, РНК — рибонуклеиновая кислота.

Таблица 2

Сравнительная характеристика параметров выделенной ДНК в зависимости от набора, $M \pm SD$

Название набора	Концентрация ДНК, нг/мкл	A260/280	A260/230	Средняя продолжительность процедуры, мин
QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия)	10,40±10,42	1,84±0,09	0,51±0,26	45
D-Blood-5 (Биолабмикс)	8,75±3,56	1,86±0,12	0,42±0,05	55
MagAttract HMW DNA Kit (Qiagen, Германия)	5,56±1,53	1,85±0,05	2,55±0,64	30
MagBlood-5 (Биолабмикс, Россия)	5,38±1,71	1,84±0,05	0,37±0,01	70
PrepFiler Forensic DNA Extraction Kit (Applied Biosystems, США)	0,83±0,34	2,13±0,09	0,18±0,20	215
M-Сорб (Синтол, Россия)	0,26±0,02	1,64±0,07	0,23±0,14	90
MagMAX DNA Multi-Sample Kit (Thermo Fisher Scientific, США)	0,45±0,61	1,59±0,58	0,09±0,13	170

Примечание: $M \pm SD$ — среднее \pm стандартное отклонение; ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота.

ДНК и набора реагентов RNA ScreenTape Assay (Agilent Technologies, США) для РНК.

Статистическая обработка. Статистический анализ полученных данных проводили при помощи R 4.5.1 используя оболочку RStudio (Version: 2025.05.01 Build 513 | Released: 2025-06-01, Posit Software, PBC). Для сравнения групп применяли непараметрический критерий Вилкоксона для независимых выборок и однофакторный дисперсионный анализ с поправкой на множественные сравнения. Для визуализации полученных данных применяли пакет ggplot2.

Результаты

Выделение ДНК из образцов крови

Проведенный сравнительный анализ 7 коммерческих наборов для выделения ДНК из крови животных позволил выявить различия по ключевым параметрам контроля качества (таблица 2). Следует отметить, что ДНК, выделенная с использовани-

ем 3 наборов — PrepFiler Forensic DNA Extraction Kit (Applied Biosystems, США), M-Сорб (Синтол, Россия) и MagMAX DNA Multi-Sample Kit (Thermo Fisher Scientific, США), имела крайне низкие значения концентрации (<1 нг/мкл), что не позволило получить достоверные результаты для соотношений A260/230 и A260/280. Данные по качеству, полученные с использованием этих наборов, в дальнейшем сравнении не использовались.

Наборы D-Blood-5 (Биолабмикс, Россия) и QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия) продемонстрировали высокие показатели концентрации ДНК, незначительно превышая показатели, полученные для остальных наборов (рисунок 1). Также отметим, что для всех 4 наборов, при использовании которых концентрация всех выделенных образцов ДНК была >1 нг/мкл, получено оптимальное значение соотношения A260/280, на-

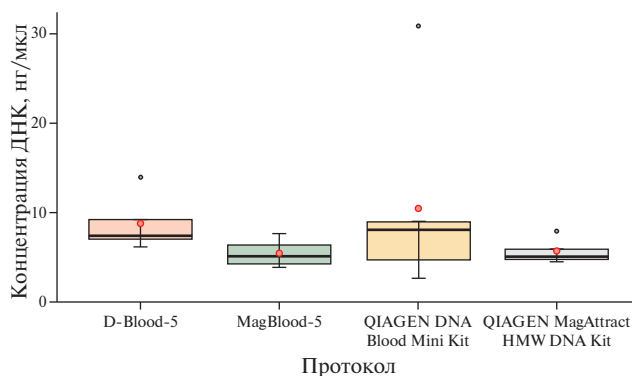


Рис. 1 Сравнение концентраций выделенной ДНК из образцов крови.

Примечание: ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

ходящееся в диапазоне ~1,8 [7]. Однако низкие показатели, полученные для соотношения A260/230, можно объяснить, с одной стороны, низкими значениями полученных концентраций, а с другой, — наличием дополнительных примесей различных органических соединений.

Для ряда образцов крови была проведена оценка показателя степени деградации ДНК (DIN) на представленных электрофореграммах образцов (рисунок 2). Отметим, что в результате выделения получены образцы высокомолекулярной ДНК с невысокой степенью деградации, что позволяет использовать полученную ДНК для проведения различных молекулярно-генетических анализов.

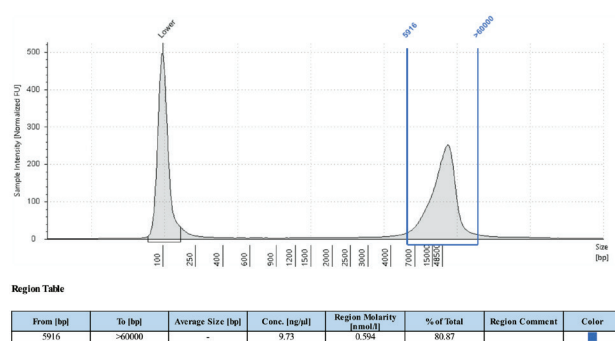
Особое внимание заслуживает параметр продолжительности выделения (таблица 1). Набор MagAttract HMW DNA Kit (Qiagen, Германия) показал наименьшее время обработки, что делает его предпочтительным для выполнения срочных исследований. Наибольшее время обработки потребовалось для выделения наборами PrepFile Forensic DNA Extraction Kit (Applied Biosystems, США) и MagMAX DNA Multi-Sample Kit (Thermo Fisher Scientific, США), при этом полученная ДНК отличается крайне низкими значениями концентрации.

Выделение ДНК из образцов тканей

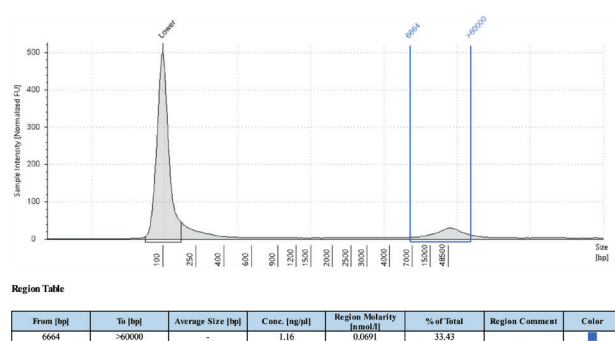
Выделение ДНК проводилось из контрольных (0 ч после эвтаназии) и опытных образцов тканей (24 ч после эвтаназии).

Для работы были использованы 3 коммерческих набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Германия), GM Tissue (Raissol Bio, Россия) и Tissue M (Raissol Bio, Россия). Согласно инструкции производителя набор Tissue M позволяет проводить выделения путем сорбции на магнитных частицах, а набор GM Tissue — классическим методом тотального спиртового осаждения НК. Набор от фирмы Qiagen предполагает проведение процедуры выделения с использованием спин-колонок.

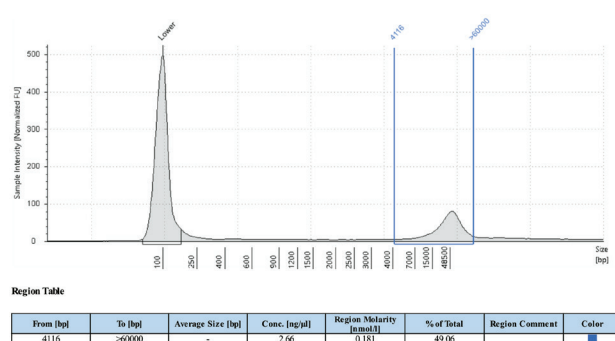
В случае работы с тканями животных наибольшие выходы концентрации ДНК получены при ис-



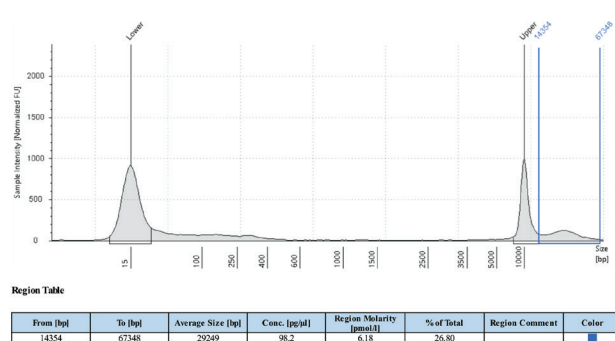
A



B



B



Г

Рис. 2 Электрофореграммы образцов выделенной геномной ДНК с использованием различных наборов: А. MagAttract HMW DNA Kit (Qiagen, Германия); Б. D-Blood-5 (Биолабмикс, Россия); В. MagBlood-5 (Биолабмикс, Россия); Г. QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия).

Примечание: ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота.

пользовании наборов GM Tissue (Raissol Bio, Россия) и Tissue M (Raissol Bio, Россия) для тканей сердца и скелетных мышц. Для остальных органов полу-

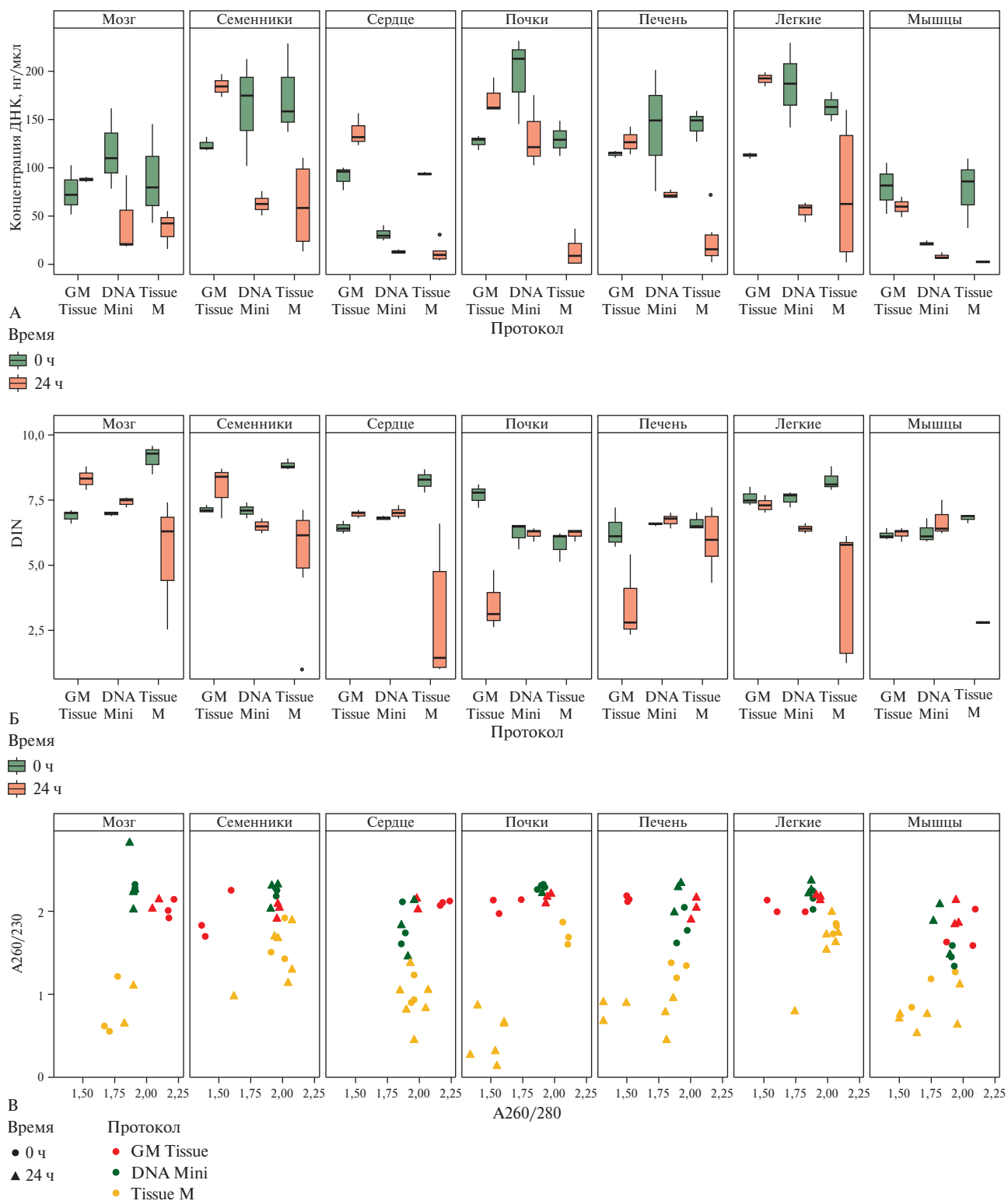


Рис. 3 А. Данные по концентрации выделенной ДНК, полученной с использованием 3 наборов; Б. Данные по степени деградации ДНК (DIN); В. Данные по соотношению A260/280 и A260/230. Примечание: ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, DIN — DNA Integrity Number (степень деградации ДНК). Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

ченные значения для всех трёх наборов не имеют достоверных различий. Также видно, что в течение 24 ч произошло значительное уменьшение количества

ДНК в тканях сердца, почек, печени и мышц при использовании набора Tissue M (Raissol Bio, Россия). Наименьшие различия концентрации в зави-

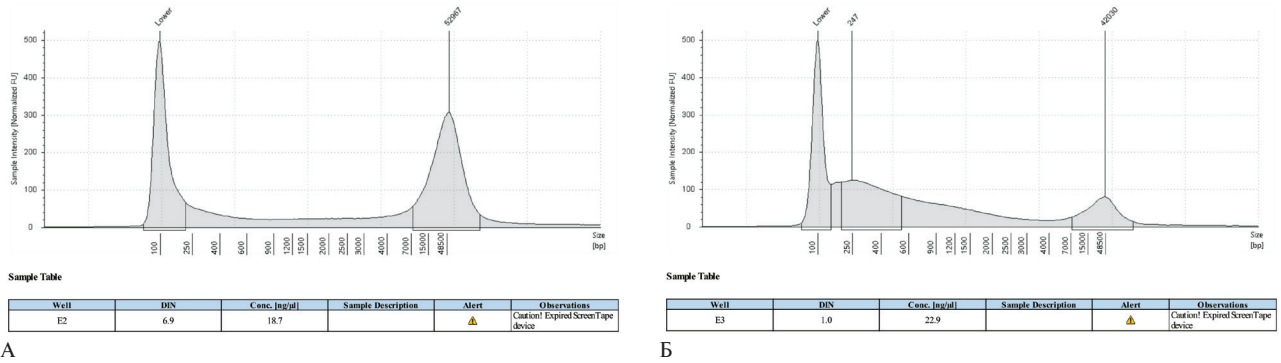


Рис. 4 Данные по степени деградации выделенной ДНК из образцов скелетных мышц с использованием набора Tissue M (Raissol Bio, Россия). А — мышца, 0 ч, Б — мышца, 24 ч.
Примечание: ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота.

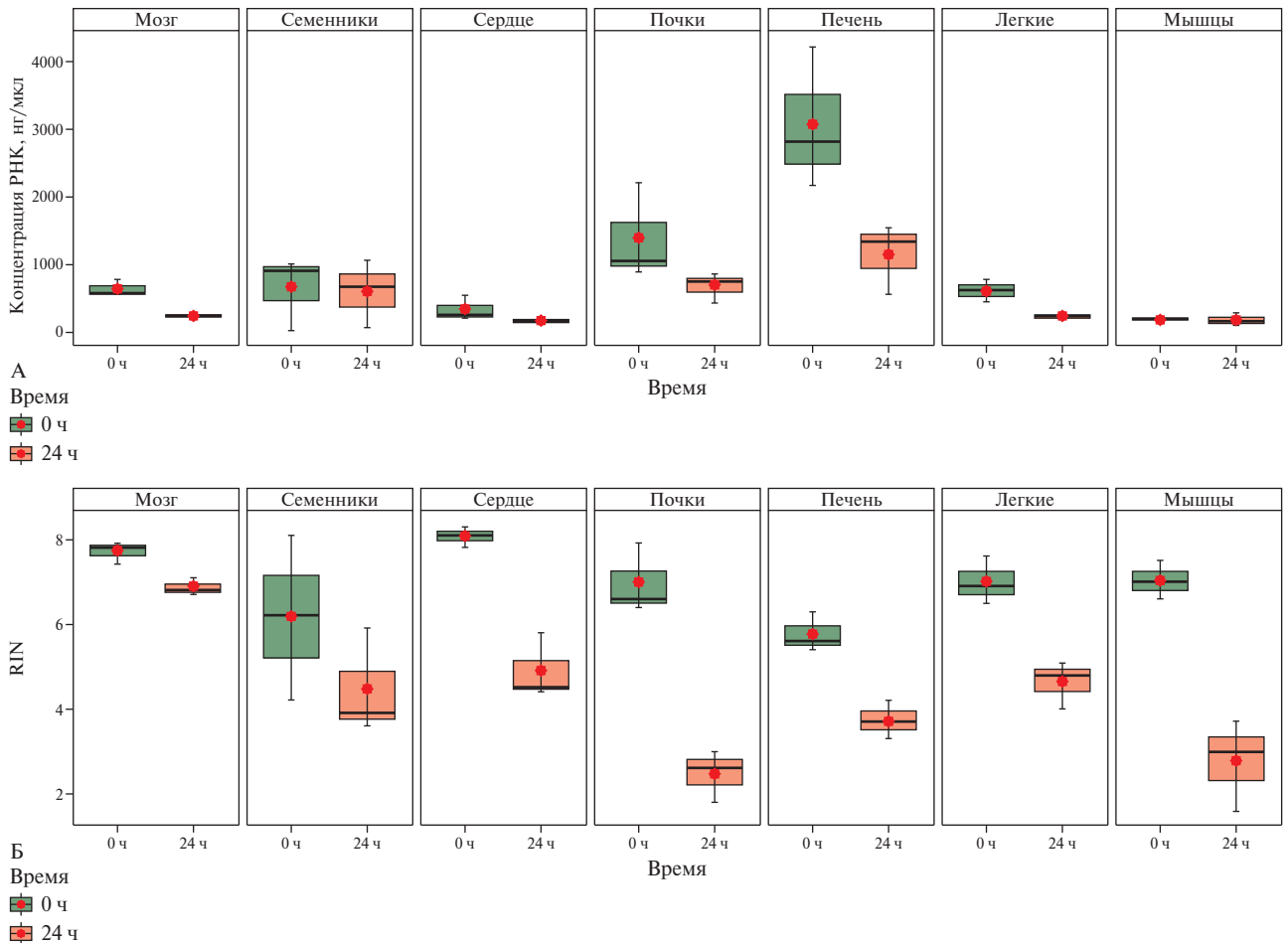


Рис. 5 А. Данные по концентрации выделенной РНК из различных тканей; Б. Данные по степени деградации выделенной РНК (показатель RIN).
Примечание: РНК — рибонуклеиновая кислота, RIN — RNA Integrity Number (степень деградации РНК).

симости от времени эвтаназии животного получены при использовании набора QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Германия) для образцов тканей мозга, печени и почек (рисунок 3 А).

Наиболее близкие к оптимальным показателям соотношения A260/280 и A260/230 получены при использовании набора QIAamp DNA Mini Kit (Qia-

gen, Германия), которые также сходятся для разных технических повторностей (рисунок 3 Б).

Значительные изменения в степени деградации ДНК получены при сравнении с контрольными образцами для тканей мозга, сердца, легких и скелетных мышц при использовании набора Tissue M (Raissol Bio, Россия) (рисунок 4).

Выделение РНК из образцов тканей

РНК выделяли из контрольных (0 ч после эвтаназии) и опытных образцов тканей (24 ч после эвтаназии). Для выделения образцов РНК из тканей также был использован только набор Qiagen RNEasy Mini kit (Qiagen, Германия), который позволил провести сравнительную оценку выхода РНК в зависимости от вида ткани животного и ПМИ.

Отметим, что наиболее высокие показатели концентрации РНК получены для таких тканей как печень и почки, наименьшие — для скелетных мышц. В зависимости от ПМИ, концентрация выделенной РНК закономерно снижалась во всех видах ткани, кроме половых органов (рисунок 5 А). В среднем, концентрация РНК в образцах при взятии органов через 24 ч после эвтаназии снизилась на 50%.

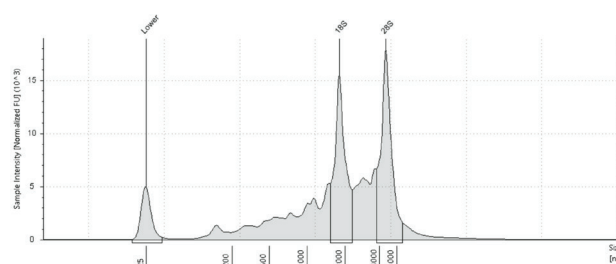
Аналогично снижается показатель степени деградации РНК (RIN — RNA integrity number,) в зависимости от ПМИ (рисунок 5 Б). Наименьшие различия между показателями RIN для контрольных и опытных образцов получены для тканей мозга и семенников, а наибольшей деградации подверглась РНК, выделенная из почек и скелетных мышц (таблица 3, рисунок 6). Показатель RIN является важным для оценки пригодности выделенной РНК для дальнейших исследований, особенно для анализов, когда важно наличие высокомолекулярной РНК (такие как секвенирование следующего поколения, NGS-секвенирование).

Обсуждение

Экстракция НК, полученных от модельных организмов, представляет собой критически значимый этап в проведении молекулярно-генетических исследований. В связи с этим важное значение приобретает оптимальный выбор реагентов и протоколов, обеспечивающих получение НК с высокими качественно-количественными показателями. В работе проведен сравнительный анализ эффективности коммерческих наборов для выделения геномной ДНК из образцов крови, также наборов для выделения ДНК или РНК из образцов различных типов ткани непосредственно после эвтаназии животного и спустя 24 ч автолизной деградации при комнатной температуре.

Полученные результаты свидетельствуют, что при выборе оптимального метода выделения следует учитывать несколько факторов: тип биоматериала, требуемое количество и чистоту НК, продолжительность работ.

Для выбора оптимального набора для выделения ДНК ключевым фактором является показатель концентрации [8]. Наилучшие значения при выделении ДНК из образцов крови животных были получены с использованием коммерческих наборов на основе спин-колонок, которые позволяли получить наибольший выход НК и оптимальные соот-



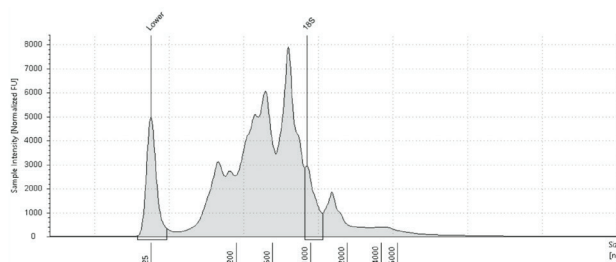
Sample Table

Well	RINc	28S/18S (Area)	Conc. (ng/μl)	Sample Description	Alert	Observations
D1	7.5	1.1	218	m0040040905	⚠	Caution! Expanded Screen Tape device

Peak Table

Size (nt)	Calibrated Conc. (ng/μl)	Assigned Conc. (ng/μl)	Peak Molarity (nmol/l)	% Integrated Area	Peak Comment	Observations
25	36.0	36.0	4340	-	-	Lower Marker
1823	56.6	-	81.7	46.52	-	18S
4662	58.2	-	36.7	53.48	-	28S

А



Sample Table

Well	RINc	28S/18S (Area)	Conc. (ng/μl)	Sample Description	Alert	Observations
C3	1.6	-	132	m0040300905	⚠	Caution! Expanded Screen Tape device. The upper ribosomal fragment has degraded

Peak Table

Size (nt)	Calibrated Conc. (ng/μl)	Assigned Conc. (ng/μl)	Peak Molarity (nmol/l)	% Integrated Area	Peak Comment	Observations
25	36.0	36.0	4240	-	-	Lower Marker
944	9.36	-	29.2	100.00	-	18S

Б

Рис. 6 Данные по степени деградации РНК для образцов тканей скелетных мышц контрольных (А) и опытных животных (Б). Примечание: РНК — рибонуклеиновая кислота.

Таблица 3
Концентрации и значения RIN для РНК, выделенной из тканей животных, M±SD

Ткань	ПМИ, ч	Концентрация РНК, нг/мкл	RIN
Легкое	0	617±164	7,0±0,6
Легкое	24	244±49	4,6±0,6
Мозг	0	648±119	7,7±0,3
Мозг	24	253±18	6,9±0,2
Печень	0	3066±1052	5,8±0,5
Печень	24	1152±525	3,7±0,5
Почка	0	1387±719	7,0±0,8
Почка	24	688±220	2,5±0,6
Семенники	0	656±546	6,2±2,0
Семенники	24	606±498	4,5±1,3
Сердце	0	340±180	8,1±0,3
Сердце	24	173±52	4,9±0,8
Мышцы	0	187±17	7,0±0,5
Мышцы	24	191±99	2,8±1,1

Примечание: M±SD — среднее ± стандартное отклонение; ПМИ — постмортальный интервал, РНК — рибонуклеиновая кислота, RIN — RNA Integrity Number (степень деградации РНК).

ношения показателей чистоты. Следует отметить, что такие наборы требуют дополнительных финансовых расходов при организации единой приборной линии для автоматизированного выделения, по сравнению с наборами на основе магнитных частиц [2].

Анализ влияния времени хранения образцов (0 ч и 24 ч после эвтаназии) выявил закономерное снижение во времени концентрации выделяемых НК. Наиболее выраженное уменьшение выхода наблюдалось для печени и скелетных мышц, что согласуется с предыдущими исследованиями влияния ПМИ на количественный выход ДНК [8].

Сравнение методов выделения по принципу действия показало, что сорбция на магнитные частицы (наборы GM Tissue и Tissue M, Raissol Bio, Россия) обеспечивает наибольший выход ДНК из тканей, но требует значительного времени. Колоночные методы (QIAamp DNA Mini Kit, Qiagen, Германия) демонстрируют более быстрое выделение НК, но с меньшей концентрацией. Продолжительность выделения для тканей оказалась значительно больше, чем для крови, достигая 22 ч для набора GM Tissue (Raissol Bio, Россия) из-за необходимости длительного лизиса, что, вероятно, положительно сказалось на выходе ДНК.

Набор GM Tissue (Raissol Bio, Россия) демонстрирует стабильно высокую эффективность при выделении ДНК из различных органов. В свежих образцах (0 ч) его преимущество обусловлено мощными ингибиторами нуклеаз, предотвращающими деградацию ДНК. Выделенная ДНК из тканей органов через 24 ч после эвтаназии, несмотря на начавшийся автолиз, имеет более высокие показатели контроля качества по сравнению с органами 0 ч после эвтаназии благодаря оптимизированному составу набора, эффективно работающему с частично разрушенными тканями. Особый случай представляют скелетные мышцы, где все наборы, включая GM Tissue (Raissol Bio, Россия), показывают классическую динамику — максимальный выход ДНК в свежих образцах [9]. Это объясняется устойчивой структурой мышечной ткани и низкой активностью нуклеаз. Этот результат подтверждает, что превосходство GM Tissue (Raissol Bio, Россия) для выделения ДНК и других органов отражает его реальные преимущества, а не методические погрешности.

Результаты исследования демонстрируют существенное влияние как типа ткани, так и продолжительности ПМИ на количественные и качественные показатели выделенной РНК. При сравнительном анализе характеристик выделения РНК из различных типов тканей, выявили, что наибольшая концентрация РНК характерна для образцов печени, а наименьшая для образцов мышц и сердца; полученные данные ожидаемы и соотносятся

с результатами работ Walker DG, et al. (2016) [10] и Yamamoto T, et al. (2012) [11]. Высокая концентрация РНК из тканей печени и почек связана с тем, что это наиболее метаболически активные ткани, которые характеризуются высоким уровнем транскрипции. В свою очередь, низкая концентрация в образцах мышечных тканей может быть связана с более низкой плотностью ядер [10].

Во всех исследованных тканях наблюдалось снижение концентрации и значения RIN при увеличении ПМИ до 24 ч, исключением являются образцы семенников, где падение концентрации и значения RIN было незначительным. В среднем, потеря концентрации составила ~50%, что указывает на сохранение активности нуклеаз после прекращения жизнедеятельности организма. Наиболее выраженная деградация наблюдалась в тканях почек и скелетных мышц, где значения RIN упали до критически низких значений — 2,5 и 2,8, соответственно, что делает полученные образцы РНК малоприспособными для большинства молекулярно-генетических исследований [12]. Особый интерес представляет стабильность РНК в тканях мозга и семенниках, что, скорее всего, связано с наличием ингибиторов рибонуклеаз, уникальным составом тканей или специфической упаковкой матричной РНК в рибонуклеопротеиновые комплексы [13, 14].

Полученные данные имеют важное значение для выбора оптимального набора в зависимости от типа биоматериала, определения допустимых сроков хранения и транспортировки биоматериала, а также интерпретации результатов при работе с архивными образцами и разработке протоколов для особо чувствительных к изменению условий хранения тканей. Перспективным направлением представляется дальнейшая оптимизация российских наборов для сокращения времени выделения без потери эффективности, что позволит создать конкурентоспособные продукты, превосходящие зарубежные аналоги по всем ключевым параметрам, а также разработка специализированных консервирующих растворов для различных типов тканей, позволяющих минимизировать процесс деградации НК при хранении.

Заключение

Таким образом, настоящее исследование позволило провести сравнительный анализ различных коммерческих наборов для выделения ДНК из крови и тканей животных, включая оценку динамики деградации НК (DIN) в зависимости от времени хранения биоматериала. Результаты демонстрируют значительную вариабельность эффективности методов в зависимости от типа биоматериала, принципа выделения и производителя реагентов. Оценка влияния ПМИ на выход и степень

деградации РНК позволит исследователям выбрать наиболее подходящий коммерческий набор для проведения первичного этапа молекулярно-генетического исследования.

Полученные данные имеют важное практическое значение для планирования сроков транспор-

тировки образцов в лабораторию, выбора оптимального метода забора биоматериала и выделения НК.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Filippova AV, Ryabuhina MV, Odnokov GN, et al. Comparative analysis of the efficiency of DNA extraction methods from animal tissues. *Bulletin of Nizhnevartovsk State University*. 2024;2:76-85. (In Russ.) Филиппова А. В., Рябухина М. В., Одиноков Г. Н. и др. Сравнительный анализ эффективности методов экстракции ДНК из тканей животных. *Вестник Нижневартовского государственного университета*. 2024;2:76-85. doi:10.36906/2311-4444/24-2/07.
2. Antonova OS, Korneva NA, Belov YuV, et al. Methods of nucleic acid purification and separation in molecular biology. *Nauchnoe priborostroenie*. 2010;20:1:3-9. (In Russ.) Антонова О. С., Корнева Н. А., Белов Ю. В. и др. Эффективные методы выделения нуклеиновых кислот для проведения анализов в молекулярной биологии. *Научное приборостроение*. 2010;20:1:3-9.
3. Esa MS, Faujan NH, Rajab HA, et al. Comparison of DNA Concentration and Purity of Animal Blood Extracted Using Different DNA Extraction Kits. *MJoSHT*. 2018;2(Special Issue). doi:10.33102/mjosht.v2i.42.
4. Żarczyńska M, Żarczyński P, Tomsia M. Nucleic Acids Persistence—Benefits and Limitations in Forensic Genetics. *Genes*. 2023;14(8):1643. doi:10.3390/genes14081643.
5. Bauer M. RNA in forensic science. *Forensic Sci Int Genet*. 2007; 1(1):69-74. doi:10.1016/j.fsigen.2006.11.002.
6. Chatterjee N, Walker GC. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*. 2017;58(5):235-63. doi:10.1002/em.22087.
7. Lucena-Aguilar G, Sánchez-López AM, Barberán-Aceituno C, et al. DNA Source Selection for Downstream Applications Based on DNA Quality Indicators Analysis. *Biopreserv Biobank*. 2016;14(4):264-70. doi:10.1089/bio.2015.0064.
8. Dilley K, Pagan F, Chapman B. Methods for ensuring the highest DNA concentration and yield in future and retrospective trace DNA extracts. *Sci Justice*. 2021;61(2):193-7. doi:10.1016/j.scijus.2020.11.005.
9. Al-Griw HH, Zraba ZA, Al-Muntaser SK, et al. Effects of storage temperature on the quantity and integrity of genomic DNA extracted from mice tissues: A comparison of recovery methods. *Open Vet J*. 2017;7(3):239-43. doi:10.4314/ovj.v7i3.7.
10. Walker DG, Whetzel AM, Serrano G, et al. Characterization of RNA isolated from eighteen different human tissues: results from a rapid human autopsy program. *Cell Tissue Bank*. 2016; 17(3):361-75. doi:10.1007/s10561-016-9555-8.
11. Yamamoto T, Nakashima K, Maruta Y, et al. Improved RNA extraction method using the BioMasher and BioMasher power-plus. *J Vet Med Sci*. 2012;74(12):1561-7. doi:10.1292/jvms.12-0213.
12. Li S, Liu J, Zhao M, et al. RNA quality score evaluation: A preliminary study of RNA integrity number (RIN) and RNA integrity and quality number (RNA IQ). *Forensic Sci Int*. 2024;357:111976. doi:10.1016/j.forsciint.2024.111976.
13. Bonadio RS, Nunes LB, Moretti PNS, et al. Insights into how environment shapes post-mortem RNA transcription in mouse brain. *Sci Rep*. 2021;11(1):13008. doi:10.1038/s41598-021-92268-y.
14. Latorre N, Dorda BA, Rey I, et al. RNA quality and protamine gene expression after storage of mouse testes under different conditions. *PLoS One*. 2024;19(11):e0314013. doi:10.1371/journal.pone.0314013.

Влияние долгосрочного хранения плазмы крови на профиль циркулирующих микроРНК

Киселева А. В.¹, Сотникова Е. А.¹, Жарикова А. А.^{1,2}, Куценко В. А.¹, Васильев Д. К.¹, Покровская М. С.¹, Ершова А. И.¹, Мешков А. Н.¹, Драпкина О. М.¹

¹ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России. Москва; ²ФГБОУ ВО "Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова". Москва, Россия

Цель. Оценить влияние длительного хранения биобанкированных образцов плазмы крови на профиль циркулирующих малых некодирующих молекул рибонуклеиновой кислоты (микроРНК).

Материал и методы. В исследование были включены парные аликвоты плазмы крови 10 пациентов из коллекции биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России. Контрольную группу составили образцы микроРНК, выделенные через 1,5 года после получения плазмы и хранившиеся далее в водном растворе 3,5 года. В группе с длительным хранением плазмы микроРНК была выделена из второй аликвоты плазмы через 5 лет. Все образцы хранились при -70 °С. Секвенирование было выполнено для обеих групп одновременно на платформе NextSeq 550 (Illumina, США) по протоколу High Output 1×75 п.н.

Результаты. Анализ главных компонент на основании данных об уровне экспрессии генов микроРНК человека (версия ENCODE v47) показал разнородность изучаемых групп. В группе с длительным хранением плазмы по сравнению с контролем было выявлено статистически значимое снижение концентрации и размера библиотек, а также более чем двукратное повышение уровня экспрессии для 31 микроРНК.

Заключение. Циркулирующие микроРНК показали более высокую стабильность при хранении в плазме крови, чем в водном растворе. Полученные результаты указывают на необходимость учета

времени хранения выделенной микроРНК наряду с другими преаналитическими факторами для повышения воспроизводимости исследований микроРНК.

Ключевые слова: микроРНК, малые некодирующие РНК, плазма, хранение, секвенирование следующего поколения, стандартизация.

Отношения и деятельность. Государственное задание "Свободно циркулирующие микроРНК плазмы крови как диагностические и прогностические биомаркеры ИБС".

Поступила 21/08-2025

Рецензия получена 26/08-2025

Принята к публикации 22/09-2025



Для цитирования: Киселева А. В., Сотникова Е. А., Жарикова А. А., Куценко В. А., Васильев Д. К., Покровская М. С., Ершова А. И., Мешков А. Н., Драпкина О. М. Влияние долгосрочного хранения плазмы крови на профиль циркулирующих микроРНК. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4550. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4550. EDN: DXJSGS

Effect of long-term plasma storage on the profile of circulating microRNAs

Kiseleva A. V.¹, Sotnikova E. A.¹, Zharikova A. A.^{1,2}, Kutsenko V. A.¹, Vasiliev D. K.¹, Pokrovskaya M. S.¹, Ershova A. I.¹, Meshkov A. N.¹, Drapkina O. M.¹

¹National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow; ²Lomonosov Moscow State University. Moscow, Russia

Aim. To assess the impact of long-term storage of biobanked plasma samples on the profile of circulating small non-coding ribonucleic acids (microRNAs).

Material and methods. The study included paired plasma aliquots from 10 patients from the biobank collection of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. The control group consisted of microRNA samples isolated 1,5 years after plasma collection and then stored in aqueous solution for 3,5 years. In the long-

term plasma storage group, microRNA was isolated from a second plasma aliquot after 5 years. All samples were stored at -70 °C. Sequencing was performed for both groups simultaneously on the NextSeq 550 platform (Illumina, USA) using the High Output 1×75 bp protocol.

Results. Principal component analysis based on human microRNA gene expression data (ENCODE v47) revealed heterogeneity between the study groups. In the long-term plasma storage group, compared to the control group, a significant decrease in library concentration

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: sanyutabe@gmail.com

[Киселева А. В.* — к.б.н., в.н.с., руководитель лаборатории молекулярной генетики Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0003-4765-8021, Сотникова Е. А. — с.н.с. лаборатории молекулярной генетики Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0002-8395-4146, Жарикова А. А. — к.б.н., в.н.с. лаборатории молекулярной генетики Института персонализированной терапии и профилактики; старший преподаватель факультета биоинженерии и биоинформатики, ORCID: 0000-0003-0723-0493, Куценко В. А. — к.ф.-м.н., с.н.с. лаборатории биостатистики отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0001-9844-3122, Васильев Д. К. — к.м.н., руководитель отдела инновационных эндоваскулярных методов профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний, ORCID: 0000-0003-2602-5006, Покровская М. С. — к.б.н., в.н.с. лаборатории "Банк биологического материала" Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0001-6985-7131, Ершова А. И. — д.м.н., руководитель лаборатории клиникоми, зам. директора по фундаментальной науке, ORCID: 0000-0001-7989-0760, Мешков А. Н. — д.м.н., руководитель Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0001-5989-6233, Драпкина О. М. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430].

Адреса организаций авторов: ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России, Петроввергский пер., д. 10, стр. 3, Москва, 101990, Россия; ФГБОУ ВО "Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова", Ленинские горы, д. 1, Москва, 119991, Россия.

Addresses of the authors' institutions: National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petroverigskiy Lane, 10, bld. 3, Moscow, 101990, Russia; Lomonosov Moscow State University, Leninskiye Gory, 1, Moscow, 119234, Russia.

and size was observed, as well as a more than twofold increase in expression levels for 31 microRNAs.

Conclusion. Circulating microRNAs demonstrated higher stability during storage in plasma than in aqueous solution. The obtained results indicate the need to consider the storage time of isolated microRNA, along with other preanalytical factors, to improve the reproducibility of microRNA studies.

Keywords: microRNA, small non-coding RNA, plasma, storage, next-generation sequencing, standardization.

Relationships and Activities. State assignment "Circulating MicroRNAs in Plasma as Diagnostic and Prognostic Biomarkers of CAD".

Kiseleva A. V.* ORCID: 0000-0003-4765-8021, Sotnikova E. A. ORCID: 0000-0002-8395-4146, Zharikova A. A. ORCID: 0000-0003-0723-0493, Kutsenko V. A. ORCID: 0000-0001-9844-3122, Vasiliev D. K. ORCID:

0000-0003-2602-5006, Pokrovskaya M. S. ORCID: 0000-0001-6985-7131, Ershova A. I. ORCID: 0000-0001-7989-0760, Meshkov A. N. ORCID: 0000-0001-5989-6233, Drapkina O. M. ORCID: 0000-0002-4453-8430.

*Corresponding author: sanyutabe@gmail.com

Received: 21/08-2025

Revision Received: 26/08-2025

Accepted: 22/09-2025

For citation: Kiseleva A. V., Sotnikova E. A., Zharikova A. A., Kutsenko V. A., Vasiliev D. K., Pokrovskaya M. S., Ershova A. I., Meshkov A. N., Drapkina O. M. Effect of long-term plasma storage on the profile of circulating microRNAs. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025; 24(11):4550. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4550. EDN: DXJSGS

кПЦР — количественная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (qRT-PCR), микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, РНК — рибонуклеиновая кислота, NGS — next generation sequencing (секвенирование следующего поколения), PCA — principal component analysis (анализ главных компонент), UMI — unique molecular identifiers (уникальные молекулярные идентификаторы).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- В настоящее время малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты (микроРНК) активно изучаются в качестве возможных биомаркеров различных заболеваний.
- Воспроизводимость результатов затруднена из-за различий в методах обработки биоматериала, типах образцов и отсутствия стандартизированных протоколов.

Что добавляют результаты исследования?

- Показано, что длительное хранение биообразцов может влиять на профиль циркулирующих микроРНК плазмы крови.
- Циркулирующие микроРНК более стабильны при хранении в плазме, чем в водном растворе.

Key messages

What is already known about the subject?

- Small non-coding ribonucleic acids (microRNAs) are currently being actively studied as potential biomarkers for various diseases.
- Reproducibility of results is hindered by differences in biomaterial processing methods, sample types, and the lack of standardized protocols.

What might this study add?

- We showed that long-term biosample storage can affect the profile of plasma circulating microRNAs.
- Circulating microRNAs are more stable when stored in plasma than in aqueous solution.

Введение

Малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты (микроРНК) — короткие одноцепочечные некодирующие рибонуклеиновые кислоты (РНК), длиной ~18-25 нуклеотидов. МикроРНК участвуют в посттранскрипционной регуляции, которая может приводить к деградации матричной РНК или ингибированию трансляции [1]. Внеклеточные микроРНК избегают деградации в плазме и сыворотке крови, поскольку они либо заключены в экзосомы и микровезикулы, либо связаны с белковыми комплексами [2, 3].

На сегодняшний день значительное количество исследований направлено на изучение возможности использования микроРНК в качестве биомаркеров различных заболеваний [4-6]. Накоплен большой массив данных, свидетельствующих о значительном влиянии преаналитических и аналитических факто-

ров на спектр и уровни циркулирующих микроРНК [7-10]. Результаты, полученные при исследовании микроРНК, не всегда воспроизводимы, что объясняется в т.ч. использованием различных биологических образцов, различных методов и отсутствием стандартизированных подходов [4, 5, 11, 12].

Исследования стабильности циркулирующих микроРНК плазмы крови при долгосрочном хранении немногочисленны [1, 10, 13, 14] и в большинстве из них для оценки уровня микроРНК использовался метод количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (кПЦР), который позволяет оценить только ограниченное число микроРНК.

Цель настоящего исследования — оценить влияние длительного хранения биобанкированных образцов плазмы крови на профиль циркулирующих микроРНК.

Таблица 1

Характеристика групп сравнения

Показатель, Me [Q25; Q75]	Группа с длительным хранением плазмы крови	Контрольная группа	p
Время хранения плазмы до выделения РНК (-80 °С), годы	5,0 [5,0; 5,0]	1,6 [1,6; 1,8]	0,005
Время хранения РНК до приготовления библиотек (-80 °С), дни/годы	21 [20; 21] день	3,3 [3,3; 3,3] года	0,005
Время хранения библиотек до секвенирования (-25 °С), дни	15 [15; 15]	44 [44; 44]	0,004
Концентрация микроРНК, нг/мкл	0,75 [0,67; 1,07]	0,85 [0,74; 0,95]	0,65
Концентрация библиотек, нг/мкл	3,01 [2,10; 4,46]	10,69 [8,12; 13,15]	0,002
Количество чтений на образец (размер библиотеки), млн	1,24 [1,15; 1,35]	1,83 [1,66; 2,02]	0,002
Количество чтений длиной >14 нуклеотидов после удаления UMI дубликатов, млн	0,98 [0,89; 1,04]	1,16 [0,98; 1,39]	0,027
Количество картированных чтений, млн	0,90 [0,83; 0,96]	0,79 [0,67; 0,81]	0,32
Количество картированных чтений, попавших в границы генов*, млн	0,20 [0,18; 0,26]	0,26 [0,22; 0,40]	0,027
TPM на образец (по генам человека) [†]	0,004 [0,003; 0,005]	0,025 [0,014; 0,03]	0,002
TPM на образец (по генам микроРНК)	104,15 [94,43; 115,85]	81,50 [69,36; 88,28]	0,064
Количество экспрессированных микроРНК (>2 чтений на микроРНК)	206,5 [198,2; 213,8]	182,0 [170,5; 198,5]	0,083
Количество экспрессированных микроРНК (>50 чтений на микроРНК)	81,0 [73; 90,25]	52,0 [48,5; 68;5]	0,049

Примечание: * — рассчитано для генов, на которые картировано хотя бы 2 чтения и как минимум в четверти образцов из выборки, [†] — версия ENCODE v47, микроРНК — малые некодирующие молекулы рибонуклеиновой кислоты, Me [Q25; Q75] — медиана [интерквартильный размах], TPM — tags per million reads (теги на миллион прочтений), UMI — unique molecular identifiers (уникальные молекулярные идентификаторы).

Материал и методы

Выборка. В исследование были включены образцы плазмы крови 10 пациентов, полученные в период с декабря 2019г по июль 2020г [15]. Возраст пациентов в момент взятия крови составлял 67,5 лет [63,5; 74,25], доля мужчин — 70%. Образцы плазмы были получены и хранились в коллекции биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России (далее Биобанк) [16]. Исследование одобрено Независимым этическим комитетом ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России (протоколы № 05-05/15 от 09.06.2015, № 02-02/22 от 17.03.2022). Все участники дали письменное информированное согласие.

Получение плазмы крови. Для взятия крови использовались пробирки с солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), а именно K₂ЭДТА, в качестве антикоагулянта, которые хранили при комнатной температуре не >1 ч до выделения плазмы. В Биобанке кровь центрифугировали 15 мин при 1200 г при +4 °С (5702 R, Eppendorf, Германия), после чего отбирали плазму, которую хранили при -70 °С (DF 590, Nuve, Турция) без циклов замораживания-оттаивания. В исследовании было использовано две аликвоты каждого образца плазмы. Одна аликвота каждого образца через год была использована для выделения РНК, которая далее хранилась в Биобанке при температуре -70 °С (контрольная группа, n=10). Из второй аликвоты плазмы РНК была выделена через 5 лет (группа с длительным хранением плазмы, n=10).

Выделение РНК. Перед выделением РНК биообразцы плазмы размораживали и центрифугировали при 16000 g в течение 15 мин при +4 °С. Супернатант отбирали и переносили в чистые пробирки, свободные от нуклеаз; образцы сразу использовались для выделения тотальной РНК, включая микроРНК, с помощью miRNeasy Serum/Plasma Advanced Kit (Qiagen, Германия). Сразу после выделения каждый образец РНК разделяли на аликвоты для хранения при -70 °С в Биобанке до дальнейшего анализа,

во избежание циклов размораживания-оттаивания. Концентрацию выделенной микроРНК определяли с использованием флуориметра Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США) и набора Qubit microRNA Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Ни в одном образце из включенных в исследование, не был детектирован гемолиз [15].

Секвенирование следующего поколения (NGS — next generation sequencing). Библиотеки для NGS были приготовлены с помощью набора QIAseq miRNA UDI Library Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с версией протокола производителя для сыворотки/плазмы ("Serum/Plasma") с использованием уникальных молекулярных идентификаторов (unique molecular identifiers, UMI). Концентрацию приготовленных библиотек определяли с помощью флуориметра Qubit 4 (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием набора Qubit IX dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США). При анализе с помощью Bioanalyzer 2100 (Agilent, США) средняя высота соответствующего димера адаптеров пика (178 п.н.) составляла ~50% высоты пика, соответствующего микроРНК (200 п.н.), дополнительная очистка от димеров с использованием электрофореза в полиакриламидном геле не проводилась. NGS было проведено на платформе NextSeq 550 (Illumina, США) по протоколу High Output 1×75 п.н.

Биоинформатический анализ. Для обработки UMI были использованы возможности пакета UMI-tools [17]. С помощью программы cutadapt [18] были оставлены чтения длиной не <14 нуклеотидов. Одноконцевые чтения в формате fastq были выровнены на референсный геном GRCh38 с помощью программы STAR [19]. Файлы с выравниванием чтений на референсный геном были отсортированы и проиндексированы с помощью программы Samtools [20]. Аннотация генов была реализована средствами программы featureCounts [21] с учетом цепь-специфичности со следующими параметрами: -O--largestOverlap -s 1 -t gene -g gene_id. Версия геномной аннота-

ции ENCODE v47 [22]. Для визуализации полученных результатов был использован пакет для языка R ggplot2 [23].

Статистический анализ. Статистический анализ проведен в среде R 4.2. Непрерывные параметры представлены в виде медианы и интерквартильного размаха — Me [Q25; Q75]; дискретные — в виде абсолютных значений и относительных частот.

Вычисление главных компонент (PCA, principal component analysis) проводилось для центрированных и нормированных данных с помощью пакета factextra [24]. Различия между двумя зависимыми выборками для уровней экспрессии оценивали при помощи стандартных тестов пакета DESeq2 (1.42.1) [25], для остальных непрерывных параметров — критерием Вилкоксона. Поправка на множественные сравнения проводилась на геномном уровне при помощи пакета DESeq2 (1.42.1) [25].

Следует отметить, что критерии и методы коррекции, предусмотренные пакетом DESeq2 по умолчанию разработаны для непарных данных геномного уровня, что может приводить к снижению мощности анализа в данном исследовании. Тем не менее их применение обосновано широкой распространенностью в данной области исследований и высокой воспроизводимостью результатов. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Для образцов обеих групп сравнения (контрольная группа и группа с длительным хранением плазмы) было проведено секвенирование в одном запуске в 2025г. Сравнительная характеристика обеих групп приведена в таблице 1.

Метод PCA был использован для определения однородности полученных данных и на основании данных об уровне экспрессии генов микроРНК человека показал разнородность двух групп (рисунок 1).

На основании данных NGS был проведен анализ дифференциальной экспрессии генов микроРНК человека. В группе с длительным хранением плазмы по сравнению с контролем обнаружено 116 микроРНК со статистически значимым повышением уровня экспрессии (рисунок 2, желтые, зеленые и красные точки), из которых у 86 наблюдалось более чем 2-кратное изменение (рисунок 2, зеленые и красные точки). Поскольку среднее количество чтений на образец составило 1,5 млн (при ожидаемых 5 млн согласно протоколу), для дальнейшего анализа установили пороговое значение среднего количества нормированных чтений (≥ 50 на выборку). После фильтрации число дифференциально экспрессируемых микроРНК составило 31 (рисунок 2, красные точки).

Обсуждение

Влияние долгосрочного (от 1 года) хранения плазмы крови при различных температурах на уровни циркулирующих микроРНК исследовалось ранее преимущественно с использованием кПЦР [1, 13, 14].

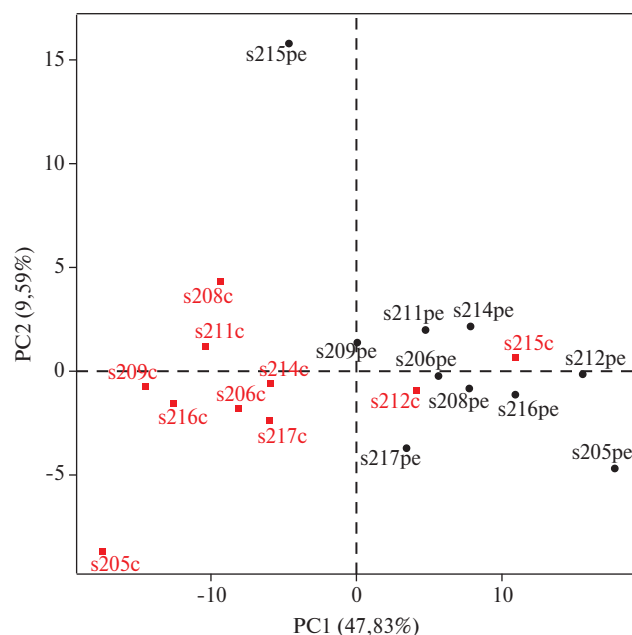


Рис. 1 Анализ главных компонент на основании данных об уровне экспрессии генов микроРНК человека.

Примечание: PC — главная компонента, красный квадрат обозначает контрольную группу, черный круг — группу с длительным хранением плазмы, суффикс "с" в названии образцов указывает на контрольную группу, "ре" — на группу с длительным хранением плазмы крови. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

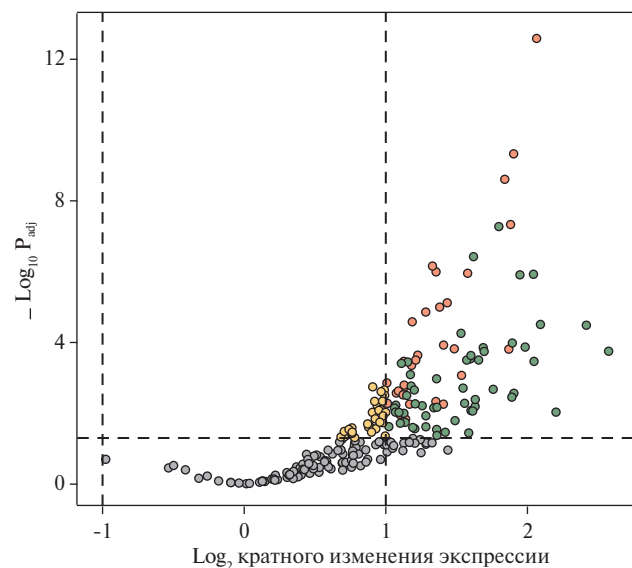


Рис. 2 Дифференциальная экспрессия генов микроРНК человека. Примечание: для всех микроРНК на графике ниже горизонтальной пунктирной линии не детектировано значимого изменения экспрессии между группами ($p_{adj} > 0,05$, серый цвет); желтый — микроРНК, у которых детектировано значимое изменение экспрессии ($p_{adj} < 0,05$) и кратное изменение экспрессии $<$ чем в 2 раза; зеленый — $p_{adj} < 0,05$ и $>$ чем в 2 раза изменение экспрессии; красные — $p_{adj} < 0,05$, $>$ чем в 2 раза изменение экспрессии и среднее количество чтений в образцах > 50 ; p_{adj} — p значения с поправкой на множественные сравнения. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

В двух из них количество проанализированных микроРНК было <10 [1, 14]. Наибольшее число микроРНК ($n=384$) было проанализировано в исследовании Page K, et al. (2013): при анализе микроРНК в 10 образцах плазмы больных раком, хранившихся в течение 12 лет, было детектировано меньшее число микроРНК по сравнению со свежими образцами плазмы (177 и 202, соответственно), при этом значения СТ и Δ СТ значимо не различались [13].

В отличие от кПЦР метод NGS позволяет охватить весь спектр микроРНК в образце [12]. Проведенный поиск литературы выявил только одну работу с использованием NGS [10]. Дизайн этого исследования совпадал с нашим по следующим параметрам: использовался тот же набор для приготовления библиотек, NGS было проведено на таком же секвенаторе с одноконцевыми прочтениями длиной 75 п.н. [10]. В то же время, протокол приготовления плазмы (однократное центрифугирование при 1200 g при $+4$ °C в течение 10 мин), набор для выделения РНК и размер выборки ($n=18$) различались.

Кроме того, в этой работе не приведено технических данных, касающихся секвенирования образцов эксперимента по хранению, но приводятся данные для других экспериментов: в среднем, было получено 7 млн ридов на образец, из них 3 млн было картировано и 2 млн были с UMI [10].

В уже упомянутой работе [10] было выполнено сравнение образцов плазмы крови, хранившихся 3 года, с образцами, хранившимися 4 и 5 лет. Однако из описания не ясно, выполнялось ли секвенирование сразу по истечении исследуемых сроков хранения (т.е. через 3, 4 и 5 лет после получения плазмы) или же одномоментно по завершении максимального срока хранения плазмы с различными сроками хранения выделенной микроРНК. В нашем исследовании максимальный срок хранения плазмы (5 лет, группа с длительным сроком хранения плазмы) совпадал с работой [10]. Однако срок хранения плазмы в контрольной группе был меньше (1,5 года), а выделенная РНК хранилась 3,5 года до приготовления библиотек и секвенирования.

Полученные нами результаты показали значимое снижение концентрации библиотек, что согласуется с результатами работы [10], где также было показано значимое снижение концентрации библиотек при сравнении плазмы, хранившейся 3 года и 5 лет. При этом более чем 2-кратное увеличение уровня было установлено лишь для одной микроРНК, тогда как в нашем исследовании — для 31 микроРНК.

Приготовление плазмы в настоящем исследовании и в исследовании Suzuki K, et al. (2022) проводилось по схожим протоколам, включавшим однократное центрифугирование при 1200 g, что соответствует стандартным протоколам биобанкирования [10]. Согласно данным литературы, однократное цен-

трифугирование не обеспечивает полного удаления тромбоцитов, а цикл замораживания/оттаивания плазмы резко увеличивает количество тромбоцитарных микрочастиц и существенно влияет на уровни детектируемых микроРНК [26]. Введение в пробоподготовку этапа дополнительного центрифугирования после разморозки плазмы перед выделением РНК способствует снижению количества остаточных тромбоцитов, но не позволяет полностью устранить контаминацию тромбоцитарными микроРНК [27]. Важно отметить, что в обеих сравниваемых группах настоящего исследования использовалась идентичная пробоподготовка плазмы крови и выделение РНК, что исключает возможность влияния различий в контаминации тромбоцитарными микроРНК на полученные результаты.

Ранее стабильность выделенной микроРНК при хранении после выделения была продемонстрирована только в одном исследовании с помощью оценки уровня spike-in микроРНК (cel-miR-39) в течение 12 мес. при -70 °C [2]. Полученные нами данные могут свидетельствовать о более высокой стабильности микроРНК при хранении в плазме (в составе экзосом и белковых комплексов) по сравнению с водными растворами, не содержащими нуклеаз.

Ограничением настоящего исследования был небольшой размер выборки и разная продолжительность сроков хранения библиотек до секвенирования в группах сравнения. Кроме того, количество чтений на образец, полученных в результате секвенирования, могло повлиять на глубину последующего анализа.

Заключение

Результаты исследования продемонстрировали статистически значимые различия между группами: в образцах с длительным хранением плазмы наблюдалось снижение концентрации и размера библиотек по сравнению с контролем, а также выявлено 31 микроРНК с уровнем экспрессии, превышающим контрольные значения более чем в 2 раза. Сравнительный анализ показал более высокую стабильность циркулирующих микроРНК при хранении в плазме относительно водного раствора. Эти данные указывают на необходимость учета продолжительности хранения биологических образцов как важнейшего преаналитического фактора, что имеет принципиальное значение для обеспечения воспроизводимости результатов исследований микроРНК.

Отношения и деятельность. Государственное задание "Свободно циркулирующие микроРНК плазмы крови как диагностические и прогностические биомаркеры ИБС".

Литература/References

- Matias-Garcia PR, Wilson R, Mussack V, et al. Impact of long-term storage and freeze-thawing on eight circulating microRNAs in plasma samples. *PLoS One*. 2020;15:e0227648. doi:10.1371/journal.pone.0227648.
- Sourvinou IS, Markou A, Lianidou ES. Quantification of circulating miRNAs in plasma: effect of preanalytical and analytical parameters on their isolation and stability. *J Mol Diagn*. 2013;15:827-34. doi:10.1016/j.jmoldx.2013.07.005.
- O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, et al. Overview of MicroRNA biogenesis, mechanisms of actions, and circulation. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:402. doi:10.3389/fendo.2018.00402.
- Mikhailina VI, Meshkov AN, Kiseleva AN, et al. MicroRNA as biomarkers of coronary artery disease in real-world practice. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(12):4225. (In Russ.) Михайлина В. И., Мешков А. Н., Киселева А. В. и др. МикроРНК как биомаркеры ишемической болезни сердца для использования в клинической практике. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2024;23(12):4225. doi:10.15829/1728-8800-2024-4225.
- Kiseleva AV, Sotnikova EA, Kutsenko VA, et al. Circulating microRNAs and collateral circulation in coronary chronic total occlusion. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024; 23(10):4190. (In Russ.) Киселева А. В., Сотникова Е. А., Куценко В. А. и др. Циркулирующие микроРНК и развитие коллатерального кровообращения при хронической окклюзии коронарной артерии. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2024;23(10):4190. doi:10.15829/1728-8800-2024-4190.
- Wang J, Chen J, Sen S. MicroRNA as biomarkers and diagnostics. *J Cell Physiol*. 2016;231:25-30. doi:10.1002/jcp.25056.
- Chan S-F, Cheng H, Goh KK-R, et al. Preanalytical Methodological Considerations and Sample Quality Control of Circulating miRNAs. *J Mol Diagn*. 2023;25:438-53. doi:10.1016/j.jmoldx.2023.03.005.
- Sotnikova EA, Kiseleva AV, Meshkov AN. Effect of plasma and serum storage conditions on circulating microRNA levels. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(11):4180. (In Russ.) Сотникова Е. А., Киселева А. В., Мешков А. Н. Влияние условий хранения плазмы и сыворотки на уровни циркулирующих микроРНК. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2024;23(11):4180. doi:10.15829/1728-8800-2024-4180.
- Sotnikova EA, Kiseleva AV, Meshkov AN. Preanalytical factors affecting the plasma and serum levels of circulating microRNAs. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(11):4179. (In Russ.) Сотникова Е. А., Киселева А. В., Мешков А. Н. Факторы преаналитического этапа, влияющие на уровни циркулирующих микроРНК плазмы и сыворотки крови. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2024;23(11):4179. doi:10.15829/1728-8800-2024-4179.
- Suzuki K, Yamaguchi T, Kohda M, et al. Establishment of pre-analytical conditions for microRNA profile analysis of clinical plasma samples. *PLoS One*. 2022;17:e0278927. doi:10.1371/journal.pone.0278927.
- Brunet-Vega A, Pericay C, Quílez ME, et al. Variability in microRNA recovery from plasma: Comparison of five commercial kits. *Anal Biochem*. 2015;488:28-35. doi:10.1016/j.ab.2015.07.018.
- Coenen-Stass AML, Magen I, Brooks T, et al. Evaluation of methodologies for microRNA biomarker detection by next generation sequencing. *RNA Biol*. 2018;15:1133-45. doi:10.1080/15476286.2018.1514236.
- Page K, Guttery DS, Zahra N, et al. Influence of plasma processing on recovery and analysis of circulating nucleic acids. *PLoS One*. 2013;8:e77963. doi:10.1371/journal.pone.0077963.
- Balzano F, Deiana M, Dei Giudici S, et al. miRNA Stability in Frozen Plasma Samples. *Molecules*. 2015;20:19030-40. doi:10.3390/molecules201019030.
- Kiseleva AV, Vasilyev DK, Soplenskova AG, et al. Association of plasma microRNA levels with different collateral circulation degree in chronic total occlusion patients with coronary artery disease: a pilot study. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2024;23(7):4086. (In Russ.) Киселева А. В., Васильев Д. К., Сопленкова А. Г. и др. Ассоциация уровней микроРНК плазмы крови с различной выраженностью коллатерального кровообращения при хронической окклюзии коронарной артерии у пациентов с ишемической болезнью сердца: пилотное исследование. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2024;23(7):4086. doi:10.15829/1728-8800-2024-4086.
- Kopylova OV, Ershova AI, Pokrovskaya MS, et al. Population-nosological research biobank of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine: analysis of bio-samples, principles of collecting and storing information. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(8):3119. (In Russ.) Копылова О. В., Ершова А. И., Покровская М. С. и др. Популяционно-нозологический исследовательский биобанк "НМИЦ ТПМ": анализ коллекций биообразцов, принципы сбора и хранения информации. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(8):3119. doi:10.15829/1728-8800-2021-3119.
- Smith T, Heger A, Sudbery I. UMI-tools: modeling sequencing errors in Unique Molecular Identifiers to improve quantification accuracy. *Genome Res*. 2017;27:491-9. doi:10.1101/gr.209601.116.
- Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet J*. 2011;17:10. doi:10.14806/ej.17.1.200.
- Dobin A, Davis CA, Schlesinger F, et al. STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinformatics*. 2013;29:15-21. doi:10.1093/bioinformatics/bts635.
- Danecek P, Bonfield JK, Liddle J, et al. Twelve years of SAMtools and BCFtools. *GigaScience*. 2021;10:giab008. doi:10.1093/gigascience/giab008.
- Liao Y, Smyth GK, Shi W. featureCounts: an efficient general purpose program for assigning sequence reads to genomic features. *Bioinformatics*. 2014;30:923-30. doi:10.1093/bioinformatics/btt656.
- ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*. 2012;489:57-74. doi:10.1038/nature11247.
- Wickham H. *Ggplot2: Elegant graphics for data analysis*. New York, NY: Springer; 2009.
- Kassambara A, Mundt F. Package "factoextra". Extract and visualize the results of multivariate data analyses. 2017;76:10-18637.
- Love MI, Huber W, Anders S. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol*. 2014;15:550. doi:10.1186/s13059-014-0550-8.
- Mitchell AJ, Gray WD, Hayek SS, et al. Platelets confound the measurement of extracellular miRNA in archived plasma. *Sci Rep*. 2016;6:32651. doi:10.1038/srep32651.
- Binderup HG, Houliind K, Madsen JS, et al. Pre-storage centrifugation conditions have significant impact on measured microRNA levels in biobanked EDTA plasma samples. *Biochem Biophys Rep*. 2016;7:195-200. doi:10.1016/j.bbrep.2016.06.005.

Внедрение модулей по биобанкированию в образование студентов медицинских вузов и обучающихся по программе ординатуры

Бондаренко Е. В.¹, Сухоруков В. С.^{2,3}, Пигарова Е. А.¹, Борисова А. Л.⁴,
Покровская М. С.⁴, Мокрышева Н. Г.¹

¹ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии им. акад. И. И. Дедова" Минздрава России. Москва; ²ФГБНУ "Российский центр неврологии и нейронаук". Москва; ³ФГАОУ ВО "Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова" Минздрава России. Москва; ⁴ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России. Москва, Россия

Цель. Рассмотреть специфику внедрения образовательных модулей по биобанкированию на основе опыта проведения циклов ротации в лабораториях ФГБУ "НМИЦ эндокринологии им. акад. И. И. Дедова" Минздрава России для ординаторов 1 и 2 года обучения по специальностям "Эндокринология" и "Детская эндокринология", а также по результатам проведения дополнительного внеурочного модуля по биобанкированию на базе РНИМУ им. Н. И. Пирогова.

Материал и методы. Проведено ретроспективное исследование на двух базах. В ФГБУ "НМИЦ эндокринологии им. акад. И. И. Дедова" проанализированы результаты прохождения модуля "Биобанк" в рамках лабораторной ротации 75 ординаторов 1-2 года обучения (специальность "Эндокринология", "Детская эндокринология") за 2023-2025 гг. На базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России изучены мотивация и результаты обучения 19 студентов 1 курса, выбравших дополнительный модуль "Основы биобанкирования". Использовались методы опроса, анализа проектных работ и статистические методы обработки аналитических данных.

Результаты. Установлен низкий исходный уровень осведомленности о биобанкировании в обеих группах. После прохождения модуля 100% участников сформировали нейтральное или позитивное отношение к биобанкированию. Выявлены ключевые мотивационные факторы: для ординаторов — карьерные перспективы (34,7% тех, кто прошли модуль, поступили в аспирантуру) и получение дополнительных баллов; для студентов — личный интерес к новым технологиям (89%) и возможность экскурсии в действующий биобанк. Краткосрочный модульный формат показал высокую эффективность для начального погружения в тему.

Заключение. Внедрение краткосрочных образовательных модулей по биобанкированию является эффективным инструментом повышения осведомленности и формирования позитивного от-

ношения к биобанкам будущих медицинских специалистов. Успех внедрения зависит от учета специфики целевой аудитории: для ординаторов акцент должен быть на практическую и карьерную составляющую, для студентов — на инновационность и междисциплинарность. Полученные данные обосновывают необходимость дальнейшей интеграции основ биобанкирования в программы непрерывного медицинского образования.

Ключевые слова: биобанкирование, биобанк, медицинское образование, образовательные модули, ординатура, мотивация, осведомленность, непрерывное образование, персонализированная медицина.

Отношения и деятельность: нет.

Благодарности. Авторы выражают благодарность руководству РНИМУ им. Н. И. Пирогова, ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России за возможность проведения модулей с активным участием их баз.

Поступила 26/08-2025

Рецензия получена 06/10-2025

Принята к публикации 13/10-2025



Для цитирования: Бондаренко Е. В., Сухоруков В. С., Пигарова Е. А., Борисова А. Л., Покровская М. С., Мокрышева Н. Г. Внедрение модулей по биобанкированию в образование студентов медицинских вузов и обучающихся по программе ординатуры. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4559. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4559. EDN: BSETGN

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: ekaterinabondarenko@inbox.ru

[Бондаренко Е. В.* — к.м.н., руководитель Центра биобанкирования ГНЦ РФ, ORCID: 0000-0003-2122-2297, Сухоруков В. С. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией нейроморфологии, г.н.с. Института мозга, профессор кафедры морфологии Института анатомии и морфологии им. акад. Ю. М. Лопухина, ORCID: 0000-0002-0552-6939, Пигарова Е. А. — д.м.н., профессор, директор Института высшего и дополнительного профессионального образования ГНЦ, ORCID: 0000-0001-6539-466X, Борисова А. Л. — н.с., руководитель лаборатории "Банк биологического материала" Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0003-4020-6647, Покровская М. С. — к.б.н., в.н.с. лаборатории "Банк биологического материала" Института персонализированной терапии и профилактики ФГБУ, ORCID: 0000-0001-6985-7131, Мокрышева Н. Г. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор ГНЦ РФ, ORCID: 0000-0002-9717-9742].

Адреса организаций авторов: ФГБУ "НМИЦ эндокринологии им. акад. И. И. Дедова" Минздрава России, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, Москва, 117292, Россия; ФГБНУ "Российский центр неврологии и нейронаук", Волоколамское шоссе, д. 80, Москва, 125367, Россия; ФГАОУ ВО "РНИМУ им. Н. И. Пирогова" Минздрава России (Пироговский Университет), ул. Островитянова, д. 1, Москва, 117513, Россия; ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России, Петроверигский пер., 10, стр. 3, Москва, 101990, Россия.

Addresses of the authors' institutions: Dedov National Medical Research Center of Endocrinology, Dmitry Ulyanov str., 11, Moscow, 117292, Russia; Russian Center of Neurology and Neurosciences, Volokolamskoe shosse, 80, Moscow, 125367, Russia; Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation (Pirogov University), Ostrovityanova str., 1, Moscow, 117513, Russia; National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petroverigsky Lane, 10, bld. 3, Moscow, 101990, Russia.

Implementation of biobanking modules in the education of medical students and residents

Bondarenko E. V.¹, Sukhorukov V. S.^{2,3}, Pigarova E. A.¹, Borisova A. L.⁴, Pokrovskaya M. S.⁴, Mokrysheva N. G.¹¹Dedov National Medical Research Center of Endocrinology. Moscow; ²Russian Center of Neurology and Neurosciences. Moscow; ³Pirogov Russian National Research Medical University. Moscow; ⁴National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow, Russia

Aim. To examine the specifics of implementing biobanking educational modules based on rotation cycles in the laboratories of the Dedov National Medical Research Center of Endocrinology for first- and second-year Endocrinology and Pediatric Endocrinology residents, as well as based on an additional extracurricular module on biobanking at the Pirogov Russian National Research Medical University.

Material and methods. This retrospective study was conducted at two sites. At the Dedov National Medical Research Center of Endocrinology, the results of the Biobank module within a laboratory rotation for 75 first- and second-year residents (specializing in Endocrinology and Pediatric Endocrinology) in 2023-2025, were analyzed. At the Pirogov Russian National Research Medical University, the motivation and learning results of 19 first-year students who chose the additional Fundamentals of Biobanking module were studied. Survey methods, project analysis, and statistical methods for processing analytical data were used.

Results. A low baseline level of biobanking awareness was found in both groups. After completing the module, 100% of participants expressed a neutral or positive attitude toward biobanking. Following key motivational factors were identified: for residents, career prospects (34,7% of those who completed the module were admitted to postgraduate education) and earning additional credits; for students, personal interest in new technologies (89%) and the opportunity to visit an operating biobank. The short-term modular format proved to be very effective for initial immersion in biobanking.

Conclusion. The implementation of short-term educational modules on biobanking is an effective tool for raising awareness and fostering a positive attitude toward biobanks among future medical professionals. Successful implementation depends on target audience specifics. For residents, the emphasis should be on practical and career-oriented components, while for students — on innovation and interdisciplinarity.

The data obtained substantiate the need for further integration of biobanking principles into continuing medical education programs.

Keywords: biobanking, biobank, medical education, educational modules, residency, motivation, awareness, continuing education, personalized medicine.

Relationships and Activities: none.

Acknowledgments. The authors are grateful to the management of the Pirogov Russian National Research Medical University and the National Medical Research Center for Therapeutic and Preventive Medicine for the opportunity to conduct modules with the active participation of their databases.

Bondarenko E. V.* ORCID: 0000-0003-2122-2297, Sukhorukov V. S. ORCID: 0000-0002-0552-6939, Pigarova E. A. ORCID: 0000-0001-6539-466X, Borisova A. L. ORCID: 0000-0003-4020-6647, Pokrovskaya M. S. ORCID: 0000-0001-6985-7131, Mokrysheva N. G. ORCID: 0000-0002-9717-9742.

*Corresponding author: ekaterinabondarenko@inbox.ru

Received: 26/08-2025

Revision Received: 06/10-2025

Accepted: 13/10-2025

For citation: Bondarenko E. V., Sukhorukov V. S., Pigarova E. A., Borisova A. L., Pokrovskaya M. S., Mokrysheva N. G. Implementation of biobanking modules in the education of medical students and residents. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4559. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4559. EDN: BSETGN

НАСБИО — Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию.

Введение

В настоящее время биобанкирование внедряется во все отрасли медицинских и биологических наук, становится неотъемлемой частью проведения различных исследований. Это обуславливает необходимость организации образования в данной области. Для работы в этом направлении существует различный спектр возможностей, однако лишь небольшое количество образовательных организаций предлагают специализированное обучение, включающее углубленную практическую и теоретическую подготовку. При этом уровень осведомленности о биобанкировании среди врачей различных специальностей остается невысоким [1]. Проблема обучения биобанкированию в структуре современного медицинского образования стала сегодня предметом самостоятельного рассмотрения. Для повышения эрудированности современных специалистов экспертами российской Национальной ассоциации биобанков и специалистов по биобан-

кированию (НАСБИО) был разработан глоссарий, объединяющий как медицинские, так и биологические термины в области биобанкирования [2].

Одним из направлений деятельности НАСБИО является популяризация биобанкирования в профессиональном сообществе и проведение образовательных проектов, в т.ч. посредством формирования педагогических коллабораций на базе организаций — членом ассоциации [3].

Согласно международным и российским данным, существует много профессиональных узконаправленных образовательных программ различного уровня сложности и продолжительности, которые позволяют приобрести знания и навыки специалиста в системе биобанкирования [4]. Однако, несмотря на доступность образовательных ресурсов, остается вопрос о первоначальном знакомстве с системой биобанкирования как действующих врачей, так и обучающихся. В 2025г были опубликованы данные, в которых многогранно описываются со-

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Биобанкирование стало неотъемлемой частью современных медицинских и биологических исследований.
- Уровень осведомленности студентов медицинских вузов и ординаторов о принципах работы биобанков сегодня невысок, что не позволяет использовать их возможности в научной и клинической практике в полной мере.

Что добавляют результаты исследования?

- Формирование устойчивого интереса студентов медицинских вузов и ординаторов к прохождению модулей по биобанкированию, создание мотивационной базы, организация краткосрочных модулей как оптимального формата обучения обеспечивают определенный уровень погружения обучающихся в работу биобанков.
- Внедрение модулей по биобанкированию в образование студентов медицинских вузов и ординаторов повышает эффективность их профессиональной подготовки и способствует реализации научного потенциала обучающихся на основе использования биобанка как материальной, так и информационной базы.

Key messages

What is already known about the subject?

- Biobanking has become an integral part of modern medical and biological research.
- Medical students and residents are currently poorly aware of biobank operation, what prevents them from fully realizing their potential in research and clinical practice.

What might this study add?

- Generating sustained interest among medical students and residents in completing biobanking modules, creating a motivational base, and organizing short-term modules as an optimal training format ensures an immersion in biobanking.
- The introduction of biobanking modules into the education of medical students and residents increases the effectiveness of their professional training and promotes the realization of students' scientific potential based on the use of a biobank as both a material and information base.

временные проблемы недостаточного использования биобанков, связанного с малой информированностью даже среди медицинского сообщества [5]. При этом в других исследованиях указывают, что отсутствие ясности в организации и правовом обеспечении биобанков является основной причиной низкого уровня взаимодействия с ними медицинских специалистов [6].

Непрерывность медицинского образования, а также имеющиеся возможности удаленного доступа к информации за последние годы обусловили модернизацию принципов преподавания и привели к объединению как фундаментальных, так и клинических знаний с практическими навыками. Это определило развитие модульного обучения, при котором структурирование учебного материала происходит вокруг ключевых тем или проблем, объединяя знания и навыки из разных дисциплин. Таким образом, введение краткосрочных модулей в образовательные циклы позволит сформировать представления о возможностях работы с биобанком в целях профессионального роста.

Цель настоящего исследования — рассмотреть специфику внедрения образовательных модулей по биобанкированию на основе опыта проведения циклов ротации в лабораториях ФГБУ "НМИЦ эндокринологии им. акад. И. И. Дедова" Минздрава России для ординаторов первого и второго годов

обучения по специальностям "Эндокринология" и "Детская эндокринология", а также по результатам проведения дополнительного внеурочного модуля по биобанкированию на базе ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России.

Задачи исследования — изучить мотивационную базу для освоения основ биобанкирования обучающимися; обобщить имеющийся опыт передачи знаний о биобанкировании; рассмотреть организационные вопросы внедрения образовательных модулей по биобанкированию.

Материал и методы

Перспективное наблюдательное исследование с элементами ретроспективного анализа проводилось на базе ФГБУ "НМИЦ эндокринологии им. акад. И. И. Дедова" Минздрава России и включало: анализ прохождения ротации в лабораториях ординаторов первого и второго годов обучения, отслеживание их мотивации к дальнейшей научной деятельности. Ротация ординаторов в ФГБУ "НМИЦ эндокринологии им. академика И. И. Дедова" Минздрава России проходит с 2021г, а с 2023г была разделена на модули в зависимости от специфики лабораторий, включая Центр биобанкирования, на базе которого был организован модуль "Биобанк". Он состоял из лекционного материала, доступ к которому обеспечивался за неделю до проведения практических занятий, самих практических занятий, проходящих как в режиме обсуждения полученных ранее

знаний и разбора клинических примеров, так и в виде непосредственной самостоятельной работы под контролем сотрудников биобанка.

По завершении ротации контроль за полученными знаниями осуществлялся путем оценки представленных обучающимися научно-практических проектов, в которых освещалась работа каждого лабораторного блока, включая биобанк.

В настоящее исследование вошли данные о прохождении ротации 75 ординаторов за период с 2023 по 2025 гг. Средний возраст ординаторов — $25,3 \pm 1,8$ лет, женщины составили 93,3% выборки ($n=70$), мужчины — 6,6% ($n=5$).

Работа выполнена с использованием материалов Уникальной научной установки "Коллекция биологического материала пациентов с эндокринными патологиями" Государственного научного центра Российской Федерации ФГБУ "НМИЦ эндокринологии им. акад. И. И. Дедова" Минздрава России (Москва, Россия).

Во второй блок представляемого исследования вошли данные о студентах, выбравших "Основы биобанкирования" как дополнительный образовательный модуль. Всего приняло участие 19 студентов первого курса лечебного факультета РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Средний возраст студентов — $18,4 \pm 0,7$ лет. Женщины составили 68,4% выборки ($n=13$), мужчины — 31,6% ($n=6$). В ходе обучения путем опроса были установлены причины интереса к данному модулю и его выбора, оценены личные результаты его прохождения.

В исследовании применялись следующие методы сбора данных:

- полуструктурированные интервью с участниками образовательных программ;
- анализ учебной документации и результатов промежуточной аттестации;
- наблюдение за учебной деятельностью в ходе практических занятий;
- экспертная оценка научно-практических проектов.

Проведен статистический анализ: данные обрабатывались с использованием методов описательной статистики.

Результаты

По итогам проведенного исследования установлено, что осведомленность как среди ординаторов, так и среди студентов о вопросах биобанкирования низкая и появляется только при сотрудничестве с учреждениями, на базе которых уже имеются действующие биобанки. Лишь 18,7% ординаторов ($n=14$) и 5,3% студентов ($n=1$) смогли правильно определить основные принципы организации биобанков. Стоит отметить, что ни один из участников исследований не высказал негативного отношения к функционированию системы биобанкирования в современной системе здравоохранения, что является важным для внедрения дополнительных образовательных модулей.

Вопрос об осведомленности и возможности ориентироваться в системе биобанкирования всех специалистов в области здравоохранения являет-

ся крайне важным для страны в целом потому, что ориентация на мультидисциплинарный персонализированный подход к лечению пациентов требует углубленных фундаментально-практических знаний, которые не могут развиваться в масштабе страны без вклада в систему биобанкирования каждого звена медицинской системы.

При ретроспективном анализе из 75 ординаторов, проходивших ординатуру, 26 (19,5%) поступили в аспирантуру, 1 (0,75%) работает над кандидатской диссертацией в качестве соискателя. Все они выбрали темы для диссертационных исследований на стыке клинической и фундаментальной наук с использованием данных и материалов, находящихся в биобанке. Важно отметить, что при опросе остальных слушателей установлено, что возможность получить специальные знания и погрузиться в работу биобанков, включая их нормативно-правовую базу, способствовала изменению отношения к биобанку как к чему-то сложному и недоступному, принятию его как неотъемлемой части современной медицины и науки.

В результате проведенного исследования были выявлены основные составляющие мотивационной базы для освоения основ биобанкирования обучающимися.

Прежде всего — это личная заинтересованность слушателей в получении мультидисциплинарных знаний. По итогам опроса многие высказали мнение о необходимости учета в системе базового медицинского образования современных научных тенденций и расширения возможности прохождения практики не только в медицинских учреждениях, но и в подразделениях, занимающихся фундаментальными исследованиями. Это позволит погружаться в различные исследовательские процессы, участвовать в некоторых из них еще будучи студентом.

Следующая составляющая — внутренняя система поощрения ординаторов в виде получения дополнительных баллов для поступления в аспирантуру. Это позволяет набирать на такие программы обучения заведомо заинтересованных слушателей, нацеленных на дальнейшую научную работу.

Третья составляющая мотивационной базы — интерес обучающихся к новому.

При анализе причины выбора модуля "Биобанк" как дополнительного среди студентов первого курса РНИМУ им. Н. И. Пирогова, основой стал интерес к тому, о чем они никогда не слышали и новшество в виде проведения экскурсии в исследовательский популяционно-нозологический Биобанк ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России. Еще вчерашние школьники достаточно восприимчивы к получению новой информации за пределами основной программы обучения. По итогам прохождения модуля им была предложена самостоятельная работа в виде оценки значимости органи-

зации биобанкирования для проведения крупных исследований. Это позволило каждому из слушателей высказать свою точку зрения. По итогу оценки работ стало очевидно, что ознакомление с понятием биобанкирования не только расширяет возможности для будущей деятельности молодых специалистов, но и помогает лучше понимать, на чем основаны крупномасштабные исследования, являющиеся итогом работы не только авторского коллектива, но и крупных биобанков.

Обсуждение

Согласно ряду опубликованных работ, хотя студенты-медики и проявляют значительный энтузиазм в сфере биомедицинских исследований, готовы становиться донорами образцов, в их среде наблюдается выраженный недостаток понимания основ и процессов биобанкирования. По данным различных авторов от 27 до 52% всех опрошенных студентов хотя бы раз слышали упоминание о понятиях "биобанк", "биобанкирование" [7-10], при этом среди осведомленных согласны на донорство >80%. По результатам настоящего исследования осведомленность среди ординаторов выше, чем среди студентов, что, наиболее вероятно, связано со спецификой базы прохождения ординатуры, в структуре которой имеется биобанк. Для того чтобы уровень знаний обучающихся отвечал современным требованиям, включение в учебные программы дисциплин, посвященных биобанкированию, представляется необходимым шагом. Это создаст основу для подготовки будущих специалистов, способных участвовать в развитии биобанков в соответствии с динамичными изменениями в научных и нормативно-правовых стандартах передовой практики.

Возможность интеграции вопросов биобанкирования в образовательные программы студентов является обсуждаемой проблемой во всем мире. Учитывая тот факт, что за последние 5 лет образование претерпело серьезные изменения структуры в связи с активным внедрением удаленного обучения, появились новые платформы и способы донести информацию, предоставить возможность непрерывного образования.

В литературе имеются сообщения о создании дополнительных программ обучения по тематике биобанкирования для студентов-медиков на основе сотрудничества нескольких организаций. Один из описываемых дополнительных курсов, проводимый для студентов и аспирантов на протяжении 6-9 мес. показал, что даже неглубокое погружение способствует заинтересованности, и 92% из обучающихся продолжили бы свою профессиональную деятельность в сфере биобанкирования, однако авторы не указывают, в каком возрастном диапазоне были обучающиеся [11]. Второй пример описывает

опыт создания инновационного факультативного предмета, посвященного вопросам биобанкирования и прецизионной медицины с использованием концепции смешанного обучения. Студенты, выбравшие данный курс, обучались на нескольких базах с включением как интерактивного формата, так и очного на различных базах. Важно отметить, что данный вариант обучения знакомил не только с азами биобанкирования, но и с широким спектром лабораторных технологий [12].

Несмотря на описанный опыт, включение основ биобанкирования в базовое медицинское образование является насущной необходимостью, поскольку студенты-медики — это будущие пользователи и сотрудники биобанков. Тем не менее, консенсус относительно оптимального способа такой интеграции в настоящее время еще не достигнут, также не сформирована мотивационная база. Для того, чтобы студент или ординатор осознанно пошел на дополнительные курсы обучения, необходима осведомленность о том или ином направлении.

Наш опыт показывает, как на разных этапах обучения врачей по-разному следует расставлять акценты и формировать мотивационную базу. Однако общей задачей остается необходимость соответствующей информированности еще до этапа обучения, которую можно реализовать за счет популяризации темы биобанкирования и внедрения данного понятия в контексте других дисциплин. К примеру, в курсе по нормальной анатомии (в рамках исторической справки об анатомических коллекциях, которые, по сути, относятся к биобанкированию), а также при прохождении клинических дисциплин (в контексте обучения методам проведения рандомизированных исследований с использованием в них материалов и данных биобанков).

Из вышеизложенного становится очевидным, что многие организационные вопросы внедрения модулей по биобанкированию в образование студентов медицинских вузов и ординаторов, формирования у них интереса к данной форме обучения еще не решены. Эти вопросы, на наш взгляд, требуют внимания и поиска путей решения.

Заключение

На основе представленного нами опыта внедрения модулей по биобанкированию в образование студентов и ординаторов, можно сделать вывод, что максимальная эффективность такой формы обучения определяется рядом моментов.

Прежде всего — это интерес обучающихся к прохождению модулей по биобанкированию, уровень которого определяется степенью информированности об интеграции соответствующих технологий во все медико-биологические отрасли. Одним из инструментов повышения интереса может служить внедрение ознакомительных лекций не только

о биобанках, но и о применении "омиксных" технологий в разных клинических дисциплинах.

Другим важным моментом является наличие мотивационной базы. На сегодняшний день, кроме получения дополнительных баллов за прохождение модулей, практически не существует других стимулов, привлекающих к такому обучению. Разработка мотивационной базы (в т.ч. с использованием таких ее составляющих, как личная заинтересованность, интерес к новому) должна стать важной методической задачей как в рамках отдельно взятых образовательных учреждений, так в коллаборации нескольких из них.

Большое значение имеет сама организация внедрения модулей по биобанкированию и образовательный процесс. Существующий опыт передачи знаний о биобанкировании в литературе достаточно многообразен, но он представляет собой либо углубленное образование непосредственно для работников биобанков, занимающее продолжительное время, либо фрагментарное упоминание в других дисциплинах, не позволяющее сформировать

основу знаний для взаимодействия с биобанками в будущем. В связи с этим организация краткосрочных модулей является оптимальным форматом для минимального уровня погружения в работу биобанков с возможностью дальнейшего углубления.

Внедрение модулей по биобанкированию в образование студентов и ординаторов, с учетом вышеизложенных моментов, позволит увеличить число как пользователей, так и участников работы биобанков, что послужит реализации потенциала биобанка как материальной, так и информационной базы клинических, научных и биологических исследований.

Благодарности. Авторы выражают благодарность руководству РНИМУ им. Н. И. Пирогова, ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России за возможность проведения модулей с активным участием их баз.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Kamenskikh EM, Bakhareva YuO, Demchenko YuD, et al. Awareness of biobanking among patients and doctors: experience of the Tomsk Oblast. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3678. (In Russ.) Каменских Е. М., Бахарева Ю. О., Демченко Ю. Д. и др. Оценка осведомленности о биобанкировании среди пациентов и врачей: опыт Томской области. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3678. doi:10.15829/1728-8800-2023-3678.
2. Mikhailova AA, Nasykhova YuA, Muravyov AI, et al. Towards the creation of a unified glossary of Russian biobanks. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(6):2710. (In Russ.) Михайлова А. А., Насыхова Ю. А., Муравьев А. И. и др. На пути к созданию общего глоссария биобанков Российской Федерации. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(6):2710. doi:10.15829/1728-8800-2020-2710.
3. Anisimov SV, Meshkov AN, Glotov AS, et al. (2021). National association of biobanks and biobanking specialists: new community for promoting biobanking ideas and projects in Russia. *Biopreserv Biobank*. 2021;19:73-82. doi:10.1089/bio.2020.0049.
4. Sokolova TS, Kamenskikh EM, Boguta DV, et al. Training in biobanking in the context of modern medical education. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3380. (In Russ.) Соколова Т. С., Каменских Е. М., Богута Д. В. и др. Обучение биобанкированию в структуре современного медицинского образования. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3380. doi:10.15829/1728-8800-2022-3380.
5. Canonne MV, George F, Graux C. A message to biobanks: get the word out or be out. *Discov Health Syst*. 2025;4(1):1-26. doi:10.1007/s44250-025-00263-1.
6. Mikhailova AA, Nasikhova YuA, Kogan IYu, et al. Issues and Prospects for the Development of Biobanks: Trust or Caution in the Academic and Healthcare Community. *Lex Genetica*. 2024;3(4):7-24. (In Russ.) Михайлова А. А., Насыхова Ю. А., Корган И. Ю. и др. Проблемы и перспективы развития биобанков: доверие или настороженность в научном и медицинском сообществе. *Lex Genetica*. 2024;3(4):7-24. doi:10.17803/lexgen-2024-3-4-7-24.
7. Walkowiak D, Miraleyeva A, Batyrova TZ, et al. Support for Research Biobanks Among Medical Students in the Republic of Kazakhstan. *Biopreserv Biobank*. 2024;22(5):475-85. doi:10.1089/bio.2023.0114.
8. Domaradzki J, Jahanshahi R, Walkowiak MP, et al. Assessment of biobank awareness among medical students in Iran. *J Community Genet*. 2025;16(2):183-93. doi:10.1007/s12687-025-00769-4.
9. Khatib F, Jibrin D, Al-Majali J, et al. Views of university students in Jordan towards Biobanking. *BMC Med Ethics*. 2021;22(1):152. doi:10.1186/s12910-021-00719-y.
10. Merdad L, Aldakhil L, Gadi R, et al. Assessment of knowledge about biobanking among healthcare students and their willingness to donate biospecimens. *BMC Med Ethics*. 2017;18(1):32. doi:10.1186/s12910-017-0195-8.
11. Karataş M, Azbazdar ME, Camkiranlar M, et al. Biobank Education for Future Physicians: Training Medical Students Through Student Research Association Networks. *Biopreserv Biobank*. 2024;22(3):217-24. doi:10.1089/bio.2022.0210.
12. Seidler D, Karliková M, Topolčan O, et al. Establishing Biobanking in Medical Curricula-The Education Program "Precision Medicine International" (eduBRoTHER). *Biopreserv Biobank*. 2023; 21(2):200-7. doi:10.1089/bio.2022.0088.

Создание сети банков фекальной микробиоты в Российской Федерации

Апарцин К. А.

ООО "Байкальский центр биомедицинских исследований". Иркутск, Россия

Трансплантация фекальной микробиоты (ТФМ) — эффективный и безопасный метод лечения рецидивирующей инфекции, вызванной *Clostridioides difficile* находит все более широкое применение для лечения заболеваний, патогенетически связанных с дисбиозом кишечника. Мировые потребности в данном методе лечения покрыты лишь на 10%. Растущая популярность метода делает необходимым создание терапевтических банков фекальной микробиоты (БФМ), поскольку они обеспечивают доступность тщательно проверенных фекальных суспензий, полученных от здоровых доноров. В обзорной статье анализируются подходы к созданию БФМ с учетом законодательной базы Российской Федерации (РФ), сопоставленной с нормативами, действующими в странах Северной Америки, Европы, Азиатско-Тихоокеанского региона. Рассматриваются 4 нормативно-правовые стратегии применительно к ТФМ, определяющие перспективы биобанкирования: 1) лекарственное средство; 2) биологический препарат; 3) субстанция человеческого происхождения; 4) медицинская практика. Аргументирована целесообразность внедрения в РФ подхода, практикуемого в Китайской народной республике (ТФМ как медицинская практика) и в Европейском Союзе (ТФМ — как применение субстанции человеческого происхождения). Формированию сети БФМ будет способствовать внедрение в национальном масштабе стандартизированной технологии сбора, процессинга донорского материала, хранения и выдачи препарата для ТФМ. Региональные БФМ могут быть развернуты на базе лечебно-научных учреждений, а также производственных аптек. Клинико-лабораторное профилирование донора и реципиента, включая метагеномный анализ, в национальной базе данных позволит создать систему поддержки принятия врачебных решений, повысить эффективность и безопасность ТФМ для коррекции широкого круга патологии, включая экстраинтестинальные процессы. Развитие системы БФМ на национальном

уровне потребует координации усилий профильных общественных организаций (при ведущей роли НАСБИО — Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию) и федеральных органов исполнительной власти, среди которых Федеральное медико-биологическое агентство располагает наибольшим опытом применения ТФМ и необходимой нормативной базой. Неоспоримым преимуществом развертывания российской национальной сети БФМ является широкое региональное разнообразие микробиома, что позволяет рассчитывать на выявление "супердоноров" в комплексе с внедрением персонализированной ТФМ. Созданы предпосылки к ускоренному продвижению в области метагеномной регуляции здоровья человека, и сеть БФМ — один из инструментов реализации национальной прорывной технологии.

Ключевые слова: трансплантация фекальной микробиоты, терапевтический биобанк, банк фекальной микробиоты, донорство, нормативная база, производственная аптека, супердонор, метагеномная регуляция здоровья человека.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 29/09-2025

Рецензия получена 19/11-2025

Принята к публикации 21/11-2025



Для цитирования: Апарцин К. А. Создание сети банков фекальной микробиоты в Российской Федерации. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2025;24(11):4621. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4621. EDN: SGOTRS

Creation of a fecal microbiota bank network in the Russian Federation

Apartsin K. A.

ООО Baikal Biomedical Research Center, Irkutsk, Russia

Fecal microbiota transplantation (FMT) is an effective and safe treatment for recurrent *Clostridioides difficile* infections. It is increasingly used to treat diseases pathogenetically associated with intestinal dysbiosis. Only 10% of the global demand for this treatment method is met. The growing popularity of this method necessitates the creation of fecal microbiota banks (FMBs), as they provide access to carefully screened fecal suspensions obtained from healthy donors. This review article analyzes approaches to FMB development, taking into account the legislative

framework of the Russian Federation (RF), compared with regulations in North America, Europe, and the Asia-Pacific region. Four following regulatory strategies for FMT are considered, defining the prospects for biobanking: 1) medicinal product; 2) biological product; 3) substance of human origin; 4) medical practice. Introducing the approach practiced in the People's Republic of China (FMT as a medical practice) and the European Union (FMT as the use of a substance of human origin) in the Russian Federation is substantiated. The development of a FMB network

Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: science@baikalbiomed.ru

[Апарцин К. А. — д.м.н., профессор, научный руководитель, ORCID: 0000-0003-0577-9001].

Адреса организаций авторов: ООО "Байкальский центр биомедицинских исследований", ул. Советская, 96/353, Иркутск, 664047, Россия.
Addresses of the authors' institutions: Baikal Biomedical Research Center LLC, 96/353, Sovetskaya Street, Irkutsk, 664047, Russia.

will be facilitated by the national implementation of a standardized technology for collecting, processing donor material, storing, and dispensing the FMT product. Regional FMBs can be deployed at medical and research institutions, as well as at industrial pharmacies. Clinical and laboratory profiling of donors and recipients, including metagenomic analysis, in a national database will enable the creation of a system to support medical decision-making and improve the efficacy and safety of FMT for the treatment of a wide range of pathologies. Developing a national FMB system will require coordinated efforts between specialized public organizations (with National Association of Biobanks and Biobanking Specialists (NASBIO)) and federal executive bodies, among which the Federal Medical and Biological Agency has the most experience with FMT and the necessary regulatory framework. A compelling advantage of deploying a national FMB network in Russia is the wide regional microbiome diversity, which allows for the identification of "superdonors" in conjunction with personalized FMT. The preconditions for accelerated advancement in the field of metagenomic regulation of human health have been created, and the FMB network is one of the tools for implementing this national breakthrough technology.

Keywords: fecal microbiota transplantation, therapeutic biobank, fecal microbiota bank, donation, regulatory framework, industrial pharmacy, superdonor, metagenomic regulation of human health.

Relationships and Activities: none.

Apartsin K. A. ORCID: 0000-0003-0577-9001.

Corresponding author:
science@baikalbiomed.ru

Received: 29/09-2025

Revision Received: 19/11-2025

Accepted: 21/11-2025

For citation: Apartsin K. A. Creation of a fecal microbiota bank network in the Russian Federation. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2025;24(11):4621. doi: 10.15829/1728-8800-2025-4621. EDN: SGOTRS

БФМ — банк фекальной микробиоты, ВЗК — воспалительные заболевания кишечника, ЕС — Европейский союз, НАСБИО — Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию, ТФМ — трансплантация фекальной микробиоты, FDA — Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов, IND — новый исследуемый препарат, rCDI — рецидивирующая клостридиальная инфекция (инфекция, вызванная *Clostridioides difficile*), SoHO — Substances of Human Origin (субстанция человеческого происхождения).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Трансплантация фекальной микробиоты — эффективный и безопасный метод лечения заболеваний, связанных с дисбиозом кишечника. Терапевтический банк фекальной микробиоты (БФМ) необходим для внедрения этой технологии.

Что добавляют результаты исследования?

- В обзоре литературы приведено обоснование целесообразности создания национальной сети БФМ с учетом мировой и российской нормативно-правовой практики, существующих ресурсов здравоохранения при участии профильных общественных организаций. Широкое региональное разнообразие микробиома позволяет рассчитывать на выявление "супердоноров", внедрение персонализированной трансплантации фекальной микробиоты на основе поддержки принятия врачебных решений. Внедрение сети БФМ увеличивает возможности метагеномной регуляции здоровья человека в Российской Федерации.

Key messages

What is already known about the subject?

- Fecal microbiota transplantation is an effective and safe treatment for diseases associated with intestinal dysbiosis. A therapeutic fecal microbiota bank (FMB) is essential for the implementation of this technology.

What might this study add?

- The literature review provides a rationale for creating a national FMB network, taking into account global and Russian regulatory practices, existing healthcare resources, and the participation of specialized public organizations. The wide regional microbiome diversity allows for the identification of "superdonors" and the implementation of personalized FMB transplantation based on clinical decision support. The implementation of the FMB network increases the potential for metagenomic regulation of human health in the Russian Federation.

Введение

Микробиом человека является сложной экосистемой микроорганизмов, населяющих различные части тела, и играет ключевую роль в поддержании здоровья. Кишечный микробиом, как наиболее изученный и количественно преобладающий, участвует в метаболизме, иммунной регуляции, защите от патогенов и даже влияет на когнитивные функ-

ции. Нарушение состава и функциональности кишечного микробиома, известное как дисбиоз, связано с широким спектром заболеваний, включая инфекционные, воспалительные, метаболические и психические расстройства [1].

Исследовательские биобанки послужили основой для реализации проекта "Микробиом человека", который был запущен Национальными ин-

ститутами здравоохранения США в 2007г и включал ряд организаций-участников и репозиторий, подключенных к центральному хранилищу данных. Основной целью была характеристика "ядра" микробиома человека, который является общим для всех или подавляющего большинства людей в различных областях тела, включая носовые ходы, ротовую полость, кожу, желудочно-кишечный тракт и урогенитальный тракт. С учетом жизненно важных функций микробиоты кишечника в сохранении гомеостаза, в банках сохраняют ресурсы для поддержания здорового микробиома. С этой целью используют терапию микробными экосистемами, включая трансплантацию фекальной микробиоты (ТФМ) [2], а также трансплантацию отмытой микробиоты (washed microbiota transplantation) разработанную, как и ТФМ, в Китае, но 1700 лет спустя, на современном витке развития медицины [3].

Современные возможности исследовательского биобанка реализованы, например, в инициативе "Microbiota Vault", обеспечивая глобальную основу для защиты разнообразия микробиома человека, животных и окружающей среды [4].

Полнота, структурированность и стандартизация являются важнейшими характеристиками клинической аннотации биообразцов. В настоящее время унифицируют клиническую аннотацию, что необходимо для более эффективного использования биообразцов. Гармонизация методологии клинического аннотирования между различными биобанками открывает широкие горизонты для проведения крупномасштабных исследований в сфере персонализированной и трансляционной медицины [5]. Именно исследовательские биобанки послужили основой для развертывания терапевтических банков фекальной микробиоты (БФМ), которым посвящен настоящий обзор.

По сравнению с иными известными стратегиями управления кишечным микробиомом, включая назначение пребиотиков (неперевариваемых пищевых соединений, способствующих развитию полезной микробиоты), постбиотики (биоактивные соединения, вырабатываемые посредством микробного метаболизма, которые оказывают непосредственное благотворное воздействие на организм), синбиотики (комбинации пробиотиков и пребиотиков, которые действуют синергически) и целевые вмешательства с определенными бактериальными штаммами, ТФМ представляет собой наиболее полный метод модуляции микробиома, поскольку способствует переносу целых микробных сообществ, а не отдельных компонентов или конкретных вмешательств [6].

ТФМ — метод, заключающийся в переносе фекальной микробиоты от здорового донора к реципиенту, переживает период бурного развития. Технология, изначально разработанная как средство лече-

ния рецидивирующей клостридиальной инфекции (rCDI) [7, 8], оказалась эффективной для лечения целого ряда заболеваний, патогенез которых связан с нарушением состава и функции кишечной микробиоты, так называемым дисбиозом, в т.ч. воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), синдром раздраженного кишечника [9], сахарный диабет 2 типа, метаболический синдром, ожирение, некоторые аутоиммунные и неврологические расстройства [10, 11], осложненное течение COVID-19 (Corona Virus Disease 2019) [12, 13] и многие др., всего >85 заболеваний [14]. Несмотря на растущую доказательную базу и клиническую эффективность ТФМ, доступность этого метода лечения остается ограниченной. По оценкам экспертов, мировые потребности в ТФМ покрыты лишь на 10% [15].

Основным препятствием является отсутствие стандартизированных протоколов, регламентирующих процессы отбора доноров, обработки и хранения фекального материала, а также отсутствие надежных и доступных источников проверенной фекальной микробиоты [16, 17]. Существуют две основные модели получения препарата для ТФМ: доноры, выбранные пациентом, и БФМ. Если первая сопряжена с рисками для реципиента и задержкой начала лечения, то банки кала устраняют логистические ограничения. Препятствия к быстрому доступу к ТФМ также были отмечены как причины, по которым пациенты стремятся к пересадке "сделай сам" (DIY, do-it-yourself), что сопряжено со значительным риском [17].

Цель обзора — анализ актуальности и предпосылок к созданию сети терапевтических БФМ в России для метагеномной регуляции здоровья человека путем трансплантации донорской микробиоты.

Методологические подходы

Поиск литературных источников для обзора проведен на русском и английском языках в базах данных eLIBRARY и PubMed, при этом рассматривались публикации, датированные 2019-2025гг. Поиск проведен по ключевым словам, представленным в статье. Для составления обзора выбраны 40 полнотекстовых оригинальных статей.

Результаты и обсуждение

БФМ: необходимость и преимущества

Растущая популярность ТФМ и расширение показаний к применению метода создают повышенный спрос на донорский материал. Создание БФМ является необходимым шагом для обеспечения доступности ТФМ и решения ряда проблем, связанных с использованием непроверенного донорского материала. Целесообразность создания некоммерческих БФМ в составе специализированных/академических центров поддержаны

Таблица 1

Регуляторные подходы к ТФМ

Страна	Регуляторная классификация ТФМ	Исключение из требований для гСДИ	Известные банки микробиоты	Примечания
Северная Америка				
США [25]	Исследуемое биологическое лекарство; требуется клиническое испытание	Да, при условиях	Да, некоммерческие и госпитальные организации	
Канада [25]	Исследуемое биологическое лекарство; требуется клиническое испытание	Да, при условиях	Нет	
Европа				
Австрия [25]	Отсутствует; не считается ни лекарством, ни тканью, ни органом	н/д	Нет	Пересматривается регулятором
Бельгия [25]	Продукт человеческих клеток или тканей (SoHO); требуется клиническое исследование	Да, при условиях	Нет	
Дания [25]	Незарегистрированный лекарственный препарат	н/д	Нет	Регулятор считает, что наилучшим подходом являются SoHO, однако формальной классификации пока нет
Эстония [25]	Отсутствует	н/д	Нет	Определено, что продукт не является SoHO, но окончательное решение требует конкретной информации о продукте
Финляндия [25]	Незарегистрированное лекарственное средство	Нет	Нет	Все решения принимаются индивидуально; обычно разрешено использование в больничных учреждениях
Франция [25]	Экспериментальное лекарство; требуется клиническое исследование	Нет	Нет	Приемлема подготовка препаратов в больнице и аптеке
Германия [25]	Отсутствие федеральных рекомендаций; индивидуальные случаи	н/д	Нет	Решается государственными органами земель
Ирландия [25]	Отсутствует; рассматривается как медицинская практика	н/д	Нет	
Италия [25]	SoHO; требуется клиническое исследование	Да, при условиях	Да, находится в стадии разработки	При поддержке правительства
Мальта [25]	Отсутствует	н/д	Нет	
Нидерланды [25]	Неклассифицированная терапия	Да, при условиях	Да, некоммерческая организация	
Норвегия [25]	Незарегистрированный лекарственный препарат	Нет	Да	
Португалия [25]	Отсутствует	н/д	Нет	Регуляторы отмечают наличие непубличного применения как незарегистрированной биологической субстанции
Словения [25]	Отсутствует	н/д	Нет	
Испания [25]	Отсутствует; не классифицируется ни как фармацевтический продукт, ни как SoHO	н/д	Нет	
Швейцария [25]	Исследуемый лекарственный препарат	Нет	Нет	
Великобритания [21, 25]	Незарегистрированный лекарственный препарат; требуется клиническое исследование	Нет	Да, госпитальные и частные	Экстемпоральные, официальные и специальные препараты приемлемы

Таблица 1. Продолжение

Страна	Регуляторная классификация ТФМ	Исключение из требований для rCDI	Известные банки микробиоты	Примечания
Океания				
Австралия [25]	Неутвержденный терапевтический продукт	Нет	Есть, госпитальные, некоммерческие организации, частные	Доступно при условии получения разрешения регулирующих органов по 4 схемам: специальный доступ, уполномоченный врач, импорт для личного использования, клинические испытания. Находится на переоценке регулирующими органами.
Новая Зеландия [25]	Неутвержденное лекарство	Нет	Нет	Ввоз врачом или фармацевтической компанией приемлем
Азия				
Гонконг [25]	Отказались комментировать	Нет	Есть, частные	Продолжение работы частного банка кала, предоставляющего ТФМ для rCDI и ВЗК, предполагает разрешительную регуляторную структуру
Израиль [25]	Неутвержденное медицинское лечение	Да, с условиями	Есть, госпитальные	
Сингапур [25]	На рассмотрении	Нет	Нет	
Китай [14]	Рассматривается как медицинская практика	Да	Да, в госпиталях и научных учреждениях	Наибольшие опубликованные статистики применения ТФМ (>20 тыс. наблюдений)
Российская Федерация [24]	В рамках клинических рекомендаций и утвержденных Минздравом России, протоколов клинической апробации и клинических исследований	Да, клинические рекомендации Минздрава России	Да, в научных учреждениях	В рамках клинических испытаний: <i>C. difficile</i> -ассоциированная болезнь; язвенный колит; антибиотик-ассоциированная диарея; синдром раздраженного кишечника; неалкогольная жировая болезнь печени; ожирение.

Примечание: ВЗК — воспалительные заболевания кишечника, н/д — нет данных, ТФМ — трансплантация фекальной микробиоты, rCDI — рецидивирующая клостридиальная инфекция (инфекция, вызванная *Clostridioides difficile*), SoHo — субстанция человеческого происхождения.

Международной консенсусной конференцией по банку кала для ТФМ в клинической практике [18], а на уровне национальных рекомендаций: Азиатско-Тихоокеанской ассоциацией гастроэнтерологов и Азиатско-Тихоокеанским обществом эндоскопии органов пищеварения [19], Австралийской экспертной группой по регулированию, производству и использованию ТФМ в клинической практике [20], Британским обществом гастроэнтерологов совместно с Обществом по изучению инфекций в сфере здравоохранения [21], группой по исследованию микробиоты кишечника и терапии при Корейском обществе нейрогастроэнтерологии и моторики [22], научными организациями Российской Федерации [23, 24].

Первый банк кала (OpenBiome) был создан в Медфорде (Массачусетс, США) в 2012г. С тех пор по всему миру открылось множество БФМ, среди которых University Hospitals of Paris Centre (2014), AdvancingBio в Мазере (Калифорния, США, 2015), Public Health England в лаборатории Бирмингема (Великобритания, 2015), Chinese fntBank (Нанкин,

Китай, 2015), Netherlands Donor Feces Bank (Лейден, Нидерланды, 2016) и др. Основная цель этих банков — предоставление врачам материала от тщательно проверенных здоровых доноров, чтобы они могли эффективно лечить пациентов с rCDI на основе централизованного скрининга доноров и подготовки препарата. В последнее время предлагается процедура омоложения микробиома с помощью аутологичной ТФМ [1].

Обследование доноров и реципиентов традиционно включает общий анализ крови, биохимический анализ крови, анализ кала на патогенные микроорганизмы и паразитов, иммунологические тесты [15], причем стандарты лабораторного скрининга для микробных терапевтических средств человеческого происхождения постоянно обновляются [1, 18]. Рассматривая принципы создания БФМ, необходимо остановиться на существующих в мире принципах регуляции ТФМ, что является определяющим для формирования инфраструктуры, а также на финансово-экономических аспектах донорства.

Нормативно-правовые стратегии регулирования ТФМ

В странах Северной Америки, Европы и Азиатско-Тихоокеанского региона существуют различные подходы к регулированию ТФМ и деятельности БФМ. В целом, можно выделить 4 основных нормативно-правовых стратегии (таблица 1):

1) *ТФМ как лекарственное средство*. В США ТФМ регулируется как лекарственное средство и требует одобрения Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) для клинического применения. Это означает, что фекальная суспензия должна соответствовать строгим требованиям производства, качества и безопасности лекарственного препарата. Предусмотрены исключения для лечения гСДИ. Политика дискреционного правоприменения говорит о трудностях, с которыми сталкиваются регулирующие органы, балансируя между соображениями безопасности и доступностью данного метода лечения для пациентов. В мае 2013г FDA объявило, что ТФМ будет регулироваться как применение незарегистрированного биологического препарата. Исследователи, желающие использовать ТФМ для лечения пациентов с любыми показаниями, должны будут подать заявку на новый исследуемый препарат (IND) и предоставлять лечение только в условиях клинических испытаний или в экстренных случаях. Врачи, группы защиты прав пациентов, учёные и медицинские общества выразили обеспокоенность тем, что правила IND помешают доступу к ТФМ для многих пациентов с гСДИ, и что для этих пациентов необходим альтернативный подход к регулированию. В ответ на это в июле 2013г FDA опубликовало временную политику дискреционных полномочий в отношении правоприменения. В период с июля 2013г по октябрь 2018г некоммерческий банк кала OpenBiome отправил >40 тыс. доз препарата для ТФМ при гСДИ [25].

В ноябре 2022г FDA одобрило Rebyota, суспензию широкого спектра микробиоты для профилактики гСДИ, а в мае 2023г — Vowst, первый пероральный инкапсулированный препарат фекальной микробиоты для того же показания. Таким образом, лечение относится к средней строгости "регуляторной лестницы" [23, 26]. Ни один из этих препаратов не был одобрен для лечения заболеваний, не связанных с гСДИ [7]. В Австралии суспензия от BiomeBank получила одобрение регулирующих органов в качестве стандартной терапии гСДИ, без необходимости подачи IND при условии получения информированного согласия. Протокол гарантирует, что пациенты будут проинформированы о потенциальных и известных рисках.

В Великобритании препарат для ТФМ считается нелегализованным лекарственным продуктом, который может быть приготовлен, назна-

чен и введен пациентам в соответствии с Законом о лекарственных средствах 1968г ("освобождение от аптек"). При этом лекарственный продукт должен быть приготовлен или выдан в больнице или медицинском центре фармацевтом или под его наблюдением и в соответствии с рецептом врача. Если доза для ТФМ готовится как нелегализованный лекарственный препарат, отправляется в другую больницу или медицинский центр для введения, то требуется лицензия на поставку нелегализованных лекарственных препаратов ("специальных препаратов"). В рамках клинического исследования препарат является IND и должен быть произведен в соответствии с Надлежащей производственной практикой. Каждая партия должна быть выпущена на основании утвержденного, специфического для данного исследования протокола, до введения субъекту, и все исследования должны получить разрешение на клинические исследования до начала набора участников [7].

2) *ТФМ как применение биологического препарата*. В других странах, таких как Канада, ТФМ регулируется как введение биологического препарата и подлежит соответствующим требованиям к производству, качеству и безопасности. Министерство здравоохранения Канады рассматривает ТФМ как IND биологического происхождения, применение которого должно проводиться в рамках одобренного клинического исследования. Временной политикой разрешается ТФМ для пациентов с гСДИ при соблюдении определенных условий, содержащих гораздо больше ограничений, чем в США, в отношении условий применения, включая получение информированного согласия, требования к ведению документации и перечень инфекционных и потенциально микробиом-опосредованных заболеваний, по которому доноры должны быть отрицательными. Также требуется, чтобы донор был "известен либо пациенту, либо лечащему врачу". Ограничение на "известного донора" ухудшило доступ канадских пациентов к ТФМ по сравнению с пациентами в США, поскольку время, необходимое для идентификации, скрининга и обработки фекалий от известного донора, задерживает лечение. Хотя процедура относительно проста, она требует значительного времени и усилий для разовой подготовки. В результате ТФМ применяется только в небольшой части преимущественно городских больниц [25].

3) *ТФМ как применение субстанции человеческого происхождения (SoHO — Substances of Human Origin)*. В Европейском Союзе ТФМ регулируется как трансплантация человеческого материала (SoHO) и подпадает под действие Директивы Европейского союза (ЕС) о тканях и клетках. Это означает, что БФМ должны соответствовать требованиям к донорству, тестированию, обработке и хранению тканей и клеток. В декабре 2023г Совет

ЕС и Европейский парламент достигли консенсуса по новому "Регламенту о стандартах качества и безопасности веществ человеческого происхождения, предназначенных для применения человеком". SoHO включают материалы человеческого происхождения — кровь, плазму, кожу, рогову, эмбрионы, сперму, грудное молоко и микробиоту (но не паренхиматозные органы), каждый из которых используется для жизненно важных медицинских процедур. Регламент устанавливает общие для всего ЕС процедуры безопасности. Европейский парламент и Совет должны будут официально принять новый Регламент к 2027г¹.

4) *ТФМ как медицинская практика.* В некоторых странах, таких как Китай, Дания и Ирландия ТФМ регулируется как медицинская практика и не требует специального одобрения регуляторных органов. Это означает, что клиницисты могут применять ТФМ на свое усмотрение, руководствуясь клиническими рекомендациями и стандартами медицинской помощи [14, 25].

Для РФ представляется целесообразным заимствовать подходы, принятые в Китае (ТФМ как медицинская практика) и ЕС (ТФМ как применение SoHO). Интересен опыт аптечного изготовления официального препарата. В то же время регулирование ТФМ как биологического лекарственного средства потребует значительных финансовых и временных затрат на разработку и регистрацию стандартизированных фекальных суспензий, что может существенно ограничить доступность для пациентов.

БФМ и банк крови — общие подходы?

Инфраструктуру службы крови рассматривают как платформу и образец для БФМ, поскольку требования в целом аналогичны: привлечение доноров; предварительный отбор и скрининг материала; сбор, обработка, выдача и хранение донаций. Интеграция сбора кала в инфраструктуру службы крови может открыть новые возможности для банков крови, которые уже имеют хорошо налаженные процедуры, одобренные со стороны органов здравоохранения. Доноры крови — это весьма специфическая группа здоровых людей, которые уже добровольно согласились помочь другим, поэтому они с большей вероятностью будут добровольно сдавать кал и соблюдать ограничения: 88% доноров крови, которым было предложено стать донорами кала, были готовы это сделать, а уровень соответствия доноров крови составлял ~20%, т.е. намного выше, чем если бы доноры кала привлекались вне банков крови. БФМ, как и терапевтический банк препаратов крови, под-

держивает прослеживаемость продуктов от донора до реципиента, а процедуры регистрации оборудования и оценка компетенций персонала могут осуществляться в уже существующей системе управления качеством [27].

В условиях, когда доноров микробиоты набирают в общей популяции, а не среди доноров крови, показатель успешности скрининга составляет ~3% и варьируется в зависимости от банка кала, например, OpenBiome (3%) в США, Канаде (2,2%), Нидерландах (2,4%), Австралии (10%) и Италии (25%), Chinese FMT bank (1,5%), хотя методы скрининга доноров постоянно совершенствуются [3, 17].

Имеются примеры создания эффективного БФМ в рамках некоммерческой службы трансплантации крови и тканей, с использованием существующей инфраструктуры, сертифицированных лабораторных помещений и квалифицированного персонала, имеющего опыт в области биологической безопасности при работе с другими SoHO. Более того, действующие системы управления качеством и лабораторные информационные системы обеспечивают основу для соблюдения стандартов качества, безопасности и прослеживаемости трансплантации микробиоты, установленных в правилах, регулирующих использование продуктов из человеческих клеток и тканей [28, 29].

В Российской Федерации (РФ) служба крови представляет собой единую государственную систему, главная задача которой — обеспечение медицинских учреждений консервированной кровью, ее компонентами и препаратами путем организации заготовки, тестирования, хранения и распределения крови и ее компонентов от добровольных доноров. Структура Службы крови, включающая головные учреждения (научно-исследовательские институты, такие как Российский НИИ гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург и НИИ переливания крови, Москва); станции переливания крови — региональные учреждения, отвечающие за заготовку крови, ее переработку (получение компонентов), хранение и доставку в другие больницы; отделения переливания крови, которые находятся непосредственно в лечебных учреждениях, оказывая помощь пациентам, нуждающимся в переливании крови и ее компонентов. Это перекликается с задачами БФМ, а именно: 1) набор и скрининг доноров, 2) лабораторный процессинг; и 3) клиническое применение [27].

Нормативная база организации службы крови в России хорошо проработана и включает: Федеральный закон "О донорстве крови и ее компонентов" от 20.07.2012 № 125-ФЗ², приказ Минздрава

¹ The Guide to the quality and safety of tissues and cells for human application is published by the European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM). Editorial director: Dr P. Doerr. ISBN: 978-92-871-9303-2.

² Федеральный закон "О донорстве крови и ее компонентов" от 20.07.2012 № 125-ФЗ; <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201207230005>.

России от 28.10.2020 № 1166н "Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) ее компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) ее компонентов"³; Приказ Минздрава России от 28.10.2020. № 1170н "Об утверждении порядка оказания медицинской помощи населению по профилю "трансфузиология"⁴, что позволяет рассчитывать на успех ее применения в качестве основы для организации БФМ и внедрения технологии ТФМ на этапе расширения показаний к применению этой процедуры, а также определению порядка, например, компенсации донорам микробиоты. Обратимся к сведениям об экономике биобанкирования фекальной микробиоты.

Биобанкирование и экономика донорства фекальной микробиоты

Финансовое стимулирование для донора широко применяется в некоторых банках кала [25]. В ЕС рассматриваются вопросы компенсации донорства в связи с необходимостью самодостаточности и обеспечения безопасных, достаточных и доступных ресурсов SoHO для всех нуждающихся. Экономические стимулы доказали свою эффективность в увеличении поставок человеческих продуктов, особенно цельной крови и плазмы; тот факт, что страны, которые разрешают платежи донорам плазмы, являются экспортерами плазменных продуктов (без ущерба для безопасности), дополнительно свидетельствует о том, что разрешение компенсации увеличит доступность плазмы для медицинского использования. Конечно, существуют и другие стратегии для повышения мотивации или снижения факторов, препятствующих донорству, которые не конфликтуют с предоставлением компенсации, но являются дорогостоящими и потребуют времени для вступления в силу. После пересмотра юридико-лингвистических положений в ЕС формируется сбалансированный, эмпирически и научно обоснованный подход в донорстве SoHO, включая фекальную микробиоту [25].

В США OpenBiome предлагает до 40 долларов, а европейские медицинские исследовательские цен-

тры 46 долларов за каждую донацию. Уровень компенсации должен обеспечивать баланс между тремя факторами: стимулом для привлечения и удержания доноров, компенсацией за усилия донора и недопущением ненадлежащего стимулирования людей из низких социально-экономических слоев. Размер компенсации также должен учитывать правовую базу и социальный контекст в конкретных обществах. Например, в ЮАР, согласно результатам анкетирования, достаточной признана компенсация, эквивалентная 8 долларам США [28].

По данным Kragtsnaes MS, et al. (2020), расходы на получение одной дозы препарата для ТФМ из 50 г донорского кала, составляют в Дании ~590 долларов США, в т.ч. стоимость рабочего времени на рекрутмент, информирование донора и сбор анамнеза — 8; гематологическое, серологическое и микробиологическое обследование — 246; расходные материалы и реагенты — 89; рабочее время для регистрации, лабораторной обработки и подготовки препарата — 81; контроль качества — 5; накладные расходы, включая расходы на помещения, хранение и другие косвенные расходы — 161 доллар США. В других некоммерческих БМФ стоимость выше и составляет 1595 долларов США за дозу в американском OpenBiome и 1155 долларов США за дозу в Netherlands Donor Feces Bank [29].

В 2018г OpenBiome, крупнейший БФМ, получил 7536 донаций кала от 210 доноров, в среднем 20,6 донаций/день, и переработал 4271 из этих донаций в препараты для ТФМ. Среднее время, в течение которого проверенный и зарегистрированный донор кала активно сдавал кал, составило 5,8 мес. Среднее время между изготовлением препарата и его отправкой в больницу или врачу составило 8,9 мес. Половина больниц и врачей-партнеров банка кала заказывали в среднем $\leq 0,75$ препаратов ТФМ/мес. [17].

Экономическое обоснование для расчета точности безубыточности биобанкирования безопасных образцов кала для ТФМ в Нидерландах проводится исходя из расчетов затрат на следующие операции: набор, скрининг и выбор подходящих доноров; донация кала донорами и периодический повторный скрининг; оценка соответствия требованиям пациентов к ТФМ; поставка безопасной фекальной суспензии; мониторинг после лечения. Расходы на оплату труда персонала больницы (медицинского, технического, административного, консультативного), лабораторные исследования, хранение и биобанкирование составляют на одного пациента, проходящего лечение (включая 10% повторного лечения в случае первоначального отсутствия ответа) 899 евро в случае 100 реципиентов/год, и снижаются до 785 евро при увеличении до 400 пациентов/год с учетом экономии за счет масштабирования [26].

³ Приказ Минздрава России от 28.10.2020 № 1166н "Об утверждении порядка прохождения донорами медицинского обследования и перечня медицинских противопоказаний (временных и постоянных) для сдачи крови и (или) ее компонентов и сроков отвода, которому подлежит лицо при наличии временных медицинских показаний, от донорства крови и (или) ее компонентов"; <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202011260032>.

⁴ Приказ Минздрава России от 28.10.2020 № 1170н "Об утверждении порядка оказания медицинской помощи населению по профилю "трансфузиология". <http://publication.pravo.gov.ru/document/0001202011270036>.

Отметим, что эти расходы, пусть и достаточно большие, не могут сравниться со стоимостью доступных на рынке готовых препаратов донорской фекальной микробиоты, достигающей 17000 долларов США за упаковку (в случае Vowst), а они, в свою очередь снижают расходы на традиционное лечение гCDI по данным фармако-экономического анализа [30].

Нормативно-правовые аспекты создания БФМ в РФ

Создание БФМ в РФ требует учета существующей законодательной базы и гармонизации ее с международными нормативами. В настоящее время в России отсутствует специальное законодательство, регулирующее деятельность БФМ и применение ТФМ. Это создает неопределенность и препятствует развитию данного направления. Клиническое применение ТФМ внесено в протокол лечения (клинические рекомендации) согласно п. 2 ст. 76 ФЗ "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации"⁵. На сегодняшний день в отношении метода лечения ТФМ требуется процедура клинической апробации (ст. 36.1 ФЗ "Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации"). В апреле 2022г опубликован приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 298н "Об утверждении Порядка диагностики состояния микробиоты, осуществления мер по сохранению или восстановлению нормальной микробиоты человека"⁶, в котором указано, что восстановление нормальной микробиоты человека проводится в рамках оказания медицинской помощи на основе клинических рекомендаций. Конкретных ссылок на способы восстановления микробиоты не приводится, и на сегодняшний день правовой основой для использования ТФМ в клинической практике остается проведение клинической апробации или клинических исследований [31].

Клинические рекомендации "Клостридиальная инфекция: диагностика, лечение и профилактика" приняты XVII Национальным конгрессом терапевтов и XV Съездом Научного общества гастроэнтерологов России 14 октября 2022г (г. Москва)⁷. Согласно тексту рекомендаций, ТФМ возможна при наличии банка замороженных образцов фекальной микробиоты. Выбор тактики лечения пациента зависит от клинической ситуации, доступности антибиотиков резерва и донорской фекальной микро-

биоты. Таким образом, для выполнения процедуры подразумевается необходимость создания БФМ.

С 2024г Сеченовский Университет реализует протокол клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации "Эндоскопический метод трансплантации свежей фекальной микробиоты в лечении *C. difficile*-ассоциированной болезни у пациентов >18 лет с тяжелым, осложненным, рефрактерным, рецидивирующим ее течением по сравнению со стандартной антибактериальной терапией"⁸. Результаты ожидаются в 2027г.

Целесообразна дальнейшая работа по включению ТФМ в Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российской академии наук от 27.10.2020 № 1158н/2 "О внесении изменения в перечень объектов трансплантации, утвержденный приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации и Российской академии наук от 04.06.2015 № 306н/3"⁹, согласно которому перечень объектов трансплантации определен пунктом следующего содержания: "25. Клетки, полученные (заготовленные) из биологического материала путем его измельчения, гомогенизации, ферментативной обработки, удаления нежелательных компонентов, селективного отбора клеток, и (или) их обработки с целью удаления консервирующих (пресервирующих) агентов в случае их хранения, и которые не содержат иных субстанций (объектов) за исключением воды, кристаллоидов, стерилизующих, консервирующих и (или) пресервирующих агентов, а также биологический материал для их получения (заготовки)". Таким образом, материал донорской фекальной микробиоты подпадает по смыслу под действие приказа, а БФМ выступает инфраструктурой, необходимой для его реализации. Требуется лишь нормативное указание на процедуру ТФМ.

Потенциальные модели организации БФМ в РФ

Развитие системы БФМ на национальном уровне потребует координации усилий профильных общественных организаций (при ведущей роли

⁵ https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_121895/.

⁶ <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/404679661/>.

⁷ Клинические рекомендации "Клостридиальная инфекция: диагностика, лечение и профилактика" приняты XVII Национальным конгрессом терапевтов и XV Съездом Научного общества гастроэнтерологов России 14.10.2022 (г. Москва) <https://www.rnmot.ru/public/uploads/RNMOT/clinical/2022/ФИНАЛЬНЫЕ%20КЛИНИЧЕСКИЕ%20РЕКОМЕНДАЦИИ%20Клостридиальная%20инфекция%209112022.pdf?ysclid=mij9j00mu5669121548>.

⁸ Протокол клинической апробации метода профилактики, диагностики, лечения и реабилитации "Эндоскопический метод трансплантации свежей фекальной микробиоты в лечении *C. difficile*-ассоциированной болезни у пациентов старше 18 лет с тяжелым, осложненным, рефрактерным, рецидивирующим ее течением по сравнению со стандартной антибактериальной терапией" https://static-0.minzdrav.gov.ru/system/attachments/attaches/000/062/095/original/2023-23-1_%D0%A1%D0%B5%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0.pdf?1684141200.

⁹ Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российской академии наук от 27.10.2020 № 1158н/2 "О внесении изменения в перечень объектов трансплантации, утвержденный приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации и Российской академии наук от 04.06.2015 № 306н/3" (Зарегистрирован 01.12.2020 № 61177) <http://publication.pravo.gov.ru/document/0001202012010034>.

НАСБИО) и федеральных органов исполнительной власти, среди которых Федеральное Медико-Биологическое Агенство располагает наибольшим опытом применения ТФМ и необходимой нормативной базой¹⁰.

Централизованная модель. В рамках централизованной модели создается один или несколько крупных БФМ, обслуживающих всю страну. Преимуществом этой модели является возможность концентрации ресурсов и экспертизы, а также стандартизация процессов и контроля качества, научно-методическое обеспечение. Недостатком является ограниченная доступность ТФМ в отдаленных регионах и зависимость от логистики, что нивелируется применением инкапсулированного препарата или соблюдением холодной цепи в процессе транспортировки криоконсервированного материала. По аналогии со структурой Службы крови — это головные НИИ, например, Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины Минздрава России (Москва).

Региональная модель. В рамках региональной модели создаются БФМ в каждом регионе или федеральном округе, обслуживающие потребности местного населения. Аналоги Станций переливания крови в структуре Службы крови — региональные учреждения, отвечающие за заготовку материала обследованных доноров, хранение и доставку в другие больницы, внутренний контроль безопасности и сбор катамнеза. Развитию регионального сегмента будет способствовать внедрение унифицированной технологии автоматизированной переработки донорского материала и криоконсервации. Преимуществом этой модели является высокая доступность ТФМ и учет региональных особенностей микробиома. Недостатком является дублирование ресурсов и необходимость обеспечения стандартизации различных БФМ.

С учетом опыта производства препарата для ТФМ в производственных аптеках, как это практикуется в Великобритании [21] и Франции [25], региональные и локальные децентрализованные БФМ, могут создаваться в РФ при активном вовлечении производственных аптек, оснащенных соответствующим оборудованием и аккредитованных на этот вид деятельности. Экстемпоральное изготовление не противоречит нормативной практике в нашей стране и применительно к ТФМ обеспечивает возможность применения как лекарственной терапии для особых групп пациентов, для которых экономическая целесообразность регистрации и вывода лекарственных препаратов на рынок не доказана. Другим аргументом в пользу производства суспензии для ТФМ в производственных

аптеках является возможность производства препарата, назначенного врачом, не в соответствии с инструкцией по медицинскому применению ("off-label") или в лекарственных формах/дозировках, отсутствующих на рынке, при условии соблюдения требований к аптечному изготовлению и контролю безопасности назначаемых средств [32, 33].

Децентрализованная модель. В рамках децентрализованной модели небольшие БФМ создаются на базе отдельных лечебно-научных учреждений и обслуживают потребности своих пациентов по аналогии с отделением переливания крови в структуре в Службе крови. Преимуществом этой модели является высокая гибкость и адаптация к локальным потребностям. К недостаткам относятся отсутствие стандартизации и контроля качества, а также ограниченные возможности для проведения исследований и разработок. Следует принять во внимание возможность организации небольших БФМ на базе частных клиник и даже отдельных кабинетов в соответствии со сложившейся в РФ практикой.

Наиболее перспективным представляется сочетание указанных моделей, при котором центральный БФМ обеспечивает стандартизацию, контроль качества и научно-методическое руководство, а региональные и децентрализованные БФМ — доступность ТФМ в отдельных медицинских учреждениях.

Перспективы персонализированной ТФМ

Развитие технологий метагеномного, метаболомного анализа и разработка систем поддержки принятия врачебных решений на основе искусственного интеллекта открывает перспективы для персонализации. Персонализированная ТФМ предполагает подбор донорского материала с учетом индивидуальных особенностей микробиома и клинического статуса реципиента. Это позволит повысить эффективность ТФМ и добиться наилучших клинических результатов [17, 18]. Китайские исследователи одними из первых включили микробную метагеномную оценку в обследование доноров для ТФМ [34, 35]. Если контроль безопасности препарата в БФМ хорошо отработан и рассмотрен в публикациях, то методы анализа эффективности, безусловно, требуют как можно более тщательного наблюдения за реципиентами в посттрансплантационном периоде. При этом проведение метагеномного анализа фекальных образцов доноров и реципиентов для определения состава и функционального потенциала микробиома могут выявить факторы пользы, влияющие на эффективность и безопасность ТФМ [23, 34, 35].

Одним из перспективных направлений персонализированной ТФМ является выявление т.н. "супердоноров", чья микробиота обеспечивает самую высокую результативность ТФМ при лечении определенных заболеваний. Идентификация "супердоноров" и использование их фекального материала позволит значительно повысить эффективность ТФМ при

¹⁰ <https://fnkc-fmba.ru/news/transplantatsiya-kishechnoy-mikrobioty-dlya-lecheniya-zabolevaniy-zhkt-otkryt-nabor-patsientov-i-don/>.

гCDI, ВЗК и других заболеваниях. Одним из критериев "супердонора" является высокое отношение *Prevotella* к *Bacteroidetes*. Подбор донора значительно улучшает клинические исходы, качество жизни и показатели тревожности у пациентов с синдромом раздраженного кишечника, по сравнению с применением ТФМ от случайного донора. Скрининг "супердоноров" соответствует фундаментальному принципу модуляции микробиоты и направлен на достижение лучших клинических результатов [17, 26, 35].

В связи с развитием генетических и других видов исследований в сфере трансляционной медицины требуются коллекции, содержащие значительное количество биообразцов и большие массивы данных. Перспективным является создание коллекций, опирающихся на данные электронных историй болезни путем сплошного биобанкирования крови и ее производных от пациентов стационарных отделений и создание единой системы, объединяющей информацию по биообразцам, клинические и др. виды данных, имеющихся в электронной истории болезни пациентов [36-38]. Когда данные о микробиоме человека, полученные из донорства кала, объединяются с данными дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) человека и другими типами информации, это создает "беспрецедентную персональную раскрывающую информацию нового масштаба" [2].

Система поддержки принятия врачебных решений

Результаты клинико-лабораторного профилирования доноров и реципиентов должны быть интегрированы в национальную базу данных, которая станет основой для системы поддержки принятия врачебных решений и позволит клиницистам подбирать оптимальные пары "донор-реципиент" на основе соответствия микробиомных профилей, клинических характеристик и иммунологических показателей. Это позволит повысить эффективность ТФМ и снизить риск развития побочных эффектов [36].

Поскольку с течением времени все больше результатов и данных секвенирования становятся общедоступными, схема оценки фекальной микробиоты дополняется анализом более широких таксонов бактерий, грибов, вирусов (бактериофагов) и метриками разнообразия, функциональных особенностей (продукция короткоцепочечных жирных кислот, метаболизм желчных солей, устойчивость к антибиотикам) для улучшения выбора доноров [37].

Литература/References

1. Ke S, Weiss ST, Liu YY. Rejuvenating the human gut microbiome. *Trends Mol Med*. 2022;28(8):619-30. doi:10.1016/j.molmed.2022.05.005.
2. Chuong KH, Hwang DM, Tullis DE, et al. Navigating social and ethical challenges of biobanking for human microbiome research. *BMC Med Ethics*. 2017;18(1):1. doi:10.1186/s12910-016-0160-y.
3. Lu G, Wang W, Li P, et al. Washed preparation of faecal microbiota changes the transplantation related safety, quantitative method and delivery. *Microb Biotechnol*. 2022;15(9):2439-49. doi:10.1111/1751-7915.14074.
4. Dominguez-Bello MG, Steiger D, Fankhauser M, et al. The microbiota vault initiative: safeguarding Earth's microbial heritage for future generations. *Nat Commun*. 2025;16(1):5373. doi:10.1038/s41467-025-61008-5.
5. Kopylova OV, Ershova AI, Borisova AL, et al. Specifics of creating clinical abstract of biospecimens. *Cardiovascular Thera-*

Достигнуты впечатляющие результаты прогнозирования эффективности лечения ТФМ при заболеваниях, патогенетически связанных с дисбиозом. Применение различных алгоритмов, от номограммных моделей на основе логистической регрессии до машинного обучения, непрерывно углубляет понимание взаимосвязи между микробиотой и эффектами ТФМ. Индивидуальный подбор оптимального донора для каждого реципиента обеспечивает надежную поддержку прецизионной медицины. Раскрытие регуляторных механизмов повысит качество моделей прогнозирования [35].

Катамнез большой выборки пациентов с ТФМ (>20 тыс. наблюдений) показывает, что эффективность процедуры максимальна при остром энтерите (включая гCDI), снижается при функциональной энтеропатии, еще ниже — при органической/хронической энтеропатии и наименее выражена при коррекции внекишечных расстройств. При этом применение персонализации способствует улучшению результатов процедуры [3].

РФ характеризуется широким региональным разнообразием климатических, географических и этнокультурных условий, что обуславливает значительное разнообразие микробиома населения и представляет собой ценный ресурс для создания национальной сети БФМ и выявления "супердоноров". Исследования микробиома в различных регионах России раскроют уникальные особенности энтеротипов, связанные с питанием, образом жизни и генетическими факторами. Эти особенности могут быть использованы для разработки персонализированных подходов к ТФМ и повышения эффективности лечения различных заболеваний [39, 40].

Заключение

Создание сети БФМ в РФ является перспективным направлением развития современной медицины. Реализация этого проекта позволит обеспечить доступность ТФМ для широкого круга пациентов, повысить эффективность и безопасность лечения заболеваний, связанных с дисбиозом кишечника, и ускорить продвижение в области метагеномной регуляции здоровья человека.

Отношения и деятельность: автор заявляет об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

- py and Prevention. 2023;22(11):3855. (In Russ.) Копылова О. В., Ершова А. И., Борисова А. Л. и др. Особенности формирования клинической аннотации биообразцов. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2023;22(11):3855. doi:10.15829/1728-8800-2023-3855.
6. Lin A, Jiang A, Huang L, et al. From chaos to order: optimizing fecal microbiota transplantation for enhanced immune checkpoint inhibitors efficacy. *Gut Microbes*. 2025;17(1):2452277. doi:10.1080/19490976.2025.2452277.
 7. Mullish BH, Merrick B, Quraishi MN, et al. The use of faecal microbiota transplant as treatment for recurrent or refractory *Clostridioides difficile* infection and other potential indications: second edition of joint British Society of Gastroenterology (BSG) and Healthcare Infection Society (HIS) guidelines. *Gut*. 2024;73(7):1052-75. doi:10.1136/gutjnl-2023-331550.
 8. Kelly BJ, Tebas P. Clinical Practice and Infrastructure Review of Fecal Microbiota Transplantation for *Clostridium difficile* Infection. *Chest*. 2018;153(1):266-77. doi:10.1016/j.chest.2017.09.002.
 9. Peery AF, Kelly CR, Kao D, et al. AGA Clinical Practice Guideline on Fecal Microbiota-Based Therapies for Select Gastrointestinal Diseases. *Gastroenterology*. 2024;166(3):409-34. doi:10.1053/j.gastro.2024.01.008.
 10. Vasant DH, Bhatt A, Fardiweh M, et al. Safety and Efficacy of FMT as a Modern Adjuvant Therapy in Various Diseases and Disorders: A Comprehensive Literature Review. *Front Immunol*. 2024;15:1439176. doi:10.3389/fimmu.2024.1439176.
 11. Gilja OH, Goll R, Christiansen IK, et al. Fecal microbiota transplantation in Norwegian outpatients: a prospective observational study. *BMJ Open*. 2023;13(12):e073275. doi:10.1136/bmjopen-2023-073275.
 12. Apartsin K, Smirnova V. Convalescent fecal microbiota transplantation as a possible treatment for COVID-19. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2020;44(5):e113-4. doi:10.1016/j.clinre.2020.08.003.
 13. Groenewegen B, van Lingen E, Ooijevaar RE, et al. How to prepare stool banks for an appropriate response to the ongoing COVID-19 pandemic: Experiences in the Netherlands and a retrospective comparative cohort study for faecal microbiota transplantation. *PLoS One*. 2022;17(3):e0265426. doi:10.1371/journal.pone.0265426.
 14. Wang Y, Zhang S, Borody TJ, et al. Encyclopedia of fecal microbiota transplantation: a review of effectiveness in the treatment of 85 diseases. *Chin Med J (Engl)*. 2022;135(16):1927-39. doi:10.1097/CM9.0000000000002339.
 15. Rondinella D, Quaranta G, Rozera T, et al. Donor screening for fecal microbiota transplantation with a direct stool testing-based strategy: a prospective cohort study. *Microbes Infect*. 2024;26(5-6):105341. doi:10.1016/j.micinf.2024.105341.
 16. Prati D, Caprioli F, Stea L, et al. A "movement" worth making: why and how transfusion services can play a role in fecal microbiota transplant programs. *Blood Transfus*. 2025;23(3):275-82. doi:10.2450/BloodTransfus.929.
 17. Chen J, Zaman A, Ramakrishna B, et al. Stool Banking for Fecal Microbiota Transplantation: Methods and Operations at a Large Stool Bank. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:622949. doi:10.3389/fcimb.2021.622949.
 18. Cammarota G, Ianaro G, Kelly CR, et al. International consensus conference on stool banking for faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2019;68(12):2111-21. doi:10.1136/gutjnl-2019-319548.
 19. Ng SC, Kamm MA, Yeoh YK, et al. Scientific frontiers in faecal microbiota transplantation: joint document of Asia-Pacific Association of Gastroenterology (APAGE) and Asia-Pacific Society for Digestive Endoscopy (APSDE). *Gut*. 2020;69(1):83-91. doi:10.1136/gutjnl-2019-319407.
 20. Haifer C, Kelly CR, Paramsothy S, et al. Australian consensus statements for the regulation, production and use of faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut*. 2020;69(5):801-10. doi:10.1136/gutjnl-2019-320260.
 21. Mullish BH, Merrick B, Quraishi MN, et al. The use of faecal microbiota transplant as treatment for recurrent or refractory *Clostridioides difficile* infection and other potential indications: second edition of joint British Society of Gastroenterology (BSG) and Healthcare Infection Society (HIS) guidelines. *J Hosp Infect*. 2024;148:189-219. doi:10.1016/j.jhin.2024.03.001.
 22. Gweon TG, Lee YJ, Kim KO, et al. Clinical Practice Guidelines for Fecal Microbiota Transplantation in Korea. *J Neurogastroenterol Motil*. 2022;28(1):28-42. doi:10.5056/jnm21221.
 23. Gospodaryk AV, Prokhorova ND, Bespyatykh JA. Selection of donors for fecal microbiota transplantation: compulsory public health screening. *ORGZDRAV: novosti, mneniya, obuchenie. Vestnik VSHOUZ. [HEALTHCARE MANAGEMENT: News, Views, Education. Bulletin of VSHOUZ]*. 2024;10(1):92-103. (In Russ.) Господарик А. В., Прохорова Н. Д., Беспятых Ю. А. Подбор доноров для трансплантации фекальной микробиоты: невольный скрининг здоровья населения. ОРГЗДРАВ: новости, мнения, обучение. Вестник ВШОУЗ. 2024;10(1):92-103. doi:10.33029/2411-8621-2024-10-1-92-103.
 24. Drapkina OM, Vlasov VV, Morozov VV, et al. Treatment of Human Diseases Using Enema Administration of Fecal Microbiota Transplantation: Methodological Recommendations. *Russian Journal of Preventive Medicine*. 2024;27(6):79-87. (In Russ.) Драпкина О. М., Власов В. В., Морозов В. В. и др. Лечение заболеваний человека методом клизменной трансплантации фекальной микробиоты. Методические рекомендации. Профилактическая медицина. 2024;27(6):79-87. doi:10.17116/profmed20242706179.
 25. Scheeler A. Where Stool is a Drug: International Approaches to Regulating the Use of Fecal Microbiota for Transplantation. *J Law Med Ethics*. 2019;47(4):524-40. doi:10.1177/1073110519897729.
 26. Ishikawa D, Zhang X, Nagahara A. Current Applications and Future Prospects of Fecal Microbiota Transplantation. *Juntendo Med J*. 2025;71(2):68-75. doi:10.14789/ejmm.JMJ24-0045-R.
 27. Jørgensen SMD, Hvas CL, Dahlerup JF, et al. Banking feces: a new frontier for public blood banks? *Transfusion*. 2019;59(9):2776-82. doi:10.1111/trf.15422.
 28. Claassen-Weitz S, du Toit E, Gardner-Lubbe S, et al. Knowledge and Perceptions of South African Blood Donors Towards Bio-banking and Stool Donation. *S Afr J Infect Dis*. 2024;39(1):645. doi:10.4102/sajid.v39i1.645.
 29. Kragtsnaes MS, Nilsson AC, Kjeldsen J, et al. How do I establish a stool bank for fecal microbiota transplantation within the blood and tissue transplant service? *Transfusion*. 2020;60(6):1135-41. doi:10.1111/trf.15816.
 30. Baydoun H, Hussain N, Wu KO, et al. What's New and What's Next in Fecal Microbiota Transplantation? *Biologics*. 2025;19:481-96. doi:10.2147/BTT.S486372.
 31. Vlasov VV, Morozov VV. Russian experience in fecal microbiota transplantation. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2023;(4):113-20. (In Russ.) Власов В. В., Морозов В. В. Российский опыт трансплантации фекальной микробиоты. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023;(4):113-20. doi:10.31146/1682-8658-ecg-212-4-113-120.
 32. Alekhin AV, Erivantseva TN, Ryazhenov VV, et al. New role of extemporaneous manufacturing in regulating drug products access onto the market. *Pharmacy & Pharmacology*. 2023;11(2):161-72.

- (In Russ.) Алехин А. В., Эриванцева Т. Н., Ряженев В. В. и др. Новая роль экстремпорального изготовления в регулировании доступа лекарственных препаратов на рынок. Фармация и фармакология. 2023;11(2):161-72. doi:10.19163/2307-9266-2023-11-2-161-172.
33. Orlova NV, Il'enko LI. Extemporaneous Production of Medicinal Products — Advantages and Perspectives. Medical Alphabet. 2023;(13):7-10. (In Russ.) Орлова Н. В., Ильенко Л. И. Экстремпоральное производство лекарственных препаратов — преимущества и перспективы. Медицинский алфавит. 2023;(13):7-10. doi:10.33667/2078-5631-2023-13-7-10.
34. Camilleri M, Ford AC, Powell N, et al. The first international Rome consensus on functional bowel disorders (FBD) and fecal microbiota transplantation (FMT). Gut. 2024;73(4):635-45. doi:10.1136/gutjnl-2023-329948.
35. Liu Y, Li X, Chen Y, et al. Fecal microbiota transplantation: application scenarios, efficacy prediction, and factors impacting donor-recipient interplay. Front Microbiol. 2025;16:1556827. doi:10.3389/fmicb.2025.1556827.
36. Kazerouni A, Burgess J, Burns LJ, et al. Optimal Screening and Donor Management in a Public Stool Bank. Microbiome. 2015;3:75. doi:10.1186/s40168-015-0140-3.
37. Zhang T, Lu G, Zhao Z, et al. Washed microbiota transplantation vs. manual fecal microbiota transplantation: clinical findings, animal studies and in vitro screening. Protein Cell. 2020;11(4):251-66. doi:10.1007/s13238-019-00684-8.
38. Kopylova OV, Ershova AI, Pokrovskaya MS, et al. Biobanking in the hospital of a multidisciplinary research medical center as a potential for a wide research range. Part II. Specifics and first results of developing a described collection of biomaterial. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2023;22(11):3799. (In Russ.) Копылова О. В., Ершова А. И., Покровская М. С. и др. Биобанкирование в стационаре многопрофильного научного медицинского центра как потенциал для широкого спектра научных исследований. Часть II. Особенности и первые результаты формирования аннотированной коллекции биоматериала. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2023;22(11):3799. doi:10.15829/1728-8800-2023-3799. EDN: VFFYDN.
39. Prokhorova ND, Gospodaryk AV, Bespyatykh JA. Gut microbiota: role in human health and potential for personalized medicine. Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology. 2024; 13(4):81-8. (In Russ.) Прохорова Н. Д., Господарик А. В., Беспятых Ю. А. Микробиота кишечника: роль в здоровье человека и потенциал для персонализированной медицины. Доказательная гастроэнтерология. 2024;13(4):81-8. doi:10.17116/dokgastro20241304181.
40. Pokrovskaya MS, Borisova AL, Kiseleva AV, et al. Role of biobanking in the development of personalized medicine in Russia and the world. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2024;23(11):4214. (In Russ.) Покровская М. С., Борисова А. Л., Киселева А. В. и др. Роль биобанкирования в развитии персонализированной медицины в России и в мире. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2024;23(11):4214. doi:10.15829/1728-8800-2024-4214.

