

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 1,4

- Cardiovascular medicine
- Education



РОССИЙСКОЕ
КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО



Официальный сайт журнала

<https://cardiovascular.elpub.ru>

№ 11, 2023

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

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 г.
(Свидетельство ПИ № 77-11335)

Журнал с открытым доступом

Журнал включен в Перечень ведущих научных
журналов и изданий ВАК

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: <http://cardiovascular.elpub.ru>

Информация о подписке:
www.rosradio.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
Клещеногов 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: 05.12.2023

Цена свободная

©КАРДИОВАСКУЛЯРНАЯ ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА

КАРДИОВАСКУЛЯРНАЯ ТЕРАПИЯ И ПРОФИЛАКТИКА

Основан в 2002 г.

Том 22 11'2023

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)
Мареев Ю. В. (Москва, Россия)
Таратухин Е. О. (Москва, Россия)
Шепель Р. Н. (Москва, Россия)
Явелов И. С. (Москва, Россия)

Авксентьева М. В. (Москва)
Джозеф С. Альперт (Тусон, Аризона, США)
Бадтиева В. А. (Москва, Россия)
Бойцов С. А. (Москва, Россия)
Бубнова М. Г. (Москва, Россия)
Бузиашвили Ю. И. (Москва, Россия)
Васюк Ю. А. (Москва, Россия)
Габинский Я. Л. (Екатеринбург, Россия)
Галевич 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)
Скрипникова И. А. (Москва, Россия)
Толпыгина С. Н. (Москва, Россия)
Шляхто Е. В. (Санкт-Петербург, Россия)

Профессиональное образование

Авдеева Е. А. (Красноярск, Россия)
Андреева Н. Д. (Санкт-Петербург, Россия)
Ванчакова Н. П. (Санкт-Петербург, Россия)
Плугина М. И. (Ставрополь, Россия)
Теремов А. В. (Москва, Россия)
Чумаков В. И. (Волгоград, Россия)

Заместитель главного редактора

Астанина С. Ю. (Москва, 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.rosradio.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

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:
<http://cardiovascular.elpub.ru>

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

Subscription:
www.rosradio.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, Protopopovsky 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.22 11'2023

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)

Content Editors

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

Maria V. Avksentieva (Moscow, Russia)
Josef S. Alpert (Tucson, Arizona, USA)
Victoria A. Badtieva (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. Dzhioeva (Moscow, Russia)
Anna M. Kalinina (Moscow, Russia)
Zhanna D. Kobalava (Moscow, Russia)

Andrei L. Komarov (Moscow, Russia)
Anna V. Kontsevaya (Moscow, Russia)
Thomas Lüscher (London, The United Kingdom)
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

Elena A. Avdeeva (Krasnoyarsk, Russia)
Natalia D. Andreeva (St. Petersburg, Russia)
Nina P. Vanchakova (St. Petersburg, Russia)
Maria I. Plugina (Stavropol, Russia)
Alexander V. Teremov (Moscow, Russia)
Vyacheslav I. Chumakov (Volgograd, Russia)

Deputy Chief Editor

Svetlana Y. Astanina (Moscow, Russia)

Editorial office

Editorial Assistant

Yulia V. Minina (Moscow, Russia)

Proofreader

Chekrygina L. L. (Moscow, Russia)

Managing editors

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

Address: Petroverigsky 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.rosradio.ru

Содержание

Вступительное слово

Биобанкирование

Балановская Е. В., Горин И. О., Пономарев Г. Ю.,
Пылев В. Ю., Белов Р. О., Почешкова Э. А.,
Абдуллаев Ш. П., Мирзаев К. Б., Сычев Д. А.
Геногеографические технологии популяционного
биобанка как инструмент оценки эффектов отбора
(на примере фармакогенетических биомаркеров
сердечно-сосудистых заболеваний)

Кособокова Е. Н., Калинина Н. А.,
Барышникова М. А., Покровский В. С.,
Солопова О. Н., Богуш Т. А., Косоруков В. С.

Биоресурсные коллекции: алгоритмы
формирования и функционирования,
фундаментальная и прикладная значимость

Вашукова Е. С., Тарасенко О. А., Талантова О. Е.,
Козюлина П. Ю., Моршнева А. В., Мальцева А. Р.,
Пачулия О. В., Беспалова О. Н., Коган И. Ю.,
Глотов А. С.

Создание биоресурсной коллекции компонентов
крови беременных женщин для выявления
генетических особенностей плода, а также
для поиска генетических маркеров гестационных
осложнений

Мальцева А. Р., Илларионов Р. А., Вашукова Е. С.,
Пачулия О. В., Постникова Т. Б., Велижанина М. Е.,
Рубель А. А., Насыхова Ю. А., Беспалова О. Н.,
Глотов А. С.

Инвентаризация и контроль качества "Коллекции
биообразцов от беременных женщин на разных
сроках гестации для поиска ранних биомаркеров
осложнений беременности"

Борисова А. Л., Копылова О. В., Покровская М. С.,
Ефимова И. А., Пустеленин А. В., Ершова А. И.,
Драпкина О. М.

Биобанкирование в стационаре
многопрофильного научного медицинского
центра как потенциал для широкого спектра
научных исследований. Часть I.
Организационно-методические аспекты

Копылова О. В., Ершова А. И., Покровская М. С.,
Мешков А. Н., Борисова А. Л., Ефимова И. А.,
Серебрянская З. З., Пустеленин А. В., Юзков Ю. В.,
Гарбузова Е. В., Величко А. М., Сайфутдинов Ф. Р.,
Драпкина О. М.

Биобанкирование в стационаре
многопрофильного научного медицинского центра
как потенциал для широкого спектра научных
исследований. Часть II. Особенности и первые
результаты формирования аннотированной
коллекции биоматериала

Морозкина А. В., Воробьев А. С., Донников М. Ю.,
Коваленко Л. В., Сафронова М. Л., Гапурова А. Х.,
Николаев К. Ю.

Создание в Ханты-Мансийском автономном
округе — Югре коллекции биологических
образцов пациентов, перенесших инфаркт
миокарда

Contents

Address to the readers

Biobanking

Balanovskaya E. V., Gorin I. O., Ponomarev G. Yu.,
Pylev V. Yu., Belov R. O., Pocheshkhova E. A.,
Abdullaev Sh. P., Mirzaev K. B., Sychev D. A.
Genogeographic technologies of a population
biobank as a tool for assessing selection effects
(using the example of pharmacogenetic biomarkers
of cardiovascular diseases)

Kosobokova E. N., Kalinina N. A.,
Baryshnikova M. A., Pokrovsky V. S.,
Solopova O. N., Bogush T. A., Kosorukov V. S.
Bioresource collections: algorithms for development
and functioning; basic and applied significance

Vashukova E. S., Tarasenko O. A., Talantova O. E.,
Kozyulina P. Yu., Morshneva A. V., Maltseva A. R.,
Pachulia O. V., Bespalova O. N. I., Kogan I. Yu.,
Glotov A. S.
Bioresource collection of blood components from
pregnant women to identify fetal genetic features,
as well as to search for genetic markers of gestational
complications

Maltseva A. R., Illarionov R. A., Vashukova E. S.,
Pachulia O. V., Postnikova T. B., Velizhanina M. E.,
Rubel A. A., Nasykhova Yu. A., Bespalova O. N.,
Glotov A. S.
Inventory and quality control of biosample
collection from pregnant women at different
gestational ages to search for early biomarkers
of pregnancy complications

Borisova A. L., Kopylova O. V., Pokrovskaya M. S.,
Efimova I. A., Pustelenin A. V., Ershova A. I.,
Drapkina O. M.
Biobanking in the hospital of a multidisciplinary
research medical center as a potential for a wide
research range. Part I. Organizational
and methodological aspects

Kopylova O. V., Ershova A. I., Pokrovskaya M. S.,
Meshkov A. N., Borisova A. L., Efimova I. A.,
Serebryanskaya Z. Z., Pustelenin A. V., Yuzkov Yu. V.,
Garbuzova E. V., Velichko A. M., Sayfutdinov F. R.,
Drapkina O. M.
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

Morozkina A. V., Vorobyov A. S., Donnikov M. Yu.,
Kovalenko L. V., Safronova M. L., Gapurova A. Kh.,
Nikolaev K. Yu.
Creation of a biosample collection from patients
after myocardial infarction in the Khanty-Mansi
Autonomous Okrug — Yugra

Букреева А. С., Мальсагова К. А., Изотов А. А.,
Лисица А. В., Кайшева А. Л.
Веб-репозиторий "БиоВитрина" — доступ
к информации о биоресурсных коллекциях

Копылова О. В., Ершова А. И., Борисова А. Л.,
Метельская В. А., Драпкина О. М.
Особенности формирования клинической
аннотации биообразцов

Свитич О. А., Зверев В. В., Соломай Т. В.,
Семененко Т. А., Ноздрачева А. В., Готвянская Т. П.
Возможности банка биологических образцов
для серологического мониторинга инфекционной
заболеваемости

Ноздрачева А. В., Семененко Т. А.
Оценка надежности результатов серологического
мониторинга по материалам биобанка

Русских Я. В., Сушенцева Н. Н., Попов О. С.,
Апалько С. В., Анисенкова А. Ю., Мосенко С. В.,
Сарана А. М., Шчербак С. Г.
Исследование особенностей метаболома
пациентов с COVID-19

Кит О. И., Гненная Н. В., Филиппова С. Ю.,
Чембарова Т. В., Лысенко И. Б., Новикова И. А.,
Розенко Л. Я., Димитриади С. Н., Шалашная Е. В.,
Ишонина О. Г.
Криоконсервация гемопоэтических
стволовых клеток периферической крови
в трансплантологии: современное состояние
и перспективы

Киселева А. В., Сопленкова А. Г., Куценко В. А.,
Сотникова Е. А., Вяткин Ю. В., Жарикова А. А.,
Ершова А. И., Зайченко М., Раменский В. Е.,
Скирко О. П., Сметнев С. А., Копылова О. В.,
Лимонова А. С., Блохина А. В., Покровская М. С.,
Шальнова С. А., Мешков А. Н., Драпкина О. М.
Валидация шкал генетического риска
развития сахарного диабета 2 типа на выборке
населения регионов России из биобанка "НМИЦ
ТГПМ"

Каменских Е. М., Бахарева Ю. О., Демченко Ю. Д.,
Соколова Т. С., Казаков С. Д., Чубакова К. А.,
Федорова О. С.
Оценка осведомленности о биобанкировании
среди пациентов и врачей: опыт Томской области

Мнение приглашенного редактора

Ершова А. И.
Мнение эксперта о статье "Оценка
осведомленности о биобанкировании среди
пациентов и врачей: опыт Томской области"

RU.SCIENTIA sine finibus

Мешков А. Н., Покровская М. С., Готов А. С.,
Ершова А. И., Родионова Ю. В., Драпкина О. М.
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)

81 Bukreeva A. S., Malsagova K. A., Izotov A. A.,
Lisitsa A. V., Kaisheva A. L.
BioVitrina web repository — access to data
on bioresource collections

89 Kopylova O. V., Ershova A. I., Borisova A. L.,
Metelskaya V. A., Drapkina O. M.
Specifics of creating clinical abstract of biospecimens

99 Svitich O. A., Zverev V. V., Solomay T. V.,
Semenenko T. A., Nozdracheva A. V., Gotvyanskaya T. P.
Possibilities of a biobank for serological monitoring
of infectious morbidity

106 Nozdracheva A. V., Semenenko T. A.
Assessment of the reliability of serological monitoring
results based on biobank materials

113 Russkikh Y. V., Sushentseva N. N., Popov O. S.,
Apalko S. V., Anisenkova A. Yu., Mosenko S. V.,
Sarana A. M., Shcherbak S. G.
Study of the metabolome features of patients
with COVID-19

124 Kit O. I., Gnennaya N. V., Filippova S. Yu.,
Chembarova T. V., Lysenko I. B., Novikova I. A.,
Rozenko L. Ya., Dimitriadi S. N., Shalashnaya E. V.,
Ishonina O. G.
Cryostorage of peripheral blood hematopoietic stem
cells in transplantology: current status and prospects

134 Kiseleva A. V., Soplenkova A. G., Kutsenko V. A.,
Sotnikova E. A., Vyatkin Yu. V., Zharikova A. A.,
Ershova A. I., Zaichenoka M., Ramensky V. E.,
Skirko O. P., Smetnev S. A., Kopylova O. V.,
Limonova A. S., Blokhina A. V., Pokrovskaya M. S.,
Shalnova S. A., Meshkov A. N., Drapkina O. M.
Validation of genetic risk scores for type 2 diabetes
on a Russian population sample from the biobank
of the National Medical Research Center for Therapy
and Preventive Medicine

141 Kamenskikh E. M., Bakhareva Yu. O., Demchenko Yu. D.,
Sokolova T. S., Kazakov S. D., Chubakova K. A.,
Fedorova O. S.
Awareness of biobanking among patients and doctors:
experience of the Tomsk Oblast

Opinion of invited editor

151 Ershova A. I.
Expert opinion on the article "Assessment of awareness
of biobanking among patients and doctors: experience
of the Tomsk Oblast"

RU.SCIENTIA sine finibus

154 Meshkov A. N., Pokrovskaya M. S., Glotov A. S.,
Ershova A. I., Rodionova Yu. V., Drapkina O. M.
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)

Уважаемые читатели,

биобанкирование — это прорыв в науке, очень важный для медицины будущего. В 2018г при поддержке Минздрава России была создана Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО). В текущем году Международная конференция "Биобанкирование. От идеи к внедрению" успешно прошла под эгидой НАСБИО и собрала более 200 участников из России, Китая, Беларуси, Казахстана и Узбекистана.

В резолюции конференции сформулированы основные актуальные задачи ассоциации, и среди них:

- разработать комплекс мер, направленных на популяризацию отечественных научных достижений в области биобанкирования;
- инициировать создание единого реестра контрольных образцов и стандартов;
- создать единую цифровую платформу национального реестра биобанков и поддержать развитие нормативной правовой базы биобанкирования различных типов биоматериала человека.

Таким образом, принципы медицины будущего закладываются уже сегодня силами членов ассоциации НАСБИО и другими участниками реализации программ биобанкирования: научно-исследовательскими институтами, фармацевтическими и биотехнологическими компаниями, представителями биобанков, профессиональными ассоциациями, научными и образовательными организациями и представителями индустрии.

С 2020г в каждом одиннадцатом номере журнала "Кардиоваскулярная терапия и профилактика" публикуются научные рецензируемые статьи, отражающие текущие усилия членов НАСБИО и развитие биобанкирования в РФ. В выпуск 2023г вошли публикации на актуальные темы, демонстрирующие возможности биобанков России для научных исследований:

- Биоресурсные коллекции: алгоритмы формирования и функционирования, фундаментальная и прикладная значимость, доступ к информации через платформу "БиоВитрина".
- Оценка осведомленности о биобанкировании среди пациентов и врачей.
- Криоконсервация гемопоэтических стволовых клеток периферической крови в трансплантологии: современное состояние и перспективы.

Приятного чтения,

Главный редактор,

д.м.н., профессор, академик РАН

Драпкина Оксана Михайловна



- Геногеографические технологии популяционного биобанка.
- Сплошное биобанкирование в многопрофильном стационаре научного медицинского центра как потенциал для широкого спектра научных исследований.
- Исследование особенностей метаболома пациентов с COVID-19.
- Валидация шкал генетического риска развития сахарного диабета 2 типа на выборке населения регионов России из биобанка "НМИЦ ТПМ".
- Возможности банка биологических образцов для серологического мониторинга инфекционной заболеваемости.

Подробнее о современном биобанкировании можно прочесть в публикации тематического раздела "Научный журнал — российская наука без границ": **"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)".**

Геногеографические технологии популяционного биобанка как инструмент оценки эффектов отбора (на примере фармакогенетических биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний)

Балановская Е. В.¹, Горин И. О.¹, Пономарев Г. Ю.¹, Пылев В. Ю.^{1,2}, Белов Р. О.¹, Почешхова Э. А.^{1,3}, Абдуллаев Ш. П.⁴, Мирзаев К. Б.⁴, Сычев Д. А.⁴

¹ФГБНУ "Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова". Москва; ²АНО "Биобанк Северной Евразии". Москва;

³ФГБОУ ВО "Кубанский государственный медицинский университет" Минздрава России. Краснодар; ⁴ФГБОУ ДПО "Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования" Минздрава России. Москва, Россия

Значительные различия между генофондами народов России требуют разработки этно-регионально адаптированных фармакогенетических тестов и выявления приоритетных регионов для их внедрения.

Цель. Разработать геногеографическую технологию для выявления эффектов отбора на примере биомаркеров, значимых для фармакотерапии пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), с помощью популяционного биобанка и базы данных "Фармакогенетика популяций России и сопредельных стран".

Материал и методы. Образцы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) Биобанка Северной Евразии из 20 метапопуляций коренного населения Европейской части России изучены по двум массивам данных: по 24 фармакогенетическим маркерам ССЗ (3170 образцов); по 1276 191 полиморфным ДНК-маркерам аутосомного генома (1293 образца). По каждому массиву данных приведены оценки межпопуляционной изменчивости генофонда: разница между этими оценками характеризует давление отбора на каждый из 24 биомаркеров ССЗ. Создан геногеографический атлас, карты которого демонстрируют давление отбора на каждый биомаркер по степени отклонения от селективно-нейтральной изменчивости генофонда.

Результаты. 24 биомаркера ССЗ подразделены на три класса: близких к селективно-нейтральной изменчивости, подверженных стабилизирующему и дифференцирующему отбору. Для каждого из 24 биомаркеров ССЗ созданы геногеографические карты, выявляющие эффекты отбора в каждой из 20 метапопуляций. Большинство карт выявили популяции, находящиеся под давлением дифференцирующего отбора и поэтому являющиеся приоритетными для внедрения этно-регионально адаптированных фармакогенетических протоколов.

Заключение. Фармакогенетические маркеры и популяции, находящиеся под действием дифференцирующего отбора, требуют разработки этно-регионально адаптированных фармакогенети-

ческих тестов. Созданный картографический атлас отбора может служить основой для развития фармакогенетических исследований, проводимых методами геногеографии.

Ключевые слова: отбор, популяционный биобанк, база данных, фармакогенетика, ДНК-маркеры, сердечно-сосудистые заболевания, геногеография.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 21-14-00363 (биоинформатический анализ, интерпретация результатов) и государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ "МГНЦ" (картографический и статистический анализ).

Благодарности. Авторы благодарят АНО "Биобанк Северной Евразии" за предоставление коллекций ДНК.

Поступила 11/10-2023

Рецензия получена 16/10-2023

Принята к публикации 25/10-2023



Для цитирования: Балановская Е. В., Горин И. О., Пономарев Г. Ю., Пылев В. Ю., Белов Р. О., Почешхова Э. А., Абдуллаев Ш. П., Мирзаев К. Б., Сычев Д. А. Геногеографические технологии популяционного биобанка как инструмент оценки эффектов отбора (на примере фармакогенетических биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний). *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023; 22(11):3773. doi:10.15829/1728-8800-2023-3773. EDN XPMFOW

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: balanovska@mail.ru

[Балановская Е. В. — д.б.н., профессор, г.н.с., зав. лабораторией популяционной генетики человека, ORCID: 0000-0002-3882-8300, Горин И. О. — н.с. лаборатории популяционной генетики человека, ORCID: 0000-0001-9532-8954, Пономарев Г. Ю. — н.с. лаборатории популяционной генетики человека, ORCID: 0000-0002-0643-4374, Пылев В. Ю. — н.с. лаборатории популяционной генетики человека, генеральный директор АНО "Биобанк Северной Евразии", ORCID: 0000-0001-9541-8319, Белов Р. О. — стажер сотрудник лаборатории популяционной генетики человека, ORCID: 0009-0009-4286-4791, Почешхова Э. А. — д.м.н., г.н.с. лаборатории популяционной генетики человека, доцент, профессор кафедры биологии с курсом медицинской генетики, ORCID: 0000-0002-8991-7194, Абдуллаев Ш. П. — к.б.н., зав. отделом предиктивных и прогностических биомаркеров НИИ молекулярной и персонализированной медицины, ORCID: 0000-0001-9001-1499, Мирзаев К. Б. — д.м.н., директор НИИ молекулярной и персонализированной медицины, проректор по научной работе и инновациям, ORCID: 0000-0002-9307-4994, Сычев Д. А. — академик РАН, д.м.н., профессор, профессор РАН, зав. кафедрой клинической фармакологии и терапии им. акад. Б. Е. Вотчала, ректор, ORCID: 0000-0002-4496-3680].

Genogeographic technologies of a population biobank as a tool for assessing selection effects (using the example of pharmacogenetic biomarkers of cardiovascular diseases)

Balanovskaya E. V.¹, Gorin I. O.¹, Ponomarev G. Yu.¹, Pylev V. Yu.^{1,2}, Belov R. O.¹, Pocheshkhova E. A.^{1,3}, Abdullaev Sh. P.⁴, Mirzaev K. B.⁴, Sychev D. A.⁴

¹Bochkov Medical Genetic Research Center. Moscow; ²Biobank of Northern Eurasia. Moscow; ³Kuban State Medical University. Krasnodar;

⁴Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. Moscow, Russia

Significant differences between the gene pools of Russian peoples require the development of ethno-regional adapted pharmacogenetic tests and the identification of priority regions for their implementation.

Aim. To develop a genogeographic technology to identify selection effects using the example of biomarkers that are significant for pharmacotherapy of patients with cardiovascular diseases (CVD), using a population biobank and the Pharmacogenetics of Populations of Russia and Adjacent Countries database.

Material and methods. Deoxyribonucleic acid (DNA) samples from the Biobank of Northern Eurasia from 20 metapopulations of the indigenous population of the European Russia were studied using two following data sets: 24 pharmacogenetic markers of CVDs (3170 samples); 1 276 191 polymorphic DNA markers of the autosomal genome (1293 samples). For each data set, estimates of interpopulation variability in the gene pool are provided — the difference between these estimates characterizes the selection pressure on each of the 24 CVD biomarkers. A genogeographic atlas has been created, the maps of which demonstrate the selection pressure on each biomarker according to the degree of deviation from the selective-neutral variability of the gene pool.

Results. Twenty-four CVD biomarkers are divided into three following classes: those close to selective-neutral variability, those subject to stabilizing and differentiating selection. For each of the 24 CVD biomarkers, genogeographic maps were created that reveal selection effects in each of the 20 metapopulations. Most maps have identified populations that are under differential selection pressure and therefore a priority for the implementation of ethno-regionally adapted pharmacogenetic protocols.

Conclusion. Pharmacogenetic markers and populations under differential selection require the development of ethno-regionally adapted pharmacogenetic tests. The created cartographic atlas of selection can serve as the basis for pharmacogenetic studies carried out using genogeographic methods.

Keywords: selection, population biobank, database, pharmacogenetics, DNA markers, cardiovascular diseases, genogeography.

Relationships and Activities. The study was supported by the Russian Science Foundation grant № 21-14-00363 (bioinformatic analysis, interpretation of results) and the state assignment of the Ministry of Education and Science of Russia for the Bochkov Medical Genetic Research Center (cartographic and statistical analysis).

Acknowledgments. The authors are grateful to the Biobank of Northern Eurasia for providing DNA collections.

Balanovskaya E. V.* ORCID: 0000-0002-3882-8300, Gorin I. O. ORCID: 0000-0001-9532-8954, Ponomarev G. Yu. ORCID: 0000-0002-0643-4374, Pylev V. Yu. ORCID: 0000-0001-9541-8319, Belov R. O. ORCID: 0009-0009-4286-4791, Pocheshkhova E. A. ORCID: 0000-0002-8991-7194, Abdullaev Sh. P. ORCID: 0000-0001-9001-1499, Mirzaev K. B. ORCID: 0000-0002-9307-4994, Sychev D. A. ORCID: 0000-0002-4496-3680.

*Corresponding author: balanovska@mail.ru

Received: 11/10-2023

Revision Received: 16/10-2023

Accepted: 25/10-2023

For citation: Balanovskaya E. V., Gorin I. O., Ponomarev G. Yu., Pylev V. Yu., Belov R. O., Pocheshkhova E. A., Abdullaev Sh. P., Mirzaev K. B., Sychev D. A. Genogeographic technologies of a population biobank as a tool for assessing selection effects (using the example of pharmacogenetic biomarkers of cardiovascular diseases). *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3773. doi:10.15829/1728-8800-2023-3773. EDN XPMFOW

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ФГТ — фармакогенетическое тестирование, SNP — Single Nucleotide Polymorphism (однонуклеотидные полиморфные сайты генома), F_{ST} — критерий Фишера для оценки межпопуляционных различий, IHS — integrated haplotype score (интегрированная оценка гаплотипов — метод на основе анализа расширенной гаплотипической гомозиготности), N_e — показатель генетически эффективного размера популяций, M_e — показатель генетически эффективных миграций.

Введение

Получение генетической информации о пациенте для индивидуализации фармакотерапии — выбора лекарственных препаратов, подбора и коррекции их доз на основании молекулярно-генетических особенностей пациента — становится важным трендом в медицине. Особые успехи фармакогенетических исследований достигнуты в кардиологической практике. Примером могут служить такие пары ген-препарат: *CYP2C9*, *VKORC1*, *CYP4F2* [1] — варфарин (и другие антагонисты витамина К); *CYP2C19* и *ABCB1* — клопидогрел [2, 3]; *SLCO1B1* — статины [4]. Полиморфизмы *ABCB1* детерминируют также изменение фармакокинетики антикоагулянтов прямого действия (дабигатран, ривароксабан, апиксабан) [5].

Современная медицинская помощь основывается на национальных и международных клинических рекомендациях "усредненному пациенту" [6], характеристики которого определены в рандомизированных клинических исследованиях жителей Европы и США. Однако основанные на них фармакогенетические рекомендации могут быть не валидными для населения других регионов мира [7], что требует от национальных органов здравоохранения их адаптации к собственному народонаселению. Знание геногеографии клинически значимых биомаркеров позволяет выделять популяции, для которых проведение фармакогенетического тестирования (ФГТ) будет приоритетным и обоснованным; такой подход исключит необоснованное назначение ФГТ для всех пациентов.

Ключевые моменты**Что известно о предмете исследования?**

- Значительные различия между генофондами народов России требуют этно-региональной адаптации фармакогенетических тестов и выявления приоритетных регионов для их внедрения.
- Наиболее важны для решения этой задачи те фармакогенетические ДНК-маркеры и популяции, которые находятся под давлением дифференцирующего отбора.

Что добавляют результаты исследования?

- Сочетание геногеографической технологии, популяционного биобанка и базы данных по фармакогенетике позволило создать картографический атлас эффектов отбора для 24 фармакогенетических биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний.
- Карты атласа показывают, в каких популяциях России и по каким фармакогенам действует дифференцирующий отбор, и демонстрируют приоритетные популяции для внедрения этно-регионально адаптированных фармакогенетических протоколов.

Key messages**What is already known about the subject?**

- Significant differences between the gene pools of the Russian peoples require ethno-regional adaptation of pharmacogenetic tests and identification of priority regions for their implementation.
- The most important for solving this problem are those pharmacogenetic DNA markers and populations that are under differential selection pressure.

What might this study add?

- The combination of genogeographic technology, a population biobank and a pharmacogenetics database has produced a cartographic atlas of selection effects for 24 pharmacogenetic cardiovascular biomarkers.
- Atlas maps show in which Russia populations and for which pharmacogenes differential selection operates, and demonstrate priority populations for the implementation of ethno-regionally adapted pharmacogenetic protocols.

Во многих работах показано, что для народонаселения России характерна значительная этно-региональная изменчивость частот фармакогенетических маркеров [8-14], что приводит к необходимости адаптации фармакогенетических рекомендаций к конкретным популяциям и народам. Для выявления биомаркеров, требующих наибольшей адаптации ФГТ из-за значительных различий между популяциями, полезно использовать такой инструмент, как выявление эффектов отбора. Под давлением мощного стабилизирующего отбора межпопуляционные различия биомаркеров будут нивелироваться и тогда для большинства популяций региона будет приемлем стандартный протокол ФГТ. Но у той части биомаркеров, на которые действует дифференцирующий отбор, различия между популяциями становятся столь велики, что для них необходима разработка разных вариаций фармакогенетических протоколов. В этом случае целесообразно применение инструментария геногеографии, предлагающей легко читаемые карты, указывающие на действие разных типов отбора и его интенсивность в разных частях региона.

Наиболее простой способ выявления отбора — анализ отклонения межпопуляционных различий по данному биомаркеру от селективно-нейтрального уровня. Основные факторы микроэволюции популяций — дрейф генов и миграции — действуют на весь аутосомный геном одинаково и определяют единый для всех SNP (Single Nucleotide Poly-

morphism)-маркеров селективно-нейтральный уровень различий между популяциями. Поэтому увеличение таких межпопуляционных различий у конкретного биомаркера указывает на давление на него дифференцирующего отбора, а уменьшение различий — на действие стабилизирующего отбора [15-19].

Одним из наиболее применяемых методов для оценки межпопуляционных различий служит показатель F_{ST} (критерий Фишера для оценки межпопуляционных различий). Разработаны и описаны различные подходы к поиску значений F_{ST} , отличающихся от селективно-нейтрального уровня различий между популяциями [20]: ранжируя оценки F_{ST} по отдельным SNP-маркерам, приходят к выводу о влиянии отбора на маркеры с наибольшим отклонением от среднего уровня F_{ST} [21]. Этот метод применялся, например, для поиска маркеров, подверженных отбору, в популяциях афроамериканцев [22], в 7 популяциях североευропейского происхождения [23], для оценки функциональной значимости SNP-маркеров в массиве данных II фазы международного проекта НарМар (сокращенно от Narplotype Map — "карта гаплотипа" генома человека) [24].

Данный метод выявления эффектов отбора неоднократно использовался и для фармакогенетически значимых биомаркеров. Например, при анализе SNP-маркеров гена *NOS1* (играющего решающую роль в иммунорегуляции и в неспецифической защите хозяина при таких инфекциях, как

малярия, токсоплазмоз, лейшманиоз, трипаносомоз, шистосомоз) сравнение шести популяций Средиземноморья выявило отклонение от селективной нейтральности в марокканской популяции [25]. При оценке межпопуляционной вариабельности частот SNP-маркеров генов иммунного ответа (*IL4*, *IL10*, *IL13*, *IL12A*) показано действие дифференцирующего отбора на варианты rs2070874 и rs6441286 про- и противовоспалительных цитокинов в разных популяциях [26]. При анализе 1044 SNP-маркеров 243 фармакогенов с помощью двух независимых методов — IHS (integrated haplotype score, интегрированная оценка гаплотипов) и F_{ST} — обнаружено действие отбора [27] на фармакогены различных классов: *ABCC6* (ген-переносчик многих противоопухолевых препаратов); *UGT2B17* (ген, кодирующий фермент переноса глюкуроновой кислоты из уридиндифосфоглюкуроновой кислоты в разнообразные субстраты, включая стероидные гормоны и жирорастворимые лекарственные средства); *SLC25A20* (ген, ассоциированный с дефицитом карнитин-ацилкарнитинтранслоказы, мутации в котором могут вызывать различные патологические состояния, такие как гипогликемия, остановка сердца, гепатомегалия, печеночная дисфункция и мышечная слабость).

Эти и другие исследования указывают, что выявление эффектов отбора через анализ межпопуляционных различий служит эффективным инструментом для обнаружения генов-кандидатов, имеющих наибольшее функциональное и медицинское значение для ряда популяций. Выявление фармакогенетических маркеров и популяций, наиболее подверженных дифференцирующему отбору, может стать важным инструментом в рамках стратегии перехода к персонализированной медицине при разработке региональных алгоритмов персонализации терапии различных нозологий, учитывающих генетические особенности местного населения, и для выделения отдельных регионов или популяций приоритетных для внедрения соответствующих протоколов ФГТ.

Цель работы — с помощью геногеографических технологий, опирающихся на популяционный биобанк и базу данных по фармакогенетике, оценить давление отбора на биомаркеры, значимые для персонализации фармакотерапии пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ).

Материал и методы

Исследование основано на биообразцах популяционного Биобанка Северной Евразии (Москва) и информации базы данных "Фармакогенетика популяций России и сопредельных стран". Биобанк Северной Евразии предоставил 3170 образцов дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), которые были изучены по 24 биомаркерам ССЗ: *ABCB1* (rs1045642), *ABCB1* (rs4148738), *ABCG2* (rs2231137), *ABCG2* (rs2231142), *ADRB1* (rs1801252), *CES1* (rs2244613),

CYP2C19 (rs12248560), *CYP2C19* (rs4244285), *CYP2C19* (rs4986893), *CYP2C8* (rs10509681), *CYP2C9* (rs1057910), *CYP2C9* (rs1799853), *CYP2D6* (rs1065852), *CYP2D6* (rs28371725), *CYP2D6* (rs3892097), *CYP3A4* (rs2242480), *CYP3A5* (rs776746), *CYP4F2* (rs2108622), *P2RY12* (rs2046934), *PON1* (rs662), *SLCO1B1* (rs4149056), *VKORC1* (rs7294), *VKORC1* (rs9923231), *VKORC1* (rs9934438). Данные об их частотах в 61 популяции Европейской части России и сопредельных стран объединены с дополнительной информацией базы данных "Фармакогенетика популяций России и сопредельных стран".

Для анализа селективно-нейтральной изменчивости Биобанк Северной Евразии предоставил данные о 1401 образце, изученном по большому массиву SNP-маркеров аутосомного генома с помощью биочипа Infinium OmniExome BeadChip Kit (Illumina; США) на приборе iScan (Illumina; США). Первичный анализ и оценка качества этих данных проведены в программе GenomeStudio v2011.1, показатель CallRate составлял не <0,99. При фильтрации с помощью PLINK 1.9 [27] исключены SNP-маркеры, прочитанные менее чем у 90% образцов (geno 0,1), с частотой минорного варианта <1% (maf 0,01), тесно сцепленные SNP ($R^2 > 0,5$); а также исключены образцы, у которых прочитано <95% SNP-маркеров (mind 0,05). В результате для анализа использованы 1276 191 SNP-маркеров для 1293 образцов.

Оба массива данных Биобанка Северной Евразии ДНК репрезентативно представляют генофонды коренного населения европейской части России (таблица 1). Коллекции ДНК сформированы по единой технологии (детально описанной в [28]) в ходе многолетних экспедиционных обследований коренного населения: в выборки включены образцы неродственных между собой индивидов, предки которых на глубину не <3-х поколений относили себя к данному этносу и данной популяции [28]. Обследование проведено на добровольной основе с письменным информированным согласием, одобренным Этическим комитетом ФГБНУ "МГНЦ" (Заключение от 29.06.2020г).

Для корректного сравнения и формирования репрезентативных выборок оба массива популяционных данных объединены в 20 метапопуляций в соответствии с общностью этногенеза или региональной принадлежности (таблица 1). Генетические различия F_{ST} между каждой парой из 20 метапопуляций рассчитаны с помощью программы smartpca пакета eigensoft [29]. Геногеографические карты построены с помощью программного пакета GeneGeo [30] методом средневзвешенной интерполяции со степенью весовой функции 2 и радиусом влияния 1200 км. В специальном окне легенды каждой карты указаны ее статистические характеристики: K — число исходных популяций для построения карты; min — минимальное значение признака; max — максимальное значение признака; avg — среднее значение признака; GST — межпопуляционные различия (аналог F_{ST} для дуаллельных маркеров).

Результаты

Чтобы выявить давление отбора на биомаркер, необходимо получить две оценки: селективно-нейтрального уровня межпопуляционной изменчивости для данного региона и межпопуляционной изменчивости данного биомаркера в этом же регионе.

Таблица 1

Состав и численность популяций, изученных по биомаркерам ССЗ, и метапопуляций, по которым дана оценка селективно-нейтральной изменчивости

Популяции ССЗ			Метапопуляции	
Номера популяций на карте частоты ССЗ	Состав популяций	Выборка ССЗ, n (человек)	Краткое условное название метапопуляции на карте	Выборка в метапопуляциях, m (человек)
1-4	Русский Север (Архангельская область)	213	Поморы	84
5-7	русские северных областей	205	Русс-север	95
8-10	русские центральных областей	142	Русс-центр	84
11, 12, 17	русские южных областей, казаки	166	Русс-юг	88
13-16	украинцы	206	Украинцы	78
18	белорусы	50	—	—
19, 23	вепсы, ижора, водь	87	Вепсы	30
20-22	карелы, саамы	157	Карелы	30
24	финны-ингерманландцы	37	—	—
25	ненцы	21	—	—
26	удмурты, бесермяне	90	Удмурты	28
27-29	коми-пермяки	218	Коми-пермяки	47
30, 31	марийцы	129	Марийцы	31
32-34	чуваши	134	Чуваши	33
35, 36	татары Поволжья	156	Татары	54
37, 38	Мордовия (мокша, шокша, эрзя)	155	Мордовия	47
39, 40	башкиры	100	Башкиры	42
41, 42	угры (манси, ханты)	96	Угры	41
43-46	народы Западного Кавказа	167	Запад. Кавказ	86
47-48	народы европейской степи	95	Степь	83
49-50, 55-58	народы Центрального Кавказа и Закавказья	265	Центр. Кавказ	193
51-54	народы Восточного Кавказа	155	Вост. Кавказ	88
59-60	народы Зарубежной Европы	90	Заруб. Европа	31
61	калмыки	36	—	—
	Суммарно	3170	Суммарно	1293

Примечание: ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания.

1. Оценка селективно-нейтрального уровня межпопуляционных различий F_{ST}

Для генофонда каждого региона характерен свой селективно-нейтральный уровень различий между популяциями: $F_{ST(NEUTR)}$. Его значение одинаково для любых генетических маркеров данного региона, поскольку он задается не свойствами того или иного гена, а исключительно демографическими факторами — средним генетически эффективным размером популяций (N_e) и миграционными связями между популяциями региона (M_e). Эти два демографических фактора и являются двумя основными, но противодействующими, силами микроэволюции популяций, которые в равной степени действуют на любые гены аутосомного генома. Чем меньше генетически эффективный размер популяции (N_e), тем сильнее дрейф генов, увеличивающий различия между популяциями. Чем интенсивнее генетически эффективные миграции (M_e), тем больше нивелируются различия между по-

пуляциями, возникающие в результате дрейфа генов. Их взаимодействие и определяет селективно-нейтральный уровень межпопуляционных различий $F_{ST(NEUTR)} = 1/(4N_eM_e)$.

Есть два способа определения уровня селективно-нейтральной изменчивости $F_{ST(NEUTR)}$ [15-19]. Прямой способ — через исключительно демографические оценки генетически эффективных размера популяций N_e и миграций M_e . Но корректные оценки N_e и M_e даже для небольшого региона получить крайне сложно: для их получения используются разные модели популяционной генетики, вызывающие вопросы об их применимости в каждом конкретном случае. Поэтому более надежным оказывается непрямой способ оценки $F_{ST(NEUTR)}$ через среднюю межпопуляционную изменчивость совокупности генов ($\bar{F}_{ST}$). Непрямой метод оценки селективно-нейтрального уровня различий между популяциями исходит из гипотезы, что каждый из совокупности анализируемых гене-

Таблица 2

Оценка типа давления отбора для 24 биомаркеров ССЗ
по параметру отклонения от селективно-нейтрального уровня F_{ST}

Ген	Маркер	Диапазон частоты	Средняя частота	Средний размер метапопуляции	Межпопуляционные различия	Средняя оценка отбора	Оценка отбора по карте	Тип давления отбора	
		Δq	$\bar{q}$	$n_{(i)}$	$F_{ST(i)}$	$\Delta = F_{ST(i)} - \bar{F}_{ST}$	$\Delta = F_{ST(i)} - \bar{F}_{ST(i)}$	Класс отбора	Характеристика класса отбора
<i>VKORC1</i>	rs9923231	0,73	0,53	146	3,45	+2,21	+2,16	DIFF	ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИЙ отбор: изменчивость больше, чем различия между популяциями при селективно-нейтральной изменчивости: $F_{ST(i)} > \bar{F}_{ST}$
<i>CES1</i>	rs2244613	0,41	0,29	148	3,39	+2,15	+2,39	DIFF	
<i>VKORC1</i>	rs9934438	0,73	0,53	148	3,16	+1,92	+1,88	DIFF	
<i>ABCG2</i>	rs2231137	0,49	0,13	147	2,75	+1,51	+1,72	DIFF	
<i>CYP4F2</i>	rs2108622	0,36	0,23	146	2,28	+1,04	+1,13	DIFF	
<i>CYP2D6</i>	rs1065852	0,33	0,15	79	2,20	+0,96	+0,91	DIFF	
<i>SLCO1B1</i>	rs4149056	0,28	0,19	148	1,86	+0,62	+0,71	DIFF	
<i>VKORC1</i>	rs7294	0,43	0,32	138	1,82	+0,58	+0,53	DIFF	
<i>CYP2D6</i>	rs3892097	0,28	0,13	83	1,58	+0,34	+0,13	NEUTR	Условно СЕЛЕКТИВНО НЕЙТРАЛЬНЫЕ: межпопуляционная изменчивость слабо отличается от селективно-нейтрального уровня: $F_{ST(i)} \approx \bar{F}_{ST}$
<i>ADRB1</i>	rs1801252	0,44	0,17	52	1,48	+0,24	+0,48	NEUTR	
<i>CYP2C19</i>	rs4986893	0,12	0,01	149	0,97	-0,27	-0,25	NEUTR	
<i>P2RY12</i>	rs2046934	0,33	0,14	75	0,88	-0,36	-0,49	NEUTR	
<i>ABCG2</i>	rs2231142	0,15	0,08	148	0,88	-0,36	-0,49	NEUTR	
<i>ABCB1</i>	rs4148738	0,29	0,49	142	0,79	-0,45	-0,49	NEUTR	
<i>CYP2C19</i>	rs12248560	0,29	0,24	69	0,77	-0,47	-0,47	NEUTR	
<i>CYP2C9</i>	rs1057910	0,26	0,08	142	0,74	-0,50	-0,55	NEUTR	
<i>ABCB1</i>	rs1045642	0,33	0,43	150	0,63	-0,61	-0,59	STAB	СТАБИЛИЗИРУЮЩИЙ отбор: изменчивость меньше селективно-нейтрального уровня: $F_{ST(i)} < \bar{F}_{ST}$
<i>CYP2D6</i>	rs28371725	0,21	0,06	112	0,62	-0,62	-0,69	STAB	
<i>CYP2C9</i>	rs1799853	0,50	0,09	83	0,61	-0,63	-0,61	STAB	
<i>CYP2C8</i>	rs10509681	0,21	0,09	118	0,58	-0,66	-0,71	STAB	
<i>CYP3A4</i>	rs2242480	0,22	0,12	143	0,47	-0,77	-0,82	STAB	
<i>CYP3A5</i>	rs776746	0,20	0,11	141	0,41	-0,83	-0,86	STAB	
<i>PON1</i>	rs662	0,46	0,31	149	0,28	-0,96	-1,01	STAB	
<i>CYP2C19</i>	rs4244285	0,25	0,15	147	0,28	-0,96	-1,00	STAB	

Примечание: ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, DIFF — биомаркеры, отнесенные к классу действия дифференцирующего отбора, NEUTR — условно селективно нейтральные биомаркеры, STAB — биомаркеры, отнесенные к классу действия стабилизирующего отбора. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

тических маркеров находится под действием своего собственного вектора отбора, в результате которого для каждого i -того маркера характерен свой собственный показатель межпопуляционных различий $F_{ST(i)}$. Поэтому усреднение оценок межпопуляционных различий по большой совокупности генов (среднее $\bar{F}_{ST}$) усредняет эти разнонаправленные векторы, нивелируя эффекты отбора до нуля и давая оценку селективно-нейтральной изменчивости: $\bar{F}_{ST} = F_{ST(NEUTR)}$. Эта гипотеза неоднократно проверялась в регионах, для которых демографические оценки N_e и M_e считались корректными: было показано, что прямые (через N_e и M_e) и непрямые (через $\bar{F}_{ST}$) оценки практически совпадают. Поэтому обычно для оценки $F_{ST(NEUTR)}$ используется непрямой метод (среднее $\bar{F}_{ST}$), но при этом важно,

чтобы выборка маркеров была случайной по отношению к отбору и достаточно большой.

Для классических генетических маркеров научное сообщество пришло к выводу, что достаточно случайной выборки, включающей 50 генетических маркеров [15-19], но современные технологии позволяют значительно увеличивать выборки ДНК-маркеров в исследованиях, увеличивая тем самым надежность оценки селективно-нейтрального уровня различий между популяциями. В данной работе средняя оценка межпопуляционной изменчивости генофонда $\bar{F}_{ST}$ получена по 1276 191 SNP-маркеру аутосомного генома, что надежно обеспечивает ее нейтральность по отношению к отбору. Массив 1293 образцов представителей 57 популяций Восточной Европы Биобанка Северной Евразии (изу-

Таблица 3

Характеристики 24 биомаркеров ССЗ: эффект отбора, лекарственные препараты и нозологии, для фармакотерапии которых могут использоваться соответствующие лекарственные препараты

Биомаркеры и характеристики эффектов отбора					Группа лекарственных препаратов						Нозологии, для фармакотерапии которых могут использоваться соответствующие лекарственные препараты							
Хромосома	Ген	Маркер	Интенсивность отбора $\Delta = F_{ST(0)} - \overline{F}_{ST}$	Тип отбора	Антикоагулянтные средства	Гиполипидемические средства	Антиагрегантные средства	β -адреноблокаторы	Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента	Антиаритмические средства	Тромбозы различной этиологии	Гиперхолестеринемия	Артериальная гипертензия	Острый коронарный синдром	Ишемическая болезнь сердца	Инфаркт миокарда	Аритмии, стенокардия	Хроническая сердечная недостаточность
20	VKORC1	rs9923231	+2,21	DIFF	+						+							
10	CES1	rs2244613	+2,15	DIFF			+				+	+	+	+		+		+
21	VKORC1	rs9934438	+1,92	DIFF	+							+						
23	ABCG2	rs2231137	+1,51	DIFF				+					+		+	+	+	+
8	CYP4F2	rs2108622	+1,04	DIFF			+				+						+	
3	CYP2D6	rs1065852	+0,96	DIFF				+						+	+			
14	SLCO1B1	rs4149056	+0,62	DIFF		+								+		+		
18	VKORC1	rs7294	+0,58	DIFF	+									+		+		
12	CYP2D6	rs3892097	+0,34	NEUTR	+							+						
6	ADRB1	rs1801252	+0,24	NEUTR	+							+						
16	CYP2C19	rs4986893	-0,27	NEUTR	+	+			+					+		+		
7	P2RY12	rs2046934	-0,36	NEUTR		+					+	+	+					
9	ABCG2	rs2231142	-0,36	NEUTR		+							+		+		+	
13	ABCB1	rs4148738	-0,45	NEUTR	+								+		+		+	
4	CYP2C19	rs12248560	-0,47	NEUTR			+						+		+		+	
2	CYP2C9	rs1057910	-0,50	NEUTR				+		+	+	+	+					
1	ABCB1	rs1045642	-0,61	STAB	+	+			+		+							
11	CYP2D6	rs28371725	-0,62	STAB	+						+							
5	CYP2C9	rs1799853	-0,63	STAB				+			+							
24	CYP2C8	rs10509681	-0,66	STAB	+	+			+			+		+	+			
22	CYP3A4	rs2242480	-0,77	STAB			+							+		+		
19	CYP3A5	rs776746	-0,83	STAB		+					+							
17	PON1	rs662	-0,96	STAB		+	+					+						
15	CYP2C19	rs4244285	-0,96	STAB			+				+							
ИТОГО					10	8	6	4	3	1	10	8	7	7	6	6	5	2

Примечание: ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, DIFF — биомаркеры, отнесенные к классу действия дифференцирующего отбора, NEUTR — условно селективно нейтральные биомаркеры, STAB — биомаркеры, отнесенные к классу действия стабилизирующего отбора, Цветное изображение доступно в электронной версии журнала,

ченный по 1276 191 SNP-маркеру) максимально полно охватывает разнообразие коренного населения региона, включающего представителей трех языковых семей — алтайской, индоевропейской, уральской. Для более репрезентативной оценки F_{ST} и увеличения выборки, популяции объединены в 20 метапопуляций (таблица 1) в соответствии с критериями генетического сходства и этногенетического родства. Итоговая средняя оценка селективно-нейтральной дифференциации популя-

ций F_{ST} , полученная по столь большому массиву анализируемых данных, составила $F_{ST}=1,24$.

2. Средняя оценка давления отбора для 24 биомаркеров ССЗ

Выборка, изученная по 24 биомаркерам ССЗ (детально описанная в [12]), в 2,5 раза больше ($n_{CCZ}=3170$), чем выборка для оценки селективно-нейтральной изменчивости ($n_{NEUTR}=2193$, таблица 1). Однако некоторые биомаркеры изучены по меньшему числу образцов (таблица 2) и выборки

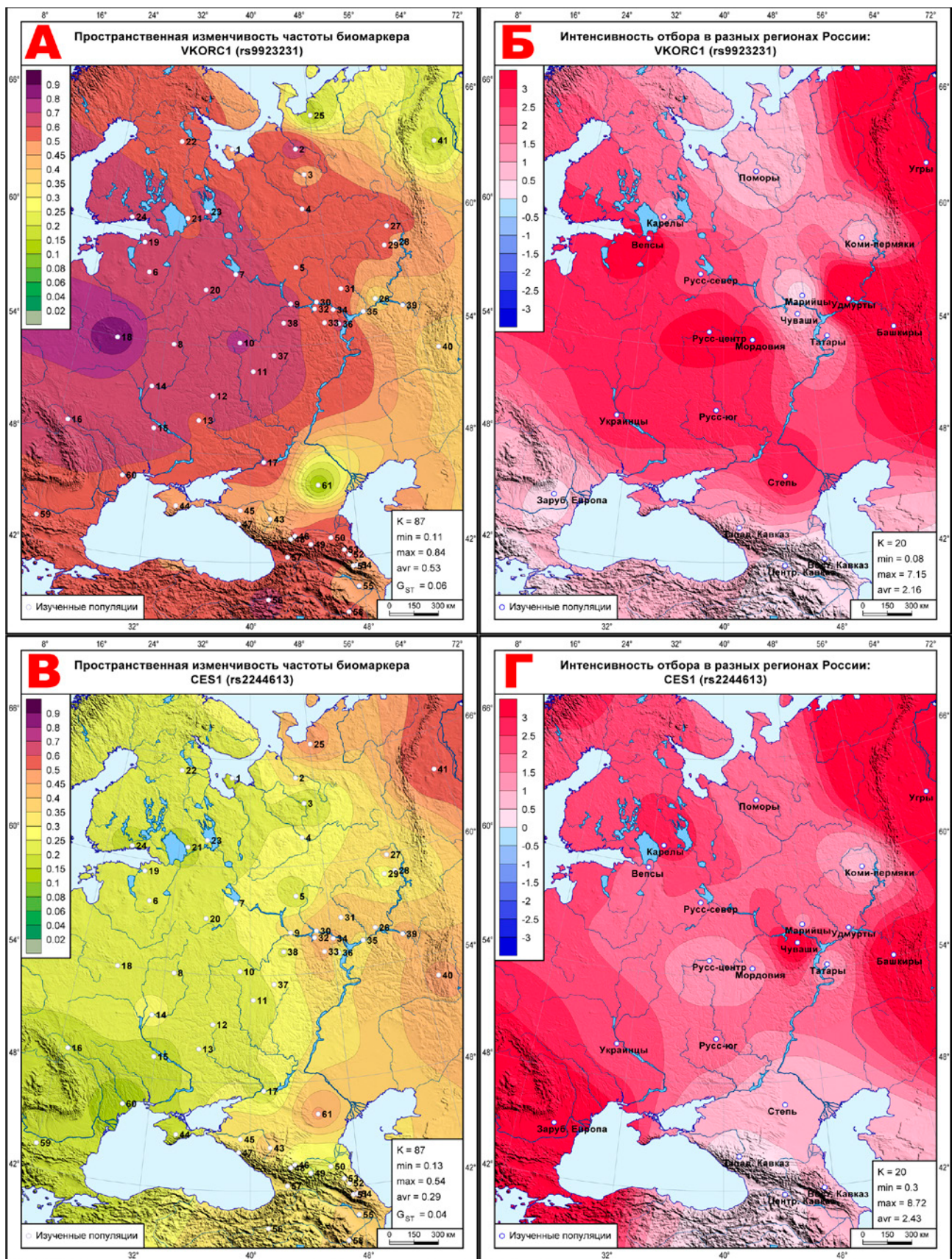


Рис. 1 Геногеография частоты (слева) и эффектов отбора (справа) для фармакогенетических биомаркеров CC3, подверженных дифференцирующему отбору: А, Б: *VKORC1* (rs9923231); В, Г: *CES1* (rs2244613); Д, Е: *VKORC1* (rs9934438); Ж, И: *ABCG2* (rs2231137); К, Л: *CYP4F2* (rs2108622).

Примечание: CC3 — сердечно-сосудистые заболевания.

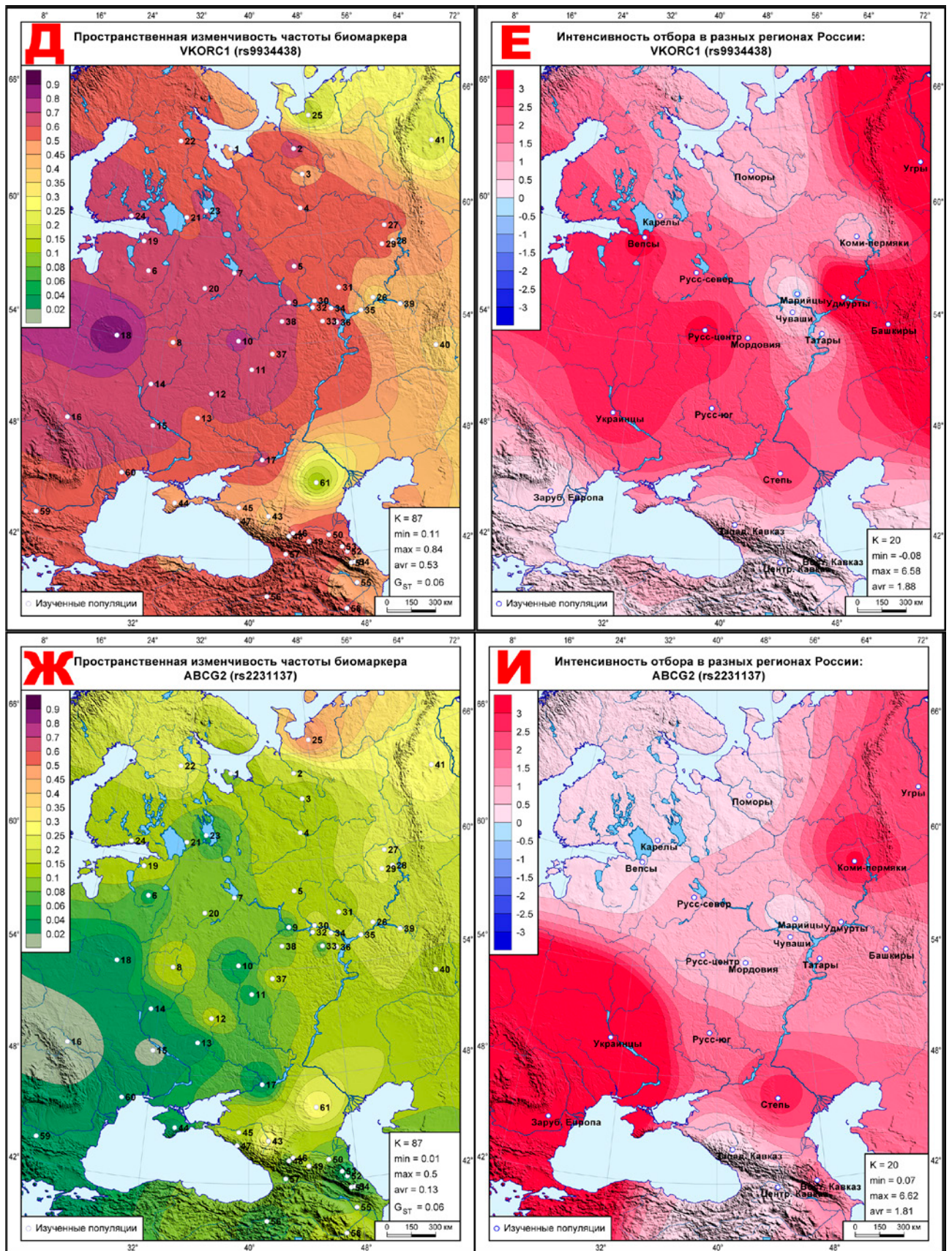


Рис. 1 (Продолжение) Геногеография частоты (слева) и эффектов отбора (справа) для фармакогенетических биомаркеров CC3, подверженных дифференцирующему отбору: А, Б: VKORC1 (rs9923231); В, Г: CES1 (rs2244613); Д, Е: VKORC1 (rs9934438); Ж, И: ABCG2 (rs2231137); К, Л: CYP4F2 (rs2108622).

Примечание: CC3 — сердечно-сосудистые заболевания.

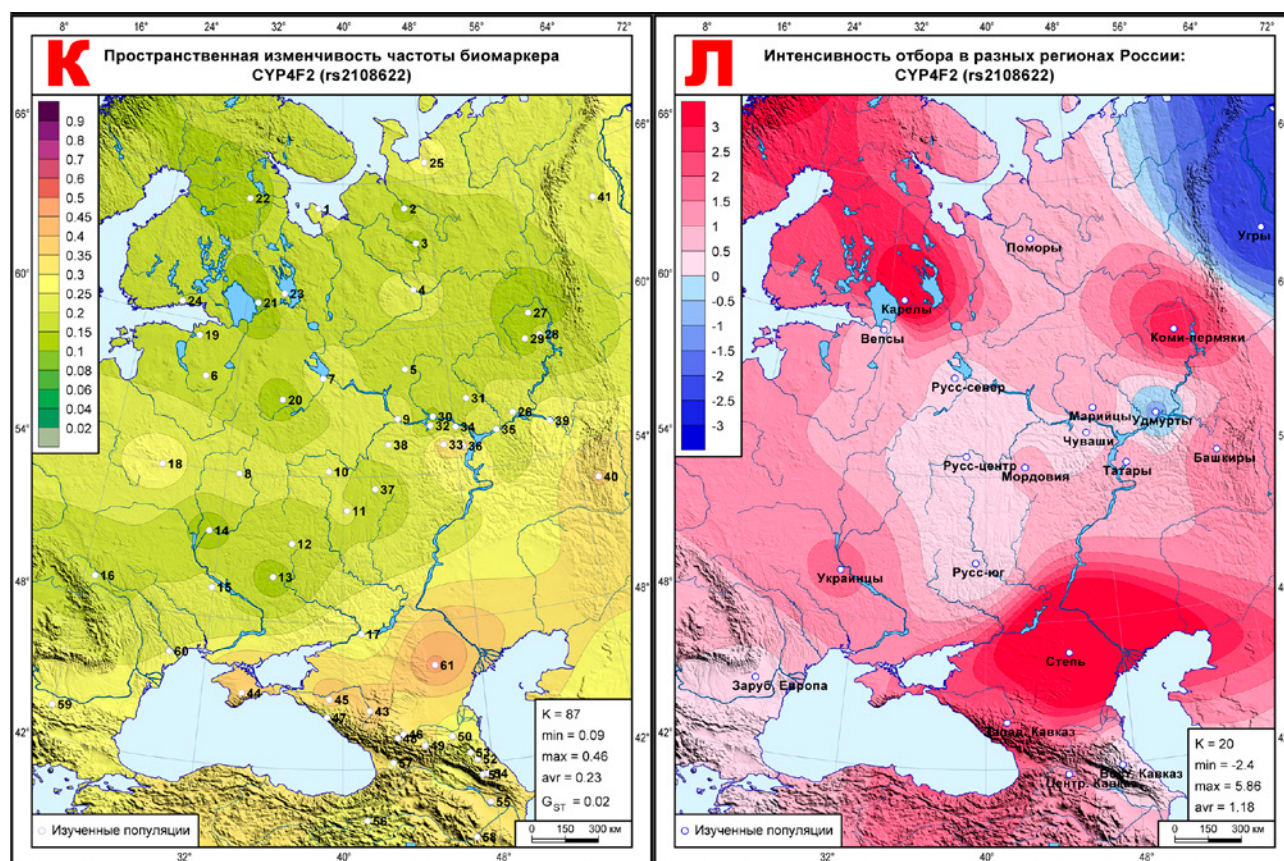


Рис. 1 (Продолжение) Геногеография частоты (слева) и эффектов отбора (справа) для фармакогенетических биомаркеров CC3, подверженных дифференцирующему отбору: А, Б: *VKORC1* (rs9923231); В, Г: *CES1* (rs2244613); Д, Е: *VKORC1* (rs9934438); Ж, И: *ABCG2* (rs2231137); К, Л: *CYP4F2* (rs2108622).

Примечание: CC3 — сердечно-сосудистые заболевания.

малы для некоторых популяций. Поэтому для увеличения репрезентативности данных выборок показатели межпопуляционной изменчивости $F_{ST(i)}$ для каждого i -того биомаркера CC3 рассчитаны как средние не по 61 исходной популяции [12], а по 20 крупным метапопуляциям (таблица 2). Это позволяет провести корректное сравнение с теми же 20 метапопуляциями, по которым рассчитан уровень селективно-нейтральной изменчивости. Показатель $F_{ST(i)}$ складывается из двух величин: а) общей для всех маркеров селективно-нейтральной величины $\bar{F}_{ST}=1,24$; б) тех различий между популяциями, которые возникают в результате действия отбора, индивидуальны для каждого маркера и накладываются на селективно-нейтральную изменчивость. В результате действия дифференцирующего отбора различия между популяциями $F_{ST(i)}$ становятся больше, чем без отбора: $F_{ST(i)} > \bar{F}_{ST}$, а воздействие стабилизирующего отбора уменьшает межпопуляционные различия: $F_{ST(i)} < \bar{F}_{ST}$.

С помощью такого теста 24 биомаркера CC3, расположенные по убыванию значения $F_{ST(i)}$, разделены на три условных класса: маркеры дифференцирующего отбора, селективно-нейтральные

маркеры и маркеры стабилизирующего отбора (таблица 2). В настоящей работе мы не касаемся проблемы статистически значимого выделения границ между классами [16-19], поскольку на первом этапе решаем более простую задачу — создание рабочей технологии обнаружения эффектов отбора. Поэтому 8 биомаркеров с положительным знаком $\Delta > 0,5$ отклонения от селективно-нейтрального уровня условно отнесены к классу ДНК-маркеров, подверженных дифференцирующему отбору ($F_{ST(i)} > \bar{F}_{ST}$). Следующие 8 биомаркеров, мало отличающихся от $\bar{F}_{ST}$ ($-0,5 < \Delta < 0,5$), отнесены к классу условно селективно-нейтральных. Последние 8 ДНК-маркеров с наибольшим отрицательным отклонением от $\bar{F}_{ST}$ ($-1 < \Delta < -0,5$) условно отнесены к классу маркеров, подверженных стабилизирующему отбору (таблица 2). В таблице 3 для каждого из 24 биомаркеров CC3 указаны характеристики их связи с лекарственными препаратами и заболеваниями.

3. Географическая изменчивость давления отбора

Полученные средние оценки давления отбора на 24 биомаркера CC3 относятся только к населению Европейской части России и сопредельных территорий (таблица 1). В других регионах

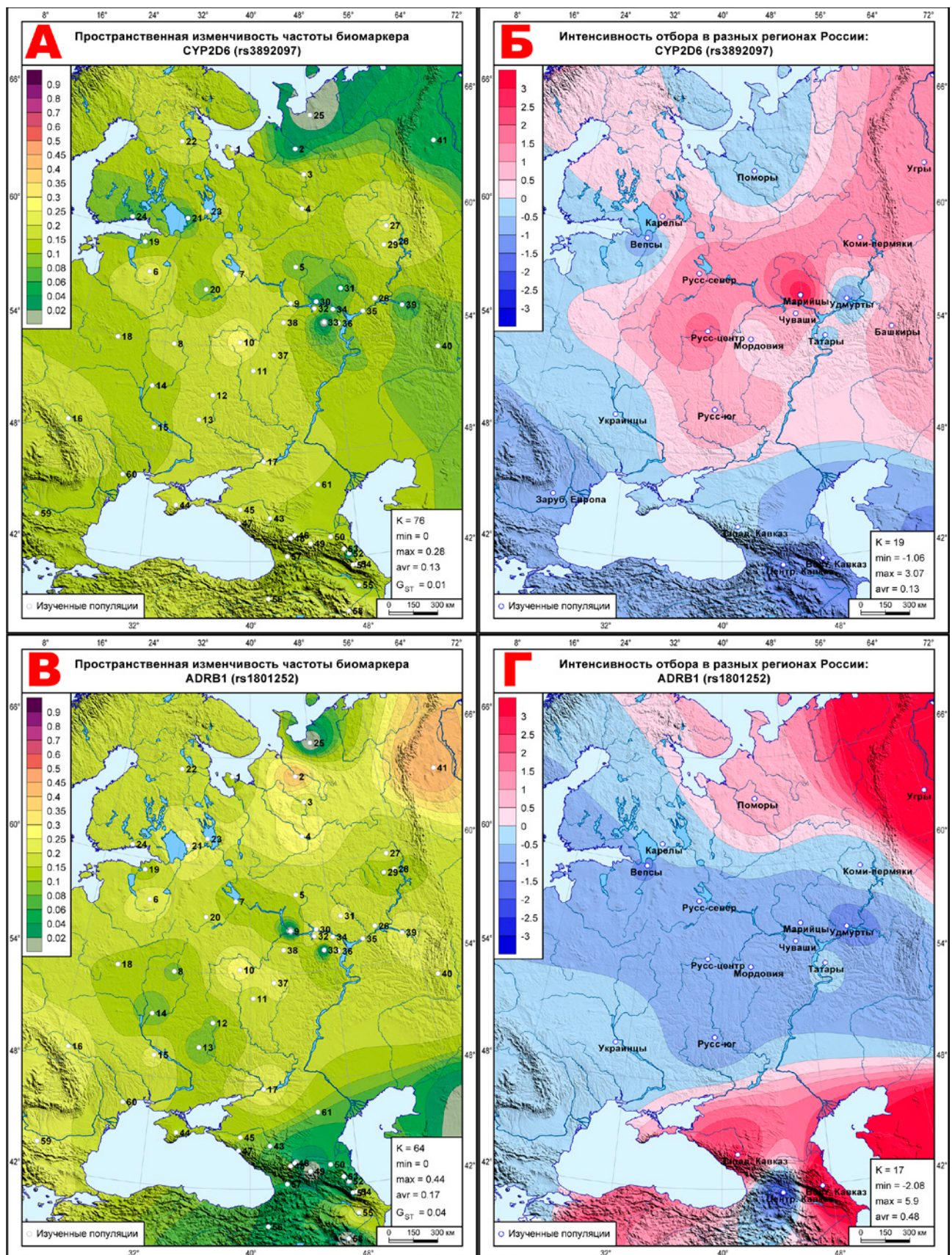


Рис. 2 Геногеография частоты (слева) и эффектов отбора (справа) для фармакогенетических биомаркеров CC3, условно селективно-нейтральных: А, Б: CYP2D6 (rs3892097); В, Г: ADRB1 (rs1801252); Д, Е: CYP2C19 (rs4986893); Ж, И: P2RY12 (rs2046934); К, Л: ABCG2 (rs2231142).

Примечание: CC3 — сердечно-сосудистые заболевания.

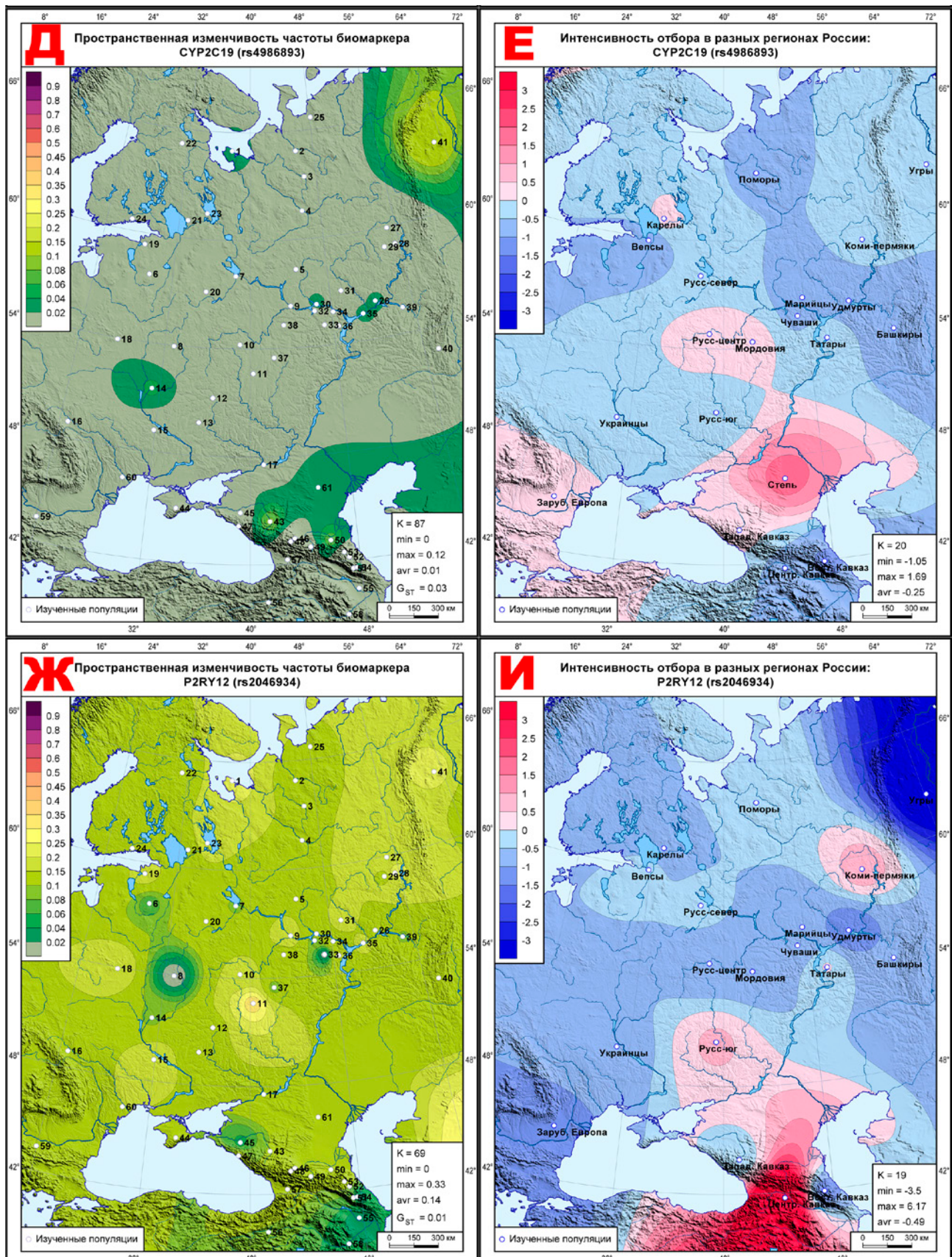


Рис. 2 (Продолжение) Геногеография частоты (слева) и эффектов отбора (справа) для фармакогенетических биомаркеров CC3, условно селективно-нейтральных: А, Б: CYP2D6 (rs3892097); В, Г: ADRB1 (rs1801252); Д, Е: CYP2C19 (rs4986893); Ж, И: P2RY12 (rs2046934); К, Л: ABCG2 (rs2231142).

Примечание: CC3 — сердечно-сосудистые заболевания.

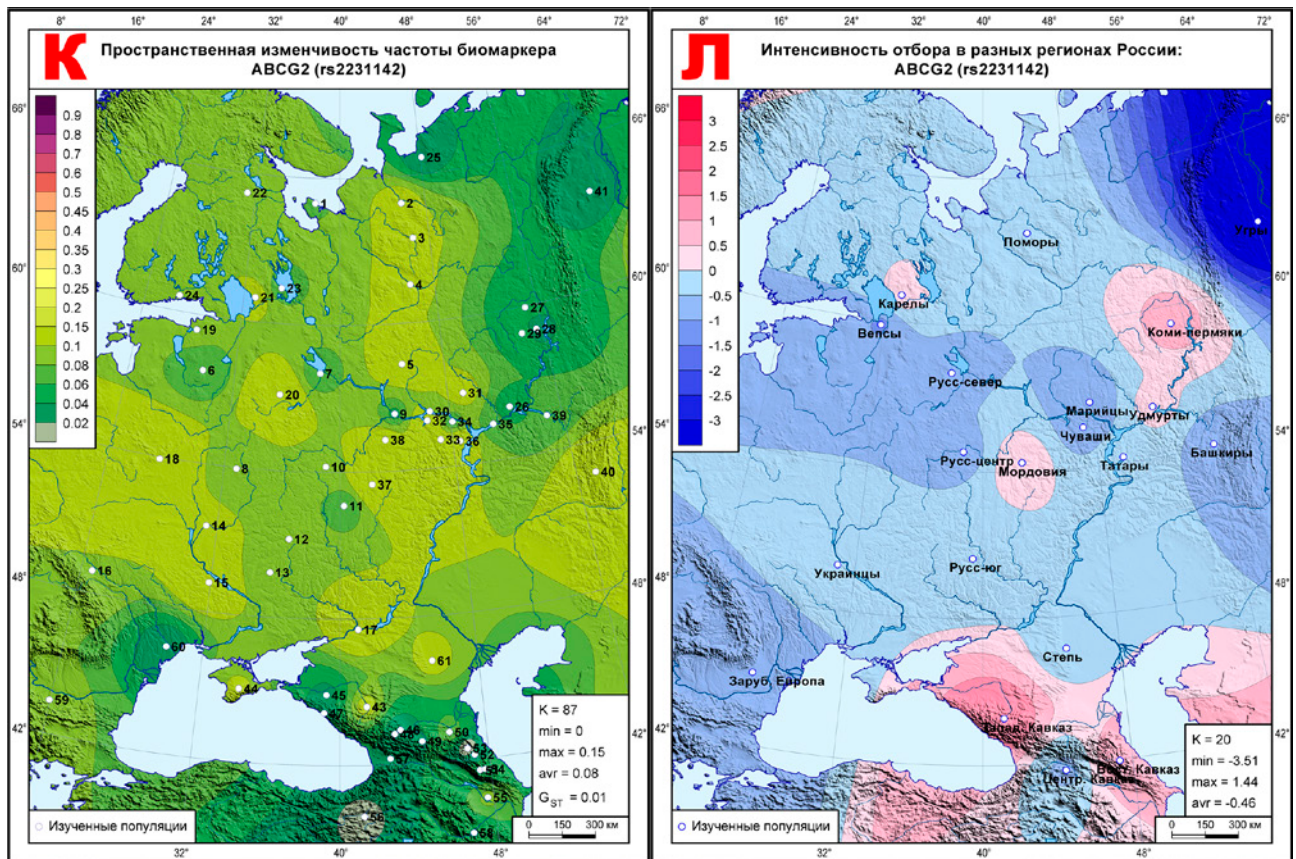


Рис. 2 (Продолжение) Геногеография частоты (слева) и эффектов отбора (справа) для фармакогенетических биомаркеров ССЗ, условно селективно-нейтральных: А, Б: *CYP2D6* (rs3892097); В, Г: *ADRB1* (rs1801252); Д, Е: *CYP2C19* (rs4986893); Ж, И: *P2RY12* (rs2046934); К, Л: *ABCG2* (rs2231142).

Примечание: ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания.

действие отбора может быть иным, что требует отдельного исследования. Более того, действие отбора может быть неодинаковым в разных частях анализируемого региона. Поэтому средние оценки отбора (таблица 2) являются вполне достоверным указанием на то, какие именно биомаркеры требуют наиболее пристального изучения. Если биомаркеры подвержены действию сильного стабилизирующего отбора, то их межпопуляционные различия сглажены по сравнению с селективно-нейтральной изменчивостью. Но даже для этих биомаркеров геногеографический подход помогает выявить те части региона, где межпопуляционные различия все же велики. Дифференцирующий отбор, напротив, указывает на существенные отличия между популяциями региона по данному биомаркеру и на то, что для разных частей региона может потребоваться выделение отдельных групп популяций, в которых использование разных фармакогенетических протоколов будет клинически рациональным. Однако и здесь геногеография может помочь выделить те части региона, где дифференцирующий отбор ослаблен и стандартные подходы к лечению будут все же пригодны. Поэтому для биомаркеров, под-

верженных любым типам и интенсивности отбора, важно оценить, как отбор действует в разных частях ареала анализируемого региона.

Обнаружить особенности разных популяций региона в отношении действия отбора помогает атлас геногеографических карт отбора. Для его создания проведены следующие операции: а) для каждой (j) из 20 метапопуляций (их краткие названия приведены на картах отбора, а описание входящих в них популяций — в таблице 1) дана оценка межпопуляционной изменчивости $F_{ST(ij)}$ для каждого i-того биомаркера ССЗ; б) для каждой (j) из 20 метапопуляций выявлен показатель селективно-нейтральных различий $\bar{F}_{ST(j)}$; в) дана оценка отбора по i-тому биомаркеру для каждой j-той метапопуляции через отклонение от селективно-нейтрального уровня изменчивости ($\Delta_{ij} = F_{ST(ij)} - \bar{F}_{ST(j)}$); г) проведена интерполяция полученных оценок отбора Δ_{ij} по ареалу карты. Подчеркнем, что и для карт, и для расчета средних оценок отбора $\bar{F}_{ST(i)}$ оценки получены для одних и тех же 20 метапопуляций и потому полностью сопоставимы (таблица 2). Отличия средних оценок по 20 метапопуляциям от оценок, полученных по картам (таблица 2), связаны с тем, что

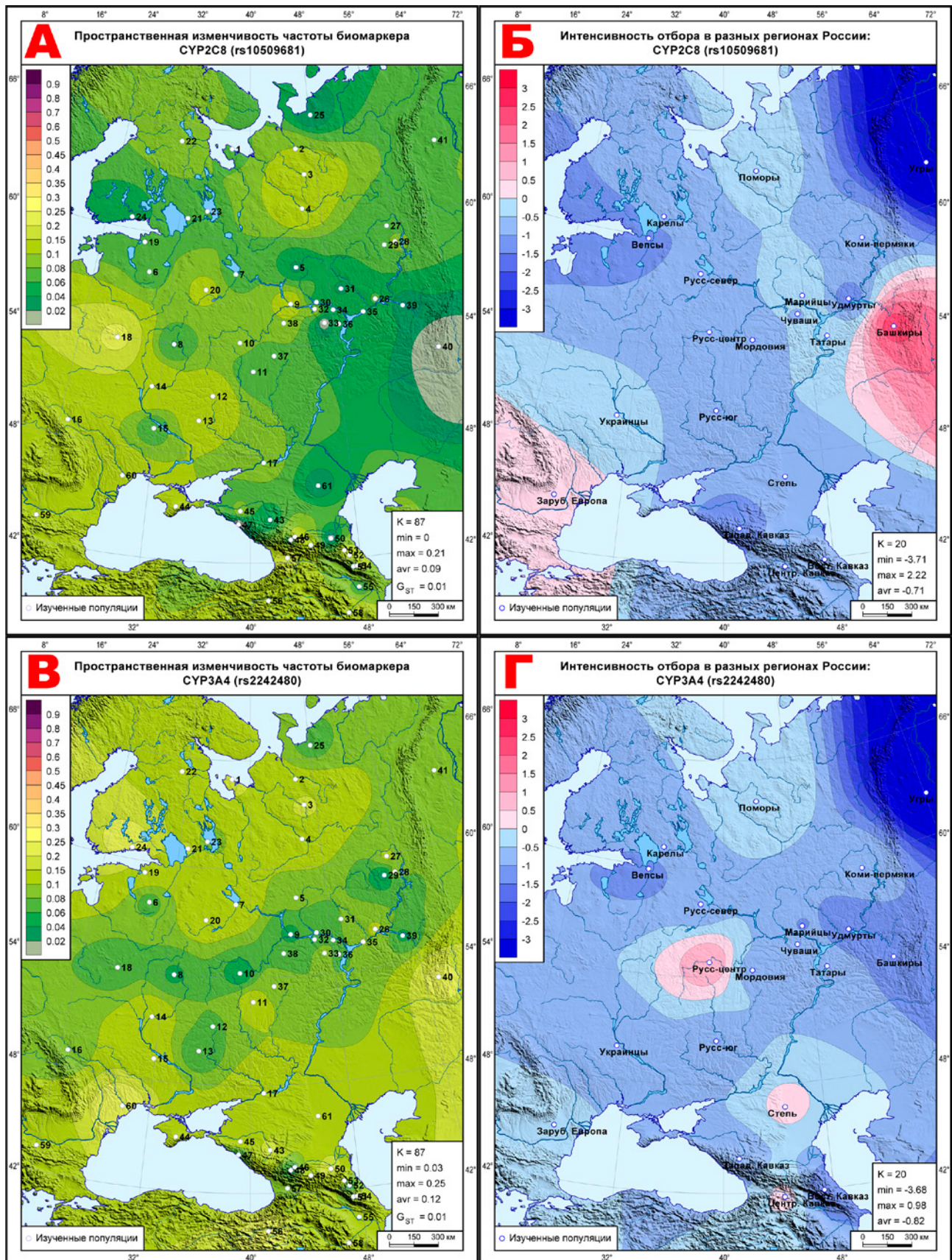


Рис. 3 Геногеография частоты (слева) и эффектов отбора (справа) для фармакогенетических биомаркеров CC3, подверженных стабилизирующему отбору: А, Б: CYP2C8 (rs10509681); В, Г: CYP3A4 (rs2242480); Д, Е: CYP3A5 (rs776746); Ж, И: PON1 (rs662); К, Л: CYP2C19 (rs4244285).

Примечание: CC3 — сердечно-сосудистые заболевания.

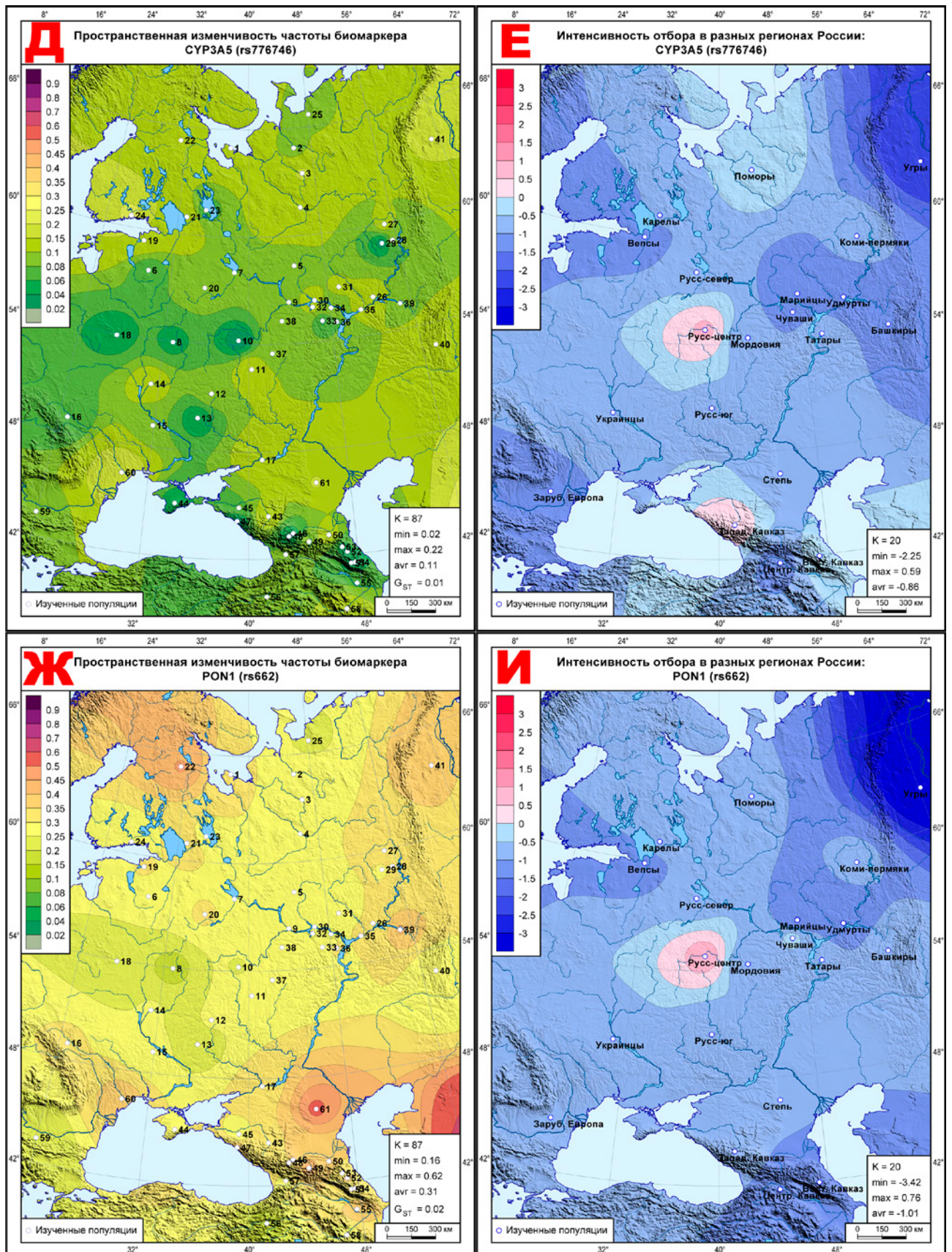


Рис. 3 (Продолжение) Геногеография частоты (слева) и эффектов отбора (справа) для фармакогенетических биомаркеров ССЗ, подверженных стабилизирующему отбору: А, Б: CYP2C8 (rs10509681); В, Г: CYP3A4 (rs2242480); Д, Е: CYP3A5 (rs776746); Ж, И: PON1 (rs662); К, Л: CYP2C19 (rs4244285).

Примечание: ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания.

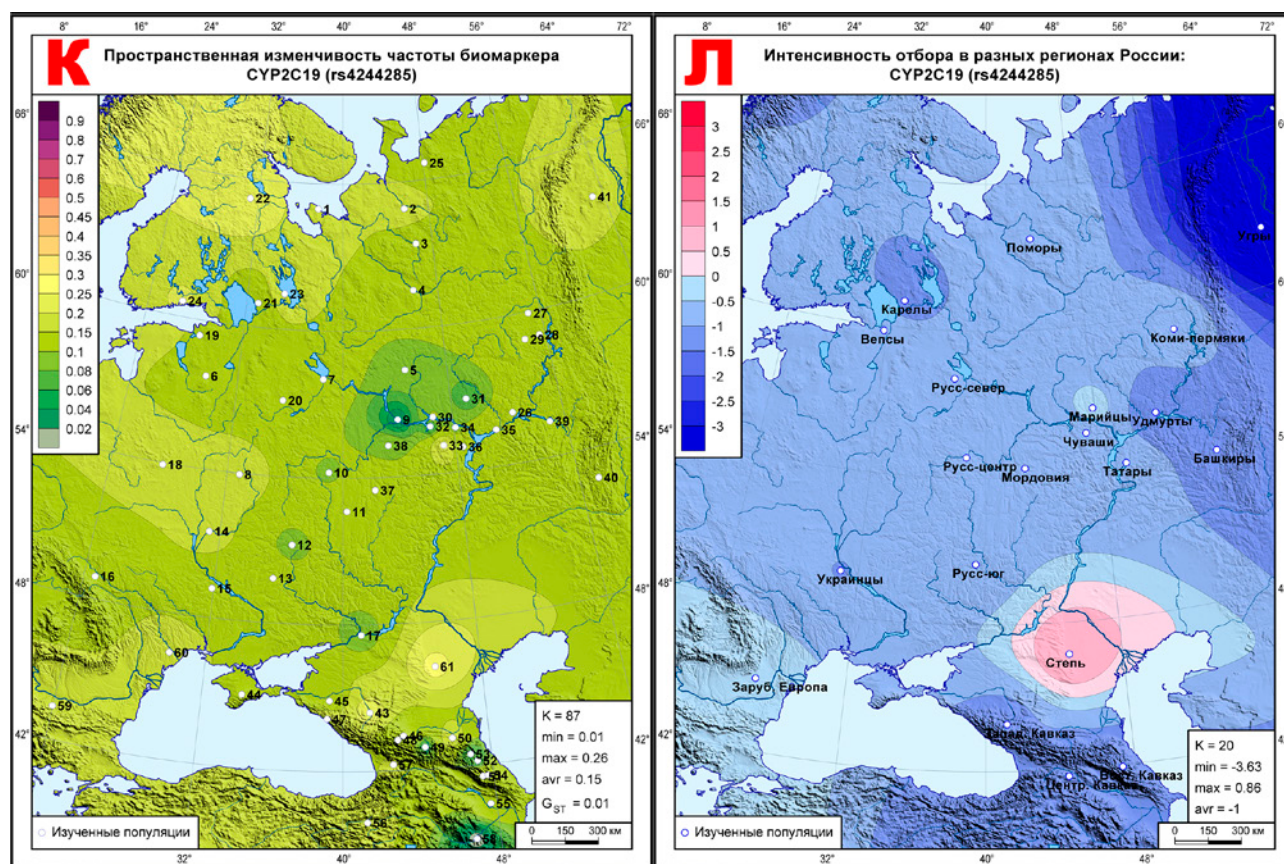


Рис. 3 (Продолжение) Геногеография частоты (слева) и эффектов отбора (справа) для фармакогенетических биомаркеров ССЗ, подверженных стабилизирующему отбору: А, Б: *CYP2C8* (rs10509681); В, Г: *CYP3A4* (rs2242480); Д, Е: *CYP3A5* (rs776746); Ж, И: *PON1* (rs662); К, Л: *CYP2C19* (rs4244285).

Примечание: ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания.

геногеографическое картографирование позволяет учесть важнейшее свойство популяции — ее ареал. Поэтому карта, учитывая различия в размерах ареала метапопуляций и пространственные соотношения ареалов, дает более корректную оценку изменчивости отбора в географическом пространстве.

Для демонстрации пространственной изменчивости отбора из атласа выбрано по 5 карт каждого класса отбора, наиболее ярко его демонстрирующих: 5 карт биомаркеров, наиболее подверженных дифференцирующему отбору (рисунок 1); 5 карт биомаркеров, наиболее близких к селективно-нейтральной изменчивости (рисунок 2); 5 карт биомаркеров, наиболее подверженных стабилизирующему отбору (рисунок 3). Шкала на всех картах отбора одинакова (от -3 до +3 с интервалом 0,5), и чем интенсивнее отбор, тем интенсивнее окраска. Области с положительным знаком ΔF_{ST} , указывающие на действие дифференцирующего отбора, окрашены в красные тона, а территории стабилизирующего отбора с отрицательным знаком ΔF_{ST} показаны в синей гамме оттенков. Каждая из 15 карт отбора сопровождается картой геногеографической изменчивости частоты этого маркера в 61 исходной популяции (рисунки 1-3),

где каждая исходная популяция обозначена номером, позволяющим найти ее описание в таблице 1. Для карт частот биомаркеров использована иная шкала: от 0 до 0,1 — с шагом 0,02; от 0,1 до 0,5 — с шагом 0,05; от 0,5 до 1 — с шагом 0,1.

Геногеография дифференцирующего отбора

Весь ареал всех 5-и карт окрашен в красные тона дифференцирующего отбора, указывая на его действие во всех метапопуляциях. Исключение составляет карта (рисунок 1Л) *CYP4F2*3* (rs2108622), где среднее давление дифференцирующего отбора ($\bar{\Delta}=1,04$) меньше, чем у остальных 4-х биомаркеров ($1,51 < \bar{\Delta} < 2,21$) этого класса (рисунок 1). И поэтому на карте этого маркера (рисунок 1Л) две метапопуляции обозначены синим цветом, указывающим на действие в этих метапопуляциях стабилизирующего отбора: для удмуртов $\Delta=-0,61$, для угров $\Delta=-2,40$. На остальных картах рисунка 1 отбор варьирует в рамках дифференцирующего отбора, но в некоторых метапопуляциях настолько смягчается, что уже близок к селективной нейтральности. Например, на рисунках 1Б и 1Е — такие метапопуляции обнаруживаются на юге и в Приуралье, на рисунке 1Г — на Западном и Центральном Кавказе, а на рисунке 1И, кроме

Кавказа, уменьшение давления отбора уже охватывает метапопуляции северо-запада (карелы, вепсы, поморы), и далее снижение дифференцирующего отбора тянется до правобережья Волги. На рисунке 1Л отбор снижается до селективной нейтральности в центре ареала — во всех трех русских популяциях и у чувашей, а также в Зарубежной Европе и на Восточном Кавказе.

Геногеография условно селективно-нейтральной изменчивости

Карты этого класса окрашены в тона обоих типов отбора — дифференцирующего и стабилизирующего. Кроме двух интервалов ($-0,5 < \Delta < 0,5$) условной селективной нейтральности, видим и усиление отбора в ряде метапопуляций: на карте *CYP2D6* (rs3892097) (рисунок 2Б) дифференцирующий отбор (красные тона) проявляется у центральных русских и марийцев, а стабилизирующий отбор — на юге ареала. На карте *ADRB1* (rs1801252) (рисунок 2Г) дифференцирующий отбор ярко проявился на северо-востоке и на юге, а стабилизирующий — у вепсов, удмуртов и на Центральном Кавказе. Карта отбора *CYP2C19* (rs4986893) (рисунок 2Е) уже почти вся окрашена в синие тона близости к стабилизирующему отбору, а дифференцирующий обнаружен только в степной метапопуляции. Схожую картину мы видим и на карте *P2RY12* (rs2046934) (рисунок 2И), где выраженный дифференцирующий отбор сосредоточен на Кавказе, с невысокими значениями обнаруживается у коми и южных русских, а остальной ареал принадлежит синим тонам стабилизирующего отбора. Здесь уже нет выраженного дифференцирующего отбора — за пределы селективной нейтральности незначительно выходят лишь метапопуляции коми-пермяков и Кавказа. Но и стабилизирующий отбор ярко выражен лишь у угров, а в целом почти все метапопуляции близки к селективной нейтральности.

Геногеография стабилизирующего отбора

Карты этого блока продолжают тенденцию предыдущего: постепенное нарастание синих тонов стабилизирующего отбора с выявлением тех метапопуляций, где действует дифференцирующий отбор. Так, на карте *CYP2C8* (rs10509681) (рисунок 3Б) коридор нейтральных значений тянется от поморов к татарам, переходя у башкир к ярко выраженному дифференцирующему отбору. Селективно-нейтральные значения на этой карте занимают юго-запад (украинцы, Зарубежная Европа). Полоса невысоких значений стабилизирующего отбора находится между этими двумя зонами нейтральных значений, простираясь от северо-запада до Кавказа. При этом ядро максимального стабилизирующего отбора (угры, $\Delta = -3,71$) находится вблизи от ядра максимального дифференцирующего отбора (башкиры, $\Delta = +2,22$). Остальные карты этого блока в целом схожи — везде максимальные значения

стабилизирующего отбора приходится на угров, ареалы селективно-нейтральных показателей почти исчезают, уступая ровному ландшафту стабилизирующего отбора. Он нарушается небольшими всплесками дифференцирующего отбора в двух метапопуляциях: у центральных русских на картах трех биомаркеров ($\Delta = +0,98$, *CYP3A4* (rs2242480), рисунок 3Г; $\Delta = +0,59$, *CYP3A5* (rs776746), рисунок 3Е; $\Delta = +0,76$, *PON1* (rs662), рисунок 3И) и у степных народов на карте *CYP2C19* (rs4244285), где $\Delta = +0,66$ (рисунок 3Л).

Обсуждение

Предложенная геногеографическая технология позволяет выделять те биомаркеры и популяции, на которые стоит обратить внимание при разработке общей стратегии внедрения персонализированных подходов с использованием знаний фармакогенетики пациентов в том или ином регионе или в группе популяций.

Биомаркеры, находящиеся под давлением стабилизирующего отбора, близки по своим показателям у разных этнических групп региона. Селективно-нейтральные маркеры более изменчивы у разных народов. Биомаркеры, подверженные дифференцирующему отбору, значительно различаются в разных популяциях. Знание этих закономерностей позволяет выделять регионы и отдельные популяции, где внедрение и использование соответствующих фармакогенетических протоколов будет клинически и клинико-экономически обоснованным.

Различия по межпопуляционной изменчивости биомаркеров отчасти отражаются и в их частоте. Так, средняя частота биомаркеров (таблица 2) в классе дифференцирующего отбора ($\bar{q} = 0,30$) в ~2 раза выше средней частоты биомаркеров в двух других классах — и селективно-нейтральных ($\bar{q} = 0,17$), и подверженных стабилизирующему отбору ($\bar{q} = 0,17$). Но это лишь общая тенденция: ориентироваться только на показатель частоты нельзя. И в классе дифференцирующего отбора есть SNP-маркеры с невысокими частотами: $\bar{q} = 0,13$ *ABCG2* (rs2231137), $\bar{q} = 0,15$ *CYP2D6* (rs1065852), $\bar{q} = 0,19$ *SLCO1B1* (rs4149056). И в классах селективной нейтральности и стабилизирующего отбора встречаются биомаркеры с высокой средней частотой: $\bar{q} = 0,49$ *ABCB1* (rs4148738), $\bar{q} = 0,43$ *ABCB1* (rs1045642), $\bar{q} = 0,31$ *PON1* (rs662).

То же можно сказать и о размахе изменчивости ($q_{\text{MAX}} - q_{\text{MIN}}$): в среднем он в 2 раза больше (таблица 2) в классе дифференцирующего отбора (0,55), чем в других классах — и селективно-нейтральном (0,26), и стабилизирующего отбора (0,27). Но и из этой общей тенденции есть исключения. В классе дифференцирующего отбора есть SNP-маркеры с небольшим диапазоном вариации частоты ($q_{\text{MAX}} - q_{\text{MIN}}$): 0,33 *CYP2D6* (rs1065852), 0,28 *SLCO1B1* (rs4149056), а в других классах — мар-

керы с большим диапазоном частот: 0,44 *ADRB1* (rs1801252), 0,46 *PON1* (rs662).

Поэтому наиболее полезным инструментом оказывается не "средняя температура по больнице", а геногеографические карты: они дают не только общерегиональные, но и конкретные показатели отбора в конкретных популяциях. Приведенные карты геногеографического атласа отбора (рисунки 1-3) показывают, что даже на территориально близкие популяции могут действовать разные типы отбора (например, рисунки 1Л, 2И, 3Б). Здесь наиболее показателен Кавказ: например, для *P2RY12* (rs2046934) на Западном Кавказе обнаружена селективно-нейтральная изменчивость, на Центральном Кавказе — дифференцирующий отбор, на Восточном Кавказе — стабилизирующий (рисунок 2И). Для маркера *ADRB1* (rs1801252) наблюдается не меньшее разнообразие: на Центральном Кавказе действует стабилизирующий отбор, а на Западном и Восточном — дифференцирующий (рисунок 2Г). Если учесть, что для региона Восточной Европы в целом эти маркеры отнесены к селективно-нейтральным, становится очевидной необходимость использования геногеографических карт для анализа эффектов отбора в конкретных метапопуляциях. Чтение этих карт не требует специальной подготовки: популяции, требующие осторожности в применении стандартных фармакотерапевтических протоколов, на карте отмечены интенсивным красным цветом.

Ограничения исследования. Определенные ограничения исследования связаны с малым количеством исследованных биообразцов в отдельных регионах (средние объемы выборок указаны в таблице 2) по 6 биомаркерам: *ADRB1* (rs1801252), *CYP2D6* (rs1065852), *CYP2D6* (rs3892097), *CYP2C19* (rs12248560), *CYP2C9* (rs1799853), *P2RY12* (rs2046934).

Заключение

Геногеографические технологии отбора могут служить дополнительным инструментом при разработке этно-регионально адаптированных фармакогенетических протоколов и выявления приоритетных популяций для их внедрения.

Основой использования геногеографических технологий служит популяционный биобанк, содержащий биообразцы из основных популяций интересующего региона.

Для оценки отбора необходимо иметь базу данных фармакогенетических биомаркеров о данном

регионе и базу данных с большой совокупностью других аутосомных SNP-маркеров, изученных в тех же популяциях и позволяющих оценить для них уровень селективно-нейтральных различий.

Данные этих двух баз необходимо организовать таким образом, чтобы они содержали данные об одних и тех же популяциях с репрезентативными выборками из каждой популяции.

Оценку отбора по данному биомаркеру можно получить сравнением оценки его межпопуляционных различий и оценки различий между этими же популяциями по большой совокупности аутосомных SNP-маркеров, которая дает точку отсчета — уровень селективно-нейтральной межпопуляционной изменчивости.

Те биомаркеры, изменчивость которых мало отличается от селективно-нейтральной, можно отнести к классу условно селективно-нейтральных. Если различия между популяциями по данному биомаркеру значительно меньше селективно-нейтральной изменчивости популяций, то этот биомаркер находится под действием стабилизирующего отбора. Если же межпопуляционные различия значительно превосходят селективно-нейтральный уровень, то данный биомаркер находится под давлением дифференцирующего отбора.

Именно биомаркеры, находящиеся под давлением дифференцирующего отбора, требуют разработки этно-регионально адаптированных подходов к использованию фармакогенетических протоколов.

Поскольку изменчивость и остальных биомаркеров обнаруживает отдельные популяции, находящиеся под действием дифференцирующего отбора, при выявлении приоритетных популяций для внедрения этно-регионально адаптированных подходов к использованию фармакогенетических протоколов необходимо использовать геногеографические карты отбора, указывающие на такие приоритетные популяции.

Благодарности. Авторы благодарят АНО "Биобанк Северной Евразии" за предоставление коллекций ДНК.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 21-14-00363 (биоинформатический анализ, интерпретация результатов) и государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ "МГНЦ" (картографический и статистический анализ).

Литература/References

- Johnson JA, Caudle KE, Gong L, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for pharmacogenetics-guided warfarin dosing: 2017 update. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;102(3):397-404. doi:10.1002/cpt.668.
- Lee CR, Luzum JA, Sangkuhl K, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2022 update. *Clin Pharmacol Ther.* 2022;112(5):959-67. doi:10.1002/cpt.2526.
- Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis. *Lancet.* 2010;376(9749):1312-9. doi:10.1016/S0140-6736(10)61273-1.
- Cooper-DeHoff RM, Niemi M, Ramsey LB, et al. The clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for SLCO1B1, ABCG2, and CYP2C9 genotypes and statin-associated musculoskeletal symptoms. *Clin Pharmacol Ther.* 2022;111(5):1007-21. doi:10.1038/clpt.2014.125.
- Kanuri SH, Kreutz RP. Pharmacogenomics of novel direct oral anticoagulants: newly identified genes and genetic variants. *J Pers Med.* 2019;9(1):7. doi:10.3390/jpm9010007.
- Kukes VG, Sychyov DA, Al Akhmad Faisal, et al. The impact of unique patient characteristics on the risk of adverse drug reaction. *Bulletin of Roszdravnadzor.* 2011;(6):59-63. (In Russ.) Кукес В. Г., Сычев Д. А., Фейсал А. А. и др. Влияние индивидуальных особенностей пациентов на риск развития нежелательных лекарственных реакций. *Вестник Росздравнадзора.* 2011;(6):59-63.
- Stepanov VA. Genomes, populations, diseases: ethnic genomics and personalised medicine. *Acta Naturae.* 2010;2(4):18-34. (In Russ.) Степанов В. А. Геномы, популяции, болезни: этническая геномика и персонализированная медицина. *Acta Naturae.* 2010;2(4):18-34.
- Mirzaev KB, Fedorinov DS, Ivashchenko DV, et al. ADME pharmacogenetics: future outlook for Russia. *Pharmacogenomics.* 2019;20(11):847-65. doi:10.2217/pgs-2019-0013.
- Mirzaev KB, Fedorinov DS, Ivashchenko DV, et al. Multi-Ethnic Analysis of Cardiac Pharmacogenetic Markers of Cytochrome p450 and Membrane Transporters Genes in the Russian Population. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology.* 2019;15(3):393-406. (In Russ.) Мирзаев К. Б., Федоринов Д. С., Иващенко Д. В. и др. Мультиэтнический анализ кардиологических фармакогенетических маркеров генов цитохрома P450 и мембранных транспортеров в российской популяции. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии.* 2019;15(3):393-406. doi:10.20996/1819-6446-2019-15-3-393-406.
- Gorin IO, Petrushenko VS, Zapisetskaya Yu S. Population-based biobank for analyzing the frequencies of clinically relevant DNA markers in the Russian population: bioinformatic aspects. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2020;19(6):2732. (In Russ.) Горин И. О., Петрушенко В. С., Записецкая Ю. С. и др. Применение популяционного биобанка для анализа частот клинически значимых ДНК-маркеров у населения России: биоинформатические аспекты. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020;19(6):2732. doi:10.15829/1728-8800-2020-2732.
- Balanovska EV, Petrushenko VS, Koshel SM, et al. Cartographic atlas of frequency variation for 45 pharmacogenetic markers in populations of Russia and its neighbor states. *Bulletin of RSMU.* 2020(6):39-52. (In Russ.) Балановская Е. В., Петрушенко В. С., Кошель С. М. и др. Картографический атлас распространения 45 фармакогенетических маркеров в народонаселении России и сопредельных стран. *Вестник Российского государственного медицинского университета.* 2020(6):39-52. doi:10.24075/vrgmu.2020.080.
- Pylev VYu, Agdzhoian AT, Gorin IO, et al. Population biobank as a basis for determining spatial variation of clinically relevant pharmacogenetic biomarkers of cardiovascular diseases. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2022;21(11):3430. (In Russ.) Пылев В. Ю., Агджоян А. Т., Горин И. О. и др. Популяционный биобанк как основа для выявления пространственной изменчивости клинически значимых фармакогенетических биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2022;21(11):3430. doi:10.15829/1728-8800-2022-3430.
- Balanovsky O, Petrushenko V, Mirzaev K, et al. Variation of genomic sites associated with severe Covid-19 across populations: global and national patterns. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2021;4:1391-402. doi:10.2147/PGPM.S320609.
- 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 Российского государственного медицинского университета.* 2022;(5):31-40. doi:10.24075/vrgmu.2022.047.
- Balanovska EV, Rychkov Ju G. Ethnic genetics: ethnogeographical diversity of the gene pool of the world's peoples. *Genetics.* 1990;26(1):114-21. (In Russ.) Балановская Е. В., Рычков Ю. Г. Этническая генетика: этногеографическое разнообразие генофонда народов мира. *Генетика.* 1990;26(1):114-21.
- Balanovska EV, Nurbaev SD. The selective structure of the gene pool. I. Possibilities of studying. *Genetics.* 1997;33(11):1572. (In Russ.) Балановская Е. В., Нурбаев С. Д. Селективная структура генофонда. I. Возможности изучения. *Генетика.* 1997;33(11):1572.
- Balanovska EV, Nurbaev SD. Selective structure of the gene pool. II. Standard method using F (ST) statistics. *Genetika.* 1998;34(9):1307-21. (In Russ.) Балановская Е. В., Нурбаев С. Д. Селективная структура генофонда. II. Стандартная технология определения через FST статистики. *Генетика.* 1998;34(9):1307-21.
- Balanovska EV, Nurbaev SD. Selective structure of the gene pool. III. Technology of determination through FST-statistics by means of numerical resampling. *Genetics.* 1998;34(10):1434-46. (In Russ.) Балановская Е. В., Нурбаев С. Д. Селективная структура генофонда. III. Технология определения через FST-статистики с помощью численного ресэмплинга. *Генетика.* 1998;34(10):1434-46.
- Piras I, Falchi A, Moral P, et al. Selective neutrality analysis of 17 STRs in Mediterranean populations. *J Hum Genet.* 2010;55(4):207-14. doi:10.1038/jhg.2010.7.
- Lotterhos KE, Whitlock MC. Evaluation of demographic history and neutral parameterization on the performance of FST outlier tests. *Mol Ecol.* 2014;23(9):2178-92. doi:10.1111/mec.12725.
- Bhatia G, Patterson N, Sankararaman S, et al. Estimating and interpreting FST: the impact of rare variants. *Genome Res.* 2013;23(9):1514-21. doi:10.1101/gr.154831.113.
- Jin W, Xu S, Wang H, et al. Genome-wide detection of natural selection in African Americans pre- and post-admixture. *Genome Res.* 2012;22(3):519-27. doi:10.1101/gr.124784.111.

23. McEvoy BP, Montgomery GW, McRae AF, et al. Geographical structure and differential natural selection among North European populations. *Genome Res.* 2009;19(5):804-14. doi:10.1101/gr.083394.108.
24. Barreiro LB, Laval G, Quach H, et al. Natural selection has driven population differentiation in modern humans. *Nat Genet.* 2008;40(3):340-5. doi:10.1038/ng.78.
25. Cherednichenko AA, Trifonova EA, Vagaitseva KV, et al. Association of the genetic polymorphism of cytokines and their receptors with climate and geographic factors in human populations. *Russ J Genet.* 2014;50:1112-6. doi:10.1134/S1022795414100020.
26. Sivadas A, Salleh MZ, Teh LK, et al. Genetic epidemiology of pharmacogenetic variants in South East Asian Malays using whole-genome sequences. *Pharmacogenomics J.* 2017;17(5): 461-70. doi:10.1038/tpj.2016.39.
27. Chang CC, Chow CC, Tellier LC, et al. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *Gigascience.* 2015;4(1):s13742-015-0047-8. doi:10.1186/s13742-015-0047-8.
28. Balanovska EV, Zhabagin MK, Agdzhoyan AT, et al. Population biobanks: organizational models and prospects of application in gene geography and personalized medicine. *Genetics.* 2016;52(12):1371-87. (In Russ.) Балановская Е.В., Жабегин М.К., Агджоян А.Т. и др. Популяционные биобанки: принципы организации и перспективы применения в геногеографии и персонализированной медицине. *Генетика.* 2016;52(12):1371-87. doi:10.7868/S001667581612002X.
29. Patterson N, Price AL, Reich D. Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genet.* 2006;2(12):e190. doi:10.1371/journal.pgen.0020190.
30. Koshelev SM. Geoinformation technologies in genogeography. *Modern geographical cartography.* 2012;158-66. (In Russ.) Кошель С.М. Геоинформационные технологии в геногеографии. *Современная географическая картография.* 2012;158-66.

Биоресурсные коллекции: алгоритмы формирования и функционирования, фундаментальная и прикладная значимость

Кособокова Е. Н., Калинина Н. А., Барышникова М. А., Покровский В. С.,
Солопова О. Н., Богуш Т. А., Косоруков В. С.

ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России. Москва, Россия

Биоресурсная коллекция ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России — это уникальный структурированный биобанк, объединивший в себе разные типы первичных и дочерних образцов и обеспечивающий возможность их всесторонней характеристики, включая как общепринятые показатели, так и специфические виды исследований. В клиническом подразделении центра депонированы образцы парафиновых блоков, замороженный материал, кровь и ее производные. В НИИ центра собрана коллекция коммерческих и уникальных клеточных линий человека и перевиваемых штаммов, полученных из клинического материала, а также клетки лабораторных животных (линии культур клеток и перевиваемые штаммы), преимущественно мышиного происхождения. Предоставляемые клеточные линии проходят многостадийный контроль качества, включающий подтверждение подлинности, оценку жизнеспособности и определение оптимальных условий культивирования, анализ межвидовой и внутривидовой контаминации, изучение туморогенности и воспроизводимости на бестимусных мышах Balb/c-nude и др. Также в Биоресурсной коллекции представлены гибридомные клоны, продуцирующие антитела к широкому спектру мишеней. Центр предоставляет возможность проведения доклинических исследований с использованием образцов Биоресурсной коллекции для получения научных и регуляторных данных об антипролиферативной активности новых агентов или способов лечения злокачественных новообразований.

Ключевые слова: биобанк, Биоресурсная коллекция, гибридомные клоны, клеточные культуры, контроль качества образцов, нуклеиновые кислоты, онкология, перевиваемые опухолевые штаммы, препараты крови, характеристика биообразцов.

Отношения и деятельность. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках научно-исследовательской работы № 075-15-2021-1060 "Создание и развитие биоресурсной коллекции генетически и фенотипически охарактеризованных клеточных линий и первичных опухолей человека".

Поступила 28/06-2023

Рецензия получена 03/09-2023

Принята к публикации 05/09-2023



Для цитирования: Кособокова Е. Н., Калинина Н. А., Барышникова М. А., Покровский В. С., Солопова О. Н., Богуш Т. А., Косоруков В. С. Биоресурсные коллекции: алгоритмы формирования и функционирования, фундаментальная и прикладная значимость. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3654. doi:10.15829/1728-8800-2023-3654. EDN YBYPLE

Bioresource collections: algorithms for development and functioning; basic and applied significance

Kosobokova E. N., Kalinina N. A., Baryshnikova M. A., Pokrovsky V. S., Solopova O. N., Bogush T. A., Kosorukov V. S.
N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology. Moscow, Russia

Bioresource collection of the N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology is a unique structured biobank that combines different types of primary and subsidiary samples and ensures its comprehensive characterization, including both generally accepted indicators and specific types of research. Samples of paraffin blocks, frozen material, blood and its derivatives are deposited in the clinical department of the center. The research institute of the center has collected commercial and unique human cell lines and transplantable strains obtained from clinical material, as well as cells from laboratory animals, mainly of mouse origin.

The provided cell lines undergo multi-stage quality control, including confirmation of authenticity, assessment of viability and determination of optimal cultivation conditions, analysis of interspecific and intraspecific contamination, study of tumorigenicity and reproducibility in athymic Balb/c-nude mice, etc. In addition, the Bioresource Collection has hybridoma clones that produce antibodies to a wide range of targets. The Center provides the opportunity to conduct preclinical research using samples from the Bioresource Collection to obtain scientific and regulatory data on the antiproliferative activity of new agents or methods for cancer treatment.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: ekkos@mail.ru

[Кособокова Е. Н. — к.б.н., в.н.с. лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей, ORCID: 0000-0002-4660-8519, Калинина Н. А. — м.н.с. лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей, ORCID: 0000-0002-3024-8918, Барышникова М. А. — к.фарм.н., зав. лабораторией экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей, ORCID: 0000-0002-6688-8423, Покровский В. С. — д.м.н., зав. лабораторией биохимических основ фармакологии и опухолевых моделей НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей, ORCID: 0000-0003-4006-9320, Солопова О. Н. — к.б.н., зав. лабораторией биоресурсной коллекции клеточных линий и первичных опухолей НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей, ORCID: 0000-0002-5465-6094, Богуш Т. А. — д.б.н., в.н.с., профессор лаборатории молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей, ORCID: 0000-0002-7673-4284, Косоруков В. С. — к.б.н., директор НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей, ORCID: 0000-0002-8462-2178].

Keywords: biobank, Bioresource collection, hybridoma clones, cell cultures, sample quality control, nucleic acids, oncology, transplantable tumor strains, blood products, characteristics of biosamples.

Relationships and Activities. The work was financially supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within research work № 075-15-2021-1060 "Creation and development of a bioresource collection of genetically and phenotypically characterized cell lines and primary human tumors".

Kosobokova E. N.* ORCID: 0000-0002-4660-8519, Kalinina N. A. ORCID: 0000-0002-3024-8918, Baryshnikova M. A. ORCID: 0000-0002-6688-8423, Pokrovsky V. S. ORCID: 0000-0003-4006-9320, Solopova O. N. ORCID: 0000-0002-5465-6094, Bogush T. A. ORCID:

0000-0002-7673-4284, Kosorukov V. S. ORCID: 0000-0002-8462-2178.

*Corresponding author: ekkos@mail.ru

Received: 28/06-2023

Revision Received: 03/09-2023

Accepted: 05/09-2023

For citation: Kosobokova E. N., Kalinina N. A., Baryshnikova M. A., Pokrovsky V. S., Solopova O. N., Bogush T. A., Kosorukov V. S. Bioresource collections: algorithms for development and functioning; basic and applied significance. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3654. doi:10.15829/1728-8800-2023-3654. EDN YBYPLE

ГМ — генетический материал, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, КК — контроль качества, ПЦР — полимеразная цепная реакция, РНК — рибонуклеиновая кислота, СОП — стандартная операционная процедура, CO₂ — углекислый газ, STR — short tandem repeat (короткие tandemные повторы).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Организованный и функционирующий надлежащим образом биобанк, как структура, предоставляющая гарантированно качественные образцы и ассоциированные с ними данные, играет ключевую роль в проведении качественных и воспроизводимых исследований.

Что добавляют результаты исследования?

- На примере организации биобанка на базе ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России, как комплексной структуры, обеспечивающей получение, хранение, описание и предоставление образцов надлежащего качества, даны конкретные рекомендации для специалистов по биобанкированию.

Key messages

What is already known about the subject?

- A properly organized and functioning biobank, as a structure that provides guaranteed quality samples and associated data, plays a key role in conducting high-quality and reproducible research.

What might this study add?

- Using the example of managing a biobank on the basis of the N. N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, as a comprehensive structure that ensures the receipt, storage, description and provision of samples of appropriate quality, specific recommendations are given for biobanking specialists.

Введение

С развитием технологий анализа больших массивов данных стала очевидной необходимость создания организации, аккумулирующей ассоциированную с клиническими образцами информацию и обеспечивающей ее доступность для широкого круга пользователей. В современном мире задача подбора образцов для исследования по конкретным характеристикам должна иметь простое и удобное решение с минимальными временными затратами. Так сформировалось понятие биобанка, как сложной структуры, обеспечивающей принятие, хранение, выдачу не только образцов, но и сопряженных с ними данных, и осуществляющей весь комплекс мероприятий надлежащим образом и в соответствии с регламентирующими документами [1-3].

В мире постепенно развивался процесс организации биобанков на базе созданных ранее биоресурсных коллекций научно-исследовательских институтов или некоммерческих организаций. В России данный процесс идет с некоторым от-

ставанием, что облегчает задачу за счет построения структуры на основе уже существующей нормативной базы с учетом опыта других стран [2].

Наиболее активно в этой области ведет работы профессиональное сообщество частных лиц и организаций, занимающихся биобанкированием — International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER), прилагающее много усилий для разработки стандартов, национальных руководств и повышения качества управления биорепозиториями. Передовые практики ISBER служат основой для многих процедур, направленных на повышение эффективности эксплуатации и управления перемещением, на обучение и адаптацию, поддержку внедрения биобанком стандартов и проведение аккредитации [4]. Организованная подобным образом структура обеспечивает возможность мультидисциплинарного подхода при исследованиях предоставляемых образцов. Контроль и прослеживаемость образцов на всех этапах их жизненного цикла позволяют реализовать схему получения раз-

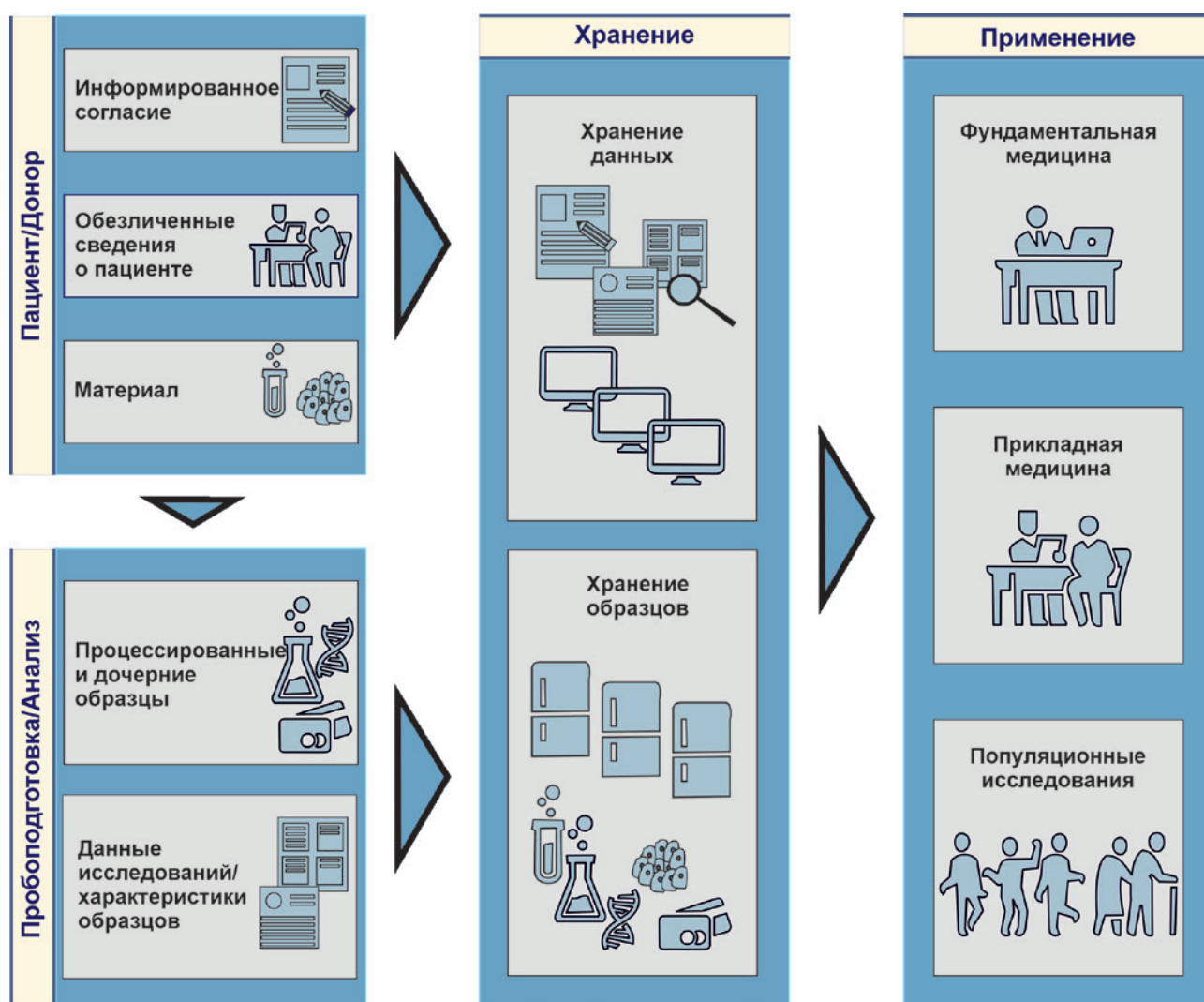


Рис. 1 Структура Биоресурсной коллекции ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России.

ных типов образцов от одного донора, оценить пригодность материала для тех или иных видов исследований, а детальное описание преаналитических этапов и многостадийная характеристика обеспечивают полноценное описание образцов, предоставляемых заказчику. Все это возможно реализовать только в рамках внедрения биобанком единой системы управления и контроля качества (КК) [1, 5].

Сбор образцов и формирование коллекции ведется в ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России с конца 70-х гг XXв и на данный момент коллекция насчитывает >16000 единиц хранения. В рамках реализации проекта, поддержанного Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1060 от 28 сентября 2021г) проведена инвентаризация и составлен реестр образцов. Настоящая статья посвящена проведенной работе по формированию биокolleкции и реализации мер, направленных на внедрение передовых практик в области биобанкирования.

Структура Биоресурсной коллекции ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России

Компоненты Биоресурсной коллекции ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России представлены на рисунке 1. Биобанк, будучи сложной структурой, обеспечивает прием, хранение, выдачу не только образцов, но и связанных с ними данных, и гарантирует контроль выполнения всего комплекса мероприятий надлежащим образом и в соответствии с регламентирующими документами [1].

Информационная составляющая биобанка, как правило, представлена двумя основными типами: стандартизированная информация, формирующая основную базу данных (собирается в обязательном порядке для всех образцов) [6], и информация, получаемая в результате исследования биоматериала (актуально для организаций, занимающихся научной деятельностью) [3]. Для управления качеством стандартизированной информации, предоставляемой при выдаче образца, рекомендуется имплементация



Рис. 2 Образцы Биоресурсной коллекции ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России.

Примечание: ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, РНК — рибонуклеиновая кислота.

тация рекомендаций BRISQ (Biospecimen Reporting for Improved Study Quality) [7] и системы кодировки SPREC (Standard PREanalytical Code) [8, 9].

Таким образом, при правильной организации функционирования биобанк:

- 1) защищает права и интересы доноров благодаря соблюдению этико-правовых норм (наличие одобрения этического комитета, добровольного информированного согласия);
- 2) обеспечивает КК предоставляемого материала за счет контроля процессов получения, перемещения, характеристики образцов, систематизации и соблюдения условий хранения;
- 3) обеспечивает доступность информации об образцах коллекций.

Полноценная реализация такого подхода делает биобанк ценной структурой для проведения исследований в самых разных областях: фундаментальные, прикладные, популяционные исследования и другие направления.

Образцы Биоресурсной коллекции

Современные подходы к решению научных задач требуют применения разных типов образцов (опухолевая и нормальная ткань, препараты крови и другие биологические жидкости, ногти, волосы и т.д.) и форматов пробоподготовки (фиксация в формалине, заключение в парафиновый блок, криоконсервация, фиксация в стабилизаторе рибонуклеиновой кислоты (РНК) и т.д.). Ценным преимуществом Биоресурсной коллекции ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России является возможность сбора и предоставления широкого спектра различных типов образцов, их производных и ассоциированных с ними данных (рисунок 2), благодаря взаимодействию клинических и научно-исследовательских подразделений центра. Организация сбора образцов — сложная задача, тре-

бующая согласованного взаимодействия различных структур центра. Только четкое соблюдение регламентированных процедур забора материала, транспортировки и временного хранения обеспечивает высокое качество депонируемых образцов [5].

Поступающий в коллекцию образец регистрируется и направляется на временное хранение до момента перемещения в основное хранилище коллекции. При необходимости, в зависимости от типа образца, проводится первичный КК, после чего выполняются исследования по его характеристике [10].

Клеточные линии

Для клеточных линий ключевыми показателями КК являются жизнеспособность и отсутствие контаминации. В рамках первичного контроля в карантинной зоне проводится анализ межвидовой контаминации (рисунок 3). С целью контроля внеклеточной контаминации бактериями и грибами клеточная линия культивируется в полной ростовой среде без добавления антибиотиков и антимикотиков при 37° С в условиях 5% углекислого газа (CO₂). По истечении 72 ч среда пропускается через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм, задерживающий бактериальные и дрожжевые клетки. Фильтр помещается в ростовую среду без добавления антибиотиков и антимикотиков и инкубируется в течение недели при 37° С в условиях 5% CO₂. Наличие бактериальной и дрожжевой контаминации в среде оценивается визуально под микроскопом.

Контроль контаминации микоплазмой осуществляется методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием набора MycoReport (Евроген, Россия) и последующей электрофоретической детекцией в агарозном геле [10]. В случае обнаружения контаминации микоплазмой клеточная линия изымается и депонируется в отдельный репозиторий (до получения очищенной от микро-

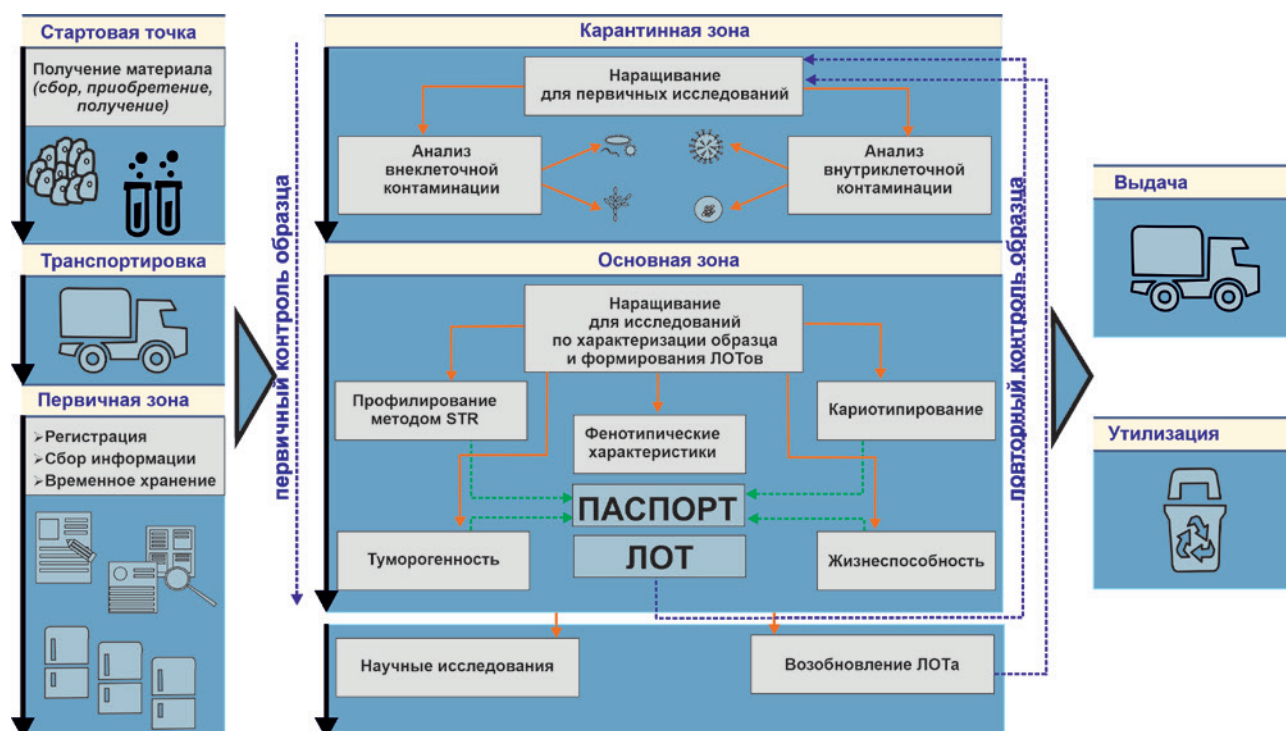


Рис. 3 Жизненный цикл клеточной линии Биоресурсной коллекции ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России.

плазмы культуры), а для восстановления коллекции используются более ранние пассажи. Исключение составляют уникальные клеточные линии, для которых нет возможности возобновления. В таком случае проводится лечение с использованием набора Мусо-3 (PanReac AppliChem, Германия), основанного на антибиотике Ципрофлоксацин, относящемся к группе фторхинолонов. Лечение проводится в течение 14 дней в среде, содержащей антибиотик (1 мкг/мл), со сменой среды каждые 2-3 дня. Следующие 2 нед. клетки культивируются в среде без антибиотика, после чего проводится повторный анализ на присутствие микоплазмы. Кроме того, при потоковом культивировании для каждого 10 пассажа обеспечивается контроль контаминации микоплазмой.

Для определения вирусной контаминации эффективно применяется быстрый и точный метод ПЦР с детекцией в режиме "реального времени". В список определяемых видов включены основные высокопатогенные контаминанты культур клеток человека, такие как вирус гепатита С (HCV), вирус гепатита В (HBV), вирус иммунодефицита человека типа 1 (HIV-1) и типа 2 (HIV-2), вирус Эпштейна-Барр (EBV), цитомегаловирус (CMV) и вирус герпеса 6 типа (HHV6). Данный состав перекрывается тремя зарегистрированными в РФ наборами производства научно-производственной лаборатории ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, которые имеют достаточную для наших задач чувствительность и специфичность в отношении

указанных вирусов: Амплисенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL, Амплисенс HCV/HBV/HIV-FL, Амплисенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL [10].

При полном соответствии критериям "чистоты" образец передается в основную зону для наращивания и проведения исследований для его характеристики.

Определяющую роль при оценке качества клеточной линии играет показатель жизнеспособности. Образцы в Биоресурсной коллекции представлены либо криоконсервированной, либо культивируемой линией. В первом случае для оценки жизнеспособности клеточная линия размораживается с использованием автоматизированной системы оттаивания для криопробирок ThawSTAR CFT2 (Astero Bio, США) и количество клеток оценивается на автоматическом счетчике Luna-II (Logos Biosystems, Корея) методом исключения красителя трипанового синего. Повторный контроль проводится через 72 ч.

Для характеристики клеточных линий человека в Биоресурсной коллекции используются показатели туморогенности и воспроизводимости при подкожном введении 10 млн клеток мышам линии Balb/c nude. При ежедневном осмотре оценивается общее состояние животных, двигательная активность, внешний вид. С 3-5-го дня 1-2 раза/нед. проводится взвешивание мышей и измерение размера опухолей с использованием штангенциркуля в трех взаимно перпендикулярных плоскостях: длина, ширина и высота. Объем рассчитывается по формуле: $V = \pi/6 \times L \times W \times H$, где L — длина, W — ширина и H —



Рис. 4 Диаграмма распределения по нозологическим формам образцов клеточных линий Биоресурсной коллекции ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России.

высота. Линия клеток считается опухолевой, если в течение наблюдения (максимальный срок 60 дней) после трансплантации наблюдается формирование опухолевого узла объемом $>100 \text{ мм}^3$, увеличивающегося в размерах. В случае отрицательного результата возможно проведение повторного исследования с использованием препарата внеклеточного матрикса Матригель®, повышающего опухоленность образцов опухолевых клеток. В этом случае суспензия опухолевых клеток смешивается с препаратом Матригель® в объемном соотношении 1:1. Модель опухоли считается воспроизводимой, если кинетика роста опухолевых узлов воспроизводится не менее чем в двух пассажах.

Одним из ключевых методов характеристики клеточных линий является кариотипирование. Большое количество аномалий, возникающих в опухолевых клетках, значительно усложняет идентификацию хромосом и интерпретацию кариотипа. Зачастую протокол отработывается для каждой клеточной линии: подбираются условия синхронизации клеток для обеспечения максимального количества клеток в фазе митотического деления, оптимизируются условия фиксации. По итогам кариотипирования показано, что опухолевые клетки проявляют высокую хромосомную нестабильность в результате репликационного стресса; а модальное число хромосом не только значительно отличается от нормального кариотипа, но и варьирует от линии к линии [11].

Для подтверждения подлинности и проверки внутривидовой контаминации клетками других линий человека применяется метод профилирования на основе коротких tandemных повторов (short tandem repeat, STR) с использованием набора COrDIS "ЭКСПЕРТ 26" (Гордиз, Россия), валидированного для молекулярно-генетической идентификации личности на основе мультиплексного ПЦР-анализа. Полученный профиль сравнивается с результатами открытых баз данных — ECACC (European Collection of Authenticated Cell Cultures, Европейская коллекция аутентифицированных клеточных культур), ATCC (American Type Culture Collection, Американская коллекция типовых культур), DSMZ (Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen, Немецкая коллекция микроорганизмов и клеточных линий) [12].

С учетом того, что полнота и разносторонность характеристик биологического материала напрямую влияет на его востребованность и ценность для научных исследований, все культуры клеток Биоресурсной коллекции ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России охарактеризованы по экспрессии клинически значимых опухолевых маркеров метастатической активности, по уровню мишеней гормональной терапии и контрольных точек иммунитета [13, 14]. Важно отметить, что в соответствии с запросами пользователей предусмотрено расширение спектра молекулярного фенотипирования, для чего созданы методология



Рис. 5 Центр коллективного пользования ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России.

таких исследований и инструментальный парк. Более того, для части образцов клеточных линий меланомы проведено полноэкзомное секвенирование с аннотацией мутаций по перечню ключевых генов, которые вовлечены в процесс канцерогенеза, определяют разные аспекты агрессивности течения онкологического заболевания и являются ориентирами при выборе тактики лечения. Таким образом, результаты секвенирования и молекулярного фенотипирования культур клеток представляют огромный интерес для фундаментальных и прикладных исследований. В совокупности, это является, пожалуй, уникальной возможностью, предоставляемой ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России.

В Биоресурсной коллекции представлены и коммерческие, и уникальные клеточные линии, полученные сотрудниками центра. Широкая представленность нозологических форм (рисунок 4) позволяет пользователям подобрать оптимальную панель для своих исследований. Коллекция постоянно пополняется за счет закупок, взаимодействий с другими биобанками и получения уникальных клеточных линий.

При получении первичной клеточной линии биологический материал из операционного блока НИИ клинической онкологии им. Н. Н. Трапезникова ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России с соблюдением условий стерильности помещается в емкость, заполненную на

2/3 транспортировочной средой (RPMI-1640, 2% FBS, 2 mM L-глутамина, 10 мкг/мл гентамицина) и транспортируется в исследовательскую лабораторию при температуре, соответствующей температуре тела человека. До момента начала обработки материала проходит не >30 мин. Суспензию получают при помощи метода механической дезагрегации материала BD Medimachine (BD Biosciences, США) с использованием стерильных одноразовых камер Medicons (BD Biosciences, США) с диаметром отверстий 50 мкм в течение 1-2 мин. Для избавления от крупных фрагментов ткани суспензию пропускают через стерильные нейлоновые фильтры Filcons с диаметром пор 70 мкм (BD Biosciences, США). Для получения клеточной линии суспензию переносят в ростовую среду (RPMI-1640, содержащую 20% FBS, 1% HEPES, 1% NEAA, 2 mM L-глутамина, 0,01 мг/мл гентамицина, с последующим переводом на полную RPMI-1640 с 10% FBS) и помещают в CO₂-инкубатор при 37° C в атмосфере 5% CO₂. Через 24 ч меняют среду культивирования на свежую. Смену среды затем производят каждые 3-4 дня в зависимости от скорости пролиферации. Клеточную линию считают стабильной (иммортилизованной) по достижении 20-го пассажа без снижения пролиферативной активности.

Морфологический материал

Морфологический материал собирается в рамках реализации проектов или договоров в соответствии с прописанными требованиями к параметрам

рам и характеристикам образцов в зависимости от предназначения и целевого исследования. На основании технического задания заказчика или методологии научно-исследовательской работы формулируются критерии включения пациента в исследование, определяется размер выборки, разрабатывается протокол исследования для утверждения этической комиссией.

КК морфологического материала — актуальная и непростая задача. В качестве показателей качества материала используются такие параметры, как объем ткани, доля опухолевых клеток, отсутствие очагов некроза, условия и длительность хранения, верификация опухолевого материала, полнота данных и др. ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России имеет возможность передавать морфологические образцы, подготовленные с использованием различных методов фиксации и пробоподготовки: фиксация замораживанием в жидком азоте, химическая фиксация (формалин, FFPE — Formalin Fixed Paraffin-Embedded, фиксированные в формалине парафинизированные образцы), в стабилизирующих нуклеиновые кислоты растворах, подготовка суспензий единичных клеток и др.

Кровь и ее производные

Образцы крови и ее производных собираются в соответствии с требованиями заказчика, прописанными в техническом задании, и в зависимости от последующих исследований. На этом основан выбор типа пробирок-вакутейнеров и используемого в них антикоагулянта, протокола пробоподготовки, условий хранения и транспортировки, которые могут варьировать от комнатной температуры до -80°C . Помимо цельной крови, центр также предоставляет образцы сыворотки и плазмы, подготовленные в соответствии со стандартной операционной процедурой (СОП).

Качество образца крови определяет возможность проведения исследования и воспроизводимость результатов. Для гарантии предоставления качественного материала проводится четкий контроль соблюдения протоколов процедур пробоподготовки, температурных режимов хранения и транспортировки. Для образцов плазмы и сыворотки учитываются также такие показатели качества, как гемолиз и хилёз, способные привести к искажению результатов исследований.

Гибридные клоны

Значимой частью Биоресурсной коллекции ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России являются гибридные клоны и моноклональные антитела. Начало работы по получению гибридом было положено еще в 80-х гг. прошлого столетия А. Ю. Барышниковым. Сегодня в коллекции насчитывается >2 тыс. гибридных клонов, продуцирующих моноклональные антитела против различных молекул и структур белковой

и небелковой природы. Для гибридных клонов разработаны протоколы оценки их жизнеспособности, контаминации, асцитогенности и антителопродукции. Для характеристики моноклональных антител проводится определение специфичности, аффинности, области применения, принадлежности к иммуноглобулиновым субклассам и, в отдельных случаях, оценка их биологической активности.

Генетический материал

Из любого типа образцов, предлагаемых центром, может быть выделен генетический материал (ГМ). Для получения дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) чаще всего используются образцы тканей (как свежий хирургический материал, так и парафиновые блоки фиксированных формалином тканей) и кровь (цельная кровь, мононуклеарные клетки, а также плазма и сыворотка). В случае необходимости получения РНК требуются более строгие условия: фиксация свежеекссеченного материала в специальном стабилизаторе IntactRNA (Евроген, Россия) или RNAlater (Thermo FS, США), максимальное сокращение периода от момента забора материала до начала выделения нуклеиновой кислоты (в идеале не >30 мин). Также возможно проведение выделения РНК из парафиновых блоков, однако следует иметь в виду, что в таком случае ГМ будет сильно фрагментирован и подойдет не для любого исследования. Сотрудники центра владеют методами выделения свободно циркулирующей ДНК из плазмы и сыворотки крови; в т.ч. есть опыт одновременного выделения из образцов крови геномной ДНК, РНК, белков и свободно циркулирующей ДНК. В зависимости от целей исследования, типа образцов и необходимого ГМ разрабатывается протокол.

КК образца ДНК подразумевает спектрофлуориметрическую оценку концентрации на Qubit 4 (Thermo FS, США) с использованием набора Qubit 1X dsDNA HS Assay Kit (Thermo FS, США). Качество и количество выделенной ДНК определяется спектрофотометрическим методом по поглощению при 260 нм на нанопотометре NP80 (Implen, Германия). Качество выделенной ДНК оценивается по соотношению оптических плотностей при длинах волн 230, 260 и 280 нм. A_{260}/A_{280} (содержание протеинов) должно быть между 1,8 и 2,05 и A_{260}/A_{230} (загрязнение органическими соединениями или хатропными агентами) >1,8.

Концентрация РНК оценивается спектрофлуориметрически на Qubit 4 (Thermo FS, США) с использованием набора Qubit RNA BR Assay Kit (Thermo FS, США). Оценка качества и количества выделенной РНК проводится на приборе BioAnalyzer 2100 (Agilent Technologies, США) с использованием набора RNA 6000 Nano/Pico Chip (Agilent Technologies, США), определяется RNA Integrity Number (RIN).

КК организации процессов

В соответствии с ГОСТ Р ИСО 20387¹ биобанк устанавливает, документирует и внедряет процедуры, определяющие деятельность на протяжении всего жизненного цикла образца в коллекции. Система КК в области биобанкирования^{2,3}, предполагает разработку и применение стандартных операционных процедур (СОП), определяющих правила, методики, последовательность действий, направленных на обеспечение прослеживаемости на всех этапах, а также отражающих частоту и ключевые стадии проведения контролирующих процедур [1]. В соответствии с этими требованиями необходимо:

- наличие СОП по каждому из этапов для каждого из типов образцов;
- обязательное проведение процедуры валидации в соответствии с требованиями ISO 21899⁴ для методов обработки, разработанных на основе действующих государственных и международных стандартов;
- применение стандартных методов обработки только после верификации и заключения о соответствии всем заранее установленным требованиям⁴;
- помимо регламентирующих все процессы документов, наличие записей, подтверждающих выполнение этих процедур (журналы, бланки, протоколы, отчеты и др.);
- в обязательном порядке должно быть определено ответственное лицо, управляющее процессом и несущее ответственность за результат.

При реализации проекта "Создание и развитие биоресурсной коллекции генетически и фенотипически охарактеризованных клеточных линий и первичных опухолей человека" в рамках соглашения о предоставлении из федерального бюджета гранта в форме субсидии с Министерством науки и высшего образования Российской Федерации в течение 2022г нами было разработано порядка 30 СОП, касающихся всех ключевых процессов, начиная от маркировки, учета, транспортировки и хранения до узко специализированных исследований для характеристики клеточной линии. В последующем планируется расширение перечня и адаптация имеющихся СОП с учетом изменения номенклатуры используемых реактивов и расширения перечня исследований.

Передача материала в биобанк осуществляется после подписания информированного добровольного согласия, разработанного с соблюдением этико-правовых норм и законодательных регламентов, определяющего варианты использования предоставляемых образцов и обеспечивающего защиту прав и интересов донора. Используемая в нашем центре модель общего расширенного согласия подразумевает однократное активное выражение согласия донором на использование образцов и ассоциированной с ними информации для текущего и любых будущих исследований.

Информатизация

КК процессов и образцов в биобанке невозможен без информатизации, направленной на автоматизацию процессов управления Биоресурсной коллекцией. В ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" совместно с ООО "ГеномЭксперт" разработана информационная система, обеспечивающая учет данных по образцам и коллекциям, автоматизацию процессов движения образцов в хранилищах, возможность выдачи аналитической сводки по образцам и их параметрам. Благодаря использованию единой нормативно-справочной информации (справочники и классификаторы) для описания образцов стали возможными организация единой базы и автоматизация сквозных процессов, обеспечивающих проследивание перемещения образца на всех этапах его жизненного цикла от введения в коллекцию до выдачи заказчику или утилизации. Система обеспечивает управление цифровыми паспортами биообразцов и коллекций, формирует реестры образцов, обеспечивает учет и настройку мест хранения, ведет мониторинг условий хранения в биобанке. Организация структуры распределения ролей и настройка разграничения прав доступа к разделам и операциям в информационной системе позволяет строго контролировать этапность и выполняемость процессов, определяя круг лиц, ответственных за формирование заявок на размещение или выдачу образцов, создание баз данных в целях проведения научных исследований, а также ведение единой нормативно-справочной информации в области биобанкирования.

Центр коллективного пользования

С целью повышения доступности образцов и обеспечения качества оказания услуг с использованием материалов Коллекции в ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" зарегистрирован Центр коллективного пользования, предоставляющий широкий спектр услуг (рисунок 5).

На базе Центра коллективного пользования выполняются научные исследования с использованием образцов Биоресурсной коллекции, что отражено в публикациях, например, в работе [15].

¹ ГОСТ Р ИСО 20387 — 2021. Национальный стандарт Российской Федерации. Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования.

² ГОСТ Р ИСО 59781 — 2021/ISO/TR 22758:2020. Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования. Биобанкинг. Руководство по внедрению ИСО 20387.

³ ГОСТ Р ИСО 9001 — 2015. Национальный стандарт Российской Федерации. Системы менеджмента качества. Требования.

⁴ ISO 21899:2020 Biotechnology. Biobanking. General requirements for the validation and verification of processing methods for biological material in biobanks.

Модели ксенографтов опухолей человека, как CDX (cell line derived xenograft), так и PDX (patient-derived xenograft), широко используются в проведении научных исследований [16–18].

Заключение

Реализация комплексного подхода к функционированию биобанка ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России гарантирует предоставление образцов высокого качества и углубленной характеристики. С условиями предоставления образцов можно ознакомиться на сайте Биоресурсной коллекции <https://biocollection.ru/>.

Двухгодичная практика работы биобанка позволила сформулировать основные задачи биобанка:

- Сбор и процессинг биологического материала, создание специализированных коллекций;
- Сбор первичной информации и характеристика образцов;
- Ответственное и безопасное хранение образцов и ассоциированной ними информации;

Литература/References

1. Anisimov SV, Axmerov TM, Balanovskij OP, et al. Biobanking. National Guide. Moscow: OOO "Izdatel'stvo TRIUMF", 2022. 308 p. (In Russ.) Анисимов С. В., Ахмеров Т. М., Балановский О. П. и др. Биобанкирование. Национальное руководство. М.: ООО "Издательство ТРИУМФ", 2022. 308 с. ISBN: 978-5-93673-322-2.
2. Kosilkin SV. Experience of legal regulation of biobank activities in foreign practice and the development of Russian legislation. Vestnik Universiteta imeni O. E. Kutafina. 2020;4(68):79-87. (In Russ.) Косилкин С. В. Опыт правового регулирования деятельности биобанков в зарубежной практике и развитие российского законодательства. Вестник Университета имени О. Е. Кутафина. 2020;4(68):79-87. doi:10.17803/2311-5998.2020.68.4.079-087.
3. Kryukova ES, Ruzanova VD. Legal regime of biobanks in domestic legislation. Juridical Journal of Samara University. 2021;7(1):57-62. (In Russ.) Крюкова Е. С., Рузанова В. Д. Правовой режим биобанков в отечественном законодательстве. Юридический вестник Самарского университета. 2021;7(1):57-62. doi:10.18287/2542-047X-2021-7-1-57-62.
4. Snapes E, Simeon-Dubach D. ISBER Best Practices for Repositories, Moving Toward the Fifth Edition. Biopreservation and Biobanking. 2022;20(1):107-8. doi:10.1089/bio.2022.29102.ejs.
5. Borisova AL, Pokrovskaya MS, Meshkov AN, et al. ISO 20387 biobanking standard. Analysis of requirements and experience of implementation. Klin Lab Diagn. 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.
6. Maleina MN. Legal Status of the Biobank (Bank of Biological Human Material). Law. Journal of the Higher School of Economics. 2020;1:98-117. (In Russ.) Малеина М. Н. Правовой статус биобанка (банка биологических материалов человека). Право. Журнал Высшей школы экономики. 2020;1:98-117. doi:10.17323/2072-8166.2020.1.98.117.
7. Moore HM, Kelly AB, Jewell SD, et al. Biospecimen reporting for improved study quality (BRISQ). J Proteome Res. 2011;10(8):3429-38. doi:10.1021/pr200021n.
8. 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.
9. 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.
10. Kalinina NA, Malchenkova AA, Kosobokova EN. The quality control strategy of human and animal cell lines in the bioresource collection. Collections of human and animal cell cultures: modern challenges and network solutions. In: Collection of abstracts of reports of the All-Russian School-Conference, Saint-Petersburg, June 22-23 2022. SPb.: Publishing House of Polytechnical University, 2022:56-7. (In Russ.) Калинина Н. А., Мальченкова А. А., Кособокова Е. Н. Стратегия контроля качества клеточных линий человека и животных в биоресурсной коллекции. Коллекции культур клеток человека и животных: современные вызовы и сетевые решения. В кн: Сборник тезисов докладов Всероссийской школы-конференции, Санкт-Петербург, 22-23 июня 2022 года. СПб.: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого", 2022:56-7. doi:10.18720/SPBPU/2/id22-118.
11. Baryshnikov AY, Burova OS, Voronina ES, et al. Human melanoma cell lines. SPb.: High Tech Publishing House. 2017. 174 p. (In Russ.) Барышников А. Ю., Бурова О. С., Воронина Е. С. и др. Клеточные линии меланомы человека. СПб.: Издательство "Наукоемкие технологии", 2017. 174 с. ISBN: 978-5-9909412-3-6.
12. Kosobokova EN, Malchenkova AA, Kalinina NA, et al. Using short tandem repeat profiling to validate cell lines in biobanks. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2022;21(11):3386. (In Russ.) Кособокова Е. Н., Мальченкова А. А., Калинина Н. А.
- Контроль качества образцов и предоставляемой информации;
- Обеспечение менеджмента качества работы биобанка;
- Соблюдение этических норм работы биобанка;
- Информатизация работы биобанка и обеспечение доступности данных;
- Взаимодействие с другими биобанками;
- Оказание услуг биобанкирования и процессинга образцов;
- Оказание образовательных услуг в области биобанкирования.

Отношения и деятельность. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках научно-исследовательской работы № 075-15-2021-1060 "Создание и развитие биоресурсной коллекции генетически и фенотипически охарактеризованных клеточных линий и первичных опухолей человека".

- и др. Использование метода профилирования на основе коротких tandemных повторов для подтверждения подлинности клеточных линий в биобанках. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022;21(11):3386. doi:10.15829/1728-8800-2022-3386.
13. Bogush TA, Basharina AA, Eliseeva BK, et al. A new approach to EMT diagnostics in epithelial tumors: Double immunofluorescent staining and flow cytometry. Biotechniques. 2020;69(4):1-8. doi:10.2144/btn-2020-0024.
14. Bogush TA, Basharina AA, Scherbakov AM, et al. Tumor cell panel with characterized expression of PD-L1 for preclinical studies of anticancer drugs and immune checkpoint inhibitors' interaction. Moscow Univ Chem Bull. 2023;77(1):19-24. doi:10.3103/S0027131422070045.
15. Nifontova GO, Kalenichenko DV, Baryshnikova MA, et al. Nanoprobe based on fluorescent semiconductor nanocrystals and single-domain antibodies for highly sensitive detection of epidermal growth factor receptor in tumor cells. Russian Journal of Biotherapy. 2023;22(1):68-75. (In Russ.) Нифонтова Г.О., Калениченко Д.В., Барышникова М.А. и др. Нанозонды на основе флуоресцентных полупроводниковых нанокристаллов и однодоменных антител для высокочувствительной детекции рецептора эпидермального фактора роста в опухолевых клетках. Российский биотерапевтический журнал. 2023;22(1):68-75. doi:10.17650/1726-9784-3023-22-1-68-75.
16. Machulkin AE, Uspenskaya AA, Zyk NY, et al. PSMA-targeted small-molecule docetaxel conjugate: Synthesis and preclinical evaluation. Eur J Med Chem. 2022;227:113936. doi:10.1016/j.ejmech.2021.113936.
17. Morozova E, Abo Qoura L, Anufrieva N, et al. Daidzein-directed methionine γ -lyase in enzyme prodrug therapy against breast cancer. Biochimie. 2022;201:177-83. doi:10.1016/j.biochi.2022.05.007.
18. Machulkin AE, Nimenko EA, Zyk NU, et al. Synthesis and Preclinical Evaluation of Small-Molecule Prostate-Specific Membrane Antigen-Targeted Abiraterone Conjugate. Molecules. 2022;27(24):8795. doi:10.3390/molecules27248795.

Создание биоресурсной коллекции компонентов крови беременных женщин для выявления генетических особенностей плода, а также для поиска генетических маркеров гестационных осложнений

Вашукова Е.С.¹, Тарасенко О.А.¹, Талантова О.Е.¹, Козюлина П.Ю.², Моршнева А.В.², Мальцева А.Р.¹, Пачулия О.В.¹, Беспалова О.Н.¹, Коган И.Ю.¹, Глотов А.С.¹

¹ФГБНУ "НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта". Санкт-Петербург; ²ООО "НИПТ". Санкт-Петербург, Россия

Цель. Создание коллекции образцов плазмы и лейкоцитов крови беременных для усовершенствования методов неинвазивного пренатального тестирования, а также для поиска маркеров дезоксирибонуклеиновой кислоты и изучения молекулярных механизмов гестационных осложнений.

Материал и методы. В процессе создания коллекции используются оригинальные стандартные операционные процедуры. Биоматериалом для хранения служит плазма и лейкоциты крови беременных женщин.

Результаты. По состоянию на июль 2023г в коллекции содержатся образцы плазмы крови и лейкоцитарной пленки от 5814 беременных. Для 5692 женщин выполнено полногеномное секвенирование внеклеточной дезоксирибонуклеиновой кислоты из плазмы крови на приборе Ion GeneStudio S5 (Thermo Fisher Scientific Inc, США). У 522 женщин собраны данные о цитогенетическом исследовании материала плода после инвазивной пренатальной диагностики. В 241 случае образцы получены от беременных плодами с нормальным кариотипом и 282 случаях от беременных плодами с хромосомными аномалиями. После завершения беременности родами данные о течении и исходах беременности собраны у 590 женщин, в 212 случаях беременность осложнилась "большими акушерскими синдромами". На базе коллекции проведена апробация ранее разработанного биоинформатического алгоритма неинвазивного пренатального тестирования на секвенаторе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай). Полученная специфичность соответствовала ожидаемой и составила >99,9%. Чувствительность метода — 100%.

Заключение. Созданная коллекция, а также ассоциированные с ней клинические и геномные данные являются ценным ресурсом для фундаментальных и прикладных исследований, что подтверж-

дается научными работами, выполненными на основе собранных биобразцов.

Ключевые слова: биоресурсная коллекция, беременность, пренатальная диагностика, внеклеточная дезоксирибонуклеиновая кислота, ДНК-маркеры осложнений беременности.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено в рамках ФНИ № 1021062812133-0-3.2.2 "Оптимизация методов предикции, профилактики и лечения "больших акушерских синдромов", а также стратегии родоразрешения у беременных из групп высокого риска, с целью улучшения акушерских и перинатальных исходов". Использованы образцы, депонированные в УНУ (уникальную научную установку) "Репродуктивное здоровье человека" (регистрационный номер USU_3076082).

Поступила 21/09-2023

Рецензия получена 12/10-2023

Принята к публикации 30/10-2023



Для цитирования: Вашукова Е.С., Тарасенко О.А., Талантова О.Е., Козюлина П.Ю., Моршнева А.В., Мальцева А.Р., Пачулия О.В., Беспалова О.Н., Коган И.Ю., Глотов А.С. Создание биоресурсной коллекции компонентов крови беременных женщин для выявления генетических особенностей плода, а также для поиска генетических маркеров гестационных осложнений. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3742. doi:10.15829/1728-8800-2023-3742. EDN GJDCNT

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: vi_lena@list.ru

[Вашукова Е.С.* — к.б.н., н.с. лаборатории геномики отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0002-6996-8891, Тарасенко О.А. — к.б.н., н.с. лаборатории геномики отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0003-3394-7391, Талантова О.Е. — к.м.н., с.н.с., врач акушер-гинеколог медико-генетического центра, ORCID: 0000-0003-3520-599X, Козюлина П.Ю. — н.с., ORCID: 0000-0001-8520-3445, Моршнева А.В. — н.с., ORCID: 0000-0002-8545-6052, Мальцева А.Р. — лаборант-исследователь лаборатории геномики отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0002-5647-6783, Пачулия О.В. — к.м.н., ученый секретарь, ORCID: 0000-0003-4116-0222, Беспалова О.Н. — д.м.н., зам. директора по научной работе, ORCID: 0000-0002-6542-5953, Коган И.Ю. — д.м.н., директор, ORCID: 0000-0002-7351-6900, Глотов А.С. — д.б.н., руководитель отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0002-7465-4504].

Bioresource collection of blood components from pregnant women to identify fetal genetic features, as well as to search for genetic markers of gestational complications

Vashukova E. S.¹, Tarasenko O. A.¹, Talantova O. E.¹, Kozyulina P. Yu.², Morshneva A. V.², Maltseva A. R.¹, Pachulia O. V.¹, Bespalova O. N.¹, Kogan I. Yu.¹, Glotov A. S.¹

¹D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology. St. Petersburg; ²ООО НИПТ. St. Petersburg, Russia

Aim. To create collection of plasma and leukocyte blood samples from pregnant women to improve methods of non-invasive prenatal testing, as well as to search for deoxyribonucleic acid markers and study the molecular mechanisms of gestational complications.

Material and methods. The collection creation process uses original standard operating procedures. The biomaterial for storage was plasma and leukocytes from the blood of pregnant women.

Results. As of July 2023, the collection contains samples of blood plasma and buffy coat suspension from 5814 pregnant women. For 5692 women, whole-genome sequencing of extracellular deoxyribonucleic acid from blood plasma was performed on an Ion GeneStudio S5 system (Thermo Fisher Scientific Inc, USA). Data on cytogenetic examination of fetal material after invasive prenatal diagnosis were collected from 522 women. In 241 cases, samples were obtained from pregnant women with fetuses with a normal karyotype and in 282 cases from pregnant women with fetuses with chromosomal abnormalities. After pregnancy ended with childbirth, data on the course and outcomes of pregnancy were collected from 590 women. In 212 cases, pregnancy was complicated by great obstetrical syndromes. Based on the collection, a previously developed bioinformatic algorithm for non-invasive prenatal analysis was tested on a DNBSEQ-G50 sequencer (MGI, China). The obtained specificity corresponded to the expected one and was >99,9%. The sensitivity of the method is 100%.

Conclusion. The created collection, as well as the clinical and genomic data associated with it, is a valuable resource for basic and applied research.

Keywords: bioresource collection, pregnancy, prenatal diagnosis, extracellular deoxyribonucleic acid, DNA markers of pregnancy complications.

Relationships and Activities. The study was carried out within the fundamental research project № 1021062812133-0-3.2.2 "Optimization of methods for prediction, prevention and treatment of great obstetrical syndromes, as well as delivery strategies in pregnant women from high-risk groups, in order to improve obstetric and perinatal outcomes." The samples used were deposited in the unique scientific installation "Human Reproductive Health" (registration number USU_3076082).

Vashukova E. S.* ORCID: 0000-0002-6996-8891, Tarasenko O. A. ORCID: 0000-0003-3394-7391, Talantova O. E. ORCID: 0000-0003-3520-599X, Kozyulina P. Yu. ORCID: 0000-0001-8520-3445, Morshneva A. V. ORCID: 0000-0002-8545-6052, Maltseva A. R. ORCID: 0000-0002-5647-6783, Pachulia O. V. ORCID: 0000-0003-4116-0222, Bespalova O. N. ORCID: 0000-0002-6542-5953, Kogan I. Yu. ORCID: 0000-0002-7351-6900, Glotov A. S. ORCID: 0000-0002-7465-4504.

*Corresponding author: vi_lena@list.ru

Received: 21/09-2023

Revision Received: 12/10-2023

Accepted: 30/10-2023

For citation: Vashukova E. S., Tarasenko O. A., Talantova O. E., Kozyulina P. Yu., Morshneva A. V., Maltseva A. R., Pachulia O. V., Bespalova O. N., Kogan I. Yu., Glotov A. S. Bioresource collection of blood components from pregnant women to identify fetal genetic features, as well as to search for genetic markers of gestational complications. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3742. doi:10.15829/1728-8800-2023-3742. EDN GJDCNT

вкДНК — внеклеточная ДНК, вкмтДНК — внеклеточная митохондриальная ДНК, вкфДНК — внеклеточная фетальная ДНК, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ИПД — инвазивная пренатальная диагностика, К₂-ЭДТА — 2-замещенная калиевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты, мтДНК — митохондриальная ДНК, НИПТ — неинвазивное пренатальное тестирование.

Введение

Профилактика и ранняя диагностика патологий плода и возможных осложнений во время беременности, родов и в послеродовом периоде являются одними из ключевых задач современного здравоохранения [1].

В последнее десятилетие возрос интерес к изучению внеклеточной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) (вкДНК), циркулирующей в плазме крови беременных. Помимо собственной вкДНК в плазме крови беременных, также содержится вкДНК плодного происхождения — внеклеточная фетальная ДНК (вкфДНК) [2]. В настоящее время вкфДНК используется для неинвазивного пренатального тестирования (НИПТ) хромосомных аномалий. НИПТ имеет высокую чувствительность и специфичность для распространенных хромосомных патологий таких, как трисомия 21 (синдром Дауна), трисомия 18 (синдром Эдвардса) и трисо-

мия 13 (синдром Патау) [3]. В то же время возможности НИПТ для обнаружения других форм хромосомных аномалий, включая патологии половых хромосом, редкие аномалии, мозаичные формы анеуплоидий, частичные хромосомные аномалии, до конца не изучены [3].

В дополнение к обнаружению хромосомных аномалий стали появляться коммерческие тесты для выявления моногенных заболеваний у плода на основе исследования вкДНК. Тем не менее, вопрос скрининга генных мутаций у плода по вкфДНК остается открытым. Большинство тестов основаны на исследовании носительства патогенных мутаций у матери и отца, и только лишь в некоторых случаях применяется анализ вкДНК [1].

Недавние исследования показали возможность использования вкфДНК для прогнозирования риска развития акушерских патологий [4]. Изменения в профиле и уровне вкфДНК были обнаружены

Ключевые моменты**Что известно о предмете исследования?**

- Биоресурсные коллекции являются важным инструментом для проведения научных исследований, создания более совершенных диагностических тестов, разработки новых подходов к лечению и профилактике различных заболеваний человека.
- Коллекция биообразцов крови и ее производных, полученных от беременных женщин, и наличие данных анамнеза, результатов раннего пренатального скрининга, данных об исходе беременности и геномных данных позволят усовершенствовать методы неинвазивной пренатальной диагностики, а также обеспечить прогнозирование осложнений беременности.

Что добавляют результаты исследования?

- Создана и охарактеризована уникальная биоресурсная коллекция плазмы и лейкоцитов крови от беременных женщин для разработки неинвазивных диагностических подходов к выявлению генетических особенностей плода, а также для поиска ДНК-маркеров и изучения молекулярных механизмов гестационных осложнений. Валидирован метод неинвазивного пренатального тестирования на основе ранее разработанного биоинформатического алгоритма на секвенаторе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай).
- Биоресурсная коллекция, а также ассоциированные с ней клинические и геномные данные могут быть использованы в фундаментальных и прикладных научных исследованиях. Предложенный вариант неинвазивного пренатального тестирования может быть использован в лабораторной практике.

Key messages**What is already known about the subject?**

- Bioresource collections are an important tool for research, creating more advanced diagnostic tests, and developing novel approaches to the treatment and prevention of various human diseases.
- A collection of biospecimens of blood and its derivatives obtained from pregnant women, and the availability of history data, results of early prenatal screening, data on pregnancy outcome and genomic data will improve methods of non-invasive prenatal diagnosis, as well as provide prediction of pregnancy complications.

What might this study add?

- A unique bioresource collection of plasma and blood leukocytes from pregnant women was created and characterized to develop non-invasive diagnostic approaches to identifying the genetic characteristics of the fetus, as well as to search for DNA markers and study the molecular mechanisms of gestational complications. A method of noninvasive prenatal testing based on a previously developed bioinformatics algorithm on a DNBSEQ-G50 sequencer (MGI, China) was validated.
- The bioresource collection, as well as associated clinical and genomic data, can be used in basic and applied scientific research. The proposed option for non-invasive prenatal testing can be used in laboratory practice.

у женщин с преэклампсией [5], задержкой развития плода [6] и преждевременными родами [7, 8]. Однако эти данные зачастую противоречивы, их недостаточно для использования в клинической практике, поэтому необходимы дальнейшие исследования.

Следует отметить, что вкДНК также содержит митохондриальную ДНК (вкмтДНК), фрагменты геномов вирусов и бактерий [9-11]. Повышение уровня митохондриальной ДНК (мтДНК) в крови обнаружено у женщин с преэклампсией [12-17], гестационным сахарным диабетом [18], задержкой развития плода [19]. Это позволяет рассматривать вкмтДНК в качестве потенциального биомаркера осложнений беременности. В свою очередь вирусные и бактериальные инфекции также могут вызывать осложнения беременности, а их своевременное выявление и лечение позволяет избежать тяжелых последствий [9, 11, 20].

Важная роль в развитии патологий беременности отводится полиморфизмам генов самой женщины, о чем свидетельствуют данные семейного анамнеза, результаты исследований близнецов, этнические различия и молекулярно-генетические исследования [21]. Однако данные о связи полиморфизмов различных генов с риском развития осложнений беременности по-прежнему противоречивы, что указывает на необходимость дополнительных исследований, а также пересмотра вклада генетических факторов в формирование патологий беременности.

В настоящее время оборудование и методы, используемые для анализа ДНК, стремительно развиваются. С появлением более совершенных и доступных вариантов возникает необходимость быстрой апробации и внедрения новейших технологий в лабораторную практику.

Таблица 1

Количество аликвот и условия пробоподготовки образцов крови

Тип образца	Количество аликвот	Метод обработки	Объем, мкл	Условия хранения
Плазма	4-8*	центрифугирование 2000 g, 4° С, 10 мин; центрифугирование 16000 g, 4° С, 10 мин.	1000	-80° С
Лейкоцитарная пленка	2	центрифугирование, 2000 g, 4° С, 10 мин;	300	-80° С

Примечание: * — в зависимости от типа пробирок (взятие крови осуществляется в две пробирки с К₂-ЭДТА (8 аликвот) или в одну пробирку со стабилизатором вкДНК (4 аликвоты)).

Решение описанных проблем невозможно без сбора биологических образцов от беременных женщин. В 2015г на базе Отдела геномной медицины ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" было организовано отделение Биобанк "ГЕНОФОНД"¹. С 2019г Биобанк "ГЕНОФОНД" является членом Национальной ассоциации биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО). Биобанк "ГЕНОФОНД" специализируется на сборе и хранении различных типов биообразцов от пациентов с заболеваниями, значимыми для репродукции. Коллекции биобанка постоянно пополняются и формируются в соответствии с научными проектами ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта".

Цель настоящей работы — создание коллекции образцов плазмы и лейкоцитов крови беременных для усовершенствования методов неинвазивного пренатального тестирования, а также для поиска ДНК-маркеров и изучения молекулярных механизмов гестационных осложнений.

В статье представлены результаты 5-летней работы по созданию, развитию и поддержанию коллекции образцов компонентов крови беременных женщин, дана клиническая характеристика биообразцов, представлены результаты сбора исходов беременности, кратко подведены итоги использования коллекции и определены дальнейшие перспективы.

Материал и методы

Для создания коллекции используются образцы крови женщин >18 лет с одноплодной беременностью сроком >9 нед., которые направлены в ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" для проведения инвазивной пренатальной диагностики (ИПД) или НИПТ хромосомных аномалий. Работа одобрена Этическим Комитетом ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" (№130 от 16 июля 2020г) и проводится в соответствии с Хельсинкской декларацией. Взятие крови осуществляется после получения информированного согласия женщины на использование ее биоматериала в научных целях. Перед взятием крови у всех женщин собирается информация о возрасте, весе, росте, сроке и способе наступления беременности, о результатах раннего пренатального скрининга и данных ультразвукового исследования. В случае необходимости ИПД кровь собирают до процедуры.

Сбор биологического материала и его обработка проводится в соответствии с разработанными стандартными операционными процедурами. Взятие крови производится в пробирки объемом 10 мл с 0,5 М раствором К₂-ЭДТА (2-замещенной калиевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты) в случае кратковременного хранения или в пробирки, содержащие стабилизатор вкДНК (Streck, США или GBM, Россия), если требуется длительное хранение до пробоподготовки. Если кровь собрана в пробирки с К₂-ЭДТА, обработка биоматериала проводится в течение 2 ч после сбора [22]. Если кровь собрана в пробирки со стабилизатором вкДНК, то ее обработка проводится не позднее, чем через 14 дней после венепункции, в соответствии с рекомендациями производителя. Образцы плазмы с гемолизом или хилезом исключаются из коллекции. Количество аликвот, условия пробоподготовки и хранения представлены в таблице 1.

Для НИПТ используется одна аликвота плазмы крови. Выделение ДНК проводится с помощью набора реагентов "MagMAX Cell-Free DNA Isolation Kit" ("Thermo Fisher Scientific Inc.", США) согласно рекомендациям производителя. НИПТ проводится методом полногеномного высокопроизводительного секвенирования вкДНК на приборе Ion GeneStudio S5 (Thermo Fisher Scientific Inc, США) или на приборе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай) с последующим применением ранее разработанного биоинформатического алгоритма². У женщин с высоким риском по результатам НИПТ осуществляется сбор информации о результатах ИПД (или о результатах кариотипирования материала плода после завершения беременности). В случае низкого риска, а также при пролонгировании беременности в случае высокого риска осуществляется сбор данных о течении, исходах беременности и состоянии новорожденных после родоразрешения.

Для учета образцов, клинических и геномных данных используются таблицы Excel. Все сведения об образцах хранятся с соблюдением условий конфиденциальности — каждому образцу присваивается уникальный идентификационный номер. Результаты секвенирования хранятся в виде файлов в формате bam для прибора Ion GeneStudio S5 или в виде fastq — для прибора DNBSEQ-G50.

Статистическая обработка данных проведена с помощью программы Jamovi (version 2.3.26). Для показателей, характеризующих качественные признаки, указано абсолютное значение и относительная величина в процентах. Для количественных переменных рассчитывали

¹ <https://ott.ru/science/structure/bioresursnaya-kollekciya-reproduktivnoe-zdorov-e-cheloveka/> (01 июля 2023).

² Козюлина П. Ю., Вашукова Е. С., Глотов А. С. и др. Способ неинвазивного пренатального скрининга анеуплоидий плода. Номер патента: RU 2712175 C1. Дата публикации: 24.01.2020.

среднее и стандартное отклонение от среднего (все переменные имели нормальное распределение согласно критерию Шапиро-Уилка).

Результаты

Количество образцов в коллекции по состоянию на 01.07.2023г представлено в таблице 2. Работа по сбору биообразцов и созданию коллекции продолжается. Для формирования коллекции используются две группы биообразцов.

В первом случае используются образцы крови беременных, которые направлены в ФБНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта" для проведения ИПД в связи с риском рождения ребенка с анеуплоидией. В коллекцию включаются образцы крови всех женщин. После ИПД осуществляется сбор сведений о кариотипировании материала плода. Преимуществами такого подхода являются непосредственное определение кариотипа плода и возможность формирования контрольных выборок. С помощью этого подхода на 01.07.2023г собраны образцы крови от 322 беременных (таблица 3). Средний возраст женщин составляет $29,6 \pm 5,44$ лет (20-47 лет). Сроки беременности находятся в пределах от 9 до 32 нед. гестации (среднее значение $13,4 \pm 2,6$ нед.). Нормальный кариотип определен в 241 случае, из них 52,3% (126) случаев — плоды мужского пола и 47,7% (115) случаев — плоды женского пола. У 67 плодов выявлены анеуплоидии (таблица 3). Для 200 женщин проведено полногеномное секвенирование вкДНК.

Вторую группу составляют образцы крови женщин, направленных на НИПТ. При выявлении высокого риска по результатам НИПТ женщина направляется на ИПД для цитогенетического исследования материала плода. Если результаты НИПТ и ИПД совпадают, образец включается в коллекцию. В случае низкого риска по результатам НИПТ образец хранится до завершения беременности родами, после чего осуществляется сбор данных о течении и исходах беременности. К достоинствам этого подхода можно отнести полногеномное секвенирование вкДНК образцов всех женщин, возможность отбора образцов с редкими хромосомными аномалиями, возможность сбора биоматериала до клинических проявлений осложнений беременности и формирования выборок женщин в зависимости от гестационных патологий.

На 01.07.2023г с помощью НИПТ обследованы образцы плазмы крови от 5554 пациенток. Для 5492 женщин получен результат. Средний возраст этих женщин составил $33,5 \pm 3,21$ лет (19-47 лет), средний срок беременности при взятии крови — $12 \pm 1,4$ нед. (9-34 нед.).

Высокий риск хромосомных нарушений у плода по результатам НИПТ определен в 254 наблюдениях, 201 случай хромосомных аномалий был подтвержден в результате ИПД (таблица 4). Важно

Таблица 2

Количество образцов,
включенных в коллекцию на 01.07.2023г

Показатель	Количество
Направлены на НИПТ	5554
— низкий риск	5238
— высокий риск	254
НИПТ не выполнен	65***
Направлены на ИПД	541
В связи с высоким риском по результатам НИПТ	219
— нормальный кариотип	18***
— хромосомные аномалии	201
Направлены сразу на ИПД	322
— нормальный кариотип	241
— хромосомные аномалии	81
— выполнено полногеномное секвенирование вкДНК (НИПТ)	200
Всего	
— нормальный кариотип	241
— хромосомные аномалии	282
Проведен сбор информации об исходах беременности	635
Получена информация о беременности	590
— большие акушерские синдромы*	212
— неосложненной течение беременности**	378
Получение данных не представлялось возможным	45***

Примечание: * — включены следующие патологии: гипертензия беременных, преэклампсия, гестационный сахарный диабет, преждевременные роды и задержка развития плода, ** — подразумевается отсутствие перечисленных патологий, *** — исключены из коллекции, вкДНК — внеклеточная ДНК, ИПД — инвазивная пренатальная диагностика, НИПТ — неинвазивное пренатальное тестирование.

отметить, что в случае редких хромосомных аномалий исследование кариотипа плода было выполнено только у 12 женщин, 6 случаев были подтверждены результатами ИПД. Среди них два случая трисомии по хромосоме 2, один случай трисомии по хромосоме 22, один случай моносомии хромосомы 18 (у плода выявлена делеция длинного плеча хромосомы 18), два случая трисомии по хромосоме 16. Все эти образцы включены в коллекцию.

Низкий риск хромосомных нарушений у плода с помощью НИПТ был определен в 5238 наблюдениях. На 01.07.2023г у 635 женщин после завершения беременности родами осуществлен сбор данных о течении и исходах беременности. Для 45 женщин получение сведений не представлялось возможным, их образцы были исключены из коллекции; в то же время для 590 женщин информация была получена. У всех этих женщин было получено фенотипическое подтверждение отсутствия анеуплоидий и пола плода. Основные клинические данные представлены в таблице 5. Средний возраст в этой когорте женщин составил $34,0 \pm 5,18$ лет (20-46 лет). Средний срок беременности при сборе крови составил $14 \pm 1,6$ нед. (9,5-34 нед.). У большинства женщин (552 (93,6%)) взятие крови осу-

Таблица 3

Результаты кариотипирования материала плодов беременных, чьи образцы крови включены в биоресурсную коллекцию на 01.07.2023г (n=322)

Кариотип/результат FISH*	Кариотипирование
Норма	
46,XX	113
46,XY	124
46,XX,9ph	2
46,XY,9ph	2
Всего	241
Сбалансированные перестройки	
46,XY,t(15;16)(q15;q22)pat	1
46,XY,t(4;5)(p16;q31)pat	1
45,XX,der(14;21)(q10;q10)mat	1
46,XX,inv(8)(p21;q22)	1
46,XX,t(6;10)(q25;p15)mat [15]	1
Всего	5
Патологии	
Анеуплоидии	
47,XX,+21	21
47,XY,+21	22
47,XX,+18	5
47,XY,+18	9
47,XY,9ph,+18	1
47,XX,+13	2
47,XY,+13	1
45,X	4
47,XXX	1
47,YYY	1
Всего	67
Мозаицизм	
47,XX,+21 [25]/48,XX,+20,+mar [4]	1
48,XY,+18,+20 [12]/47,XY,+18 [5]	1
47,XY,+7 [1]/46,XY [22]	1
Всего	3
Структурно несбалансированные перестройки	
47,XY,add(10)(q26),+21 (FISH:47,XY,+21. ish der (10)t(10;13)(q25;q22) (wcp10+,wcp13+,RB1-)	1
47,XX,der(13;13)(q10;q10),+13+21 [15]/47,XX,+21 [14]	1
47,XX,+marpat	1
46,XX,add(16)(p13.3)	1
46,XX,rec(8)dup(8q)(p21;q22) dpat	1
46,XY,der [6]	1
Всего	6

Примечание: * — биоматериал для инвазивного исследования соби-
рался методом хорионбиопсии, плацентобиопсии или кордоцентеза
в зависимости от срока беременности.

щественность до 20 нед. беременности: у 280 (47,5%) беременных — до 13 нед. и у 272 (46,1%) беремен-
ных — между 14 и 20 нед. Только у 38 (6,4%) био-
материал был получен после 20 нед. В 212 случаях

Таблица 4

Результаты неинвазивного пренатального
тестирования и подтверждающей инвазивной
диагностики на 01.07.2023г (n=5492)

Результат НИПТ*	Высокий риск по НИПТ	Подтверждено по ИПД
Норма		
Норма, девочка	2499	—
Норма, мальчик	2739	—
Всего	5238	
Основные трисомии		
Трисомия 21, девочка	63	61
Трисомия 21, мальчик	92	91
Всего	155	152
Трисомия 18, девочка	14	12
Трисомия 18, мальчик	10	9
Всего	24	21
Трисомия 13, девочка	9	7
Трисомия 13, мальчик	7	5
Всего	16	12
Аномалии половых хромосом		
Моносомия X, девочка	9	7
Трисомия X, девочка	3	1
Дисомия Y, мальчик	3	2
Всего	15	10
Редкие патологии		
Редкие патологии, девочка	28	3
Редкие патологии, мальчик	16	3
Всего	44	6

Примечание: * — НИПТ выполнен методом полногеномного сек-
венирования вкДНК беременных на приборе Ion GeneStudio S5
(Thermo Fisher Scientific Inc, США), оценка хромосомных аномалий
проведена в соответствии с разработанным биоинформатическим
алгоритмом², под нормой подразумевается отсутствие анеуплоидии;
вкДНК — внеклеточная ДНК, ИПД — инвазивная пренатальная диа-
гностика, НИПТ — неинвазивное пренатальное тестирование.

беременность осложнилась "большими акушерски-
ми синдромами": гестационный сахарный диабет
на диетотерапии был диагностирован у 62 (10,5%)
женщин, на инсулинотерапии — у 17 (2,9%) бере-
менных, гипертензия беременных — у 23 (3,9%),
преэклампсия — у 49 (8,3%), преждевременные ро-
ды — у 25 (4,2%) женщин, задержка развития плода
была установлена в 36 (6,1%) случаях.

Всего, по состоянию на 01.07.2023г в коллекции
содержатся образцы плазмы крови и лейкоцитарной
пленки от 5814 беременных. Для 5692 женщин вы-
полнено полногеномное секвенирование вкДНК.
Данные о цитогенетическом исследовании материа-
ла плода после ИПД собраны у 522 женщин, данные
о течении и исходах беременности — у 590 женщин.

В настоящей работе образцы коллекции были
использованы для апробации и валидации ранее раз-
работанного биоинформатического алгоритма НИПТ
методом высокопроизводительного секвенирования

Таблица 5

Клинические данные о течении беременности и состоянии новорожденных, ассоциированные с образцами, собранные на 01.07.2023г (n=590)

Категории показателей	Показатели	n=590	
		Абс.	%
Настоящая беременность	Одноплодная	590	100,0%
	Беременность ЭКО	57	9,7%
Паритет родов и осложнения беременности в анамнезе	Первородящие	206	34,9%
	Повторнородящие	384	65,1%
	Невынашивание в анамнезе	148	25,1%
	Преэклампсия в анамнезе	33	5,6%
	Гестационный сахарный диабет (диетотерапия) в анамнезе	23	3,9%
	Гестационный сахарный диабет (инсулинотерапия) в анамнезе	4	0,7%
	Преждевременные роды в анамнезе	12	2,0%
	Задержка развития плода в анамнезе	2	0,3%
	Преждевременная отслойка плаценты	6	1,0%
Гинекологические заболевания	Синдром поликистозных яичников	15	2,5%
	Наружный генитальный эндометриоз	45	7,6%
	Аденомиоз	6	1,0%
	Миома матки	84	14,2%
	Хронический эндометрит	17	2,9%
	Киста яичника	56	9,5%
	Полип эндометрия	18	3,1%
	Гиперплазия эндометрия	1	0,2%
Экстрагенитальные заболевания	Ожирение >30 кг/м ²	53	9,0%
	Избыток >25-30 кг/м ²	148	25,1%
	Дефицит массы тела <18 кг/м ²	9	1,5%
	Сахарный диабет 1 типа	4	0,7%
	Сахарный диабет 2 типа	1	0,2%
	Гепатоз	4	0,7%
	Гипертоническая болезнь	11	1,9%
	Антифосфолипидный синдром	4	0,7%
	Варикозная болезнь	82	13,9%
	Хронический пиелонефрит	71	12,0%
	Патология щитовидной железы	67	11,4%
Гестационные осложнения	Патологическая прибавка веса	136	23,1%
	Анемия беременных	138	23,4%
	Угрожающие преждевременные роды	25	4,2%
	Гестационный сахарный диабет (диетотерапия)	62	10,5%
	Гестационный сахарный диабет (инсулинотерапия)	17	2,9%
	Отеки	38	6,4%
	Гипертензия беременных	23	3,9%
	Преэклампсия	49	8,3%
	HELLP-синдром	1	0,2%
	Гепатоз беременных	14	2,4%
	Многоводие	30	5,1%
	Маловодие	26	4,4%
Течение родов и осложнения	Роды самостоятельные	350	59,3%
	Преждевременное излитие околоплодных вод	107	18,1%
	Преждевременные роды	25	4,2%
Оперативное родоразрешение	Роды оперативным путем	240	40,7%
	Плановое кесарево сечение	219	37,1%
	Экстренное кесарево сечение	21	3,6%

Таблица 5. Продолжение

Категории показателей	Показатели	n=590	
		Абс.	%
Показания к оперативному родоразрешению	Рубец на матке	74	12,5%
	Преэклампсия	14	2,4%
	Отсутствие оптимальной готовности к родам родовых путей	27	4,6%
	Экстрагенитальная патология	15	2,5%
	Осложнения, связанные с сахарным диабетом	3	0,5%
	Отслойка плаценты	4	0,7%
	Отягощенный акушерский и гинекологический анамнез	14	2,4%
	Внутриутробная гипоксия плода	8	1,4%
	Неправильное положение плода	24	4,1%
	Узкий таз	7	1,2%
	Преждевременное излитие околоплодных вод	4	0,7%
	Размер плода	5	0,8%
	Резус-конфликт	2	0,3%
	Нарушение маточно-плацентарного кровотока	6	1,0%
Фетальные осложнения	Задержка развития плода	36	6,1%
	Диабетическая фетопатия	3	0,5%
	Гипербилирубинемия	73	12,4%
	Внутриутробная инфекция	2	0,3%

Примечание: вкДНК — внеклеточная ДНК, ЭКО — экстракорпоральное оплодотворение; HELLP-синдром: H — hemolysis (гемолиз), EL — elevated liver enzymes (повышение в крови уровня печеночных ферментов), LP — low platelet count (тромбоцитопения).

на приборе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай). В качестве контроля использовали аликвоты плазмы крови 50 беременных плодов с нормальным кариотипом. Для валидации НИПТ использовали аликвоты плазмы крови других 150 женщин: 100 беременных плодов с нормальным кариотипом и 50 образцов беременных плодов с хромосомными патологиями. Во всех случаях результаты, полученные как цитогенетическим методом, так и при использовании НИПТ, совпали. Отсутствие анеуплоидий у плода после анализа вкДНК было определено в 100 наблюдениях, патология кариотипа была определена в 50 наблюдениях (таблица 6). Все патологии были определены верно. Таким образом, специфичность метода соответствовала ожидаемой и составила >99,9%. Чувствительность метода — 100%.

Обсуждение

Биоресурсные коллекции являются важным инструментом для проведения научных исследований, создания более совершенных диагностических тестов, разработки новых подходов к лечению и профилактике различных заболеваний человека.

В последние годы в России стали появляться стандартизированные коллекции биообразцов, которые собираются в период беременности. Так, в ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" ведутся работы по созданию уникальной коллекции биоматериала женщин на разных сроках гестации. В эту коллекцию входят образцы венозной крови, мочи, пуповинной крови и плацентарной ткани от женщин

с различной акушерской патологией и с неосложненным течением беременности. На сегодняшний день собрано >400 образцов, и сбор продолжается. Основные области использования этой коллекции связаны с поиском ранних молекулярно-генетических маркеров наиболее распространенных осложнений беременности [23]. В то же время такая важная область медицины, как пренатальная диагностика осталась без внимания. В настоящей работе мы приступили к формированию биоресурсной коллекции, ориентированной на разработку новых методов неинвазивной пренатальной диагностики на основе анализа вкДНК.

В качестве первичного биоматериала была выбрана цельная кровь, собранная в пробирки с K₂-ЭДТА или со стабилизатором вкДНК. Экспериментальные исследования показали, что наиболее подходящим биоматериалом для выделения вкДНК является плазма крови [24], а оптимальным вариантом для взятия крови является ее забор в пробирки с K₂-ЭДТА [24]. Однако этот тип пробирок пригоден только для кратковременного хранения при комнатной температуре до центрифугирования из-за разрушения клеток и контаминации геномной ДНК. Для длительного хранения до центрифугирования подходят пробирки, содержащие стабилизатор, защищающий клетки крови от деградации [24]. Важно отметить, что оба типа пробирок подходят для сбора лейкоцитов, содержащих геномную ДНК беременных женщин, которую можно использовать для поиска генов предрасположенности

Таблица 6

Результаты тестирования образцов вкДНК беременных методом полногеномного секвенирования на приборе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай) (n=150)

Кариотип/ результат FISH	Кариотипирование	НИПТ*
Норма		
46,XX	50	50 (норма, девочка)
46,XY	50	50 (норма, мальчик)
Всего	100	100
Анеуплоидии		
47,XX,+21	10	10 (трисомия 21, девочка)
47,XY,+21	10	10 (трисомия 21, мальчик)
47,XX,+18	6	6 (трисомия 18, девочка)
47,XY,+18	6	6 (трисомия 18, мальчик)
47,XX,+13	5	5 (трисомия 13, девочка)
47,XY,+13	5	5 (трисомия 13, мальчик)
47,XXX	1	1 (трисомия X, девочка)
47,XX,+2	1	1 (трисомия 2, девочка)
47,XY,+16	1	1 (трисомия 16, мальчик)
47,XX,+22	1	1 (трисомия 22, девочка)
45,X	3	3 (моносомия X, девочка)
47,YYY	1	1 (дисомия Y, мальчик)
Всего	50	50

Примечание: * — НИПТ выполнен методом полногеномного секвенирования вкДНК беременных на приборе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай), оценка хромосомных аномалий проведена в соответствии с разработанным биоинформатическим алгоритмом², под нормой подразумевается отсутствие анеуплоидии; вкДНК — внеклеточная ДНК, НИПТ — неинвазивное пренатальное тестирование.

к осложнениям беременности. Также образцы геномной ДНК беременных в ряде подходов НИПТ используются в качестве контроля [3], что обусловило необходимость сбора лейкоцитов крови.

Для анализа вкДНК беременных используют различные молекулярно-генетические методы. Одним из наиболее успешных и перспективных методов является высокопроизводительное секвенирование [3]. Поэтому в 2017г в ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта" был начат сбор образцов крови беременных женщин, направленных на ИПД, с целью разработки технологии НИПТ хромосомных аномалий методом высокопроизводительного секвенирования. Эти образцы составили основу представленной коллекции, которая сформирована из двух групп: образцы от женщин, беременных плодами с хромосомными аномалиями, и образцы беременных плодами без хромосомных патологий.

В 2019г на базе собранных образцов была выполнена апробация технологии НИПТ хромосомных аномалий на основе ионного полупроводникового секвенирования на приборе Ion GeneStudio S5 (Thermo Fisher Scientific Inc, США). Для этого был разработан оригинальный биоинформатический

протокол оценки риска хромосомных патологий у плода. Были использованы аликвоты плазмы крови от 185 женщин с одноплодной беременностью. При исследовании 145 образцов анеуплоидий у плода обнаружено не было, что соответствовало результатами цитогенетического исследования. В 40 случаях были выявлены хромосомные аномалии. Все 40 анеуплоидий, обнаруженных с помощью НИПТ, соответствовали результатам ИПД [25, 26].

С 2020г разработанный вариант НИПТ внедрён в клиническую практику ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта". На сегодняшний день этим методом протестировано >5000 образцов беременных женщин [27], что позволило значительно увеличить количество образцов с хромосомными аномалиями и расширить спектр патологий, входящих в коллекцию.

В 2022г на базе коллекции было проведено тестирование разработанного биоинформатического алгоритма НИПТ с использованием технологии высокопроизводительного секвенирования, предложенной китайской компанией MGI. Результаты апробации, представленные в настоящей работе, свидетельствуют об успешном тестировании протокола НИПТ для прибора DNBSEQ-G50 (MGI, Китай). С декабря прошлого года эта технология применяется в ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта", к настоящему времени проанализировано >1500 образцов плазмы крови беременных женщин.

Электронный каталог коллекции включает информацию о результатах раннего пренатального скрининга, что позволяет проводить дополнительные исследования. Так, на основе тестирования 4272 образцов коллекции исследована эффективность разработанного варианта НИПТ в клинической практике. Проведенные исследования показали, что прогностическая ценность НИПТ для трисомий по хромосомам 21, 18 и 13 значительно выше, чем у раннего пренатального скрининга, что соответствует данным других исследователей [27]. Показано, что предложенный вариант НИПТ позволяет с высокой точностью выявлять регулярные трисомии, анеуплоидии по половым хромосомам, а также "редкие находки" [27].

Преимуществом созданной коллекции является то, что для большинства образцов вкДНК проведено полногеномное секвенирование. Это открывает широкие возможности для научных исследований.

Исследования, проведенные на основе имеющейся геномной информации, показали, что в образцах плазмы крови беременной можно обнаружить фрагменты ДНК вирусов, способных негативно влиять на течение беременности, таких как Varicella zoster, Human betaherpesvirus 5 (CMV) и Human parvovirus B19 [26]. Также было показано, что во вкДНК содержится достаточное количество мтДНК для анализа последней. Продемонстрировано, что вкмтДНК в плазме крови беременных может быть использована для поиска нуклеотидных

вариантов и определения гаплогрупп мтДНК. Показано, что уровень мтДНК в плазме крови может служить дополнительным маркером качества биообразцов, направляемых на НИПТ [10]³.

Особо перспективной представляется возможность поиска на базе коллекции ранних ДНК-маркеров осложнений гестации. Во-первых, большинство образцов получены проспективно до возникновения акушерских осложнений. Во-вторых, в процессе формирования коллекции собираются данные о течении беременности. При этом клиническая аннотация биообразцов содержит подробную информацию о фоновых и гинекологических заболеваниях, а также об особенностях течения настоящей беременности. Эта информация позволяет формировать стратифицированные группы беременных в зависимости от целей исследования.

В настоящее время на базе коллекции проводятся исследования, связанные с оценкой клинической значимости детекции ДНК-вирусов в крови беременной, разработкой подходов к выявлению микроперестроек, созданием неинвазивных методов пренатального скрининга моногенных заболеваний и хромосомных патологий на основе таргетного секвенирования, а также поиском ДНК-маркеров осложнений беременности.

Заключение

Созданная коллекция, а также ассоциированные с ней клинические и геномные данные являются ценным ресурсом для фундаментальных

³ Моршнева А. В., Козюлина П. Ю., Вашуква Е. С. и др. Способ анализа митохондриальной ДНК для неинвазивного пренатального тестирования. Номер патента: RU 2 772 912 С1. Дата публикации: 27.05.2022.

Литература/References

1. Prenatal diagnosis of hereditary diseases: state and prospects. V.S. Baranov, T.V. Kuznetsova, T.K. Kashcheeva, et al. SPb.: Izd-vo Eco-Vector, 2020. 503 p. (In Russ.) Пренатальная диагностика наследственных болезней. Состояние и перспективы. Баранов В.С., Кузнецова Т.В., Кашеева Т.К. и др. СПб.: Изд-во Эко-Вектор, 2020. 503 с. ISBN: 978-5-907201-24-8.
2. Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet*. 1997;350(9076):485-87. doi:10.1016/S0140-6736(97)02174-0.
3. Kalashnikova EA, Glotov AS, Andreyeva EN, et al. Current relevance of non-invasive prenatal study of cell-free fetal DNA in the mother's blood and prospects for its application in mass screening of pregnant women in the Russian Federation. *Journal of Obstetrics and Women's Diseases*. 2021;70(1):19-50. (In Russ.) Калашникова Е.А., Глотов А.С., Андреева Е.Н. и др. Современное значение неинвазивного пренатального исследования внеклеточной ДНК плода в крови матери и перспективы его применения в системе массового скрининга беременных в Российской Федерации. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2021;70(1):19-50. doi:10.17816/JOWD56573.
4. Gracheva MI, Kan NE, Krasniy AM. Role of cell-free fetal DNA in the early diagnosis of pregnancy complications. *Akusherstvo i Ginekologiya/Obstetrics and Gynecology*. 2016;(10):5-10. (In Russ.) Грачева М.И., Кан Н.Е., Красный А.М. Роль внеклеточной фетальной ДНК в ранней диагностике осложнений беременности. *Акушерство и гинекология*. 2016;10:5-10. doi:10.18565/aig.2016.10.5-10.
5. AbdelHalim RM, Ramadan DI, Zeyada R, et al. Circulating Maternal Total Cell-Free DNA, Cell-Free Fetal DNA and Soluble Endoglin Levels in Preeclampsia: Predictors of Adverse Fetal Outcome? A Cohort Study. *Mol Diagn Ther*. 2016;20(2):135-49. doi:10.1007/s40291-015-0184-x.
6. Kwak DW, Kim SY, Kim HJ, et al. Maternal total cell-free DNA in preeclampsia with and without intrauterine growth restriction. *Sci Rep*. 2020;10:11848. doi:10.1038/s41598-020-68842-1.
7. Farina A, LeShane ES, Romero R, et al. High levels of fetal cell-free DNA in maternal serum: a risk factor for spontaneous preterm delivery. *Am J Obstet Gynecol*. 2005;193(2):421-5. doi:10.1016/j.ajog.2004.12.023.
8. van Boeckel SR, Davidson DJ, Norman JE, Stock SJ. Cell-free fetal DNA and spontaneous preterm birth. *Reproduction*. 2018;155(3):R137-45. doi:10.1530/REP-17-0619.
9. Chesnais V, Ott A, Chaplais E, et al. Using massively parallel shotgun sequencing of maternal plasmatic cell-free DNA for cytomegalovirus

- DNA detection during pregnancy: a proof of concept study. Rep. 2018;8:4321. doi:10.1038/s41598-018-22414-6.
10. Morshneva A, Kozyulina P, Vashukova E, et al. Pilot Screening of Cell-Free mtDNA in NIPT: Quality Control, Variant Calling, and Haplogroup Determination. Genes. 2021;12(5):743. doi:10.3390/genes12050743.
11. Tong X, Yu X, Du Y, et al. Peripheral Blood Microbiome Analysis via Noninvasive Prenatal Testing Reveals the Complexity of Circulating Microbial Cell-Free DNA. Microbiol Spectr. 2022;10(3):e0041422. doi:10.1128/spectrum.00414-22.
12. Qiu C, Hevner K, Enquobahrie DA, Williams MA. A case-control study of maternal blood mitochondrial DNA copy number and preeclampsia risk. Int J Mol Epidemiol Genet. 2012;3(3):237-44.
13. McCarthy C, Kenny LC. Therapeutically targeting mitochondrial redox signalling alleviates endothelial dysfunction in preeclampsia. Sci Rep. 2016;6:32683. doi:10.1038/srep32683.
14. Marschalek J, Wohlrab P, Ott J, et al. Maternal serum mitochondrial DNA (mtDNA) levels are elevated in preeclampsia — A matched case-control study. Pregnancy Hypertens. 2018;14:195-9. doi:10.1016/j.preghy.2018.10.003.
15. Williamson RD, McCarthy FP, Khashan AS, et al. Exploring the role of mitochondrial dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. Pregnancy Hypertens. 2018;13:248-53. doi:10.1016/j.preghy.2018.06.012.
16. Busnelli A, Lattuada D, Ferrari S, et al. Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood in the first trimester of pregnancy and different preeclampsia clinical phenotypes development: a pilot study. Reprod Sci. 2018;26(8):1054-61. doi:10.1177/1933719118804410.
17. Ozeki A, Tani K, Takahashi H, et al. Preeclamptic patient-derived circulating cell-free DNA activates the production of inflammatory cytokines via toll-like receptor 9 signalling in the human placenta. J Hypertens. 2019; 37:2452-60. doi:10.1097/HJH.0000000000002208.
18. McElwain C, McCarthy CM. Investigating mitochondrial dysfunction in gestational diabetes mellitus and elucidating if BMI is a causative mediator. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2020; 251:60-5. doi:10.1016/j.ejogrb.2020.04.037.
19. Colleoni F, Lattuada D, Garretto A, et al. Maternal blood mitochondrial DNA content during normal and intrauterine growth restricted (IUGR) pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 2010; 203(4):365.e1-6. doi:10.1016/j.ajog.2010.05.027.
20. Linthorst J, Baksi MMM, Welkers MRA, Sistermans EA. The cell-free DNA virome of 108,349 Dutch pregnant women. Prenat Diagn. 2023;43(4):448-56. doi:10.1002/pd.6143.
21. Dryllis G, Liakou P, Politou M. Genetic Polymorphisms Implicated in Major Pregnancy Complications: a Review. Folia Med (Plovdiv). 2020;62(2):230-7. doi:10.3897/folmed.62.e47831.
22. Biobanking. National Guidelines. Ed. A. N. Meshkova, A. S. Glovtova, S. V. Anisimova. National association of Biobanks and biobanking specialists. M.: Izd-vo Triumf, 2022. 308 p. il. (In Russ.) Биобанкирование. Национальное руководство. Под редакцией А. Н. Мешкова, А. С. Глотова, С. В. Анисимова. Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию. М.: Изд-во Триумф, 2022. 308 с. ил. ISBN: 978-5-93673-322-2.
23. Pachulia OV, Illarionov RA, Vashukova ES, et al. Bioresource collection of biosamples from pregnant women at different gestational ages for the search for early biomarkers of pregnancy complications and potential for its use in research. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2022;21(11):3399. (In Russ.) Пачулия О.В., Илларионов Р.А., Вашукова Е.С. и др. Характеристика биоресурсной коллекции биообразцов от беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров осложнений беременности и перспективы ее научного использования. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022;21(11):3399. doi:10.15829/1728-8800-2022-3399.
24. Kondratskaya VA, Pokrovskaya MS, Doludin YuV, et al. Influence of preanalytical variables on the quality of cell-free DNA. Biobanking of cell-free DNA material. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2021;20(8):3114. (In Russ.) Кондрацкая В.А., Покровская М.С., Долудин Ю.В. и др. Влияние преаналитических переменных на качество внеклеточной ДНК. Биобанкирование материала для выделения внеклеточной ДНК. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(8):3114. doi:10.15829/1728-8800-2021-3114.
25. Ivashchenko TE, Vashukova, ES, Kozyulina, PY, et al. Noninvasive prenatal testing using next generation sequencing: pilot experience of the D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology. Russian Journal of Genetics. 2019;55(10):1208-13. doi:10.1134/S1022795419100053.
26. Kozyulina PY, Vashukova ES, Morshneva AV, et al. Application of nipt by ngs sequencing in D.O. Ott research institute for obstetrics, gynaecology and reproductology. Medical Genetics. 2020;19(3):71-3. (In Russ.) Козюлина П.Ю., Вашукова Е.С., Моршнева А.В. и др. Опыт применения NGS секвенирования для проведения НИПТ на базе ФГНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта". Медицинская генетика. 2020;19(3):71-3. doi:10.25557/2073-7998.2020.03.71-73.
27. Tarasenko OA, Vashukova ES, Kozyulina PYu, et al. Experience of using high-throughput sequencing (NGS) for noninvasive prenatal screening of fetal aneuploidy at the D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproduction. Akusherstvo i Ginekologiya /Obstetrics and Gynecology. 2022;10:37-49. (In Russ.) Тарасенко О.А., Вашукова Е.С., Козюлина П.Ю. и др. Опыт применения высокопроизводительного секвенирования (NGS) для проведения неинвазивного пренатального скрининга анеуплоидий плода на базе ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д.О. Отта". Акушерство и гинекология. 2022;10:37-49. doi:10.18565/aig.2022.10.37-49.

Инвентаризация и контроль качества "Коллекции биообразцов от беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров осложнений беременности"

Мальцева А.Р.¹, Илларионов Р.А.^{1,2}, Вашукова Е.С.¹, Пачулия О.В.¹, Постникова Т.Б.¹, Велижанина М.Е.², Рубель А.А.², Насыхова Ю.А.¹, Беспалова О.Н.¹, Глотов А.С.^{1,2}

¹ФГБНУ "НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта". Санкт-Петербург; ²ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургский государственный университет". Санкт-Петербург, Россия

Цель. Проведение инвентаризации и контроля качества биообразцов "Коллекции биообразцов от беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров осложнений беременности".

Материал и методы. В рамках настоящей работы использованы методы оценки пробоподготовки биообразцов, включающие выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК)/рибонуклеиновой кислоты из разного биоматериала, белковый электрофорез в полиакриламидном геле и анализ базы данных.

Результаты. Проведен контроль качества биообразцов и инвентаризация коллекции (n=18390), подтвердившие высокую сохранность биоматериала вне зависимости от срока хранения. Средняя концентрация ДНК составила (69,96±6,56) нг/мкл, внеклеточной ДНК (вкДНК) — 0,20±0,02 нг/мкл, рибонуклеиновой кислоты — 38,16±5,69 нг/мкл. Показатели DNA Integrity Number (DIN) >9, RNA integrity number (RIN) >7, A260/280 >1,8 — для всех исследуемых образцов. Белковый форез продемонстрировал отсутствие деградации белковых зон после длительного хранения. Количество ошибок, обнаруженных при инвентаризации — 84 (0,46% от всех записей в базе данных), доноров с неполной клинической информацией — 64 (15% от всех доноров коллекции).

Заключение. Продemonстрирована необходимость обязательно-го исполнения стандартных операционных процедур при создании

и поддержании коллекции, с одной стороны, и периодической инвентаризации с оценкой качества биообразцов, с другой.

Ключевые слова: биобанкирование, беременность, биомаркеры осложнений беременности, биоресурсная коллекция.

Отношения и деятельность. Исследование поддержано грантом РНФ № 19-75-20033. Часть работ выполнена на базе РЦ "Центр Биобанк" Научного парка СПбГУ.

Поступила 18/09-2023

Рецензия получена 26/10-2023

Принята к публикации 20/11-2023



Для цитирования: Мальцева А.Р., Илларионов Р.А., Вашукова Е.С., Пачулия О.В., Постникова Т.Б., Велижанина М.Е., Рубель А.А., Насыхова Ю.А., Беспалова О.Н., Глотов А.С. Инвентаризация и контроль качества "Коллекции биообразцов от беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров осложнений беременности". *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3740. doi:10.15829/1728-8800-2023-3740. EDN CEXKVS

Inventory and quality control of biosample collection from pregnant women at different gestational ages to search for early biomarkers of pregnancy complications

Maltseva A. R.¹, Illarionov R. A.^{1,2}, Vashukova E. S.¹, Pachulia O. V.¹, Postnikova T. B.¹, Velizhanina M. E.², Rubel A. A.², Nasykhova Yu. A.¹, Bespalova O. N.¹, Glotov A. S.^{1,2}

¹D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology. St. Petersburg; ²Saint-Petersburg State University. St. Petersburg, Russia

Aim. To conduct an inventory and quality control of biosample collection from pregnant women at different gestational ages to search for early biomarkers of pregnancy complications.

Material and methods. In this work, methods for assessing the sample preparation of biosamples were used, including the isolation

of deoxyribonucleic acid (DNA)/ribonucleic acid from various biomaterials, polyacrylamide gel electrophoresis of protein, and database analysis.

Results. Inventory and quality control of the collection (n=18390) was carried out, which confirmed the high safety of the biomaterial, regardless

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: r.a.illarionov@gmail.com

[Мальцева А.Р. — лаборант-исследователь лаборатории геномики отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0002-5647-6783, Илларионов Р.А.* — м.н.с. Биобанка "Генофонд" отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, специалист РЦ "Центр Биобанк" Научного парка, ORCID: 0000-0003-2711-748X, Вашукова Е.С. — к.б.н., н.с. лаборатории геномики отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0002-6996-8891, Пачулия О.В. — к.м.н., ученый секретарь, ORCID: 0000-0003-4116-0222, Постникова Т.Б. — м.н.с. отдела акушерства и перинатологии, ORCID: 0000-0002-8227-2629, Велижанина М.Е. — инженер-исследователь лаборатории Биологии амилоидов, ORCID: 0000-0002-9005-527X, Рубель А.А. — н.с., руководитель лаборатории Биологии амилоидов, ORCID: 0000-0001-6203-2006, Насыхова Ю.А. — к.б.н., зав. лабораторией геномики отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, ORCID: 0000-0002-3543-4963, Беспалова О.Н. — д.м.н., зам. директора по научной работе, ORCID: 0000-0002-6542-5953, Глотов А.С. — д.б.н., зав. отдела геномной медицины им. В.С. Баранова, профессор кафедры генетики и биотехнологии, ORCID: 0000-0002-7465-4504].

of storage period. The mean concentration of DNA was $69,96 \pm 6,56$ ng/ μ l, extracellular DNA (ecDNA) — $0,20 \pm 0,02$ ng/ μ l, ribonucleic acid — $38,16 \pm 5,69$ ng/ μ l. DNA Integrity Number (DIN) >9, RNA integrity number (RIN) >7, A260/280 >1,8 were for all studied samples. Protein electrophoresis demonstrated no degradation of protein zones after long-term storage. The number of errors detected during the inventory was 84 (0,46% of all records in the database), while there were 64 donors with incomplete clinical information (15% of all donors in the collection).

Conclusion. The necessity of mandatory implementation of standard operating procedures when creating and maintaining a collection, on the one hand, and periodic inventory with biosample quality assessment, on the other, has been demonstrated.

Keywords: biobanking, pregnancy, biomarkers of pregnancy complications, bioresource collection.

Relationships and Activities. The study was supported by the Russian Science Foundation grant № 19-75-20033. Some of the work was carried out on the basis of the Biobank Center of the Research Park of St. Petersburg State University.

Maltseva A. R. ORCID: 0000-0002-5647-6783, Illarionov R. A. * ORCID: 0000-0003-2711-748X, Vashukova E. S. ORCID: 0000-0002-6996-8891,

Pachulia O. V. ORCID: 0000-0003-4116-0222, Postnikova T. B. ORCID: 0000-0002-8227-2629, Velizhanina M. E. ORCID: 0000-0002-9005-527X, Rubel A. A. ORCID: 0000-0001-6203-2006, Nasykhova Yu. A. ORCID: 0000-0002-3543-4963, Bespalova O. N. ORCID: 0000-0002-6542-5953, Glotov A. S. ORCID: 0000-0002-7465-4504.

*Corresponding author:
r.a.illarionov@gmail.com

Received: 18/09-2023

Revision Received: 26/10-2023

Accepted: 20/11-2023

For citation: Maltseva A. R., Illarionov R. A., Vashukova E. S., Pachulia O. V., Postnikova T. B., Velizhanina M. E., Rubel A. A., Nasykhova Yu. A., Bespalova O. N., Glotov A. S. Inventory and quality control of biosample collection from pregnant women at different gestational ages to search for early biomarkers of pregnancy complications. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3740. doi:10.15829/1728-8800-2023-3740. EDN CEXKVS

вкДНК — внеклеточная дезоксирибонуклеиновая кислота, гДНК — геномная дезоксирибонуклеиновая кислота, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, РНК — рибонуклеиновая кислота, DIN — DNA Integrity Number (показатель целостности ДНК), RIN — RNA Integrity Number (показатель целостности РНК).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Биобанки являются современной платформой, обеспечивающей доступ к высококачественному биоматериалу, стандартизованному на всех этапах получения образцов.
- Интегральными критериями, характеризующими биообразцы, являются "высокое качество" и наличие ассоциированных данных.

Что добавляют результаты исследования?

- При создании и поддержании биоресурсной коллекции необходимо обязательное исполнение стандартных операционных процедур.
- Необходима периодическая инвентаризация с оценкой качества образцов биоресурсной коллекции.

Key messages

What is already known about the subject?

- Biobanks are a modern platform that provides access to high-quality biomaterial, standardized at all sampling stages.
- Integral criteria characterizing biospecimens are "high quality" and the presence of related data.

What might this study add?

- When creating and maintaining a bioresource collection, standard operating procedures must be followed.
- Periodic inventory is required to assess the quality of biosamples.

Введение

Современные биобанки представляют собой передовую платформу, обеспечивающую доступ к высококачественным биообразцам, прошедшим стандартизированные процедуры на всех этапах жизненного цикла. Одним из преимуществ биобанков является возможность многократного использования аликвот этих образцов в разнообразных исследованиях и при клинических испытаниях [1].

Основным интегральным критерием, характеризующим биообразцы, является такое понятие как "высокое качество". Оно включает в себя не только стандарты получения, лабораторную обработку

и соблюдение оптимальных условий хранения биологического материала, но и регламентированный способ получения и хранения данных, ассоциированных с образцами.

Менеджмент качества, регулярно осуществляемый при биобанкировании, обеспечивает сбор и хранение проб с минимальным процентом ошибок и потерь. При этом он подразумевает регулярный скрининг коллекции на предмет наличия образцов, не соответствующих заявленным критериям качества. Одним из таких способов является инвентаризация.

Инвентаризация биобанка в широком смысле — это процесс учета и проверки наличия и каче-

ства образцов, хранящихся в биобанке. Инвентаризация может включать в себя оценку корректности указания в базе данных таких характеристик, как вид биологического материала, состояние пациента при получении образца, учреждение в котором был получен образец, даты сбора, имя специалиста, производящего забор биоматериала, номер пробы, первичное состояние образца и др. В процессе инвентаризации также может происходить проверка и обновление системы хранения и организации биобанка для обеспечения ее сохранности и удобства использования. Окончательным результатом инвентаризации можно считать полный и точный список всех биологических образцов, находящихся в биобанке, и наличие полноценной информации о каждом из них.

Непосредственный контроль качества биообразцов в первую очередь заключается в оценке пригодности образцов для реализации различных научных задач [2]. Способы оценки качества зависят от целей сбора биообразцов и проводимых на их основе исследований (геномных, протеомных, транскриптомных и др.). Итогом проведения процедуры по контролю качества является характеристика биообразцов по выбранным критериям. Так, к примеру, для молекулярно-генетических исследований важное значение имеют следующие показатели: концентрация нуклеиновых кислот, соотношение длин волн A260/A280, показатели целостности дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и рибонуклеиновой кислоты (РНК) — DIN (DNA Integrity Number) и RIN (RNA Integrity Number), соответственно [3–5].

Начиная с 2019г, на базе биобанка отдела геномной медицины им. В. С. Баранова ФГБНУ "НИИ АГиР им. Д. О. Отта" началось формирование "Коллекции биообразцов от беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров осложнений беременности" [6–8]. По состоянию на 15.09.2023г в коллекции находится 18390 биообразцов от 427 беременных женщин. Сбор биоматериала для коллекции осуществляется проспективно в 4-х временных точках (в I, II, III триместрах и после родоразрешения). От беременных женщин один раз в триместр производится забор материнской периферической крови (вакуумные пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) 9 мл — 2 шт.; вакуумные пробирки с активатором свертывания крови — 1 шт.), мочи (не <40 мл); после родоразрешения забирается дополнительно участок плаценты (размер не <2×2×2 см) и пуповинная кровь (вакуумная пробирка с ЭДТА 9 мл — 1 шт.). В стандартном случае на каждую точку сбора приходится 20 биообразцов (6 аликвот цельной крови по 1 мл, 4 аликвоты плазмы крови по 1 мл, 6 аликвот сыворотки крови по 650 мкл, 4 аликвоты мочи по 4,5 мл) [6–8]. Сбор

идет на протяжении 4-х лет, коллекция постоянно пополняется. Вместе с тем на базе коллекции проводится обширный спектр научных исследований [6–8], что предполагает частичное использование собранных образцов. Отличительной особенностью коллекции является сбор образцов, а также ассоциированных клинических данных на разных сроках беременности от одной женщины. Эти факторы обусловили необходимость проведения инвентаризации коллекции и оценки качества собранных биообразцов.

В настоящей работе представлены результаты проверки наличия биообразцов, клинических данных, карты хранилищ, а также оценки их качества. В ходе работы обновлена карта криохранилища, определено состояние клинической и базы данных аликвот, добавлены недостающие сведения. Поскольку коллекция ориентирована на исследование молекулярно-генетических маркеров, то проведена проверка качества биообразцов на геномном, протеомном и транскриптомном уровнях.

Материал и методы

Образцы

В качестве материала для исследования использовали образцы плазмы и сыворотки крови, цельной крови и лейкоцитарной пленки. Случайным образом были отобраны биообразцы со сроком хранения 2, 3, 4 года (n=6 для каждого типа биоматериала в каждый год хранения).

Критерии включения женщин были следующими: возраст (25–35 лет), нормальный индекс массы тела (19–24 кг/м²), одноплодная беременность.

Критериями не включения были: тяжелые хронические заболевания (артериальная гипертензия, сердечно-сосудистые заболевания, почечная патология, сахарный диабет, гемотрансмиссивные инфекции (гепатиты, вирус иммунодефицита человека, антифосфолипидный синдром и др.); осложнения гестации (ранний токсикоз беременных, высокий риск хромосомных аномалий плода, врожденных патологий развития плода или преэклампсии по данным комбинированного первого скрининга); наличие осложнений поздних сроков беременности (гестационный сахарный диабет, преэклампсия, гепатоз, отслойка плаценты и др.), т.к. перечисленные заболевания могли повлиять на исследуемые показатели.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ "НИИ акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта" (Санкт-Петербург, Россия), протокол № 97 от 27 июня 2019г. Информированное согласие было подписано всеми женщинами до взятия биообразцов.

Процессинг биообразцов

Пробоподготовка образцов осуществлялась согласно стандартным операционным процедурам, описанным нами ранее [8]. Биообразцы цельной крови, плазмы, сыворотки и лейкоцитарной пленки хранились при температуре -80° С.

Инвентаризация коллекции

Инвентаризация коллекции проведена согласно следующему плану:

1. Проверка местонахождения криоштативов в хранилище, зафиксированных в базе. Обновление карты криохранилища.

2. Проверка наличия аликут и добавление пометок об их отсутствии.

3. Редактирование ошибок в базе.

4. Проверка ассоциированных клинических данных в базе.

5. Сбор недостающих клинических данных и их добавление.

6. Исключение образцов при отсутствии данных.

Инвентаризация проводилась параллельно двумя сотрудниками биобанка для минимизации влияния человеческого фактора при проверке.

Выделение РНК

РНК экстрагировали из 10 мг лейкоцитарной пленки набором PureLink™ RNA Mini Kit (Invitrogen, США) в соответствии с инструкцией производителя. Для элюирования РНК использовали 50 мкл воды без рибонуклеаз.

Выделение внеклеточной ДНК (вкДНК)

Внеклеточную ДНК (вкДНК) экстрагировали из 300 мкл плазмы набором MGEasy Circulating DNA Isolation Kit (BJL, Китай) в соответствии с инструкцией производителя. Для ресуспендирования вкДНК использовали 30 мкл элюирующего буфера.

Выделение ДНК из клеток крови

ДНК экстрагировали из 400 мкл цельной крови солевым методом [9]. Полученную ДНК элюировали в 100 мкл воды без нуклеаз.

Белковый электрофорез в полиакриламидном геле

Образцы сыворотки, хранившиеся при температуре -80°C , размораживали на льду. После размораживания образцы тщательно перемешивали пипетированием. Сыворотку разбавляли в десять раз. Для этого к 10 мкл образца добавляли 90 мкл фосфатно-солевого буфера (pH 7,6) (137 mM NaCl; 2,7 mM KCl; 10 mM Na_2HPO_4 ; 1,76 mM KH_2PO_4), содержащего ингибиторы протеаз "Complete Tablets Mini" (Roche, США). К каждому образцу добавляли 34 мкл 4-кратного буфера для нанесения образцов, (100 mM Трис-HCl (pH 6,8), 20% меркаптоэтанол, 10% додецилсульфат натрия (SDS), 0,2% бромфеноловый синий и 40% глицерин). Образцы инкубировали на водяной бане при температуре 95°C в течение 10 мин. В лунки 10%-го полиакриламидного геля наносили по 2 мкл каждой пробы и проводили электрофорез по стандартной методике [10]. После электрофореза полиакриламидный гель промывали в воде в течение 15 мин. Проводили окрашивание геля в растворе Кумасси (0,2% Кумасси G-250, 10% уксусная кислота, 40% этанол) в течение 2-4 ч при постоянном покачивании. Для отмывки несвязавшегося с белками красителя гель ополаскивали в воде и отмывали в растворе (10% уксусная кислота, 40% этанол) в течение 1 ч, со сменой раствора для отмывки через 30 мин и дважды через 15 мин.

Оценка качества биообразцов

Качество выделенных образцов геномной ДНК (гДНК) оценивали путем измерения концентрации ДНК на флуориметре "Qubit 2.0" (Invitrogen, США) и IX dsDNA HS Assay Kit, соотношения длин волн A260/A280 — на спектрофотометре "Nanodrop 2000" (Thermo Scientific, США). Целостность ДНК (DIN) определяли с использованием автоматического капиллярного гель-электрофореза на приборе "2200 TapeStation Instrument" (Agilent Technologies, США) и Genomic DNA ScreenTape.

Таблица 1

Инвентаризация клинических данных

База клинических данных	Неполные клинические данные	
363 доноров	Образцы	11 доноров: неразвивающаяся беременность/выкидыш между 2 и 3 точкой (триместром)
	64 доноров	17 доноров: переезд в другую страну/регион без контактных данных
	изъяты	3 донора: антенатальная гибель плода
		5 доноров: отказались предоставить данные по исходам беременности
		19 доноров: недоступны для связи
		9 доноров: отказались от продолжения участия в исследовании после сдачи 1 точки

Качество выделенных образцов вкДНК оценивали путем измерения концентрации вкДНК на флуориметре "Qubit 2.0" (Invitrogen, США) и IX dsDNA HS Assay Kit. Целостность вкДНК определяли с использованием автоматического капиллярного гель-электрофореза на приборе "2200 TapeStation Instrument" (Agilent Technologies, США) и High Sensitivity DNA ScreenTape.

Качество выделенных образцов РНК оценивали путем измерения концентрации РНК на флуориметре "Qubit 2.0" (Invitrogen, США) и RNA High Sensitivity Assay Kit, оценки соотношения длин волн A260/A280, измеренных на спектрофотометре "Nanodrop 2000" (Thermo Scientific, США). Целостность РНК оценивали с помощью RIN с использованием автоматического капиллярного гель-электрофореза на приборе "2200 TapeStation Instrument" (Agilent Technologies, США) и RNA ScreenTape.

Фотофиксацию результатов белкового электрофореза проводили с использованием гель-документирующей системы ChemiDoc (BioRad, США), используя экран "Chemi".

Статистический анализ. Статистический анализ данных выполнен с использованием Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США). Достоверность различий определяли с помощью непараметрического рангового критерия Краскела-Уоллиса. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Непрерывные переменные представлены как среднее $\pm$ стандартная ошибка ($M \pm SEM$).

Результаты

Инвентаризация

В результате инвентаризации была обновлена карта хранилища (расположение криоштативов в хранилищах), было проверено наличие аликут ($n=18390$) в каждом из криоштативов и их расположение в штативе, также были исправлены ошибки в маркировке пробирок. Исправление ошибок проводилось согласно разработанным ранее стандартным операционным процедурам по пробоподготовке биообразцов, контролю качества биообразцов, хранению биообразцов и анализу данных [8]. В результате в базе данных было сделано 84 исправ-

Таблица 2

Средний выход гДНК 2019–2021гг

Годы	гДНК					
	С, нг/мкл (M±SEM)	p	DIN (M±SEM)	p	A 260/280 (M±SEM)	p
2019	62,94±8,50	0,31	9,46±0,108	0,08	1,89±0,004	0,62
2020	57,12±9,70		9,55±0,106		1,88±0,006	
2021	88,67±11,69		9,73±0,021		1,88±0,005	

Примечание: С — концентрация, гДНК — геномная ДНК, M±SEM — среднее ± стандартная ошибка.

Таблица 3

Средний выход вкДНК 2019–2021гг

Годы	вкДНК	
	С, нг/мкл (M±SEM)	p
2019	0,214±0,044	0,89
2020	0,190±0,032	
2021	0,205±0,037	

Примечание: С — концентрация, вкДНК — внеклеточная ДНК, M±SEM — среднее ± стандартная ошибка.

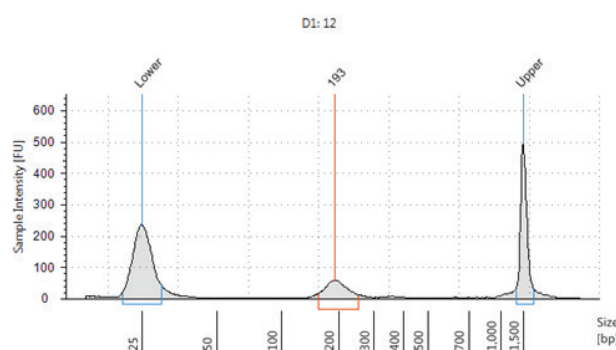


Рис. 1 Электрофореграмма вкДНК, выделенной из плазмы крови беременной, 2021г.

Примечание: вкДНК — внеклеточная ДНК.

ления найденных ошибок, а именно 4 в расположении криоштатива в хранилище, 43 в расположении криопробирки в криоштативе, 15 в маркировке пробирок, 22 в заполнении базы данных.

Была проведена проверка клинических данных, ассоциированных с биообразцами коллекции. В связи с тем, что сбор образцов происходит проспективно в 4-х временных точках (в I, II, III триместрах и после родоразрешения), есть вероятность отсутствия клинических данных во всех временных точках сбора, например, могут быть не указаны антропометрические показатели, информация о гинекологических и экстрагенитальных заболеваниях и т.д. [7]. В результате проверки были обнаружены неполные клинические данные у 64 пациенток из 427. Причины отсутствия данных: отказ от продолжения участия в исследовании, отказ от предоставления выписки после родоразрешения, переезд

в другой регион/страну без предоставления контактных данных (таблица 1).

Оценка качества ДНК

Средняя концентрация ДНК, выделенной из 400 мкл цельной крови для образцов 2019–2022гг, составляет от 57,12 до 88,67 нг/мкл. Среднее соотношение A260/280 за эти года варьируется от 1,88 до 1,89, а DIN от 9,46 до 9,73, что свидетельствует о высоком качестве ДНК (таблица 2). Корреляции между продолжительностью хранения и общей концентрацией или качеством выделенной ДНК (показателями A260/280 и DIN) обнаружено не было. Эти данные позволяют предположить, что образцы цельной крови в коллекции содержат ДНК, пригодную для проведения молекулярно-генетических исследований, а качество ДНК не зависит от срока хранения [3, 11, 12].

Оценка качества вкДНК

Количественный флуорометрический анализ является оптимальным вариантом для анализа образцов с невысокой концентрацией ДНК [13]. Не рекомендуется использовать образцы с концентрацией вкДНК плазмы <2 нг/мл [5]. В настоящем исследовании средняя концентрация вкДНК варьировалась от 0,190 до 0,214 нг/мкл. На электрофореграмме основной пик фрагментов вкДНК соответствуют 150–170 пар нуклеотидов (п.н.) (рисунок 1). Основываясь на полученных результатах, показанных в таблице 3, можно заключить, что срок хранения плазмы крови не влияет на качество вкДНК, образцы 2019г и 2022г можно использовать для исследований.

Оценка качества РНК

Образцы РНК определяются как "хорошие" или "умеренные" с соотношением A 260/280 от 1,98 до 2,04 при RIN ≥6,9 и от 2,05 до 2,08 при RIN ≥5 [4].

Результаты анализа образцов 2019г являются пограничными, в отличие от результатов последующих лет, но при этом находятся в пределах нормы (таблица 4).

Таким образом, биообразцы, входящие в коллекцию, обладают хорошим качеством вне зависимости от срока хранения [4].

Оценка качества белкового профиля

На рисунке 2 представлены результаты анализа образцов сыворотки при помощи электрофоре-

Таблица 4

Средний выход РНК 2019-2021гг

Годы	РНК					
	С, нг/мкл (M±SEM)	p	RIN (M±SEM)	p	A 260/280 (M±SEM)	p
2019	28,44±3,82	0,30	7,34±0,02	0,71	1,95±0,01	0,19
2020	49,60±13,26		7,33±0,17		2,04±0,01	
2021	34,83±7,98		7,35±0,09		2,02±0,01	

Примечание: РНК — рибонуклеиновая кислота, С — концентрация, RIN — RNA integrity number (показатель целостности РНК), M±SEM — среднее±стандартная ошибка.

за в полиакриламидном геле. Окрашенные полосы соответствуют основным мажорным белкам, представленным в сыворотке. Из представленных данных на рисунке 2 видно, что во всех образцах, вне зависимости от периода хранения, видны основные белковые зоны, их количество и размеры не различаются. Признаков деградации белковых зон после длительного хранения не наблюдается.

Обсуждение

В современном биобанке невозможно обойтись без мер по повышению и обеспечению качества коллекций и предоставляемых услуг [2]. Одними из важных аспектов обеспечения качества в биобанке являются контроль качества биообразцов и инвентаризация биоресурсных коллекций, включая ассоциированные с образцами данные. Проведение контроля качества позволяет не только убедиться в пригодности тех или иных биообразцов для определенных исследований, но и добиться воспроизводимости результатов анализа [2]. В свою очередь, возможность определить местоположение биообразца в хранилище и наличие ассоциированных с ним данных в любое время является не менее важным параметром в определении качества биобанка. Для этого в рамках обеспечения качества должна проводиться периодическая инвентаризация биоресурсных коллекций.

"Коллекция биообразцов от беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров осложнений беременности" является уникальной и ценной базой для медицины, фундаментальных и прикладных направлений. Исследования на основе коллекции позволяют изучать патогенетические механизмы различных гестационных осложнений, а также разрабатывать новые методы диагностики и терапевтических мероприятий в области акушерства и гинекологии [6-8].

В коллекции представлены образцы цельной крови, плазмы, сыворотки, лейкоцитарной пленки, мочи, плаценты, пуповинной крови, которые собираются в разные периоды беременности. Анализ этих образцов позволяет получить разнообразную информацию о состоянии здоровья матери и плода, метаболических процессах, генетических маркерах и биохимических параметрах [8, 14].

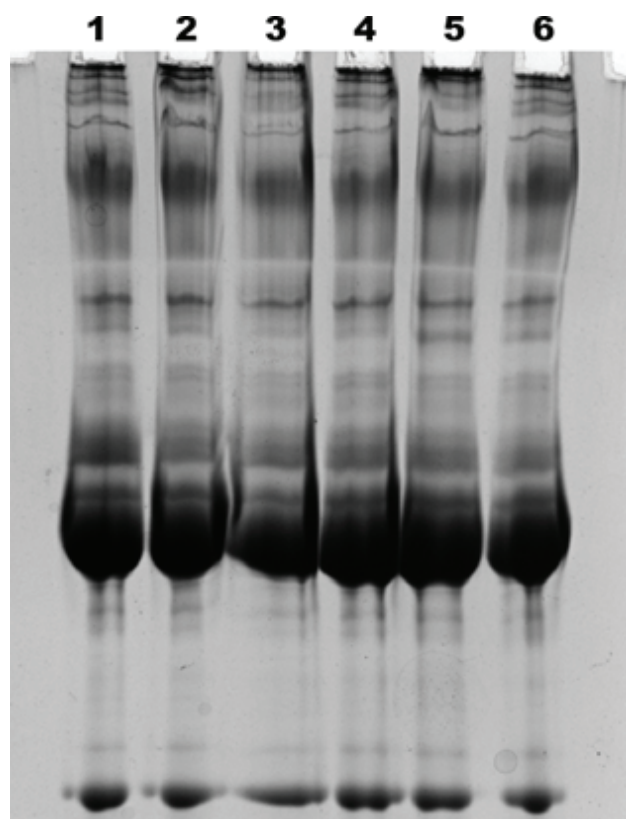


Рис. 2 Электрофореграмма белков из образцов сыворотки, хранившихся различное время при температуре -80° С.

Примечание: слева направо от наименьшего к наибольшему сроку хранения образца сыворотки: 1 — свежий образец; 2 — 2-3 мес. хранения; 3 — 3-6 мес. хранения; 4 — 4-2 года хранения; 5 — 5-3 года хранения; 6 — 6-4 года хранения.

Коллекция пополняется с 2019г по настоящее время. За этот период могли накопиться различные ошибки, связанные с ведением электронной базы коллекции и фактическим наличием биообразцов. Для выявления и устранения этих ошибок была проведена инвентаризация коллекции. В первую очередь проверяли соответствие базы данных коллекции фактическому наличию аликвот в криоштативах, ошибки в расположении криопробирок в криоштативах, отсутствие или опечатки в маркировке криопробирок, а также ошибки в заполнении базы данных (опечатки, отсутствие информации).

Все выявленные ошибки были связаны с человеческим фактором и могут быть обусловлены работой с большим количеством образцов. Полученные данные свидетельствуют о необходимости регулярного проведения инвентаризации для исключения преаналитических ошибок при формировании и использовании коллекции.

В ходе инвентаризации проведена оценка заполнения медицинской информации. Отсутствие или неполная клиническая характеристика образцов ограничивает их использование в исследованиях. Недостаточные клинические данные были обнаружены у 64 женщин, что составляет 15% от всех доноров коллекции. Образцы от этих женщин не подходят для поиска маркеров осложнений беременности, но могут быть использованы для тестирования новых методов исследования и оценки качества хранящихся образцов.

К сожалению, никаких рекомендаций по частоте проведения инвентаризации коллекций в биобанке нет, каждый биобанк принимает решение самостоятельно, основываясь на собственном опыте, размере коллекции или количества поступающих биообразцов.

Качество образцов в коллекции является ключевым фактором, гарантирующим возможность их использования в будущих исследованиях. Контроль качества позволяет минимизировать риски изменений в образцах в процессе длительного хранения, тем самым повышая достоверность результатов исследований, а также продлевая жизненный цикл коллекции. Текущие исследования, проводимые на базе коллекции, направлены на изучение геномных (ДНК), транскриптомных (РНК) и протеомных особенностей беременных женщин с различными осложнениями гестации. Поэтому для контроля качества образцов коллекции были выбраны показатели, характеризующие качество вкДНК и гДНК, РНК, белкового профиля. Оценивались следующие показатели ДНК: DIN, концентрация, A 260/280; вкДНК: концентрация; РНК: RIN, концентрация, A 260/280; деградация белковых зон.

К основным показателям качества гДНК относятся чистота (A260/280) и целостность (DIN). "Чистыми" являются образцы ДНК с соотношением A260/280 >1,8, В свою очередь ДНК считается высокоинтактной при значении DIN >8,5 [15]. Многие биобанки проводят свой контроль качества образцов ДНК: так, в норвежском популяционном биобанке HUNT Biobank (Норвегия) средняя концентрация ДНК составляет 50 нг/мкл, а соотношение A260/280 — 1,8, на основании тестирования 1255 образцов цельной крови¹. При контроле качества коллекции получены

средние значения показателей концентрации для гДНК, выделенной из цельной крови, >50 нг/мкл, A260/280 >1,8, DIN >9, что свидетельствует о высоком качестве собранных нами образцов. Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод, что образцы коллекции могут быть использованы для любых типов исследований в области молекулярной генетики.

Как и в случае гДНК, одним из показателей пригодности вкДНК является ее концентрация [16]. Для оценки концентрации вкДНК нами был выбран метод флуориметрии, поскольку он является оптимальным для данного типа анализов и обладает высокой точностью измерений [13]. Как правило, для проведения молекулярно-генетических исследований необходимо не <1 нг вкДНК [13], все протестированные нами образцы соответствуют этому требованию, что указывает на их хорошее качество.

В настоящее время наибольшее распространение для оценки целостности РНК получил метод определения индекса RIN: образцы РНК со значениями RIN ≥7 считаются интактными, следовательно, имеют высокое качество и пригодны для применения различных методов оценки экспрессии генов (чипы, полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией, микрочипы микроРНК, секвенирование РНК). Значения RIN от 5 до 7 указывают на небольшую деградацию РНК, <4 — на высокий уровень деградации РНК, такие образцы подходят для исследования микроРНК или экспрессии определенного гена [14]. Важно отметить, что концентрация и целостность РНК могут зависеть от типа исходного биоматериала [14, 17]. Однако лишь в единичных публикациях представлены данные об этих параметрах в биобанках. Например, в Tumor Biobanks (Бельгия) был проведен контроль качества препаратов РНК, выделенных из опухолевых тканей, образцы со значениями RIN ≥7, 1,8 ≤ A260/280 ≤2,1 были определены как пригодные для всех транскриптомных исследований [17]. Образцы, взятые нами для проверки качества РНК, также имели RIN ≥7 и 1,8 ≤ A260/280 ≤2,1, что свидетельствует о возможности их применения в дальнейшей работе.

Согласно экспериментальным исследованиям протеомные маркеры обладают разной стабильностью [18], поэтому выбор метода для оценки качества образцов во многом зависит от целей исследования. К одному из показателей качества биообразцов относится белковый профиль, который может быть оценен с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. В публикациях нет сведений об использовании этого метода для оценки качества образцов в биобанках, он не является специфичным для конкретного типа протеомных маркеров, однако может служить средством для предварительной оценки деградации белков в био-

¹ HUNT Extraction and concentration normalisation of DNA: NTNU. <https://www.ntnu.edu/hunt/hunt-dna-quality> (2 September 2023).

образце. В ходе проверки качества образцов сыворотки с разным сроком хранения нами не было обнаружено каких-либо изменений в их белковом профиле. Это косвенно свидетельствует об отсутствии деградации белков в образцах сыворотки крови, хранившихся при температуре -80°C в течение >4 лет.

Таким образом, результаты настоящей работы свидетельствуют о том, что образцы коллекции, вне зависимости от срока хранения обладают высоким качеством и могут быть использованы в различных типах исследований. Это было достигнуто благодаря регламентированию работ при создании коллекции: стандартизации всех проводимых процедур с биообразцами (сбор, обработка и хранение), своевременному техническому обслуживанию оборудования, обучению персонала, а также менеджменту качества. На данный момент отсутствуют международные и национальные рекомендации относительно периодичности проведения инвентаризации, т.к. во многом это зависит от индивидуальных характеристик и целей каждого биобанка. Основываясь на итогах проделанной работы, рекомендуем проводить инвентаризацию не реже одного раза в год или каждые 5000 образцов для исключения преаналитических ошибок при форми-

ровании коллекции. Полная и четкая база данных позволит ускорить процесс получения биообразцов с заданными параметрами для исследований, включая клиническую характеристику образцов.

Заключение

"Высокое качество" биообразцов является главным критерием оценки работы биобанка. Для его повышения необходимо выстраивать работу на основных принципах обеспечения качества, в т.ч. проводить контроль качества биообразцов и периодическую инвентаризацию биоресурсных коллекций.

Реализованный нами подход по оценке некоторых параметров образцов и проведенная инвентаризация "Коллекции биообразцов от беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров осложнений беременности" может стать важным элементом по продвижению биобанкирования как основной базовой стратегии в поддержании качества проводимых исследований и клинических испытаний.

Отношения и деятельность. Исследование поддержано грантом РФФИ № 19-75-20033. Часть работ выполнена на базе РЦ "Центр Биобанк" Научного парка СПбГУ.

Литература/References

1. 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.
2. Sivakova OV, Pokrovskaya MS, Efimova IA, et al. Quality control of serum and plasma samples for scientific research. *Profilakticheskaya Meditsina*. 2019;22(5):91-7. (In Russ.) Сивакова О.В., Покровская М.С., Ефимова И.А. и др. Контроль качества образцов сыворотки и плазмы крови для научных исследований. *Профилактическая медицина*. 2019;22(5): 91-7. doi:10.17116/profmed20192205191.
3. Chen WC, Kerr R, May A, et al. The Integrity and Yield of Genomic DNA Isolated from Whole Blood Following Long-Term Storage at -30°C . *Biopreserv Biobank*. 2018;16(2):106-13. doi:10.1089/bio.2017.0050.
4. Shah SG, Rashid M, Verma T, et al. Establishing a correlation between RIN and $A_{260/280}$ along with the multivariate evaluation of factors affecting the quality of RNA in cryopreserved cancer bio-specimen. *Cell Tissue Bank*. 2019;20(4):489-99. doi:10.1007/s10561-019-09782-7.
5. Meddeb R, Pisareva E, Thierry AR. Guidelines for the Pre-analytical Conditions for Analyzing Circulating Cell-Free DNA. *Clin Chem*. 2019;65(5):623-33. doi:10.1373/clinchem.2018.298323.
6. Pachulia OV, Illarionov RA, Vashukova ES, et al. Quality management of biosampling and data collection from women at different stages of pregnancy for the search for early biomarkers of preterm birth: predicting errors and risk management. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(8):3107. (In Russ.) Пачулия О.В., Илларионов Р.А., Вашукова Е.С. и др. Менеджмент качества сбора биообразцов и ассоциированных с ними данных у беременных на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров преждевременных родов: прогнозирование ошибок и управление рисками. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021;20(8):3107. doi:10.15829/1728-8800-2021-3107.
7. Pachulia OV, Illarionov RA, Vashukova ES, et al. Bioresource collection of biosamples from pregnant women at different gestational ages for the search for early biomarkers of pregnancy complications and potential for its use in research. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3399. (In Russ.) Пачулия О.В., Илларионов Р.А., Вашукова Е.С. и др. Характеристика биоресурсной коллекции биообразцов от беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров осложнений беременности и перспективы ее научного использования. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3399. doi:10.15829/1728-8800-2022-3399.
8. Illarionov RA, Kosyakova OV, Vashukova ES, et al. Collection of samples from women at different stages of pregnancy to search for early biomarkers of preterm birth. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(6):2708. (In Russ.) Илларионов Р.А., Косякова О.В., Вашукова Е.С. и др. Особенности создания коллекции образцов беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров преждевременных родов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(6):2708. doi:10.15829/1728-8800-2020-2708.
9. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215. doi:10.1093/nar/16.3.1215.
10. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227(5259):680-5. doi:10.1038/227680a0.
11. Tang R, Han C, Yin R, et al. Quality Control of DNA Extracted from All-Cell Pellets After Cryopreservation for More Than 10 Years. *Biopreserv Biobank*. 2022;20(3):211-6. doi:10.1089/bio.2021.0052.

12. Dong L, Yoshizawa J, Li X. Nucleic Acid Isolation and Quality Control. *Methods Mol Biol.* 2019;1897:325-43. doi:10.1007/978-1-4939-8935-5_28.
13. Esteve-Socias M, Artiga MJ, Bahamonde O, et al. In search of an evidence-based strategy for quality assessment of human tissue samples: report of the tissue Biospecimen Research Working Group of the Spanish Biobank Network. *J Transl Med.* 2019;17(1):370. doi:10.1186/s12967-019-2124-8.
14. Liu Y, Gao H, Hu Y, Ding J, Ge M, Ye Q. Quality Control System in an Obstetrics and Gynecology Disease Biobank. *Biopreserv Biobank.* 2019;17(1):27-38. doi:10.1089/bio.2018.0056.
15. Brisco MJ, Latham S, Bartley PA, Morley AA. Incorporation of measurement of DNA integrity into qPCR assays. *Biotechniques.* 2010;49(6):893-7. doi:10.2144/000113567.
16. Kondratskaya VA, Pokrovskaya MS, Doludin YuV, et al. Influence of preanalytical variables on the quality of cell-free DNA. *Biobanking of cell-free DNA material. Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2021;20(8):3114. (In Russ.) Кондрацкая В.А., Покровская М.С., Долудин Ю.В. и др. Влияние преаналитических переменных на качество внеклеточной ДНК. Биобанкирование материала для выделения внеклеточной ДНК. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(8):3114. doi:10.15829/1728-8800-2021-3114.
17. Craciun L, Spinette SA, Rassy M, et al. Tumor Banks: A Quality Control Scheme Proposal. *Front Med (Lausanne).* 2019;6:225. doi:10.3389/fmed.2019.00225.
18. Shen Q, Björkesten J, Galli J, et al. Strong impact on plasma protein profiles by precentrifugation delay but not by repeated freeze-thaw cycles, as analyzed using multiplex proximity extension assays. *Clin Chem Lab Med.* 2018;56(4):582-94. doi:10.1515/cclm-2017-0648.

Биобанкирование в стационаре многопрофильного научного медицинского центра как потенциал для широкого спектра научных исследований. Часть I. Организационно-методические аспекты

Борисова А. Л., Копылова О. В., Покровская М. С., Ефимова И. А., Пустеленин А. В., Ершова А. И., Драпкина О. М.

ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России. Москва, Россия

Цель. Разработка алгоритма и организация сплошного биобанкирования образцов цельной крови, сыворотки и плазмы крови пациентов стационара ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России для создания подробно аннотированной, благодаря интеграции электронных историй болезни и базы данных биобанка, коллекции биообразцов.

Материал и методы. В исследование включаются все пациенты, поступающие в стационар ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России в отделения разного профиля, подписавшие информированное согласие на биобанкирование. Клиническая информация собирается в рамках обследования пациентов и сохраняется в электронных историях болезни в медицинской информационной системе "МедиаЛог". Биобанкирование крови и ее производных осуществляется в соответствии со стандартными операционными процедурами. От каждого пациента в стандартных условиях сохраняется по 12 аликвот сыворотки и плазмы крови, а также 1 пробирка цельной крови с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (K_2 ЭДТА). Информация о биообразцах, идентификационные номера пациентов и координаты расположения в хранилище, содержатся в базе данных биобанка.

Результаты. Разработан и внедрен в практику алгоритм сплошного биобанкирования биоматериала и данных стационарных пациентов. Коллекция, собираемая по данному алгоритму в течение 10 мес. и по настоящее время, связана с большими биомедицинскими данными, хранящимися в медицинской информационной системе, лабораторной информационной системе и биобанке. Объединенные базы данных позволяют вести поиск образцов в коллекции по заданным критериям.

Заключение. Создаваемая по разработанному алгоритму коллекция подробно аннотированных биообразцов может быть ис-

пользована для широкого спектра научных исследований путем формирования выборок пациентов по необходимым критериям. Разработанный алгоритм сплошного биобанкирования в стационаре может быть использован в различных медицинских центрах, оснащенных биобанками.

Ключевые слова: биобанк, биобанкирование, биообразцы, большие данные, организация биобанкирования, база данных, информационные системы.

Отношения и деятельность. Работа проводилась в рамках государственного задания "Разработка интегрированных систем прогнозирования в персонализированной медицине" № 121021700364-1.

Поступила 26/09-2023

Рецензия получена 08/11-2023

Принята к публикации 22/11-2023



Для цитирования: Борисова А. Л., Копылова О. В., Покровская М. С., Ефимова И. А., Пустеленин А. В., Ершова А. И., Драпкина О. М. Биобанкирование в стационаре многопрофильного научного медицинского центра как потенциал для широкого спектра научных исследований. Часть I. Организационно-методические аспекты. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11): 3749. doi:10.15829/1728-8800-2023-3749. EDN BGDYIT

Biobanking in the hospital of a multidisciplinary research medical center as a potential for a wide research range. Part I. Organizational and methodological aspects

Borisova A. L., Kopylova O. V., Pokrovskaya M. S., Efimova I. A., Pustelenin A. V., Ershova A. I., Drapkina O. M.

National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine, Moscow, Russia

Aim. To develop an algorithm and manage total biobanking of samples of whole blood, serum and plasma of patients in the hospital of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive

Medicine in order to create a detailed biosample collection through the integration of electronic medical records and a biobank database.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: aborisova@gnicpm.ru

[Борисова А. Л.* — ведущий инженер лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0003-4020-6647, Копылова О. В. — с.н.с. лаборатории клиномики, врач-кардиолог, ORCID: 0000-0001-5397-5387, Покровская М. С. — к.б.н., в.н.с., руководитель лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0001-6985-7131, Ефимова И. А. — ведущий эксперт лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0002-3081-8415, Пустеленин А. В. — программист службы информационных технологий, ORCID: 0000-0003-3150-5194, Ершова А. И. — д.м.н., руководитель лаборатории клиномики, ORCID: 0000-0001-7989-0760, Драпкина О. М. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430].

Material and methods. The study includes all patients admitted to the hospital of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine in various departments who signed informed consent for biobanking. Clinical information is collected as part of patient examination and stored in electronic medical records in the Medialog medical information system. Biobanking of blood and related products is carried out in accordance with standard operating procedures. From each patient, 12 aliquots of serum and blood plasma are stored, as well as 1 tube of whole blood with ethylenediaminetetraacetic acid potassium salt. Information about biospecimens, patient identification numbers and storage location coordinates are contained in the biobank database.

Results. An algorithm for total biobanking of biomaterial and data from inpatients has been developed and put into practice. This collection is associated with large biomedical data stored in a medical information system, laboratory information system and biobank. The combined databases make it possible to search for samples in the collection according to specified criteria.

Conclusion. The collection developed can be used for a wide range of studies by forming patient samples according to the necessary criteria. The developed algorithm for total biobanking in a hospital can be used in various medical centers equipped with biobanks.

Keywords: biobank, biobanking, biosamples, big data, biobanking organization, database, information systems.

Relationships and Activities. The work was carried out within the state acknowledgement "Development of integrated prediction systems in personalized medicine" № 121021700364-1.

Borisova A. L.* ORCID: 0000-0003-4020-6647, Kopylova O. V. ORCID: 0000-0001-5397-5387, Pokrovskaya M. S. ORCID: 0000-0001-6985-7131, Efimova I. A. ORCID: 0000-0002-3081-8415, Pustelenin A. V. ORCID: 0000-0003-3150-5194, Ershova A. I. ORCID: 0000-0001-7989-0760, Drapkina O. M. ORCID: 0000-0002-4453-8430.

*Corresponding author:
aborisova@gnicpm.ru

Received: 26/09-2023

Revision Received: 08/11-2023

Accepted: 22/11-2023

For citation: Borisova A. L., Kopylova O. V., Pokrovskaya M. S., Efimova I. A., Pustelenin A. V., Ershova A. I., Drapkina O. M. Biobanking in the hospital of a multidisciplinary research medical center as a potential for a wide research range. Part I. Organizational and methodological aspects. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3749. doi:10.15829/1728-8800-2023-3749. EDN BGDYIT

БД — база данных, ИС — информированное согласие, МИС — медицинская информационная система, СОП — стандартная операционная процедура, К₂ЭДТА — калиевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты, ЭИБ — электронная история болезни, ID — идентификационный номер.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Ценность коллекций биообразцов в биобанках обусловлена связанными с ними биомедицинскими данными.
- Масштабные коллекции аннотированных биообразцов, собранные от пациентов многопрофильного стационара, могут быть использованы для широкого спектра научных исследований, благодаря возможности формировать выборки пациентов по необходимым критериям.

Что добавляют результаты исследования?

- Разработан алгоритм организации сбора высококачественных образцов цельной крови, сыворотки и плазмы крови пациентов многопрофильного стационара методом сплошного биобанкирования для создания коллекции биообразцов, подробно аннотированной, благодаря интеграции электронных историй болезни (клинические данные) и базы данных биобанка (данные о биообразцах).

Key messages

What is already known about the subject?

- The high significance of biospecimen collections in biobanks is due to the biomedical data associated with them.
- Large-scale collections of biosamples collected from patients in a multidisciplinary hospital can be used for a wide research range due to the ability to form samples according to the necessary criteria.

What might this study add?

- An algorithm has been developed for collecting high-quality samples of whole blood, serum and blood plasma from patients in a multidisciplinary hospital using the total biobanking method to create a collection of biospecimens, described in detail through the integration of electronic medical records (clinical data) and a biobank database (data on biospecimens).

Введение

Проведение крупномасштабных исследовательских проектов в области биомедицинских наук, связанных с использованием биоматериала, на сегодняшний день неразрывно связано с применением технологий биобанкирования. Они позволяют

обеспечить высокий уровень стандартизации пробоподготовки, четкое отслеживание всех условий транспортировки, долгосрочное ответственное хранение биообразцов, сопровождающееся мониторингом необходимой температуры и других параметров. Создание и использование коллекций био-

материала в биобанках в значительной степени повышает качество исследований и сокращает время их проведения.

Поиск новых биомаркеров различных заболеваний, в т.ч. генетических, требует исследования больших массивов данных. Перспективным в данном направлении является создание в биобанках многопрофильных научно-медицинских центров крупномасштабных коллекций биообразцов пациентов и объединение баз данных (БД) биобанка с электронными историями болезни (ЭИБ). Обеспечить масштабность сбора позволяет сведение к минимуму условий включения пациентов/участников в исследование. Примерами являются коллекции, формируемые по принципу места проживания участников: проект deCODE Genetics (Исландия), Qatar Biobank (Катар), UK Biobank (Великобритания), Estonian Biobank (Эстония); коллекции биобанков крупных клинических центров: биобанк клиники Mayo (США), биобанк Медицинского университета Грац (Австрия) [1-7].

В ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России накоплен большой опыт проведения различных видов исследований, предполагающих сбор, пробоподготовку и дальнейшее ответственное хранение биообразцов и ассоциированной с ними информации: эпидемиологических — от репрезентативной выборки населения РФ, клинических — направленных на изучение конкретных заболеваний, фундаментальных и прикладных научных проектов [8-11]. Одно из исследований было запланировано в рамках государственного задания "Разработка интегрированных систем прогнозирования в персонализированной медицине". Данная работа предполагает проведение сплошного биобанкирования крови и ее производных от всех пациентов стационарных отделений ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России и создание БД, объединяющей информацию по биообразцам, результаты опросников, заполненных пациентами, клинические и другие виды данных, имеющихся в ЭИБ пациентов [12, 13].

Реализация такого исследования потребовала решения следующих задач: разработка методологии и логистики процесса биобанкирования; разработка всех необходимых инструкций и стандартных операционных процедур (СОП); модернизация и оптимизация функций медицинской информационной системы (МИС) и ее связи с программным обеспечением биобанка; обучение всех исполнителей проекта.

Цель работы — разработка алгоритма и организация сплошного биобанкирования образцов цельной крови, сыворотки и плазмы крови пациентов стационара ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России для создания подробно аннотированной благодаря интеграции ЭИБ и БД биобанка коллекции биообразцов.

ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России

Амбулаторная карта № 20

ТАЛОН № 63 Пациент 7996

И/Ф 65 BER Телефон 8(495) 212-07-13

Дата рождения: 1959 Кабинет

Код услуги	Наименование услуги	Кол-во
БЮ	BER биобанкирование: пробирка с фиолетовой крышкой - 2 шт., пробирка с желтой крышкой 8 мл - 1 шт., пробирка с голубой крышкой - 1 шт.	1

Врач

2-й исполнитель

3-й исполнитель

Отделение

Код диагноза МКБ

Лаборатория "Банк биологического материала"

Регистратор

Дата выдачи талона 6 марта 2023 года

Биобанк

Рис. 1 Талон-направление на биобанкирование.

Материал и методы

В исследование включаются все пациенты, поступающие в стационар ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России в отделения разного профиля — терапевтическое, кардиологическое, неврологическое, отделение неотложной кардиологии, отделение рентгенхирургических методов диагностики и лечения, отделение хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции, отделение сосудистой хирургии, отделение медицинской реабилитации взрослых пациентов с соматическими заболеваниями, отделение реанимации и интенсивной терапии. Всем пациентам предлагается подписать информированное согласие (ИС) на биобанкирование образцов крови и ее производных с целью длительного хранения и использования их неограниченное время в научных целях, в т.ч. третьей стороной. Биобанкирование проводят только для пациентов, подписавших ИС. Клиническая информация собирается и сохраняется с помощью МИС "Медиалог", в которой персональные данные связаны с идентификационным номером (ID) пациента. Биобанкирование крови и ее производных осуществляется в лаборатории "Банк биологического материала" в соответствии с разработанными и утвержденными СОП. От каждого пациента сохраняются по 12 аликвот сыворотки и плазмы крови, а также 1 пробирка цельной крови с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (K_2 ЭДТА) (температура хранения $-72^\circ C$ и $-32^\circ C$, соответственно). Информация о биообразцах (дата получения, тип биоматериала, объем, особенности пробоподготовки), связанная с ID пациентов, а также координаты расположения образцов в хранилище, содержатся в БД биобанка на платформе FreezerPR O.

Процесс биобанкирования в Биобанке ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России соответствуют требованиям международных стандартов ISO 9001:2015 "Система менеджмента качества. Требования", ISO 20387:2018 "Биотехнологии. Биобанкинг. Общие требования". В разработке и оптимизации алгоритмов сплошного биобанкирования принимали участие научные сотрудники, программисты, юристы и члены независимого этического комитета ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России.

Результаты и обсуждение

Для выполнения исследования необходимо было организовать процесс биобанкирования образцов крови и ее производных от всех пациентов, поступающих в стационар ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России, создать алгоритм действий на всех этапах.



Рис. 2 Комплект пробирок для получения образцов крови от одного пациента.

Подготовительные работы для реализации сплошного биобанкирования

Чтобы провести биобанкирование, необходимо подписать документы, позволяющие соблюсти этико-правовые нормы и требования и только тогда включать каждого пациента в исследовательский проект [14, 15]. Ключевой документ, обеспечивающий возможность использования биоматериала и ассоциированных с ним данных в текущих и будущих научных исследованиях — подписанное пациентом добровольное ИС. При планировании исследования разработанная форма ИС была согласована с юридическим отделом ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России и утверждена локальным Этическим комитетом. ИС в рамках сплошного биобанкирования содержит информацию о целях и задачах биобанкирования, пункты о добровольности предоставления биоматериала только для научно-исследовательских и образовательных целей неограниченное время, в т.ч. третьей стороне, и обязательствах организации по хранению всех данных пациентов в условиях соблюдения конфиденциальности. Для МИС "Медиалог", применяемой в ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России, программистами была разработана дополнительная опция автоматического формирования ИС при регистрации каждого пациента для подписания в приемном отделении.

Создание коллекции крови и ее производных в биобанке представляет собой последовательное регламентированное выполнение этапов взятия крови в пробирки-вакутейнеры, их транспортировки в лабораторию биобанка, регистрации поступивших в биобанк пробирок и сопроводительной документации, центрифугирования (пробоподго-

товки), создания таблицы соответствия уникального ID пациента и штрих-кодов криопробирок для автоматического аликвотирования сыворотки и плазмы крови, аликвотирования, замораживания полученных биообразцов и внесения ассоциированной с ними информации в БД биобанка: ID пациента, дата получения, вид биоматериала, объем образца, особенности пробоподготовки, координаты расположения каждой аликвоты в хранилище.

С учетом ожидаемого высокого потока пациентов (в среднем 32 человека в день) и потребности в оптимизации площадей хранения (использование криопробирок объемом 1 мл с узким горлом), а также для обеспечения стандартизации этапа аликвотирования биоматериала, в рамках подготовки к проведению исследования ранее была проведена работа по разработке и валидации метода автоматизированного аликвотирования на приборе Tecan Freedom Evo [12].

Разработано программное обеспечение, объединяющее БД о пациентах, формирующуюся в МИС "Медиалог" при заполнении ЭИБ, и БД биобанка с подробной информацией о биообразцах (результат интеллектуальной деятельности "Программное обеспечение для обмена данными между медицинской информационной системой и биобанком", свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023666507).

Создан и детализирован алгоритм действий всех сотрудников, вовлеченных в реализацию проекта. С целью стандартизации процесса сплошного биобанкирования была разработана СОП, которая содержит подробное описание всех этапов биобанкирования: от включения пациента в проект и его регистрации в МИС до описания правил и условий обработки полученного биоматериала и внесения ассоциированных с ним данных в БД биобанка.

Проведено обучение исполнителей проекта: серия инструктажей с использованием разработанных СОП и учебных материалов (презентации) для врачей и процедурных медсестер стационарных отделений.

Алгоритм сплошного биобанкирования

Этап 1. В приемном отделении

В соответствии с реализацией разработанного плана процесса сплошного биобанкирования на первом этапе в приемном отделении ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России проходит процедура подписания пациентом ИС. Специально обученный медицинский сотрудник приемного отделения, входящий в команду проекта, рассказывает пациенту о целях исследования, предоставляет бланки ИС для подписания и отвечает на все возникающие у пациента вопросы. В случае подписания ИС пациент становится участником проекта, в случае отказа пациента биобанкирование его образцов крови не осуществляется.



Рис. 3 Блок-схема сплошного биобанкирования.

Примечание: БД — база данных, ИС — информированное согласие, МИС — медицинская информационная система.

Этап 2. В отделении стационара

На следующем этапе ответственный медицинский сотрудник в конце рабочего дня анализирует в МИС "Медиалог" список поступивших в отделение пациентов, проверяет факт наличия подписанного ИС на биобанкирование, уточняет, не был ли кто-то из пациентов включен в исследование ранее; согласно полученному итоговому списку пациентов формирует на каждого поступившего и подписавшего ИС комплект, включающий талоны-направления на процедуру взятия крови для биобанкирования и набор необходимых для этого пробирок (рисунок 1). Талон на проведение биобанкирования содержит следующую информацию: ID пациента и его дату рождения, номер его медицинской карты и номер талона, тип и количество первичных пробирок-вакутейнеров для взятия крови, фамилия, имя, отчество исполнителей процедур и дату оформления талона. Общий объем крови от одного человека составляет 20,5 мл и включает взятие в следующие пробирки-вакутейнеры: 2 пробирки по 4 мл с K_2EDTA с сиреневой крышкой для получения образцов цельной крови для генетических исследований и образцов плазмы; 1 пробирку с желтой крышкой объемом 8 мл для получения образцов сыворотки и 1 пробирку с голубой крышкой объемом 4,5 мл с цитратом натрия для получения образцов плазмы.

Присвоение ID каждому участнику исследования происходит при регистрации пациента в МИС "Медиалог", этот номер отображается в талоне-направлении на биобанкирование. Именно под этим ID для обеспечения деперсонализации биообразцы регистрируются впоследствии в БД биобанка. Дополнительно там же фиксируется номер

талона на биобанкирование для привязки конкретных биообразцов к конкретному визиту пациента.

Врач, ответственный за биобанкирование, передает процедурной медсестре в отдельном файле полный пакет документов для одного пациента (талон-направление на биобанкирование и ИС), а также подготовленные маркированные ID пробирки-вакутейнеры. На рисунке 2 отражен комплект пробирок на одного пациента.

Этап 3. В процедурном кабинете

На следующее утро процедурная медсестра осуществляет забор крови согласно оформленным накануне документам. Забор крови проводится натощак, выполняется при помощи вакуумной системы, чаще всего совместно с забором крови для проведения плановых анализов (т.е. в большинстве случаев дополнительной венепункции не требуется).

Этап 4. В биобанке

После взятия крови в процедурном кабинете стационарного отделения пробирки доставляют в течение не >30 мин в лабораторию биобанка. В рамках пробоподготовки проводят центрифугирование крови в течение 15 мин при 1200 g, затем сразу алиquotируют сыворотку и плазму крови в соответствующие криопробирки. Программное обеспечение робота-алиquotера Tecan Freedom Evo позволяет в автоматическом режиме связать ID с первичных пробирок-вакутейнеров, тип биоматериала и штрих-коды криопробирок, подготовленных для алиquotирования сыворотки и плазмы крови и расставленных по запрограммированной схеме.

В соответствии с разработанным дизайном исследования из первичных пробирок с биоматериалом

териалом от одного пациента на автоматическом роботе-аликвотере получают аликвоты сыворотки (6 криопробирок по 500 мкл), плазмы с K_2 ЭДТА (3 криопробирки по 500 мкл) и плазмы с цитратом натрия (3 криопробирки по 500 мкл). Сыворотку и плазму крови сразу после аликвотирования замораживают и хранят при температуре -72°C . Цельную кровь замораживают после регистрации и хранят при температуре -32°C [16].

Каждая криопробирка с биоматериалом своим уникальным штрихкодом связана с информацией о биообразце (тип, объем и др.) и с ID пациента в БД биобанка на платформе программы FreezerPR O. Благодаря разработанному "Программному обеспечению для обмена данными между медицинской информационной системой и биобанком" при работе с ЭИБ в МИС исследователи могут получать доступ к информации о хранящихся в биобанке образцах, необходимых для запланированных исследований. Необходимо отметить, что сотрудники биобанка не имеют доступа к персональным данным пациентов.

Этапность выполнения сплошного биобанкирования представлена в блок-схеме (рисунок 3).

Биобанк ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России осуществляет сбор образцов и данных в рамках сотрудничества с различными научными подразделениями центра [8]. Общее число исследовательских проектов, коллекции биообразцов которых хранятся в Биобанке, составляет 51, при этом в настоящее время сбор биоматериала ведется по 18 текущим проектам. Так, по проекту "Интересные случаи" с 2016г в центре собирали коллекцию биообразцов по разработанным критериям включения (17 групп). Поиск потенциальных участников исследования научные сотрудники и врачи проводили путем изучения историй болезни всех госпитализированных пациентов, что требовало значительных временных затрат. Организация сплошного биобанкирования позволила сократить и оптимизировать биобанкирование в рамках этого и ряда других проектов, обеспечив оптимизацию ресурсов как материально-технических, так и временных.

Практика сбора биологических образцов сплошным методом и формирование масштабных баз дан-

ных, так называемых, больших данных, в научно-клинических центрах пока не имеет широкого распространения ввиду потребности в значительных финансовых затратах, связанных в т.ч. с разработкой эффективных инструментов сбора, хранения, поиска и анализа данных, ассоциированных с биообразцами, однако имеет большой потенциал для исследований в области омиксных технологий, персонализированной медицины и разработки новых диагностических систем и биотехнологических продуктов [17-19].

Заключение

В результате проведенной работы разработан и внедрен в практику алгоритм сплошного биобанкирования биоматериала и данных стационарных пациентов, согласно которому в настоящее время ведется сбор коллекции образцов цельной крови, сыворотки и плазмы в ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России. Ценность биообразцов обусловлена связанными с ними обширными биомедицинскими данными. Создано специальное "Программное обеспечение для обмена данными между медицинской информационной системой и биобанком", объединяющее БД МИС "Медиалог", лабораторной информационной системы и биобанка, благодаря чему в рамках сплошного биобанкирования формируется масштабная коллекция подробно аннотированных биообразцов, интегрированная с ЭИБ, включающими широкий набор данных о пациенте (клинических, инструментальных, лабораторных, социально-демографических). Создаваемая коллекция биообразцов может быть использована для широкого спектра различных научных исследований, давая возможность формировать выборки пациентов по необходимым критериям, реализовывать сотрудничество с внешними научно-исследовательскими организациями. Разработанный алгоритм сплошного биобанкирования в стационаре может быть использован в различных медицинских центрах, оснащенных биобанками.

Отношения и деятельность. Работа проводилась в рамках государственного задания "Разработка интегрированных систем прогнозирования в персонализированной медицине" № 121021700364-1.

Литература/References

- Swede H, Stone C, Norwood A. National population-based biobanks for genetic research. *Genet Med*. 2007;9:141-9. doi:10.1097/GIM.0b013e3180330039.
- Al Kuwari H, Al Thani A, Al Marri A, et al. The Qatar Biobank: background and methods. *BMC Public Health*. 2015;15:1208. doi:10.1186/s12889-015-2522-7.
- Al Thani A, Fthenou E, Paparrodopoulos S, et al. Qatar Biobank Cohort Study: Study Design and First Results. *Am J Epidemiol*. 2019;188(8):1420-33. doi:10.1093/aje/kwz084.
- Sudlow C, Gallacher J, Allen N, et al. UK biobank: an open access resource for identifying the causes of a wide range of complex diseases of middle and old age. *PLoS Med*. 2015;31;12(3):e1001779. doi:10.1371/journal.pmed.1001779.
- Leitsalu L, Haller T, Esko T, et al. Cohort Profile: Estonian Biobank of the Estonian Genome Center, University of Tartu. *Int J Epidemiol*. 2015;44(4):1137-47. doi:10.1093/ije/dyt268.
- McDavid A, Crane PK, Newton KM, et al. Enhancing the power of genetic association studies through the use of silver standard cases derived from electronic medical records. *PLoS One*. 2013;10(8):e63481. doi:10.1371/journal.pone.0063481.
- Macheiner T, Huppertz B, Sargsyan K. Biobanking. Nachhaltige Nutzung biologischer Ressourcen am Beispiel der Biobank Graz

- [Biobanking. Sustainable use of biological resources on the example of the Biobank Graz]. *Pathologie*. 2013;34(4):366-9. German. doi:10.1007/s00292-013-1752-7.
8. 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 biosamples, 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.
 9. Drapkina OM, Shalnova SA, Imaeva AE, et al. Epidemiology of cardiovascular diseases in regions of Russian Federation. Third survey (ESSE-RF-3). Rationale and study design. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(5):3246. (In Russ.) Драпкина О.М., Шальнова С.А., Имаева А.Э и др. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации. Третье исследование (ЭССЕ-РФ3). Обоснование и дизайн исследования. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(5):3246. doi:10.15829/1728-8800-2022-3246.
 10. Pokrovskaya MS, Borisova AL, Metelskaya VA, et al. Role of biobanking in managing large-scale epidemiological studies. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(5):2958. (In Russ.) Покровская М.С., Борисова А.Л., Метельская В.А. и др. Роль биобанкирования в организации крупномасштабных эпидемиологических исследований. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021;20(5):2958. doi:10.15829/1728-8800-2021-2958.
 11. Pokrovskaya MS, Sivakova OV, Meshkov AN, et al. Organization of biobanking of biological samples within the second stage of epidemiological study of cardiovascular risk factors and diseases in the regions of the Russian Federation (ESSE-RF2). *Profilakticheskaya medicina*. 2018;21(2-2):44-5. (In Russ.) Покровская М.С., Сивакова О.В., Мешков А.Н. и др. Организация биобанкирования биообразцов в рамках второго этапа эпидемиологического исследования сердечно-сосудистых факторов риска и заболеваний в регионах Российской Федерации (ЭССЕ-РФ2). *Профилактическая медицина*. 2018;21(2-2):44-5.
 12. Pokrovskaya MS, Borisova AL, Kondratskaya VA, et al. Approaches to automation of the preanalytical phase of large-scale research in the biobank of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Health of Russia. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3404. (In Russ.) Покровская М.С., Борисова А.Л., Кондрацкая В.А. и др. Подходы к автоматизации преаналитического этапа крупномасштабных научных исследований в биобанке ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3404. doi:10.15829/1728-8800-2022-3404.
 13. Kopylova OV, Ershova AI, Efimova IA, et al. Electronic medical records and biobanking. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3425. (In Russ.) Копылова О.В., Ершова А.И., Ефимова И.А. и др. Электронные истории болезни и биобанкирование. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3425. doi:10.15829/1728-8800-2022-3425.
 14. Bryzgalina EV, Glotov AS. Ethical aspects of biobanking. In: *Biobanking. National guidelines*. Moscow: Triumph, 2022. p. 132-153. (In Russ.) Брызгалина Е.В., Глотов А.С. Этические аспекты работы биобанка. В кн.: *Биобанкирование. Национальное руководство*. Москва: ООО "Издательство ТРИУМФ", 2022. с. 132-153. ISBN 978-5-93673-322-2.
 15. Bledsoe MJ. Ethical Legal and Social Issues of Biobanking: Past, Present, and Future. *Biopreserv Biobank*. 2017;15(2):142-7. doi:10.1089/bio.2017.0030.
 16. Pokrovskaya MS, Kondratskaya VA, Efimova IA. Features of biobanking and quality control of biological fluid samples. Blood, serum, plasma. In: *Biobanking. National guidelines*. Moscow: Triumph, 2022. p. 185-207. (In Russ.) Покровская М.С., Кондрацкая В.А., Ефимова И.А. Особенности биобанкирования и контроля качества образцов биологических жидкостей. Кровь, сыворотка, плазма. В кн.: *Биобанкирование. Национальное руководство*. Москва: ООО "Издательство ТРИУМФ", 2022. С. 185-207. ISBN: 978-5-93673-322-2.
 17. Mooser V, Currat C. The Lausanne Institutional Biobank: a new resource to catalyse research in personalised medicine and pharmaceutical sciences. *Swiss Med Wkly*. 2014;4(144):w14033. doi:10.4414/smw.2014.14033.
 18. Bernasconi L, Şen S, Angerame L, et al. Legal and ethical framework for global health information and biospecimen exchange — an international perspective. *BMC Med Ethics*. 2020;21(1):8. doi:10.1186/s12910-020-0448-9.
 19. Lecaros JA. Biobanks for Biomedical Research: Evolution and Future. In: Valdés E, Lecaros JA (eds). *Handbook of Bioethical Decisions*. 2023;Vol.I. Collaborative Bioethics, vol 2. Springer, Cham. doi:10.1007/978-3-031-29451-8_17.

Биобанкирование в стационаре многопрофильного научного медицинского центра как потенциал для широкого спектра научных исследований. Часть II. Особенности и первые результаты формирования аннотированной коллекции биоматериала

Копылова О.В.¹, Ершова А.И.¹, Покровская М.С.¹, Мешков А.Н.¹, Борисова А.А.¹, Ефимова И.А.¹, Серебрянская З.З.¹, Пустеленин А.В.¹, Юзьков Ю.В.², Гарбузова Е.В.¹, Величко А.М.¹, Сайфутдинов Ф.Р.¹, Драпкина О.М.¹

¹ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России. Москва; ²ООО "СБС Контакт". Москва, Россия

В связи с развитием генетических и других видов исследований в сфере трансляционной медицины требуются коллекции, содержащие значительное количество биообразцов и большие массивы данных. Поскольку в процессе госпитализации чаще всего проводятся углубленное обследование пациентов, перспективным является создание коллекций, опирающихся на данные электронных историй болезни (ЭИБ). В связи с этим был инициирован проект "Сплошное биобанкирование в стационаре ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России", направленный на проведение сплошного биобанкирования крови и ее производных от пациентов стационарных отделений и создание единой системы, объединяющей информацию по биообразцам, клинические и другие виды данных, имеющихся в ЭИБ пациентов.

Цель. Описать коллекцию биообразцов, собранных в рамках научного проекта "Сплошное биобанкирование в стационаре ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России" на август 2023г, и проанализировать особенности создания обширной аннотации биообразцов пациентов в рамках данного проекта.

Материал и методы. Набор пациентов осуществляется на базе стационарных отделений ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России, только в случае подписания пациентом информированного согласия. После взятия крови биоматериал поступает в биобанк, где проводится пробоподготовка, размещение на хранение сыворотки, плазмы, цельной крови и занесение данных о каждом биообразце в специальную систему менеджмента биообразцов биобанка "FreezerPRO". Одновременно с этим собираются клинические данные о пациенте в рамках ЭИБ, которые объединены в медицинской информационной системе "Медиалог".

Результаты. Разработано специальное "Программное обеспечение для обмена данными между медицинской информационной системой и биобанком", которое объединяет информацию о пациентах, поступающую в медицинскую информационную систему "Медиалог" при заполнении ЭИБ, и систему менеджмента биообразцов биобанка "FreezerPro", содержащую подробную инфор-

мацию о биообразцах. На 25 августа 2023г собран биоматериал 3996 пациентов, который сопровождается подробной клинической аннотацией. В частности, доступны данные об основном и сопутствующих диагнозах (для 100% пациентов), данные лабораторных анализов (100%), инструментальных методов обследования, в частности, электрокардиограммы (100%), эхокардиографии (76,8%), суточного мониторирования электрокардиограммы по Холтеру (59,8%), эзофагогастродуоденоскопии (27,3%) и др. Наиболее частыми нозологиями явились гипертоническая болезнь (76,0%), атеросклероз (69,9%), ишемическая болезнь сердца (52,9%), нарушения ритма сердца (50,6%), сахарный диабет (19,2%). У 25,0% пациентов в анамнезе стентирование артерий.

Заключение. Сплошное биобанкирование в рамках стационара многопрофильного научного медицинского центра позволяет оперативно и качественно осуществлять набор биоматериала и ассоциированных данных. Собрана коллекция биообразцов с разносторонней и подробной клинической аннотацией. Проведен первичный анализ состава коллекции, показано, что она может быть использована для широкого спектра научных исследований.

Ключевые слова: биобанк, биобанкирование, ассоциированные данные, электронные истории болезни, клиническая аннотация.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено в рамках государственного задания "Разработка интегрированных систем прогнозирования в персонализированной медицине" № 12102700364-1.

Поступила 18/10-2023

Рецензия получена 14/11-2023

Принята к публикации 22/11-2023



*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: sivoksana@yandex.ru

[Копылова О.В. — с.н.с., к.м.н., ORCID: 0000-0001-5397-5387, Ершова А.И. — д.м.н., зам. директора по фундаментальной науке, руководитель лаборатории клиномики, ORCID: 0000-0001-7989-0760, Покровская М.С. — к.б.н., руководитель лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0001-6985-7131, Мешков А.Н. — д.м.н., директор Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0001-5989-6233, Борисова А.А. — ведущий инженер лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0003-4020-6647, Ефимова И.А. — ведущий эксперт лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0002-3081-8415, Серебрянская З.З. — лаборант лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0002-8691-1395, Пустеленин А.В. — аналитик группы по анализу качества медицинской помощи, ORCID: 0000-0003-3150-5194, Юзьков Ю.В. — администратор баз данных, ORCID: 0009-0001-6943-6588, Гарбузова Е.В. — лаборант-исследователь лаборатории клиномики, ORCID: 0009-0002-3184-7573, Величко А.М. — врач-ординатор, ORCID: 0009-0006-1505-605X, Сайфутдинов Ф.Р. — врач-ординатор, ORCID: 0000-0002-6257-6529, Драпкина О.М. — д.м.н., профессор, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430].

Для цитирования: Копылова О.В., Ершова А.И., Покровская М.С., Мешков А.Н., Борисова А.Л., Ефимова И.А., Серебрянская З.З., Пустеленин А.В., Юзков Ю.В., Гарбузова Е.В., Величко А.М., Сайфутдинов Ф.Р., Драпкина О.М. 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

Данные о предыдущей публикации: Борисова А.Л., Копылова О.В., Покровская М.С., Ефимова И.А., Пустеленин А.В., Ершова А.И., Драпкина О.М. Биобанкирование в стационаре многопрофильного научного медицинского центра как потенциал для широкого спектра научных исследований. Часть I. Организационно-методические аспекты. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3749. doi:10.15829/1728-8800-2023-3749. EDN BGDYIT

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

Kopylova O. V.¹, Ershova A. I.¹, Pokrovskaya M. S.¹, Meshkov A. N.¹, Borisova A. L.¹, Efimova I. A.¹, Serebryanskaya Z. Z.¹, Pustelenin A. V.¹, Yuzkov Yu. V.², Garbuzova E. V.¹, Velichko A. M.¹, Sayfutdinov F. R.¹, Drapkina O. M.¹

¹National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow; ²ООО SBS Contact. Moscow, Russia

In connection with the development of genetic and other types of research in translational medicine, collections containing a significant number of biospecimens and large data sets are required. Since in-depth examination of patients is most often carried out during hospitalization, the creation of collections based on electronic medical records (EMR) data is promising. In this regard, the project "Total biobanking in the hospital of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine" was initiated, aimed at total biobanking of blood and related products from patients in inpatient departments and the creation of a unified system that combines information on biosamples, clinical and other types of data.

Aim. To describe the collection of biospecimens collected within the project "Total biobanking in the hospital of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine" for August 2023, and to analyze the process of biospecimen description.

Material and methods. Recruitment of patients is carried out on the basis of inpatient departments of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine, only if the patient signs informed consent. After blood is taken, the biomaterial enters the biobank, where sample preparation and storage is carried out, as well as data about each biosample is entered into a special FreezerPRO system. At the same time, clinical data about the patient is collected using EMR, which are combined in the Medialog medical information system.

Results. A special software for data exchange between the medical information system and the biobank has been developed, which combines information about patients entering the Medialog medical information system and the FreezerPro biospecimen management system, which contains detailed information about biospecimens. As of August 25, 2023, biomaterial from 3996 patients was collected, which was accompanied by a detailed clinical summary. In particular, data is available on diagnoses (for 100% of patients), laboratory test data (100%), paraclinical data, in particular, electrocardiography (100%), echocardiography (76,8%), 24-hour Holter monitoring (59,8%), esophagogastroduodenoscopy (27,3%), etc. The most common diseases were hypertension (76,0%), atherosclerosis (69,9%), coronary artery disease (52,9%), arrhythmias (50,6%), diabetes (19,2%). In addition, 25,0% of patients had prior stenting.

Conclusion. Total biobanking within the hospital of a multidisciplinary research medical center allows for the rapid and high-quality collection of biomaterial and related data. A collection of biospecimens with comprehensive and detailed clinical annotations has been collected.

A primary analysis of the collection was carried, which showed that it can be used for a wide range of studies.

Keywords: biobank, biobanking, associated data, electronic medical records, clinical abstract.

Relationships and Activities. The work was carried out within the state acknowledgement "Development of integrated prediction systems in personalized medicine" № 121021700364-1.

Kopylova O.V.* ORCID: 0000-0001-5397-5387, Ershova A.I. ORCID: 0000-0001-7989-0760, Pokrovskaya M.S. ORCID: 0000-0001-6985-7131, Meshkov A.N. ORCID: 0000-0001-5989-6233, Borisova A.L. ORCID: 0000-0003-4020-6647, Efimova I.A. ORCID: 0000-0002-3081-8415, Serebryanskaya Z.Z. ORCID: 0000-0002-8691-1395, Pustelenin A.V. ORCID: 0000-0003-3150-5194, Yuzkov Yu. V. ORCID: 0009-0001-6943-6588, Garbuzova E.V. ORCID: 0009-0002-3184-7573, Velichko A.M. ORCID: 0009-0006-1505-605X, Sayfutdinov F.R. ORCID: 0000-0002-6257-6529, Drapkina O.M. ORCID: 0000-0002-4453-8430.

*Corresponding author:

sivoksana@yandex.ru

Received: 18/10-2023

Revision Received: 14/11-2023

Accepted: 22/11-2023

For citation: Kopylova O.V., Ershova A.I., Pokrovskaya M.S., Meshkov A.N., Borisova A.L., Efimova I.A., Serebryanskaya Z.Z., Pustelenin A.V., Yuzkov Yu. V., Garbuzova E.V., Velichko A.M., Sayfutdinov F.R., Drapkina O.M. 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. doi:10.15829/1728-8800-2023-3799. EDN VFFYDN

Data about a previous publication: Borisova A.L., Kopylova O.V., Pokrovskaya M.S., Efimova I.A., Pustelenin A.V., Ershova A.I., Drapkina O.M. Biobanking in the hospital of a multidisciplinary research medical center as a potential for a wide research range. Part I. Organizational and methodological aspects. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3749. doi:10.15829/1728-8800-2023-3749. EDN BGDYIT

БД — база данных, ЛИС — лабораторная информационная система, МИС — медицинская информационная система, МКБ — международная классификация болезней, СМБ — система менеджмента биообразцов, ФВ ЛЖ — фракция выброса левого желудочка, ЭИБ — электронные истории болезни, eMERGE Network — The Electronic Medical Records and Genomics Network (Сеть электронных медицинских карт и геномики), GWAS — Genome-wide association studies (полногеномный поиск ассоциаций), ID — уникальный идентификационный номер, PGRM — phenotype-genotype reference map (референсная "фенотипически-генотипическая карта").

Ключевые моменты**Что известно о предмете исследования?**

- Организация масштабного качественного сбора биообразцов и данных является нетривиальной задачей и требует вовлечения большого количества ресурсов — финансовых, кадровых, организационных.
- Объединение информации из электронных историй болезни и данных о биообразцах, хранящихся в биобанке, является перспективным для создания обширных подробно аннотированных коллекций.

Что добавляют результаты исследования?

- Подход сплошного биобанкирования в рамках стационара многопрофильного научного медицинского центра позволяет оперативно и качественно осуществлять набор биоматериала и ассоциированных данных.
- Благодаря объединению данных электронных историй болезни и биобанка собираемая коллекция может быть использована для широкого спектра научных исследований, в т.ч. с применением омиксных технологий.

Key messages**What is already known about the subject?**

- Management of large-scale, high-quality collection of biospecimens and data is a sophisticated task and requires large number of financial, personnel and organizational resources.
- Combining information from electronic medical records and biospecimen data stored in a biobank holds promise for creating rich and well described collections.

What might this study add?

- Total biobanking within the hospital of a multidisciplinary research medical center allows for the rapid and high-quality collection of biomaterial and related data.
- By combining data from electronic medical records and a biobank, the collection can be used for a wide range of studies, including using omics technologies.

Введение

В настоящее время для обеспечения качества научных исследований все шире применяются технологии биобанкирования [1, 2]. Это необходимо для стандартизации и повышения воспроизводимости результатов научных исследований, связанных с биообразцами. Ценность биообразцов обусловлена прежде всего связанными с каждым образцом данными. Например, материал, полученный от пациента с очень редким заболеванием, имеет большую значимость, предоставляя возможности для дальнейшего изучения данной патологии. В то же время, если все имеющиеся о биообразце данные, в т.ч. диагноз пациента, неизвестны (например, были утеряны или незафиксированы при взятии биоматериала), хранение даже самых редких образцов практически теряет смысл (чаще всего биообразцы без сопутствующей информации подлежат утилизации). Ценность биообразцов от пациентов даже с довольно частыми заболеваниями возрастает по мере количества имеющихся сопряженных данных. В последние годы даже предлагается ввести новый термин "Биодатбанк" ("Biodatabank"), поскольку он более точно отражает суть работы и устройства современных биобанков¹.

В связи с этим важнейшим вопросом, который необходимо решить при сборе любой коллекции био-

материала, является обеспечение полноты и качества сопутствующих данных. Выделяют несколько основных видов данных, ассоциированных с биообразцами:

— Информация о биообразцах — время и способ забора, условия транспортировки, особенности пробоподготовки, температура и продолжительность хранения и т.п.;

— Клинические, социально-демографические и другие виды данных о человеке, от которого даный биообразец получен — пол, возраст, раса, диагноз, различные показатели лабораторных, инструментальных и других исследований;

— Данные, получаемые впоследствии уже в процессе хранения биообразца — при проведении научных исследований, например, при использовании части аликвот могут стать известны дополнительные данные о биомаркерах, в части работ также продолжается динамическое наблюдение за пациентами — появляются новые, в т.ч. проспективные данные [3].

Перспективным направлением в плане сбора большого количества достоверной и хорошо организованной информации является объединение данных биобанка, в которых хранится информация о биообразцах, и данных электронных историй болезни (ЭИБ), которые обычно хранятся в рамках медицинской информационной системы (МИС) учреждения [4]. ЭИБ представляют собой уникальный ресурс, в который, зачастую на протяжении длительного времени, стекается вся информация о здоровье пациента. Кроме того, данные продол-

¹ <https://www.centogene.com/about-us/biodatabank> (дата обращения 12.09.2023).

жают пополняться даже после забора биообразца, что позволяет проводить не только ретроспективный анализ, но и проспективное наблюдение.

Все больше исследовательских групп и консорциумов по всему миру обращают внимание на то, что объединение данных биобанка с ЭИБ предоставляет уникальные возможности, в т.ч. для проведения широкомасштабных исследований в области генетики, изучения фенотипических ассоциаций, а также имплементации результатов генетического анализа в реальную клиническую практику [5, 6]. Так, примером может служить биобанк Лозанны, в который поступают биообразцы из Университетского госпиталя [6]. С 2013г в данной больнице всем стационарным и амбулаторным пациентам предлагается сдать кровь для помещения ее в биобанк, а также, в случае исследования тканей по медицинским показаниям, берется согласие на биобанкирование тканей, остающихся после проведения основного клинического исследования. При этом пациентам предлагается подписать информированное согласие на широкое и неограниченное использование данных образцов, а также медицинской информации из ЭИБ в разнообразных научных исследованиях, включая анализ генома [6].

Подход объединения данных ЭИБ и биообразцов биобанка уже доказал свою научную и клиническую ценность в ряде исследований. В одном из медицинских центров Германии проанализированы истории болезни пациентов на предмет наличия фенотипа, схожего с фенотипом муковисцидоза. В результате этой работы были отобраны 400 человек, генетический анализ их биообразцов, хранящихся в биобанке, показал, что у 262 из них имеется муковисцидоз, который не был диагностирован ранее [7].

Известны также многоцентровые проекты, реализующие подобный подход. В 2007г был инициирован проект eMERGE Network (The Electronic Medical Records and Genomics Network, Сеть электронных медицинских карт и геномики) [8]. Основным фокусом проекта является объединение генетических данных, получаемых благодаря анализу биообразцов биобанков, и данных ЭИБ нескольких крупных медицинских центров США. С момента основания прошло несколько этапов данного проекта, в результате которых сеть eMERGE внесла значимый вклад в исследования в области клинической генетики, фенотипирования клинически значимых заболеваний, клинического аннотирования, возврата результатов генетических исследований в медицинскую практику и оценку клинических исходов. Интеграция данных позволяет разрабатывать шкалы генетического риска, изучать фенотипические и генотипические ассоциации, проводить исследования в сфере фармакогеномики, изучать особенности имплементации генетических данных в ЭИБ и многое другое [8].

Организация масштабного качественного сбора биообразцов и связанных с ними данных является нетривиальной задачей и требует вовлечения большого количества ресурсов — финансовых, кадровых, организационных. В ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России) инициирован проект "Сплошное биобанкирование в стационаре ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России", реализация которого стала возможной благодаря наличию Биобанка и применения технологии биобанкирования. Подробности организации процесса сплошного биобанкирования описаны в первой части настоящей статьи [9]. После планирования и проведения организационных мероприятий 8 ноября 2022г состоялся старт проекта, сбор биоматериала в настоящий момент продолжается. Целью настоящей статьи является описание коллекции биообразцов, собранных в рамках научного проекта "Сплошное биобанкирование в стационаре ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России" на август 2023г, и анализ особенностей создания обширной аннотации биообразцов пациентов в рамках данного проекта.

Материал и методы

Проект одобрен на заседании Независимого этического комитета при ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России. Набор пациентов проводится сплошным методом на базе стационара ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России. Критериями включения в исследование явились госпитализация в одно из следующих отделений стационара: терапевтическое, кардиологическое, неврологическое, отделение неотложной кардиологии, отделение рентгенохирургических методов диагностики и лечения, отделение хирургического лечения сложных нарушений ритма сердца и электрокардиостимуляции, отделение реанимации и интенсивной терапии. Критерии невключения: 1) госпитализация в отделение сосудистой хирургии, 2) отказ пациента от подписания информированного согласия и участия в исследовании. Подписание информированного согласия на биобанкирование осуществляется в приемном отделении. Содержание информированного согласия одобрено Независимым этическим комитетом и включает информацию о возможности длительного хранения биоматериала в деперсонализированном виде и возможность его использования для будущих научных исследований, в т.ч. изучения генома. В случае, если пациент отказывается от участия в проекте, биобанкирование не осуществляется.

Каждому пациенту автоматически в МИС "Медиа-лог" присваивается уникальный идентификационный номер (ID) пациента. Далее сотрудник соответствующего отделения стационара формирует пакет документов (направление-талон на биобанкирование, информированное согласие, набор пробирок для взятия крови) на каждого пациента. Во время пребывания в стационаре (чаще всего на следующее утро) процедурная медсестра

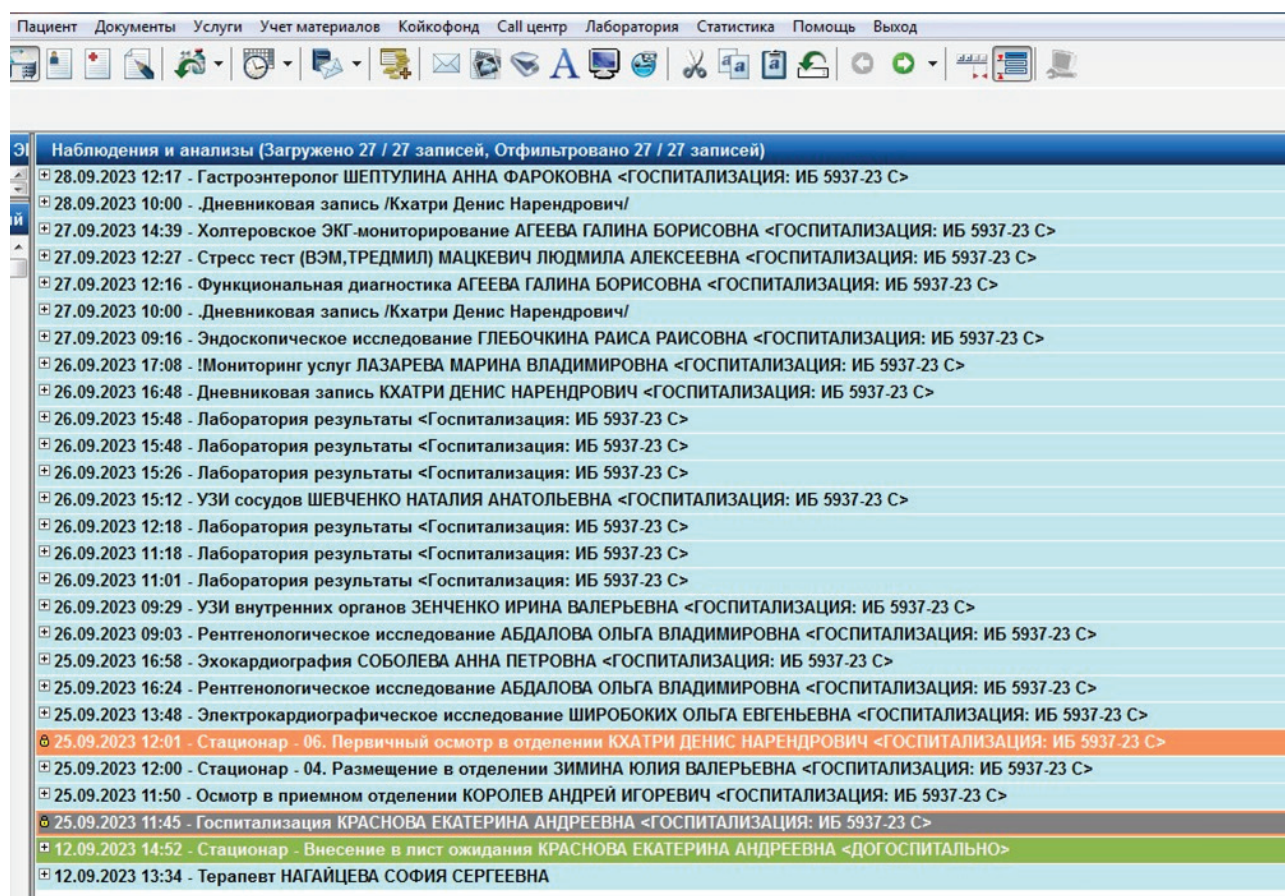


Рис. 1 Визуальный интерфейс МИС "Медиалог", содержащей информацию ЭИБ.

Примечание: МИС — медицинская информационная система, ЭИБ — электронные истории болезни.

осуществляет забор крови на биобанкирование (чаще всего совместно с другими запланированными анализами, отдельной венепункции не требуется). После этого сотрудник биобанка осуществляет транспортировку (в пределах учреждения), проводит пробоподготовку и размещение биообразцов на ответственное хранение в биобанк ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России, в т.ч. введение деперсонализированной (с использованием ID пациента) информации в специализированную систему менеджмента биообразцов (СМБ) "FreezerPRO". На каждого пациента стандартно сохраняется 6 аликвот сыворотки (по 500 мкл), 3 аликвоты плазмы с калиевой солью этилендиаминтетраацетата (K_2 ЭДТА) (по 500 мкл) и 3 аликвоты плазмы с цитратом натрия (по 500 мкл), 1 образец цельной крови. Более подробно весь алгоритм биобанкирования отражен в первой части настоящей статьи [9].

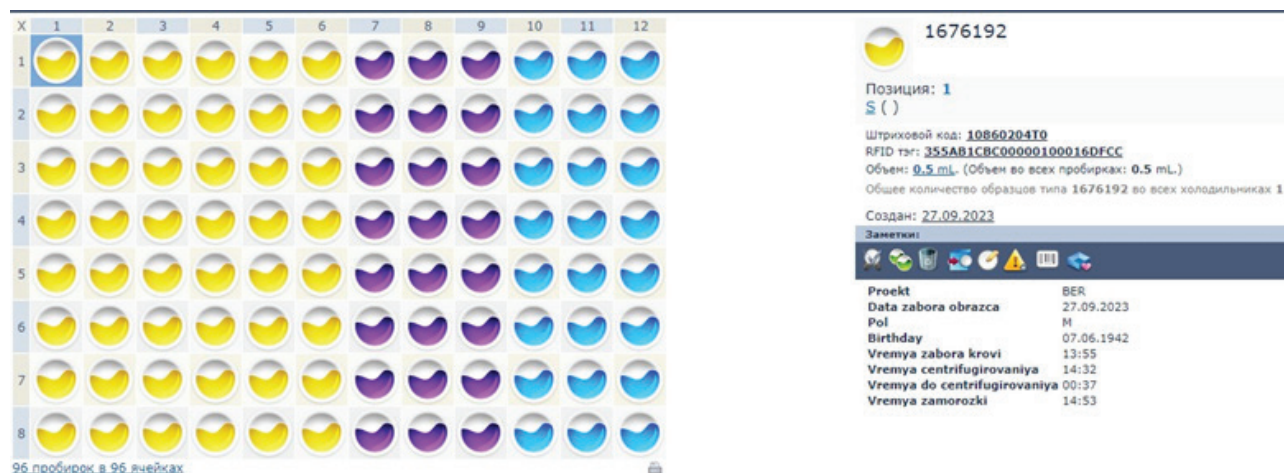
Сбор данных, составляющих аннотацию биообразцов, проводится при заполнении ЭИБ медицинским персоналом (например, данные физикального осмотра, анамнеза, эхокардиографии и т.п.). Лабораторные исследования, которые проводятся пациенту в рамках госпитализации, поступают в ЭИБ автоматически — непосредственно с анализаторов данные попадают в лабораторную информационную систему (ЛИС), а оттуда по специально разработанному программному интерфейсу автоматически передаются в МИС "Медиалог".

Анализ данных произведен на 25 августа 2023г, т.е. по прошествии 10 мес. от начала активной фазы проекта.

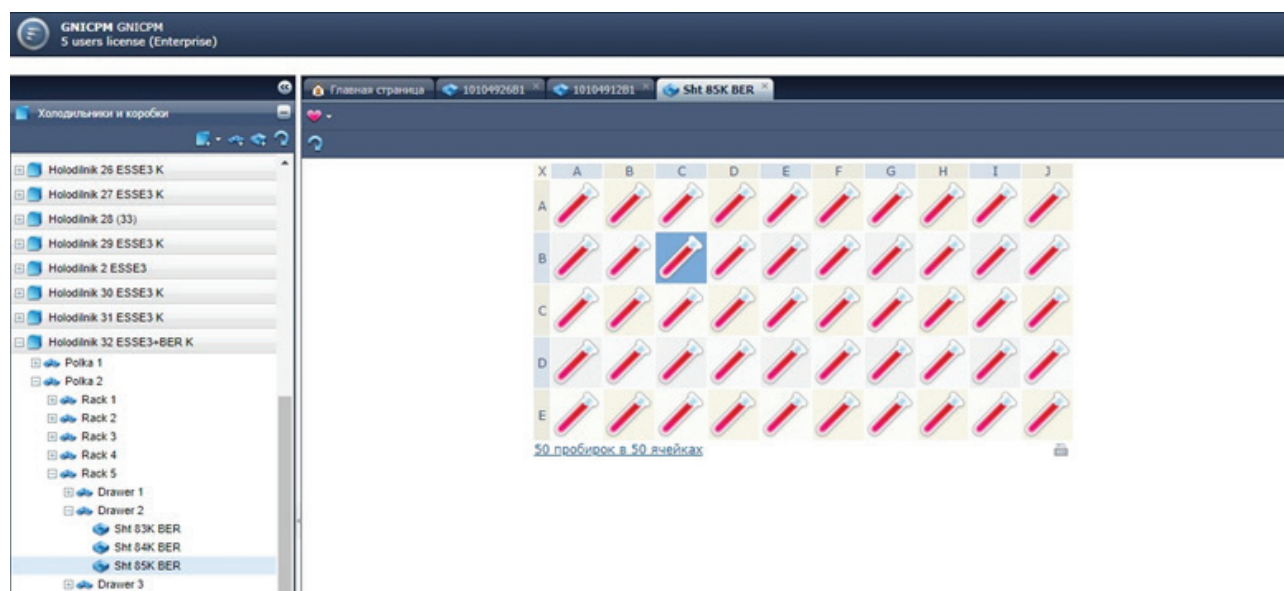
Статистическая обработка выполнена при помощи статистического пакета программ "Statistica 10.0". Данные представлены в виде абсолютных значений, процентных долей. Непрерывные показатели представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$).

Результаты и обсуждение

Благодаря сотрудничеству специалистов по информационным технологиям, биобанка, клиницистов и научных кадров было разработано специальное программное обеспечение (результат интеллектуальной деятельности "Программное обеспечение для обмена данными между медицинской информационной системой и биобанком", свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023666507), которое объединяет данные о пациентах, формирующихся в МИС "Медиалог" при заполнении ЭИБ, и информацию о биообразцах, хранящуюся в СМБ "FreezerPro". Отметим, что созданная платформа обмена цифровыми данными необходима для работы исследователей-кураторов данного проекта для создания выборок пациентов по интересующим критериям и проведения научных работ с использованием биообразцов из биобанка.



А



Б

Рис. 2 Интерфейс СМБ "FreezerPRO" биобанка: А) описание каждого биообразца (желтый цвет (S) — сыворотка объемом 500 мкл, фиолетовый цвет — плазма с этилендиаминтетраацетатом объемом 500 мкл, голубой цвет — плазма с цитратом натрия объемом 500 мкл); Б) отображение точного местоположения каждого биообразца.

Примечание: СМБ — система менеджмента биообразцов. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

Для обеспечения информационной безопасности и защиты данных платформа использует разграничение доступа к информации на уровнях доменной архитектуры, ролевой модели пользователей, а также средствами серверных систем управления базами данных (БД), хранящих информацию ЭИБ, лабораторных исследований и биообразцов. За счет использования децентрализованной модели хранения данных (МИС, ЛИС и БД биообразцов хранят информацию на разных серверах и системах управления БД) доступ к единому информационному массиву возможен только в соответствии с правами и ролями пользователей в системе и в объеме информации и данных, отведенных для роли. Предусмотрены следующие роли: врач стационарного отделения, сотрудник биобанка, сотрудник лаборатории, исследователь-куратор.

Все клинические, антропометрические, лабораторно-инструментальные, социально-демографические и другие виды данных о пациенте поступают в МИС "Медиалог". Визуальный интерфейс одной из страниц системы (рабочего стола врача в карте пациента) представлен на рисунке 1. Данные всех обследований, манипуляций, консультаций и других действий, касающихся пациента, поступают в организованной форме в систему. Все записи подтверждаются печатью врача (медицинского сотрудника), что крайне важно для обеспечения сохранности данных в неизменном виде.

Важным аспектом является сопряжение МИС "Медиалог" с ЛИС учреждения "Алиса". Благодаря этому все анализы, обрабатываемые лабораторией, в автоматическом режиме поступают в ЭИБ па-

Таблица 1

Наличие и средние значения
распространенных лабораторных показателей
в выборке пациентов проекта
"Сплошное биобанкирование в стационаре
ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России"

Показатель	Количество уникальных пациентов с доступными данными, n (%)	Среднее значение
Гемоглобин крови	3718 (93,0)	139±16 г/л
Глюкоза крови	3203 (80,2)	6,36±1,69 ммоль/л
Гликированный гемоглобин	861 (21,5)	6,4±1,3%
Креатинин	3566 (89,0)	84±24 мкмоль/л
Креатинин- фосфокиназа	3106 (77,7)	104±72 Ед/л
ХС ЛНП	3240 (81,1)	2,62±1,10 ммоль/л
Триглицериды	3262 (81,6)	1,40±0,82 ммоль/л
Липопротеин (а)	87 (2,2)	41,26±48,63 мг/дл

Примечание: ХС ЛНП — холестерин липопротеинов низкой плотности.

циента (отображаются в виде отдельных записей), хранящиеся в БД МИС с идентификатором пациента и идентификатором исследования.

Информация (например, демографические данные, основной диагноз согласно международной классификации болезней (МКБ), числовые показатели) МИС, ЛИС и биобанка, хранится в структурированном виде в реляционных БД в виде взаимосвязанных элементов и таблиц. При наличии соответствующего доступа необходимые данные могут быть выгружены в виде структурированных отчетов (таблиц), которые можно анализировать при помощи разных программ статистического анализа.

Часть информации (анамнез, полный клинический диагноз и т.п.) заполняется в специальных полях в текстовом формате. Одной из сложностей анализа данных в текстовом формате является разнообразие формулировок, которые используют разные специалисты. В частности, при составлении полного клинического диагноза использование формулировок МКБ зачастую затруднено в связи с тем, что данная классификация, прежде всего, служит целям медицинской статистики, и не всегда четко соотносится с реальной клинической практикой. В связи с этим МКБ обычно используется для кодирования основных диагнозов с целью дальнейшего анализа на уровне организации здравоохранения. При работе с пациентом в стационаре чаще всего используются свободные формулировки, которые позволяют более точно описать клинический статус пациента. К примеру, выражения "баллон-

ная ангиопластика со стентированием" — "БАП со стентированием", "транслюминальная баллонная ангиопластика со стентированием" — "ТЛБАП со стентированием", "транслюминальная баллонная коронарная ангиопластика со стентированием" — "ТБКА со стентированием" и др. означают одно и то же вмешательство, однако формулируются в диагнозах разными врачами по-разному. Кроме того, ручной ввод диагнозов может сопровождаться опечатками. Все это значительно затрудняет автоматизированный поиск по различным аспектам диагноза — в результаты поиска по заданным параметрам может попадать много "шумовых" данных, и, наоборот, часть пациентов упускается из виду. В связи с этим с целью унификации формулировки полных диагнозов клиническим и научным персоналом ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России проведена работа по созданию "Справочника диагнозов", содержащего диагнозы, наиболее часто используемые врачами стационара. Данные диагнозы сформулированы согласно новейшим актуальным клиническим рекомендациям — от врачей при добавлении диагноза в ЭИБ требуется использование именно включенных в справочник формулировок (МИС "Медиалог" позволяет добавлять готовые блоки формулировок одним нажатием клавиши компьютерной мыши, что исключает возможность опечаток, унифицирует формулировки, используемые врачами стационара, а также ускоряет процедуру ввода диагноза). При создании справочника учтены формулировки, имеющиеся в МКБ (10 и 11 пересмотр), Единой государственной информационной системе в сфере здравоохранения, актуальных версиях российских и международных клинических рекомендаций. Данный справочник интегрирован в МИС "Медиалог", периодически проводится его оптимизация с целью повышения удобства для пользователей, учета вновь возникающих клинических рекомендаций, касающихся рекомендуемых формулировок диагнозов. Использование "Справочника диагнозов" дает возможность повысить эффективность автоматизированного поиска пациентов с конкретной нозологией в МИС "Медиалог", снизить количество ошибок и опечаток (по сравнению с ручным вводом данных), унифицировать формулировки диагнозов среди врачей отделений разного профиля.

После взятия крови на биобанкирование проводится транспортировка, пробоподготовка и размещение биообразцов в биобанке, осуществляется занесение информации в СМБ "FreezerPRO", интерфейс которой представлен на рисунке 2. СМБ позволяет в наглядной форме видеть наличие каждой аликвоты и ее точное размещение (номер холодильника, номер полки, размещение на полке и др.).

Кроме выше указанной информации, БД СМБ "FreezerPRO" позволяет хранить дополнительную

информацию о биообразце — ID пациента в проекте, идентификационный номер записи в МИС "Медиалог", время забора биообразца, особенности пробоподготовки, температуру хранения и др.

Всего за данный период число пациентов, поступивших в стационар, составило 5385, количество пациентов, участвующих в биобанкировании в рамках данного научного проекта, составило 3996 (74,2%). Всего по данной выборке хранится 51948 образцов, из них сыворотки — 23976, плазмы с (K_2 ЭДТА) — 11988, плазмы с цитратом натрия — 11988, цельной крови — 3996.

Из включенных в проект пациентов 1989 (49,8%) — мужчины. Средний возраст пациентов составляет $63,9 \pm 13,3$ лет ($62,3 \pm 13,2$ у мужчин, $65,5 \pm 13,3$ у женщин). Среднее количество койко-дней, проведенных пациентами в стационаре, равнялось $5,7 \pm 3,1$.

МИС "Медиалог" дает возможность проанализировать статус курения включенных в проект пациентов: из госпитализированных в стационар курящими оказались 24,3%; в подгруппе мужчин курит 39,0%, в подгруппе женщин — 9,4%.

МИС "Медиалог" позволяет изучить диагнозы пациентов. Наиболее частыми патологиями явились: гипертоническая болезнь — 3037 (76,0%) человек (чел.), атеросклероз — 2794 (69,9%) чел., ишемическая болезнь сердца — 2115 (52,9%) чел., нарушения ритма сердца — 2022 (50,6%) чел., сахарный диабет — 766 (19,2%) чел., 1000 (25,0%) чел. когда-либо проводилось стентирование артерий.

Важным моментом является то, что стационарные пациенты чаще всего проходят достаточно углубленное обследование, результаты которого сохраняются в ЭИБ. В частности, значительному большинству пациентов проводятся различные лабораторные исследования: общий и биохимический анализы крови, коагулограмма, иммунологические исследования, общий анализ мочи и др. (таблица 1).

Данные об уровне гемоглобина и глюкозы крови натошак представлены для >90% чел.; о содержании в крови креатинина, холестерина липопротеинов низкой плотности — для >80% чел., уровня креатининфосфокиназы имеются в картах >75% чел., гликированного гемоглобина >20% чел. (таблица 1).

Объединение данных МИС "Медиалог" и СМБ "FreezerPRO" позволяет широко анализировать результаты инструментальных обследований. Всем пациентам при поступлении выполняется электрокардиография в 12 отведениях — 3996 (100%) чел. Значительному количеству пациентов в стационаре проводится эхокардиография, данные которой доступны для анализа. Так, показатель фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ) известен у 3068 (76,8%) чел., среднее значение ФВ ЛЖ составило $66,2 \pm 22,2\%$. Результаты суточного монитори-

рования электрокардиограммы по Холтеру имеются у 2389 (59,8%) чел. Данные рентгенографии органов грудной клетки доступны у 1209 (30,3%) чел., эзофагогастродуоденоскопии — у 1092 (27,3%) чел., мультиспиральной компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии различных областей — у 1525 (38,2%) чел.

ЭИБ предоставляют доступ к результатам консультаций различных специалистов. К примеру, заключения невролога имеются у 948 (23,7%) чел.; эндокринолога — у 392 (9,8%) чел.

Объединение данных ЭИБ, результатов лабораторных исследований и данных биобанка о биообразцах является крайне важным и позволяет исследователям, с одной стороны, проводить поиск необходимой клинической информации, связанной с биообразцом, а с другой — уточнять наличие биообразцов и их вид по каждому конкретному пациенту. Важным моментом является сохранение конфиденциальности данных пациентов, поскольку обмен информации происходит путем деперсонализации в виде использования ID пациента.

В мировой практике существует ряд инициатив, использующих подход объединения данных ЭИБ и биобанков. Одним из крупнейших проектов является Биобанк Великобритании (UK Biobank), который объединил биообразцы от >500 тыс. жителей Великобритании и сопряженную с ними социально-демографическую, фенотипическую, клиническую и другую информацию, в т.ч. содержащуюся в электронных медицинских картах Национальной системы здравоохранения. Проект обладает целым рядом уникальных особенностей: доступны генетические данные большинства лиц, чей биоматериал хранится в биобанке; наблюдение за когортой продолжается, в т.ч. благодаря сопряжению с данными в электронных медицинских картах, куда постоянно поступает новая клиническая информация о пациентах, что позволяет оценивать исходы в долгосрочной перспективе; проект открыт для ученых многих стран мира. Подобный подход позволяет изучать предикторы, закономерности развития, исходы широкого спектра заболеваний практически в любом медицинском направлении: кардиологии, онкологии, эндокринологии, пульмонологии и др. [10–13].

Изучение БД двух биобанков в Финляндии, сопряженных с ЭИБ, позволило разработать алгоритм для автоматического типирования хронической сердечной недостаточности на основании ФВ ЛЖ и лабораторных показателей. Алгоритм показал высокий уровень чувствительности и специфичности в отношении пациентов со сниженной и умеренно сниженной ФВ ЛЖ [14].

Объединение данных биобанков и ЭИБ предоставляет материал для проведения исследований, посвященных полногеномному поиску ассоциаций



Рис. 3 Два варианта реализации научных исследований от возникновения идеи до выдачи биообразцов и данных для проведения исследования.

(Genome-wide association studies, GWAS), в рамках которых изучают связи вариантов нуклеотидной последовательности, встречающихся в разных местах генома, с определенным состоянием или признаком, также известным как фенотип [15].

Перспективным является изучение фенотипически-генотипических ассоциаций (Phenome-wide association studies, PheWAS), в рамках которых проводится обратная процедура — поиск фенотипов, ассоциированных с конкретными вариантами нуклеотидной последовательности, в диапазоне тысяч фенотипов человека, так называемого "фенома" [15]. Bastarache L, et al. предлагают использовать референсную "фенотипически-генотипическую карту" (PGRM, phenotype-genotype reference map), которая составлена на основе 5879 генетических ассоциаций из 523 публикаций, посвященных GWAS. Фенотипы PGRM стандартизированы, что дает возможность обеспечить совместимость между биобанками [15].

Существуют разные подходы к сбору масштабных коллекций биообразцов. Один из подходов реализуется в рамках эпидемиологических исследований, которые подразумевают сбор биообразцов и данных от репрезентативных выборок населения (чаще всего подробная клиническая аннотация для каждого включенного участника отсутствует) с целью изучения распространенности заболеваний, их факторов риска и т.п. Подход с проведением сплошного биобанкирования также позволяет достаточно быстро собирать большое количество биообразцов, однако образцы поступают не от репрезентативной выборки, а от хорошо обследованных пациентов стационара, данные которых хранятся в организованных МИС, подобные выборки могут быть использованы с целью изучения ассоциаций

фенотип-генотип [8]. В рамках проекта "Сплошное биобанкирование в стационаре ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России" создана и продолжает пополняться ценная коллекция биообразцов стационарных пациентов, которая характеризуется качественными и подробными клиническими данными (в рамках текущей клинической практики).

Преимуществами использования данных ЭИБ являются точность получаемой информации (информация вводится медицинским персоналом, непосредственно участвующим в обследовании и лечении пациентов — отсутствует возможность возникновения ошибок при переносе данных), полнота данных (стационарные пациенты чаще всего хорошо обследованы), снижение времени от возникновения научной идеи до реализации исследования [4]. Так, при возникновении научной идеи существует два основных пути взаимодействия исследователей с биобанком (рисунок 3). Первый — это проспективный сбор и размещение на хранение биообразцов согласно теме исследования (подразумевает поиск пациентов, получение их согласия на участие в исследовании и постепенный набор коллекции биообразцов и данных). Второй — это подбор биообразцов из уже имеющихся в биобанке по заданным критериям, соответствующим задачам исследования (подразумевает изучение преаналитических и клинических данных). Безусловно, второй подход является значительно более быстрым и позволяет эффективно и в короткие сроки сформировать выборку пациентов и их биообразцов для проведения исследования.

В то же время при проведении сплошного биобанкирования имеется ряд ограничений: часть пациентов отказывается от участия в проекте (что не позволяет включить все 100% пациентов и может влиять на представительность выборки); инструментальные исследования проводятся разными операторами; длительность наблюдения и количество имеющихся данных может значительно различаться (одни пациенты проходили стационарное обследование и лечение лишь однократно, другие — несколько раз на протяжении последних лет); имеет место смещение выборки вследствие включения только стационарных пациентов.

Созданная коллекция может быть интересна при проведении различных исследований в сфере омиксных технологий, трансляционной и персонализированной медицины, направленных на создание шкал генетического риска, полногеномный поиск ассоциаций, поиск фенотипически-генотипических ассоциаций, поиск новых предиктивных и диагностических биомаркеров и др. В связи с большими перспективами использования подхода сплошного биобанкирования с последующим анализом биообразцов, хранящихся в биобанке, требуются дальнейшие исследования по оп-

тимизации алгоритмов анализа данных ЭИБ, в т.ч. изучения взаимосвязи геномов и феномов, а также возможности использования получаемой информации в повседневной клинической практике.

Заключение

Сплошное биобанкирование в рамках стационара ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России с объединением данных биобанка и информации из ЭИБ предоставляет уникальные возможности для создания ценной коллекции биообразцов, сопровождаемой качественными подробно описанными и структурированными данными. Менее чем

за год в проект включено ~4 тыс. пациентов. Таким образом, подход сплошного биобанкирования пациентов стационара позволяет оперативно и качественно осуществлять набор биоматериала, который, благодаря детализированной информации, хранящейся в ЭИБ, может быть использован для большого количества научных исследований различного профиля.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено в рамках государственного задания "Разработка интегрированных систем прогнозирования в персонализированной медицине" № 12102700364-1.

Литература/References

1. Doludin YV, Borisova AL, Pokrovskaya MS, et al. Current best practices and biobanking recommendations. Russ Clin Lab Diagnostics. 2019;64(12):769-76. (In Russ.) Долудин Ю.В., Борисова А.Л., Покровская М.С. и др. Современные передовые практики и рекомендации по биобанкированию. Клиническая лабораторная диагностика. 2019;64(12):769-76. doi:10.18821/0869-2084-2019-64-12-769-776.
2. Pokrovskaya MS, Sivakova OV, Efimova IA, et al. Biobanking as a necessary tool for research in the field of personalized medicine in the scientific medical center. Per Med. 2019;16(6):501-9. doi:10.2217/pme-2019-0049.
3. Sivakova OV, Pokrovskaya MS, Metelskaya VA, et al. International rules for description of biospecimens are an important factor in improving the quality of researches. Profilakticheskaya Meditsina. 2019;22(6):95-99. (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):95-99. doi:10.17116/profmed20192206295.
4. Cowie MR, Blomster JL, Curtis LH, et al. Electronic health records to facilitate clinical research. Clin Res Cardiol. 2017;106(1):1-9. doi:10.1007/s00392-016-1025-6.
5. Linder JE, Bastarache L, Hughey JJ, Peterson JF. The Role of Electronic Health Records in Advancing Genomic Medicine. Annu Rev Genomics Hum Genet. 2021;22:219-38. doi:10.1146/annurev-genom-121120-125204.
6. Barazzetti G, Bosisio F, Koutaissoff D, Spencer B. Broad consent in practice: lessons learned from a hospital-based biobank for prospective research on genomic and medical data. Eur J Hum Genet. 2020;28(7):915-24. doi:10.1038/s41431-020-0585-0.
7. Cassini T, Bastarache L, Zeng C, et al. A test of automated use of electronic health records to aid in diagnosis of genetic disease. Genet Med. 2023;25(12):100966. doi:10.1016/j.gim.2023.100966.
8. eMERGE Consortium. Lessons learned from the eMERGE Network: balancing genomics in discovery and practice. Hum Genet Genomics Adv. 2021;2(1):100018. doi:10.1016/J.XHGG.2020.100018.
9. Borisova AL, Kopylova OV, Pokrovskaya MS, et al. Biobanking in the hospital of a multidisciplinary research medical center as a potential for a wide research range. Part I. Organizational and methodological aspects. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2023;22(11):3749. (In Russ.) Борисова А.Л., Копылова О.В., Покровская М.С. и др. Биобанкирование в стационаре многопрофильного научного медицинского центра как потенциал для широкого спектра научных исследований. Часть I. Организационно-методические аспекты. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2023;22(11):3749. doi:10.15829/1728-8800-2023-3749.
10. Bešević J, Lacey B, Conroy M, et al. New Horizons: the value of UK Biobank to research on endocrine and metabolic disorders. J Clin Endocrinol Metab. 2022;107(9):2403-10. doi:10.1210/clinem/dgac407.
11. Conroy MC, Lacey B, Bešević J, et al. UK Biobank: a globally important resource for cancer research. Br J Cancer. 2023;128(4):519-27. doi:10.1038/s41416-022-02053-5.
12. Khera AV, Chaffin M, Wade KH, et al. Polygenic Prediction of Weight and Obesity Trajectories from Birth to Adulthood. Cell. 2019;177(3):587-96.e9. doi:10.1016/j.cell.2019.03.028.
13. Wang L, Fang R, Zhu M, et al. Integrated gene-based and pathway analyses using UK Biobank data identify novel genes for chronic respiratory diseases. Gene. 2021;767:145287. doi:10.1016/j.gene.2020.145287.
14. Vuori MA, Kiiskinen T, Pitkänen N, et al. Use of electronic health record data mining for heart failure subtyping. BMC Res Notes. 2023;16(1):208. doi:10.1186/s13104-023-06469-x.
15. Bastarache L, Denny JC, Roden DM. Phenome-Wide Association Studies. JAMA. 2022;327(1):75. doi:10.1001/jama.2021.20356.

Создание в Ханты-Мансийском автономном округе — Югре коллекции биологических образцов пациентов, перенесших инфаркт миокарда

Морозкина А. В.¹, Воробьев А. С.^{1,2}, Донников М. Ю.¹, Коваленко Л. В.¹,
Сафронова М. Л.¹, Гапунова А. Х.¹, Николаев К. Ю.^{1,3}

¹БУ ВО ХМАО-Югры "Сургутский государственный университет". Сургут; ²БУ ХМАО-Югры "Окружной кардиологический диспансер "Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии". Сургут; ³НИИ терапии и профилактической медицины — филиал ФГБНУ ИЦГ Институт цитологии и генетики СО РАН. Новосибирск, Россия

Цель. Создание коллекции образцов цельной крови, лейкоцитарной взвеси, геномной дезоксирибонуклеиновой кислоты у пациентов с инфарктом миокарда для фундаментальных и прикладных исследований в области медицины.

Материалы и методы. Сбор, транспортировка и обработка образцов биоматериала в биобанке медицинского института Сургутского государственного университета проведены по стандартным методикам с использованием рекомендаций, стандартных операционных процедур и национального руководства по биобанкированию.

Результаты. По состоянию на 1 сентября 2023г в коллекции собрано 744 аликвоты цельной крови и лейкоцитарной взвеси и выделено 108 образцов геномной дезоксирибонуклеиновой кислоты от 108 доноров, перенесших инфаркт миокарда. Аликвоты образцов из коллекции биобанка активно используются для ряда молекулярно-генетических исследований (генотипирование, массовое параллельное секвенирование).

Заключение. Собранная коллекция биологических образцов пациентов в биобанке на базе Сургутского государственного университета обеспечивает текущие и будущие научно-исследовательские проекты в кардиологии качественным биоматериалом.

Ключевые слова: биобанк, биологические образцы, инфаркт миокарда.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2022-05-04.

Поступила 23/10-2023

Рецензия получена 27/10-2023

Принята к публикации 31/10-2023



Для цитирования: Морозкина А. В., Воробьев А. С., Донников М. Ю., Коваленко Л. В., Сафронова М. Л., Гапунова А. Х., Николаев К. Ю. Создание в Ханты-Мансийском автономном округе — Югре коллекции биологических образцов пациентов, перенесших инфаркт миокарда. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3805. doi:10.15829/1728-8800-2023-3805. EDN OVZEOG

Creation of a biosample collection from patients after myocardial infarction in the Khanty-Mansi Autonomous Okrug — Yugra

Morozkina A. V.¹, Vorobyov A. S.^{1,2}, Donnikov M. Yu.¹, Kovalenko L. V.¹, Safronova M. L.¹, Gapurova A. Kh.¹, Nikolaev K. Yu.^{1,3}

¹Surgut State University. Surgut; ²District Cardiac Dispensary "Center for Diagnostic and Cardiovascular Surgery". Surgut; ³Research Institute of Internal and Preventive Medicine — branch of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics. Novosibirsk, Russia

Aim. Creation of a sample collection of whole blood, leukocyte suspension, genomic deoxyribonucleic acid from patients with myocardial infarction for fundamental and applied research in medicine.

Materials and methods. The collection, transportation and processing of biomaterial samples in the biobank of the Medical Institute of Surgut State University were carried out according to standard methods

using recommendations, standard operating procedures and national guidelines for biobanking.

Results. As of September 1, 2023, the collection has collected 744 aliquots of whole blood and leukocyte suspension and isolated 108 samples of genomic deoxyribonucleic acid from 108 donors after myocardial infarction. Aliquots of samples from the biobank

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: morozkina_av@surgut.ru

[Морозкина А. В. — к.б.н., в.н.с. научно-образовательного центра медицинского института, ORCID: 0009-0000-0547-4959, Воробьев А. С. — к.м.н., в.н.с. научно-образовательного центра, доцент кафедры кардиологии медицинского института, врач-кардиолог отдела госпитализации с телемедицинским центром, зам. зав. кафедрой кардиологии, ORCID: 0000-0001-7014-2096, Донников М. Ю. — к.м.н., врач-лабораторный генетик, в.н.с. научно-образовательного центра медицинского института, ORCID: 0000-0003-0120-4163, Коваленко Л. В. — д.м.н., директор медицинского института, зав. кафедрой патофизиологии и общей патологии, ORCID: 0000-0002-0918-7129, Сафронова М. Л. — магистрант института естественных и технических наук, эксперт центра коллективного пользования, ORCID: 0009-0006-0020-8620, Гапунова А. Х. — магистрант института естественных и технических наук, лаборант центра коллективного пользования, ORCID: 0009-0008-9123-4000, Николаев К. Ю. — д.м.н., профессор кафедры кардиологии, зав. лабораторией неотложной терапии, ORCID: 0000-0003-4601-6203].

collection are actively used for a number of molecular genetic studies (genotyping, massively parallel sequencing).

Conclusion. This biosample collection on the basis of Surgut State University provides current and future research projects in cardiology with high-quality biomaterial.

Keywords: biobank, biological samples, myocardial infarction.

Relationships and Activities. The study was financially supported by the Ugra Scientific and Technological Development Foundation within the research project № 2022-05-04.

Morozkina A. V. * ORCID: 0009-0000-0547-4959, Vorobyov A. S. ORCID: 0000-0001-7014-2096, Donnikov M. Yu. ORCID: 0000-0003-0120-4163, Kovalenko L. V. ORCID: 0000-0002-0918-7129, Safronova M. L.

ORCID: 0009-0006-0020-8620, Gapurova A. Kh. ORCID: 0009-0008-9123-4000, Nikolaev K. Yu. ORCID: 0000-0003-4601-6203.

*Corresponding author: morozkina_av@surgu.ru

Received: 23/10-2023

Revision Received: 27/10-2023

Accepted: 31/10-2023

For citation: Morozkina A. V., Vorobyov A. S., Donnikov M. Yu., Kovalenko L. V., Safronova M. L., Gapurova A. Kh., Nikolaev K. Yu. Creation of a biosample collection from patients after myocardial infarction in the Khanty-Mansi Autonomous Okrug — Yugra. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3805. doi:10.15829/1728-8800-2023-3805. EDN OVZEOG

БУ ХМАО-Югры "ЦД и ССХ" — Бюджетное учреждение Ханты-Мансийский автономного округа — Югры Окружной кардиологический диспансер "Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии", гДНК — геномная дезоксирибонуклеиновая кислота, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ИМ — инфаркт миокарда, МИ — медицинский институт, п.о. — пар оснований, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, СурГУ — Сургутский государственный университет, ХМАО-Югра — Ханты-Мансийский автономный округ — Югра.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Благодаря стандартизации работы, биобанки обеспечивают высокое качество сохраняемых образцов биоматериала для разнообразных видов биомедицинских исследований.
- Коллекция образцов биоматериала пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями с подробной сопровождающей информацией позволяет выполнять как ретроспективный анализ, так и прогнозирование исходов социально-значимых заболеваний.

Что добавляют результаты исследования?

- Собрана и описана уникальная для региона ХМАО-Югра коллекция образцов биологического материала пациентов, перенесших инфаркт миокарда.
- Качество образцов и сопроводительной информации позволяют эффективно использовать биоматериал в молекулярно-генетических исследованиях, в т.ч. в формате сотрудничества между разными научными коллективами.

Key messages

What is already known about the subject?

- Thanks to the standardization of work, biobanks provide high quality preserved samples of biomaterial for a variety of types of biomedical research.
- A collection of biomaterial samples from cardiovascular patients with detailed information allows for both retrospective analysis and prediction of the outcomes of socially significant diseases.

What might this study add?

- A unique collection of biological samples from patients after myocardial infarction, unique for the Khanty-Mansi Autonomous Okrug — Yugra, was collected and described.
- The quality of samples and accompanying information allows the effective use of biomaterial in molecular genetic research, including in cooperation between different research teams.

Введение

Реализация важной задачи ранней диагностики сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) невозможна без развития института биобанкирования. Современные клинические исследования обеспечивают поток клинических, инструментальных и лабораторных данных, которые хранятся в особых регистрах, специализированных для исследуемой патологии. По мере развития и внедрения персонализированной медицины представляется актуальным ведение регистров пациентов одновременно с накоплением образцов крови и ее компонентов в биобанках для изучения новых биохимических и генетических маркеров ССЗ [1, 2]. С одной

стороны, для надлежащей лабораторной практики необходимым условием является не только достаточное количество биообразцов, сбор которых может занять длительное время, но и высокое качество содержащихся в образцах нуклеиновых кислот и ряда других биохимических молекул, которые являются перспективными для исследований [3, 4]. С другой стороны, относительная дороговизна экспресс-диагностики "у койки пациента" (point-of-care) обуславливает необходимость фармакогенетического тестирования в асинхронном режиме, а бурное развитие новых тест-систем позволяет изучать новые молекулы по мере их извлечения из хранимого биоматериала при возникающей по-

Таблица 1

Клинико-анамнестическая характеристика пациентов с ИМ (n=108)

Характеристики	Количество больных	
	n	%
Пол:		
— мужской (57,2±4,6 лет)	86	79,6
— женский (61,7±5,9 лет)	22	20,4
Тип ИМ:		
— с подъемом сегмента ST	67	62,0
— без подъема сегмента ST	41	38,0
Локализация ИМ:		
— передняя	63	58,3
— задняя	45	41,7
ИМ, развившийся:		
— впервые	92	85,2
— повторно	16	14,8
Классы Killip:		
— I	56	51,9
— II	38	35,2
— III	9	8,3
— IV	5	4,6
Артериальная гипертензия	91	84,3
Сахарный диабет 2 типа	20	18,5

Примечание: n — количество пациентов, ST — отрезок кривой электрокардиограммы, ИМ — инфаркт миокарда.

требности, что особенно актуально для пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) [5].

Материал и методы

Диагностика ИМ основывалась на стандартных критериях (жалобы, биомаркеры, характерные изменения на электрокардиограмме), в соответствии с отечественными и международными клиническими рекомендациями [6, 7].

Образцы биоматериала были последовательно собраны на этапе стационарного лечения в Бюджетном учреждении Ханты-Мансийский автономного округа — Югры Окружном кардиологическом диспансере "Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии" (БУ ХМАО-Югры "ЦД и ССХ") в г. Сургуте у пациентов с ИМ. Сбор венозной крови проводили натощак в утренние часы в пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой и транспортировали в течение 2 ч в термоконтейнере с хладоэлементами (+4° С) в биобанк Медицинского института (МИ) Сургутского государственного университета (СурГУ) с использованием стандартных операционных процедур, разработанных в генетической лаборатории МИ СурГУ и валидированных на основе рекомендаций Национального руководства по биобанкированию [5]. Период сбора образцов занял 6 мес.

При включении в исследуемую группу всеми пациентами было подписано информированное добровольное согласие на сбор и хранение образцов крови и ее компонентов в биобанке, одобренное локальным этическим комитетом СурГУ. Пациентам проведено полное разъяснение использования образцов биоматериала исключительно в научных целях. В исследование не включали пациентов, не подписавших информированное добровольное согласие, имеющих тяжелую сопутствующую

соматическую патологию (терминальная хроническая болезнь почек, онкологическое заболевание с метастазированием, вирус иммунодефицита человека), ограничивающую вероятность выживания пациента по поводу ИМ.

В день доставки образцов в биобанк осуществлялось аликвотирование цельной крови с этилендиаминтетрауксусной кислотой в криопробирки объемом 1 мл в штативе на 96 лунок (LVL Technologies GmbH, Германия) и размещение на длительное хранение в морозильной камере (Haier DW-86L48) с постоянной температурой -80° С. Выделение геномной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) (гДНК) осуществляли с помощью набора Blood DNA Mini Kit (Foregene, КНР). Микроаликвоту выделенного образца гДНК использовали для оценки качества и подготовки библиотек для проведения таргетного секвенирования; оставшийся объем размещали на длительное хранение при низкой температуре (см. выше). Измерение концентрации образцов проводили с использованием набора реагентов Qubit dsDNA HS Assay Kit и Lumiprobe QuDye dsDNA HS Assay Kit на флуориметре Qubit 3.0 (Thermo Fisher Scientific, США). Оценка качества гДНК и библиотек ДНК проведена согласно стандартным методам [5]. Оценка целостности и размеров образцов гДНК и библиотек ДНК проведена путем капиллярного гель-электрофореза на анализаторе Qsep100 (BiOptic, Тайвань). Чистота ДНК оценивалась по соотношению A260/A280 и A260/A230 на спектрофотометре BioMate160 (Thermo Fisher Scientific, США). Соотношение A260/A280 >1,8 и соотношение A260/A230 >2,0 соответствовало образцу гДНК высокого качества. Значение <1,8 могло указывать на загрязнение образца полипептидами, >2 — на возможную деградацию и наличие свободных нуклеотидов. Сравнение концентраций выполнили с применением однофакторного дисперсионного анализа (F).

Результаты

По состоянию на сентябрь 2023г общая емкость коллекции составляет 842 аликвоты, из них 744 — цельной крови, 108 — гДНК, полученных от 108 уникальных доноров, перенесших ИМ. Налажен стабильный поток образцов от клинической базы СурГУ БУ ХМАО-Югры "ЦД и ССХ". Сбор биоматериала продолжается, но уже сейчас очевидно, что коллекция является уникальной для ХМАО-Югры. Собранные образцы и ассоциированные с ними данные позволили начать проведение ряда прикладных научных проектов. Например, с использованием собранных образцов реализовано фармакогенетическое исследование по определению генотипов *CYP2C19* и *VEGFR* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени, а также таргетное секвенирование с кастомизированной таргетной панелью для поиска генетических маркеров сердечно-сосудистой патологии (Roche, США) [8].

Клинико-анамнестическая характеристика пациентов с ИМ, образцы которых были использованы для создания настоящей коллекции, представлена в таблице 1.

Преимущественное большинство в сформированной когорте составили пациенты мужского по-

Таблица 2

Оценка качества гДНК

Срок хранения, мес.	n	Концентрация ДНК, нг/мкл	Соотношение A260/A280	Соотношение A260/A230	Индекс качества ДНК (DQN)
		M±m	M±m	M±m	M±m
<1	50	45,14±1,01	1,86±0,01	1,81±0,01	9,5±0,5
1-2	50	44,60±1,36	1,85±0,02	1,83±0,02	9,4±0,5
2-6	50	43,20±1,44	1,87±0,04	1,80±0,06	9,3±0,6
>6	20	43,08±1,48	1,88±0,03	1,81±0,09	9,2±0,7

Примечание: n — количество исследуемых образцов, M — среднее значение, m — стандартная ошибка; A 260/280 — отношение поглощения на длинах волн 260 и 280 нм, A260/A230 — отношение поглощения на длинах волн 260 и 230 нм, гДНК — геномная ДНК.

ла (79,6%), ИМ с подъемом сегмента ST был диагностирован у 62% лиц, ИМ передней локализации был установлен в 58,3% случаев; ИМ перенесли впервые 85,2% больных. Низкие классы Killip (I-II) острой сердечной недостаточности имели место у наибольшего количества пациентов (87,1%). Среди сопутствующих заболеваний артериальная гипертензия имела место у 84,3% пациентов; сахарный диабет 2 типа установлен в 18,5% случаев (таблица 1). Данная выборка из 108 лиц с ИМ является репрезентативным фрагментом общей когорты, состоящей из 742 пациентов с ИМ, у которых были собраны образцы крови на протяжении 11 лет (2012-2023гг) для оценки сывороточных уровней ряда информативных кардиальных биохимических маркеров и фармакогенетического тестирования. Полученные биомолекулярные данные наряду с клиническими характеристиками и показателями визуализации миокарда активно используются для построения предиктивных моделей оценки отдаленных исходов ИМ [9, 10].

Сбор образцов был начат в январе 2023г, и по состоянию на 1 сентября 2023г коллекция включала 744 аликвоты цельной крови, лейкоцитарной взвеси и 108 образцов гДНК от 108 доноров. Среднее количество аликвот на один уникальный образец составило 6-8 пробирок (объемом 1 мл). Поступление образцов биоматериала доноров с патологией сердечно-сосудистой системы в биобанк в 2023г было равномерным, среднемесячный показатель составил 14 образцов (рисунок 1).

В биобанке МИ СурГУ собирается коллекция образцов гДНК, выделенная из аликвот цельной крови, хранящихся при -80°C не >2 мес. Контроль качества образцов гДНК показал, что исследуемые образцы имеют высокую чистоту по соотношению A260/A280 и удовлетворительную по соотношению A260/A230, которая не снижается за период хранения (таблица 2). Диапазон $1,7 \leq A260/A230 < 2,0$ считается пригодным для использования биообразца в молекулярно-генетических исследованиях [5].

Анализ концентрации гДНК в образцах, выделенных из аликвот цельной крови в первые дни и недели после поступления в биобанк, показал,

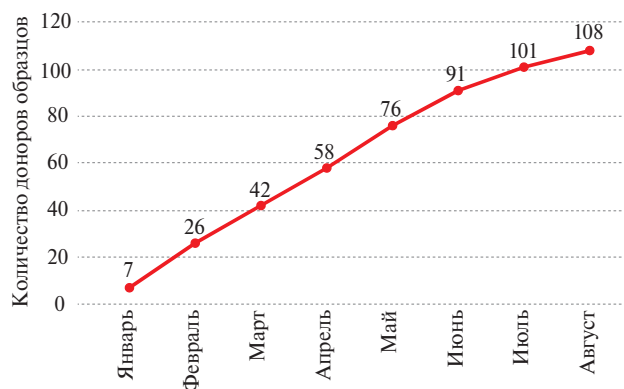


Рис. 1 Динамика прироста количества образцов в коллекции биобанка СурГУ в 2023г.

что хранение гДНК при -80°C в течение 6 мес. практически не влияет на концентрацию ($F=1,25$; $p=0,291$) (таблица 2). При количественной оценке целостности индекс качества (DNA Quality Number, DQN) был >7, что также свидетельствует о хорошем качестве образцов ДНК (таблица 2) [5. С. 223].

Оценка целостности библиотек ДНК на системе капиллярного электрофореза Qsep100 показала отсутствие чрезмерно коротких и сверхдлинных фрагментов (характерный паттерн приведен на рисунке 2). Качество библиотек через 6 мес. хранения соответствует рекомендованному производителем (Roche) медианному значению в 350-400 пар оснований (п.о.). В дальнейшем планируется проведение регулярной оценки качества образцов с более длительным сроком хранения (>6 мес.) при -80°C .

Очевидно, что стандартизация процедур сбора образцов биоматериала, их обработки, выделения гДНК на всех этапах создания коллекции обеспечивает высокую воспроизводимость получаемых результатов исследований.

Обсуждение

Успешное развитие разветвленной системы биобанков на Западе и в России подтверждает необходимость создания региональных "малых" (базовых) институтских биобанков, которые дают

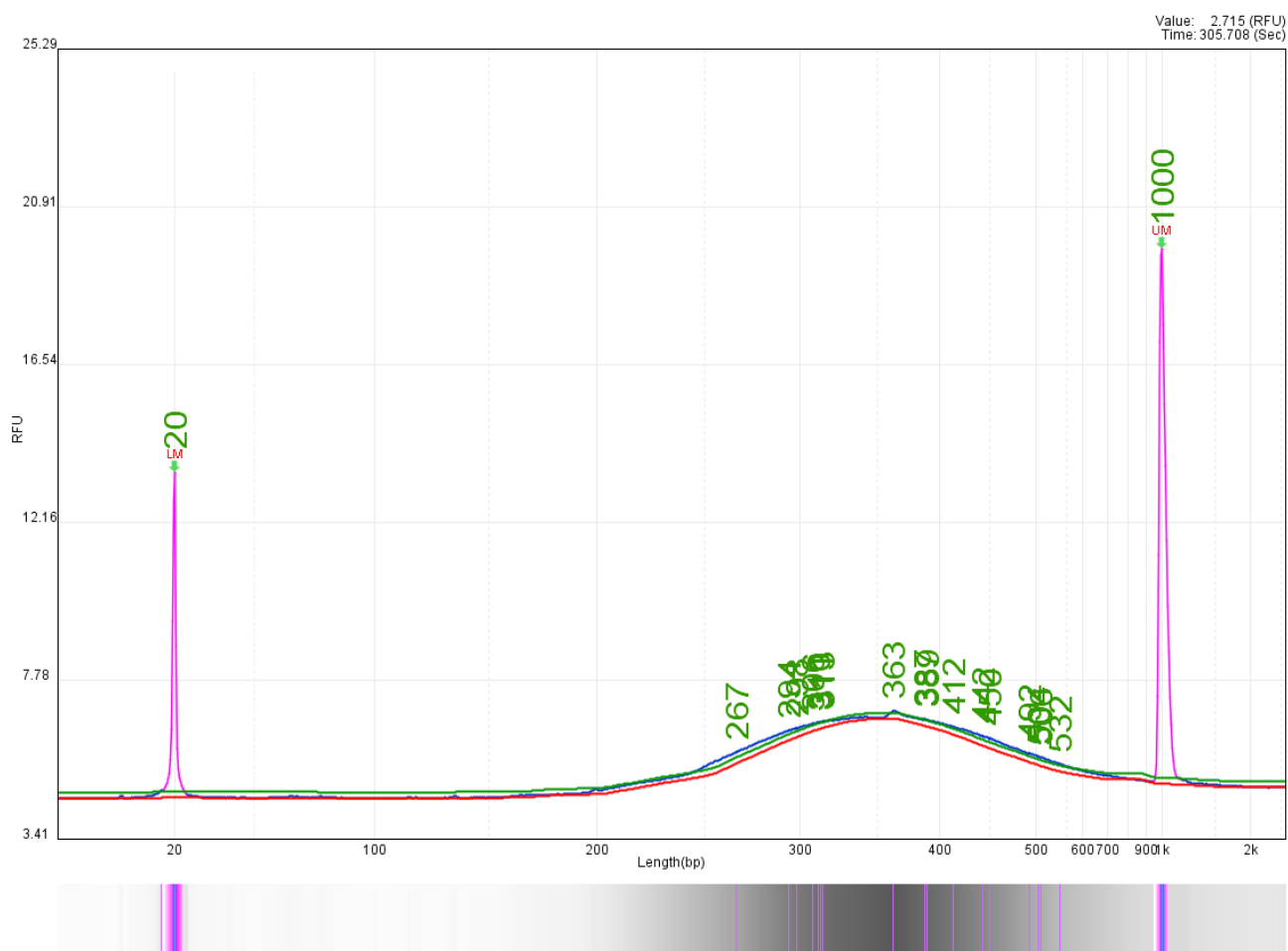


Рис. 2 Результаты капиллярного электрофореза для библиотеки ДНК (образец №60K23Щ).

Примечание: изображение получено на приборе Qsep100™ (BiOptic, Тайвань) с помощью программного обеспечения Q-Analyzer™. RFU — относительные единицы флуоресценции (relative fluorescence units), Length (bp) — длина фрагментов (п.о.), п.о. — пар оснований. Цветное изображение доступно в электронной версии журнала.

любому научно-образовательному учреждению возможность развернуть активную исследовательскую деятельность нового порядка и стать непосредственным участником развития методов трансляционной и персонализированной медицины — в частности, обеспечивая возможность поиска перспективных биомаркеров и ранней диагностики ССЗ [11–14]. Ввиду географических особенностей ХМАО-Югры и удаленности многих населенных пунктов, а также высокого риска смерти после перенесенного ИМ, своевременный сбор биологических образцов в период нахождения пациентов в стационаре очень важен. Однако длительное хранение крови и ее компонентов в стандартных лабораторных условиях невозможно из-за отсутствия низкотемпературных морозильников, системы бесперебойного электроснабжения и т.д., что в дальнейшем может сказаться на результатах исследований или привести к потере образцов.

Впервые в ХМАО-Югре был реализован проект создания региональной коллекции образцов био-

материала, полученных от пациентов с сердечно-сосудистой патологией. Размещение образцов биоматериала в биобанке МИ СурГУ позволило собрать и разместить на долговременное хранение репрезентативную выборку образцов. Для успешного проведения таргетного секвенирования к образцам ДНК предъявляются высокие требования: суммарная концентрация 100–150 нг в образце и достаточная степень очистки. В литературе накоплено достаточное количество информации о результатах долгосрочного хранения образцов цельной крови и гДНК, однако данные противоречивы. Большинство авторов указывают, что при длительном хранении цельной крови наблюдается снижение концентрации выделенной ДНК, но без изменения профиля метилирования и качества ДНК [15, 16]; однако есть публикации, в которых не выявлена связь между временем хранения цельной крови и концентрацией выделенной ДНК [17]. Считается, что концентрация гДНК в элюатах с буферными растворами незначительно снижается в процессе хранения, в отличие от

хранения замороженных образцов цельной крови. Оценка качества образцов, собранных в биобанке, подтверждает пригодность их использования для молекулярно-генетических исследований, включая секвенирование нового поколения. Аналогичный подход с использованием коллекции образцов, собранных в популяционном биобанке, применен для фармакогенетического тестирования пациентов с ССЗ в Восточной Европе, на Северном Кавказе, в Приуралье и Русской равнине [13].

Не менее важен централизованный электронный учет потока биообразцов и сопроводительной информации, обеспечивающие поддержание актуальной базы данных, интегрирующей все ключевые параметры коллекции и быстрый доступ к любому элементу коллекции для исследователей. Кроме того, в современных условиях становится актуальным создание дата-центра при биобанке, где будут храниться большие объемы биомедицинских данных (клинические, биомаркеры, генетика) о каждом пациенте, которые будут накапливаться по мере оценки новых молекул в его образцах и анализироваться с использованием методов биоинформатики и биостатистики, математической биологии, которые также постоянно совершенствуются и требуют надежного хранения анализируемой информации.

Проведенное исследование было ограничено сбором образцов биоматериала на одной клинической базе (БУ ХМАО-Югры "ЦД и ССХ", г. Сургут). Это было обосновано тем, что данная медицинская организация является региональным центром координации оказания медицинской помощи пациентам с болезнями системы кровообращения в ХМАО-Югре, в т.ч. обеспечивающим диагностику и лечение пациентов с ИМ в округе: по данным 2022г, в центре было пролечено 1077 (54%) больных ИМ от общего количества (1999) данной категории пациентов в округе. Еще одним ограничением на-

стоящего исследования явился отбор в исследуемую когорту пациентов только с ИМ (без включения больных хронической ишемической болезнью сердца), что было определено необходимостью последующего таргетного секвенирования коллекции образцов биоматериала для поиска лиц с генетически обусловленным высоким риском повторных сердечно-сосудистых катастроф и формирования из них фокусной группы интенсивного наблюдения с применением телемедицинских технологий.

Заключение

Актуальность сбора образцов биоматериала у пациентов с перенесенным ИМ подтверждается наличием негативного прогноза в контексте высокого риска смерти и низкой мобильности из-за постинфарктной сердечной недостаточности. В ХМАО-Югре в силу суровых климатических условий и низкой плотности населения, проживающего на обширной территории, создание регионального биобанка путем объединения организационных усилий как клинического учреждения, так и высшего учебного заведения, позволяет проводить изучение новых биомаркеров и разрабатывать современные методы терапии и профилактики ССЗ. Таким образом, коллекция образцов биоматериала, созданная на базе биобанка МИ СурГУ, призвана обеспечить текущие и будущие научно-исследовательские проекты качественным биоматериалом, в т.ч. за счет пробоподготовки и длительного хранения образцов высокого качества в соответствии с разработанными стандартными операционными процедурами.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда научно-технологического развития Югры в рамках научного проекта № 2022-05-04.

Литература/References

1. Gnennaya NV, Timofeeva SV, Sitkovskaya AO, et al. Creation of a collection of blood samples of patients with multiple myeloma. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(8):3043. (In Russ.) Гненная Н.В., Тимофеева С.В., Ситковская А.О. и др. Создание коллекции образцов компонентов крови больных множественной миеломой. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021;20(8):3043. doi:10.15829/1728-8800-2021-3043.
2. Illarionov RA, Kosyakova OV, Vashukova ES, et al. Collection of samples from women at different stages of pregnancy to search for early biomarkers of preterm birth. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(6):2708. (In Russ.) Илларионов Р.А., Косякова О.В., Вашукова Е.С. и др. Особенности создания коллекции образцов беременных женщин на разных сроках гестации для поиска ранних биомаркеров преждевременных родов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(6):2708. doi:10.15829/1728-8800-2020-2708.
3. Doludin YuV, Limonova AS, Kozlova VA, et al. Collection and storage of DNA-containing biomaterial and isolated DNA. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(6):2730. (In Russ.) Долудин Ю.В., Лимонова А.С., Козлова В.А. и др. Сбор и хранение ДНК-содержащего биоматериала и выделенной ДНК. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(6):2730. doi:10.15829/1728-8800-2020-2730.
4. Kalinin RS, Goleva OV, Illarionov RA, et al. Development of a biobank in the structure of scientific and diagnostic and treatment institutions and prospects for interregional integration. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3401. (In Russ.) Калинин Р.С., Голева О.В., Илларионов Р.А. и др. Формирование биобанка в структуре научных и лечебно-диагностических учреждений и перспективы межрегиональной интеграции. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3401. doi:10.15829/1728-8800-2022-3401.
5. Anisimov SV, Akhmerov TM, Balanovsky OP, et al. Biobanking. National guideline. M: Triumph Publishing House, 2022. p. 308. (In Russ.) Анисимов С.В., Ахмеров Т.М., Балановский О.П. и др. Биобанкирование. Национальное руководство. М: ООО

- "Издательство Триумф", 2022. 308 с. ISBN: 978-5-93673-322-2.
6. Thygesen K, Alpert J, Jaffe A, et al. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Circulation*. 2018;138(20):e618-51. doi:10.1161/CIR.0000000000000617.
7. Averkov OV, Duplyakov DV, Gilyarov MYu, et al. 2020 Clinical practice guidelines for Acute ST-segment elevation myocardial infarction. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(11):4103. (In Russ.) Аверков О.В., Дупляков Д.В., Гиляров М.Ю. и др. 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.
8. Vorobev AS, Lifshits GI, Zelenskaya EM, et al. Results of a study of clinically significant CYP2C19 genotypes in patients with myocardial infarction in the northern region of Russia. *Russian Journal of Cardiology*. 2023;28(10):5533. (In Russ.) Воробьев А.С., Лифшиц Г.И., Зеленская Е.М. и др. Результаты исследования клинически значимых генотипов CYP2C19 у больных инфарктом миокарда в условиях северного региона России. Российский кардиологический журнал. 2023;28(10):5533. doi:10.15829/1560-4071-2023-5533.
9. Vorobev AS, Kashtalap VV, Urvantseva IA, et al. Association of cardiovascular biomarkers with myocardial and coronary imaging characteristics in patients having acute myocardial infarction and type 2 diabetes mellitus. *Complex Issues of Cardiovascular Diseases*. 2021;10(2S):104-6. doi:10.17802/2306-1278-2021-10-2S-104-106.
10. Vorobev AS, Kovalenko LV, Nikolaev KYu, et al. Clinical predictive value of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and myocardial remodeling development in patients having Q-wave myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2019;15(2):17-23. (In Russ.) Воробьев А.С., Коваленко Л.В., Николаев К.Ю. и др. Клинико-прогностическое значение тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 в развитии ремоделирования миокарда у пациентов, перенесших инфаркт миокарда с зубцом Q. Атеросклероз. 2019;15(2):17-23. doi:10.15372/ATER20190203.
11. Borisova AL, Pokrovskaya MS, Meshkov AN, et al. ISO 20387 biobanking standard. Analysis of requirements and experience of implementation. *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.
12. Pokrovskaya MS, Borisova AL, Metelskaya VA, et al. Role of biobanking in managing large-scale epidemiological studies. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(5):2958. (In Russ.) Покровская М.С., Борисова А.Л., Метельская В.А. и др. Роль биобанкирования в организации крупномасштабных эпидемиологических исследований. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(5):2958. doi:10.15829/1728-8800-2021-2958.
13. Pylev VYu, Agdzhoian AT, Gorin IO, et al. Population biobank as a basis for determining spatial variation of clinically relevant pharmacogenetic biomarkers of cardiovascular diseases. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3430. (In Russ.) Пылев В.Ю., Агджоян А.Т., Горин И.О. и др. Популяционный биобанк как основа для выявления пространственной изменчивости клинически значимых фармакогенетических биомаркеров сердечно-сосудистых заболеваний. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022;21(11):3430. doi:10.15829/1728-8800-2022-3430.
14. Kit OI, Timofeeva SV, Sitkovskaya AO, et al. The biobank of the National Medical Research Centre for Oncology as a resource for research in the field of personalized medicine: A review. *Journal of Modern Oncology*. 2022;24(1):6-11. (In Russ.) Кит О.И., Тимофеева С.В., Ситковская А.О. и др. Биобанк ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России как ресурс для проведения исследований в области персонифицированной медицины. Современная онкология. 2022;24(1):6-11. doi:10.26442/18151434.2022.1.201384.
15. Bulla A, Witt B, Ammerlaan W, et al. Blood DNA Yield but Not Integrity or Methylation Is Impacted After Long-Term Storage. *Biopreserv Biobank*. 2016;14(1):29-38. doi:10.1089/bio.2015.0045.
16. Skirko OP, Meshkov AN, Efimova IA, et al. Shelf life of whole blood samples in a biobank and the yield of deoxyribonucleic acid during genetic testing. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(6):2726. (In Russ.) Скирко О.П., Мешков А.Н., Ефимова И.А. и др. Срок хранения образцов цельной крови в биобанке и выход выделенной из нее дезоксирибонуклеиновой кислоты при проведении генетических исследований. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020;19(6):2726. doi:10.15829/1728-8800-2020-2726.
17. Chen WC, Kerr R, May A, et al. The Integrity and Yield of Genomic DNA Isolated from Whole Blood Following Long-Term Storage at -30°C. *Biopreserv Biobank*. 2018;16(2):106-13. doi:10.1089/bio.2017.0050.

Веб-репозиторий "БиоВитрина" — доступ к информации о биоресурсных коллекциях

Букреева А. С., Мальсагова К. А., Изотов А. А., Лисица А. В., Кайшева А. Л.

ФГБНУ "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича" (ИБМХ). Москва, Россия

Цель. Разработка веб-репозитория "БиоВитрина" для визуализации информации об имеющихся в организации образцах биологического происхождения (<https://bb.ibmc.msk.ru>).

Материал и методы. Использовался следующий набор инструментов: PostgreSQL 12, скриптовый язык программирования Python 3.8, Django 3.2.7, Angular 12.2.13, Nginx, Docker 3, Redis 6.

Результаты. Биологические образцы в каталоге систематизированы согласно международной классификации болезней 10 пересмотра (МКБ-10). После выбора наиболее подходящих под научную задачу биообразцов Пользователь имеет возможность оформить запрос на их получение. Необходимым условием для получения биологических образцов является последующая публикация результатов экспериментальных исследований в веб-репозитории "БиоВитрина". Такой обмен аналитическими результатами исследований позволит избежать повторения схожих исследований и будет способствовать сохранению материальных ресурсов.

Заключение. "БиоВитрина" разработана с целью оптимизации инфраструктуры биобанков организаций и обеспечения доступности информации об имеющихся у них биоресурсных коллекций. Это позволит решить множество вопросов, связанных с использованием различных типов биоматериала, как в исследовательских, так и в клинических целях в области персонализированной биомедицины.

Ключевые слова: биологические образцы, биосбор, веб-репозиторий.

Отношения и деятельность. Работа выполнена в рамках проекта по созданию и развитию научных центров мирового уровня "Цифровой дизайн и персонализированное здравоохранение" при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № 075-15-2022-305).

Поступила 04/09-2023

Рецензия получена 04/10-2023

Принята к публикации 21/10-2023



Для цитирования: Букреева А. С., Мальсагова К. А., Изотов А. А., Лисица А. В., Кайшева А. Л. Веб-репозиторий "БиоВитрина" — доступ к информации о биоресурсных коллекциях. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3720. doi:10.15829/1728-8800-2023-3720. EDN TXILN

BioVitrina web repository — access to data on bioresource collections

Bukreeva A. S., Malsagova K. A., Izotov A. A., Lisitsa A. V., Kaisheva A. L.

V. N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry. Moscow, Russia

Aim. To develop the BioVitrina web repository for visualizing data on biological samples available in the organization (<https://bb.ibmc.msk.ru>).

Material and methods. The following set of tools was used: PostgreSQL 12, Python 3.8 scripting language, Django 3.2.7, Angular 12.2.13, Nginx, Docker 3, Redis 6.

Results. Biological samples are systematized according to the International Classification of Diseases, 10th revision (ICD-10). After selecting the most suitable biosamples, the User has the opportunity to submit a request for their receipt. A necessary condition for obtaining biological samples is the subsequent publication of the results of experimental studies in the BioVitrina web repository. Such an exchange of analytical research results will avoid repetition of similar studies and will contribute to the conservation of material resources.

Conclusion. "BioVitrina" was developed to optimize the infrastructure of biobanks of organizations and ensure the availability of information about their existing bioresource collections. This will solve many issues related to the use of different types of biomaterials, both for research and clinical purposes in personalized biomedicine.

Keywords: biological samples, biocollection, web repository.

Relationships and Activities. The work was carried out within the project for the creation and development of world-class scientific centers "Digital Design and Personalized Healthcare" with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (agreement № 075-15-2022-305).

Bukreeva A. S. ORCID: 0000-0002-6854-0308, Malsagova K. A.* ORCID: 0000-0001-9404-1660, Izotov A. A. ORCID: 0000-0001-9367-9785, Lisitsa A. V. ORCID: 0000-0003-2852-102X, Kaisheva A. L. ORCID: 0000-0003-4472-2016.

*Corresponding author: kristina.malsagova86@gmail.com

Received: 04/09-2023

Revision Received: 04/10-2023

Accepted: 21/10-2023

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: kristina.malsagova86@gmail.com

[Букреева А. С. — м.н.с., ORCID: 0000-0002-6854-0308, Мальсагова К. А.* — к.м.н., ORCID: 0000-0001-9404-1660, Изотов А. А. — н.с., ORCID: 0000-0001-9367-9785, Лисица А. В. — д.б.н., г.н.с., ORCID: 0000-0003-2852-102X, Кайшева А. Л. — д.б.н., с.н.с., ORCID: 0000-0003-4472-2016].

For citation: Bukreeva A. S., Malsagova K. A., Izotov A. A., Lisitsa A. V., Kaisheva A. L. BioVitrina web repository — access to data on bio-

resource collections. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023; 22(11):3720. doi:10.15829/1728-8800-2023-3720. EDN TXILN

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Биобанк (биорепоzиторий) — организованная коллекция материала биологического происхождения и ассоциированных с ним данных, хранящиеся в соответствии со стандартными операционными процедурами.
- Создание виртуальных коллекций обеспечит доступ к информации о деятельности биобанка и имеющихся в его составе биологических коллекциях, а также об условиях получения биологических образцов для проведения исследований.

Что добавляют результаты исследования?

- Веб-платформа "БиоВитрина" предназначена для визуализации информации об имеющихся в организации образцах биологического происхождения.
- "БиоВитрина" сочетает пополняемую базу данных о биообразцах, аннотированных по клиническим, антропометрическим и биохимическим показателям и результаты аналитических исследований.

Key messages

What is already known about the subject?

- Biobank (biorepository) is an organized collection of biological material and related data, stored in accordance with standard operating procedures.
- The creation of virtual collections will provide access to data on the activities of the biobank and the biological collections it contains, as well as the conditions for obtaining biological samples for research.

What might this study add?

- The BioVitrina web platform is designed to visualize information about biological samples available in the organization.
- BioVitrina combines a growing database of biospecimens annotated by clinical, anthropometric and biochemical parameters and the results of analytical studies.

Введение

Россия отличается развитой структурой научных учреждений, ведущих фундаментальные и прикладные исследования по важнейшим проблемам в области медицинских и биологических наук, а также в смежных областях науки; их деятельность направлена на сохранение здоровья, улучшение качества и продолжительности жизни человека.

Актуальным в научной среде является вопрос о необходимости развития биобанков, поскольку медико-биологические исследования основаны на анализе клинической информации и данных, полученных при изучении биологических образцов различными методами [1]. Сбор коллекции биообразцов, необходимых для выполнения исследований, продолжителен, сложен и зависит от налаженного контакта с профильной клиникой, ее заинтересованности в сборе, хранении и транспортировке биообразцов.

Биобанк — это новая институция, функционирующая на стыке науки, технологий и бизнеса. Технологическая компонента биобанков связана с организацией специальной инфраструктуры. Например, долгосрочная криоконсервация биологических образцов требует специализированных спо-

собов хранения: морозильные камеры глубокого холода, систем хранения в жидком азоте [2]. Сбор и архивирование информации, полученной в результате проведения аналитических исследований с использованием биологического материала, также требует инфраструктуры информационного сопровождения [3]. Благодаря широкому использованию новых технологических платформ увеличилось количество результатов "омикс"-исследований, что требует модернизации систем управления биобанками и их функциональной совместимости для последующих исследований [4]. В настоящее время процессы научно-исследовательской деятельности подвергаются влиянию глубоких трансформаций, обусловленных развитием информационных технологий. Одним из перспективных направлений в этой области является цифровизация процессов, реализуемых в ходе научных исследований.

Одна из функций биобанков — обеспечение возможности получения биологических образцов для проведения научных исследований. Однако в настоящее время не существует биобанка, который бы предлагал пользователю полноценный интерфейс, позволяющий получить доступ к анноти-

Таблица 1

Сравнительная характеристика некоторых биобанков РФ

Биобанк	Описание	Состав коллекции	Доступ к аннотированной коллекции биобанка	Регистрация пользователя	Оформление запроса		Публикация результатов исследования
ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России (https://gnicpm.ru/scientific-directions/biobank.html)	Сбор и хранение образцов крови и ее производных в ходе крупномасштабных эпидемиологических исследований	Цельная кровь, сыворотка и плазма крови	Ограничен/ по запросу	—	+	—	—
Биобанк Северной Евразии (https://xn--80abala1amre.xn--plai/)	Популяционный биобанк (хранение биообразцов представителей коренных этнических групп)	Образцы ДНК, крови, слюны, тканей, клеток и др.	—	—	+	+	—
ООО "Национальный БиоСервис" (https://nbioservice.com/)	Проекты в области поиска, обработки, анализа и хранения биологических материалов	Производные образцов тканей и биологических жидкостей	Ограничен/ по запросу	+	+	—	—
Веб-репозиторий "БиоВитрина" (Биобанк ИБМХ)	Сбор и хранение биообразцов, аннотирование, обмен результатами исследований	Образцы мочи, сыворотки и плазмы крови, биоптаты тканей	+	+	+	+	+
Национальный банк-депозитарий живых систем "Ноев Ковчег" (https://human.depo.msu.ru/#)	Исследовательский банк-депозитарий биологического материала живых организмов	Биообразцы человека, растений, животных, микроорганизмов	+	+	нет данных	нет данных	—
Биоресурсная коллекция клеточных линий и первичных опухолей (ФГБУ "НМИЦ онкологии им. Н. Н. Блохина" Минздрава России) (https://www.ronc.ru/about/struktura-niiedito/bioresursnaya-kollektsiya-kletochnykh-linii-i-pervichnykh-opukholey/)	Характеризация образцов в соответствии с международными стандартами (молекулярное фенотипирование генетические, исследования и др.)	Опухолевые и неопухолевые клеточные линии, перевиваемые опухолевые штаммы, образцы первичных опухолей и тканей, трехмерные клеточные культуры и гибридные клоны	—	—	—	—	—

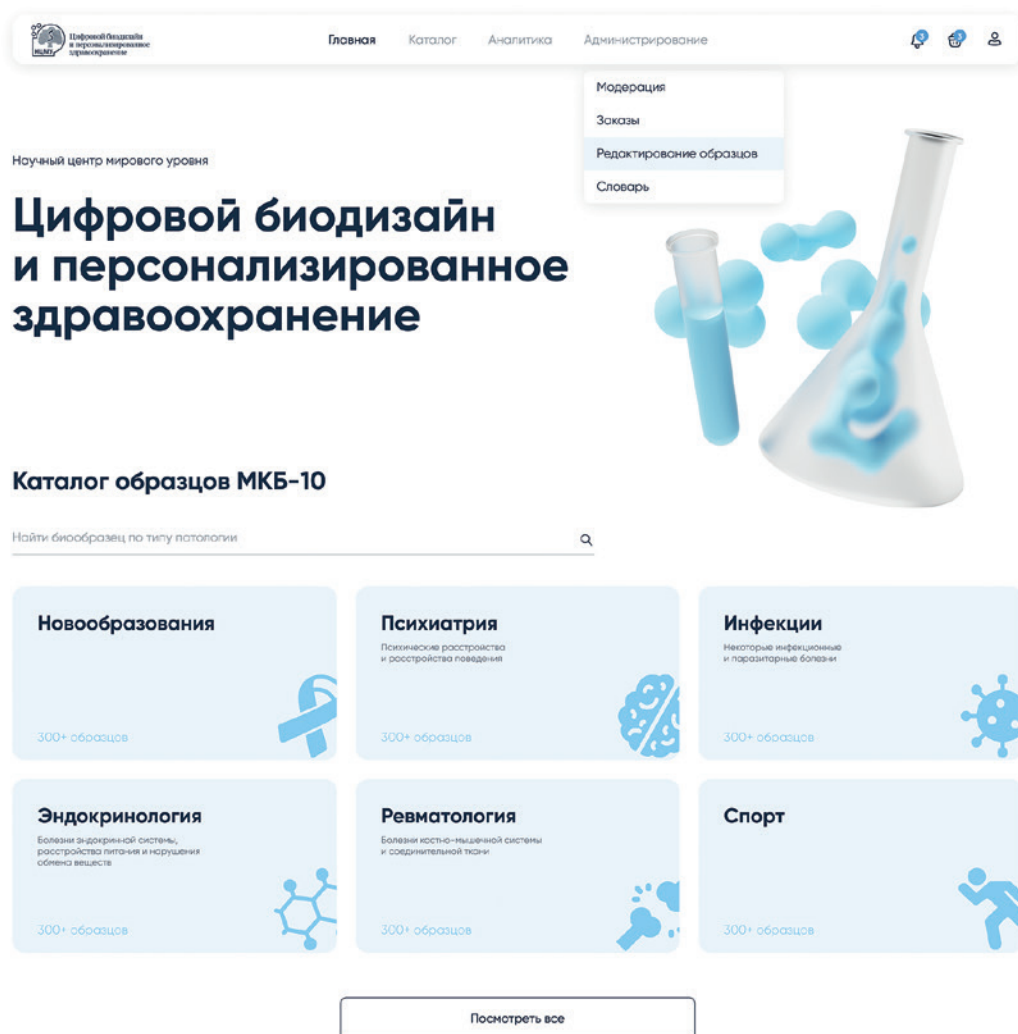
Примечание: ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ИБМХ — ФГБНУ "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича".

рованной информации о биологических образцах, сформировать и получить выборку, отвечающую целям исследования в режиме "онлайн" (таблица 1).

В России многие организации несмотря на то, что располагают редкими и/или уникальными коллекциями, предоставляют ограниченную информацию о сформированных биобанках: чаще всего пользователю известно о наличии биорепо- зитория, но подробной информации о нем в откры- тых источниках нет. К таким организациям мож- но отнести ФГБУ НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова

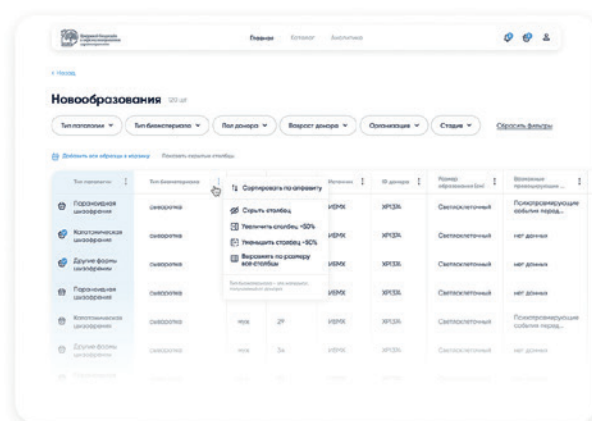
Минздрава России, ФГБУ "НМИЦ кардиологии" Минздрава России, ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России, ФГБУ "НМИЦ онкологии" Минздрава России, ГБУЗ Республи- канский медико-генетический центр и т.д.

При этом, стоит отметить, что в настоящее время актуальным является деятельность, направ- ленная на создание национальной информацион- ной платформы биобанков РФ, объединяющей све- дения о существующих биобанках и данные о био- ресурсных коллекциях [5].



Веб-доступная платформа БиоВитрина сочетает пополняемую базу данных образцов биологического происхождения

А также цифровые сервисы поддержки Пользователя для удобного взаимодействия с предлагаемыми услугами.



*Используется классификация МКБ-10

О проекте Партнеры Контакты

Рис. 1 Каталог биологических образцов в веб-репозитории "БиоВитрина".

Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение

Главная Каталог Аналитика

< Назад

Новообразования 120 шт

Тип патологии ▼ Тип биоматериала ▼ Пол донора ▼ Возраст донора ▼ Организация ▼ Стадия ▼ [Сбросить фильтры](#)

[Добавить все образцы в корзину](#) [Показать скрытые столбцы](#)

Тип патологии	Тип биоматериала	Пол	Возраст	Сортировать по числу		Размер образования (см)	Возможные провоцирующие события перед...
Параноидная шизофрения	сыворотка	муж	29	Скрыть столбец		Светлоклеточный	Психотравмирующие события перед...
Кататоническая шизофрения	сыворотка	муж	34	Увеличить столбец +50%		Светлоклеточный	нет данных
Другие формы шизофрении	сыворотка	муж	53	Уменьшить столбец -50%		Светлоклеточный	нет данных
Параноидная шизофрения	сыворотка	муж	45	Выровнять по размеру все столбцы		Светлоклеточный	нет данных
Параноидная шизофрения	сыворотка	муж	29	Тип биоматериала - это материал, полученный от донора.		Светлоклеточный	нет данных
Кататоническая шизофрения	сыворотка	муж	34	ИБМХ	XP1374	Светлоклеточный	Психотравмирующие события перед...
Другие формы шизофрении	сыворотка	муж	53	ИБМХ	XP1374	Светлоклеточный	нет данных
Параноидная шизофрения	сыворотка	муж	45	ИБМХ	XP1374	Светлоклеточный	нет данных

Рис. 2 Аннотации биологических образцов, представленных в каталоге на примере заболеваний группы "Новообразования".

В рамках проекта Научного центра мирового уровня "Цифровой биодизайн и персонализированное здравоохранение" на базе Научно-исследовательского института биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича (ИБМХ) активно разрабатывается и внедряется инновационный веб-доступный репозиторий "БиоВитрина".

"БиоВитрина" сочетает эффективные инструменты для цифровизации и управления биообразцами, а также способствует формированию обширного кооперативного пространства для обмена знаниями и опытом между различными научно-исследовательскими учреждениями. К основным преимуществам веб-репозитория относятся возможность:

- формирования выборки биообразцов для планирования исследовательской работы и оформления запроса на ее получение;

- надежного хранения и систематизации результатов аналитических измерений.

В настоящей статье более подробно рассмотрим концепцию и функциональные возможности платформы, а также перспективы повышения качества научных исследований и кооперации между различными медико-биологическими учреждениями.

Материал и методы

Набор инструментов, использованных при разработке репозитория, включал базу данных с открытым исходным кодом PostgreSQL версия 12 (<https://www.postgresql.org/about/news/postgresql-12-released-1976/>), высокоуровневый язык программирования общего назначения Python версия 3.8 (<https://www.python.org/downloads/release/python-380/>), свободную программную платформу Django версия 3.2.7 для веб-приложений на языке Python (<https://www.djangoproject.com/>), программную платформу JavaScript для создания приложений Angular 12.2.13, программное обеспечение для создания веб-сервера Nginx (версия ИБМХ), открытую платформу для разработки, доставки и эксплуатации приложений Docker 3, резидентную систему управления базами данных класса NoSQL с открытым исходным кодом Redis 6.

Дизайн Платформы выполнен в едином графическом стиле. В навигационной панели системы используется цветовая палитра, представляющая градиент цвета от светлого-голубого к темно-голубому. В качестве основного шрифта используется шрифт Gilroy в различных начертаниях.

Результаты

Организация веб-репозитория

Веб-репозиторий "БиоВитрина" предназначен для визуализации информации об имеющихся



[Главная](#)
[Каталог](#)
[Аналитика](#)





[< Назад](#)
[Редактировать инфо](#)

Новообразования

УХ0920

Доступный объем
100мл

Тип патологии
Асинхронный рак почки; опухоль единственной правой почки. Рак левой почки.

ID донора
ММА-1354



Доставка:

Доступен самовывоз по адресу организации: Москва, ул. Погадинская, д. 10, стр. 8

Добавить в корзину

Сохранить изменения

Общая информация

Тип биоматериала	белок
Пол	мужской
Возраст	29 лет
Рост	180 см
Вес	88 кг

Сведения о ранее выполненных с данным биообразцом лабораторных и вычислительных экспериментов

Психиатрический эпизод болезни	1
Наследственность	Отягощена
Сопутствующие заболевания	Расстройство вегетативной (автономной) нервной системы с преобладающим нарушением ритма. Лазная хорда в левом желудочке. Хронический гастрит, вне обострения. Хронический бронхит, вне обострения
Черепно-мозговые травмы (в течение жизни)	Закрытая черепно-мозговая травма без госпитализации в возрасте 21 год
Возраст начала продромальных явлений (инициальный этап)	19
Возраст манифестного приступа	29
Возраст первого обращения за психиатрической помощью	29
Возраст первой госпитализации в психиатрическую больницу	29
Наблюдение/лечение у психиатра в течение жизни	1-2 раза
Социально-профессиональное функционирование (в течение последнего года)	Наличие нарушения функционирования с временным ограничением трудоспособности
Табакоскурение	Продолжает курить
Алкогольные напитки	Обычно не употребляет или не более 1-2 раз в неделю
Общий анализ крови	Без патологии
Общий анализ мочи	Без патологии
Галлюцинации	0
Бред	3
Дезорганизованная речь	2
Патологическое психомоторное поведение	2
Негативные симптомы (ограниченная эмоциональная выразительность или апатия)	0
Нарушение когнитивных способностей	0
Депрессия	0
Мания	0
Сумма	10

Проведенные исследования

Исследование по биообразцу ангиофиброза правой почки	28.07.2022
Исследование по биообразцу ангиофиброза правой почки и ...	16.08.2022

Загрузить результаты исследований

Рис. 3 Страница "Карточка биообразца".

в организации образцов биологического происхождения и сочетает пополняемую базу данных биообразцов, аннотированных по клиническим, антропометрическим и биохимическим показателям.

Платформа имеет модульную структуру и состоит из отдельных функциональных программно-технологических модулей, представляющих собой текст кода на встроенном языке программирования. Все модули веб-репозитория имеют единый механизм управления, контроля безопасности и разграничения доступа пользователей к данным и функционалу.

Навигация пользователя между разделами веб-репозитория осуществляется посредством панели, закрепленной в левой верхней части интерфейса. Навигационная панель содержит в себе перечень всех страниц для быстрого перехода.

На главной станции зарегистрированный Пользователь может ознакомиться с полным каталогом, содержащим сведения о биообразцах. В каталоге биообразцы классифицированы по группам заболеваний согласно международной классификации болезней десятого пересмотра (МКБ-10) (рисунок 1).

Возможности веб-репозитория

Веб-репозиторий "БиоВитрина" предоставляет Пользователю доступ к аннотациям биообразцов, имеющихся в коллекции биобанка, и к результатам аналитических исследований (рисунок 2).

Кроме того, аннотированную информацию о биологическом образце Пользователь может просмотреть на отдельной странице "Карточка биообразца" (рисунок 3).

В случае, если биологический образец был использован в аналитических исследованиях, Пользователь имеет возможность ознакомиться с результатами этих исследований.

Оптимизацию поиска биологических образцов обеспечивают инструменты фильтрации и сортировки. После составления экспериментальной выборки Пользователь может оформить запрос на получение выбранных биообразцов, при этом станет доступна детальная информация о способе их получения.

Биологические образцы предоставляются Пользователям безвозмездно, однако обязательным условием для их получения является последующая публикация результатов экспериментальных исследований в веб-репозитории "БиоВитрина", либо предоставление международного цифрового идентификатора научной публикации (doi), в которой эти результаты представлены.

Помимо реализации интерфейса для Пользователей, веб-репозиторий обеспечивает специфичную функциональность, позволяющую донору ознакомиться с результатами исследований, полученными при использовании его биоматериала. Для этой цели был организован личный кабинет доно-

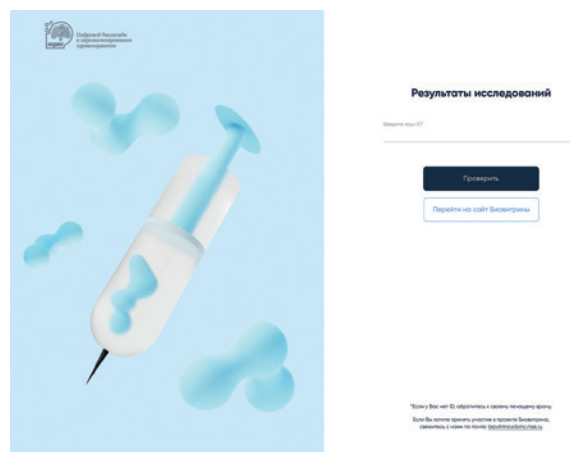


Рис. 4 Интерфейс для получения информации о результатах исследований для донора.

ра, доступ к которому осуществляется при использовании индивидуального идентификационного номера, присвоенного донору при его обращении в медицинское учреждение (рисунок 4). Такой механизм обеспечивает хранение данных в платформе в анонимизированном виде, сохраняя доступность этих данных для донора и его лечащего врача.

По желанию держателей биобанков предусмотрена возможность внутренней регистрации организации на платформе веб-репозитория. Это открывает доступ сотрудникам биобанка к полному функционалу веб-репозитория, а также обеспечивает возможность представления на платформе "БиоВитрина" собственной биоресурсной коллекции. При этом мониторинг заказов и процедур, связанных с образцами, возлагается на представителей организации-держателя биобанка.

Пополнение базы данных

Процесс пополнения репозитория новыми биологическими образцами осуществляется посредством загрузки файлов в формате "xls". В этом контексте требуется, чтобы загружаемый файл содержал сведения, характеризующие каждый биообразец. Предварительно сведения, содержащиеся в файле, необходимо добавить в раздел "Модерация словарей". Сведения о новом биообразце ранжированы на обязательные: "патология", "тип биоматериала", "пол", "возраст", "организация", "уникальный код" (barcode), "количество образца" и дополнительные: клинические, биохимические, социо-демографические данные и проч.

Кроме того, в разделе "Модерация словарей" Пользователи имеют возможность удалять или редактировать сведения, характеризующие биологический образец. Этот подход позволяет настраивать систему в соответствии с аннотациями, предоставленными клиническими партнерами при получении биоматериала.

Доступность платформы

На сегодняшний день платформа предоставляет возможность регистрации всех заинтересованных лиц на сайте <https://bb.ibmс.msk.ru>. Для этого необходимо заполнить форму регистрации, в которой указываются данные об организации или Пользователе. Для обеспечения безопасности и аутентификации пользователей, процедура регистрации подвергается надлежащей проверке.

После этого заявка на регистрацию подтверждается со стороны администрации веб-репозитория. Данный этап обеспечивает контроль и учет организаций, участвующих в экосистеме "БиоВитрина".

В целом, открытый веб-репозиторий "БиоВитрина" является важным инструментом для поддержания научных исследований, способствует обмену знаниями, сотрудничеству и координации между научными организациями и их сотрудниками, что способствует созданию более открытой и устойчивой среды для научных исследований.

Заключение

Цифровизация научных процессов становится все более важной составляющей современной научной практики. "БиоВитрина" разработана с целью оптимизации инфраструктуры биобанков организаций и обеспечения доступности информации об имеющихся у них биоресурсных коллекций. Это позволит решить множество вопросов, связанных с использованием различных типов биоматериала, как в исследовательских, так и в клинических целях в области персонализированной биомедицины.

Отношения и деятельность. Работа выполнена в рамках проекта по созданию и развитию научных центров мирового уровня "Цифровой дизайн и персонализированное здравоохранение" при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № 075-15-2022-305).

Литература/References

1. Gutor CS, Englevskij NA, Prokudina DV, et al. Bank biologicheskogo materiala: informacionnoe soprovozhdenie i fizicheskoe voploshchenie. Vrach i informacionnye tekhnologii. 2013;4:31-9. (In Russ.) Гутор С. С., Энглевский Н. А., Прокудина Д. В. и др. Банк биологического материала: информационное сопровождение и физическое воплощение. Врач и информационные технологии. 2013;4:31-9.
2. Jang TH, Park SC, Yang JH et al. Cryopreservation and its clinical applications. Integrative Medicine Research. 2017;6(1):12-8. doi:10.1016/j.imr.2016.12.001.
3. Lehmann S, Guadagni F, Moore H, et al. International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER) Working Group on Biospecimen Science. Standard preanalytical coding for biospecimens: review and implementation of the Sample PRE-analytical Code (SPREC). Biopreserv Biobank. 2012;10(4):366-74. doi:10.1089/bio.2012.0012.
4. Mitchell C, Gramatiuk S, Sarkisian T, et al. Biobanking IT Systems, Database Structure and Web Applications. In: Sargsyan K, Hupertz B, Gramatiuk S, ed. Biobanks in Low- and Middle-Income Countries: Relevance, Setup and Management. Springer, Cham. 2022. pp. 81-89. doi:10.1007/978-3-030-87637-1_12.
5. 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.

Особенности формирования клинической аннотации биообразцов

Копылова О. В., Ершова А. И., Борисова А. Л., Метельская В. А., Драпкина О. М.

ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России.
Москва, Россия

Одной из технологий, которая способствует преодолению проблемы низкой воспроизводимости научных исследований, является биобанкирование, которое подразумевает соблюдение строгих стандартов качества на всех этапах работы с биообразцами. Помимо информации о биообразце (подробного документирования всех особенностей его получения, транспортировки, пробоподготовки и последующего хранения), одним из ключевых моментов является наличие ассоциированной с биообразцом информации о доноре (пациенте). Целью настоящей статьи был анализ подходов к формированию клинической аннотации биообразцов, объединению данных из различных биобанков и оценка возможностей использования для этого электронных медицинских карт и других современных технологий. Поиск публикаций проводился в базах данных PUBMED, eLIBRARY.RU, РИНЦ. Одним из подходов к созданию клинической аннотации является целенаправленный сбор информации специально обученным сотрудником — первичная информация чаще всего берется из индивидуальных карт участника исследования, которые разрабатываются и утверждаются при планировании научной работы. Альтернативным методом является использование электронных историй болезни и других документов, в которые естественным образом собирается информация в процессе обследования и лечения пациентов. Существуют также смешанные формы сбора клинической информации — ярким примером является биобанк Великобритании. Полнота, структурированность и стандартизация являются важнейшими характеристиками клинической аннотации, ассоциированной с биообразцами. В настоя-

щее время разрабатываются различные стандарты, позволяющие унифицировать представление клинической аннотации, сделать биобанки и коллекции более "видимыми" для сторонних исследователей и организаций, что необходимо для сотрудничества и более эффективного и интенсивного использования хранящихся биообразцов. Гармонизация методологии клинического аннотирования между различными биобанками открывает широкие горизонты для проведения крупномасштабных исследований в сфере персонализированной и трансляционной медицины.

Ключевые слова: клиническая аннотация, биообразцы, биобанк, биобанкирование, электронные истории болезни, электронные медицинские карты.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 13/11-2023

Рецензия получена 21/11-2023

Принята к публикации 21/11-2023



Для цитирования: Копылова О. В., Ершова А. И., Борисова А. Л., Метельская В. А., Драпкина О. М. Особенности формирования клинической аннотации биообразцов. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3855. doi:10.15829/1728-8800-2023-3855. EDN RKVUZC

Specifics of creating clinical abstract of biospecimens

Kopylova O. V., Ershova A. I., Borisova A. L., Metelskaya V. A., Drapkina O. M.
National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow, Russia

One technology that helps overcome the problem of low research reproducibility is biobanking, which involves maintaining strict quality standards at all stages. In addition to data on the biosample (detailed documentation on sampling, transportation, preparation and subsequent storage), one of the key points is the availability of information about the donor (patient). The aim of this article was to analyze creating clinical abstract of biospecimens, combining data from various biobanks and assessing the possibilities of electronic medical records and other modern technologies for this. The search for publications was carried out in the PUBMED, eLIBRARY.RU, RSCI databases. One approach to creating a clinical description is the targeted collection of information by a specially trained employee.

Primary information is most often taken from the individual records of the study participant, which are developed and approved when planning work. An alternative method is the use of electronic medical records and other documents that collect information during the assessment and treatment of patients. There are also mixed types of clinical data collection, a prime example of which is the UK Biobank. Completeness, structure, and standardization are essential characteristics of clinical description associated with biospecimens. Various standards are currently being developed to unify clinical description, making biobanks and collections more available to external researchers and organizations, which is necessary for collaboration and more efficient use of stored biospecimens. Harmonization of clinical description

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: sivoksana@yandex.ru

[Копылова О. В.* — к.м.н., с.н.с. лаборатории клиномики, ORCID: 0000-0001-5397-5387, Ершова А. И. — д.м.н., зам. директора по фундаментальной науке, руководитель лаборатории клиномики, ORCID: 0000-0001-7989-0760, Борисова А. Л. — ведущий инженер лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0003-4020-6647, Метельская В. А. — д.б.н., профессор, г.н.с. лаборатории биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0001-8665-9129, Драпкина О. М. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430].

methodology between different biobanks open up broad boundaries for large-scale research within personalized and translational medicine.

Keywords: clinical abstract, biospecimens, biobank, biobanking, electronic medical records.

Relationships and Activities: none.

Kopylova O.V.* ORCID: 0000-0001-5397-5387, Ershova A.I. ORCID: 0000-0001-7989-0760, Borisova A.L. ORCID: 0000-0003-4020-6647, Metelskaya V.A. ORCID: 0000-0001-8665-9129, Drapkina O.M. ORCID: 0000-0002-4453-8430.

*Corresponding author:
sivoksana@yandex.ru

Received: 13/11-2023

Revision Received: 21/11-2023

Accepted: 21/11-2023

For citation: Kopylova O.V., Ershova A.I., Borisova A.L., Metelskaya V.A., Drapkina O.M. Specifics of creating clinical abstract of biospecimens. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11): 3855. doi:10.15829/1728-8800-2023-3855. EDN RKVUZC

СГХС — семейная гиперхолестеринемия, МИС — медицинская информационная система, МКБ — международная классификация болезней, ЭМК — электронные медицинские амбулаторные карты, ЭИБ — электронные истории болезни, ВСБА — Brain Cancer Biobanking Australia (Биобанкирование материала пациентов с онкологическими заболеваниями головного мозга), BRISQ — Biospecimen Reporting for Improved Study Quality (Правила описания биообразцов для улучшения качества научных исследований), eMERGE Network — The Electronic Medical Records and Genomics Network (Сеть электронных медицинских карт и геномики), FHIR — Fast Health Interoperability Resources (Ресурсы быстрого взаимодействия в сфере здравоохранения), FSN — fully specified name (полностью определенное имя), GWAS — Genome-wide association studies (полногеномные исследования ассоциаций), LOINC—Logical Observation Identifiers Names and Codes (Имена и коды идентификаторов логических наблюдений), MIABIS — The Minimum Information About Biobank data Sharing (Минимальная информация об обмене данными биобанка), PheWAS — Phenome-wide association studies (полногеномные исследования ассоциаций), SNOMED-CT — Systemized Nomenclature of Medicine—Clinical Terms (Систематизированная номенклатура в медицине — клинические термины).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Ценность биообразцов, хранящихся в биобанке, возрастает при увеличении объема качественных стандартизированных данных, ассоциированных с биообразцами.
- Обширная и качественно собранная клиническая аннотация биообразцов является одним из ключевых моментов при проведении исследований, направленных на поиск новых методов профилактики, диагностики и лечения различных заболеваний.

Что добавляют результаты исследования?

- Существуют различные методы формирования клинической аннотации биообразцов.
- Использование стандартов при создании клинической аннотации биообразцов открывает возможности для сотрудничества между биобанками на национальном и международном уровне с целью проведения крупномасштабных исследований в сфере трансляционной и персонализированной медицины.

Key messages

What is already known about the subject?

- The value of biospecimens stored in a biobank increases with the volume of quality standardized biosample-related data.
- Extensive and high-quality collected clinical description of biospecimens is one of the key points in research aimed at finding novel methods for the prevention, diagnosis and treatment of various diseases.

What might this study add?

- There are various methods for creating clinical data on biospecimens.
- The use of standards in the clinical description of biospecimens opens up opportunities for collaboration between biobanks to conduct large-scale translational and personalized medicine research.

Введение

Количество биомедицинских исследований, проводимых с использованием биообразцов, с каждым годом возрастает [1]. При этом одной из важных проблем является недостаточная воспроизводимость результатов подобных исследований. Так, в 2011г исследователям из компании Amgen, несмотря на полное соблюдение описанной в оригинальных статьях методики, удалось воспроизвести только 6 из 53 (т.е. всего 11%) крупных исследований, результаты которых были опубликованы в высокорейтинговых журналах, что чрезвычайно мало [2]. Это и подобные ему исследования способствовали интенсификации поиска путей повышения воспроиз-

водимости научно-медицинских исследований с использованием биообразцов.

Одной из технологий, которая способствует преодолению проблемы низкой воспроизводимости, является технология биобанкирования. Согласно российскому глоссарию биобанков Российской Федерации, под биобанком понимается "Организация или подразделение организации, которая может принимать, обрабатывать, хранить и распространять биологические образцы и ассоциированные с ними данные для текущих и будущих исследований, диагностики и терапии в соответствии со стандартными операционными процедурами и включает в себя полный комплекс мероприятий, связанных



Рис. 1 Ключевая роль наличия обширной и качественной клинической аннотации биообразцов в разработке новых профилактических, диагностических и терапевтических подходов.

с его функционированием" [3]. Биобанкирование подразумевает соблюдение стандартов качества на всех этапах работы с биообразцами, а также подробное их описание [4].

Помимо информации о биообразце (подробного документирования всех особенностей преаналитического этапа, включая забор биообразца, транспортировку, пробоподготовку, последующее хранение и извлечение), одним из ключевых моментов является наличие ассоциированной с биообразцом информации о доноре (пациенте) [5]. Подобная информация может включать социально-демографические, антропометрические данные, результаты физикального осмотра, лабораторных и инструментальных исследований, различных опросников и т.п. При прочих равных условиях ценность биообразца возрастает по мере увеличения количества ассоциированных с ним данных, поскольку это позволяет использовать его в большем количестве разнообразных исследований, в т.ч. в сфере трансляционной и персонализированной медицины [5]. Обширная и качественно собранная клиническая аннотация биообразцов является одной из ключевых составляющих при проведении исследований, направленных на поиск новых методов профилактики, диагностики и лечения различных заболеваний (рисунок 1).

К примеру, накопление большого количества качественных данных позволяет проводить масштабные исследования с целью поиска генетической основы различных заболеваний, в т.ч. полногеномные исследования ассоциаций (GWAS — Genome-wide association studies), в которых изучается связь большого количества вариантов нуклеотидной последовательности с определенным состоянием или признаком, также известным как фенотип [6, 7]. В последнее время появилось новое направление — полнофеномные исследования ассоциаций (PheWAS — Phenome-wide association studies), в котором идея GWAS зеркально отражена — в таких исследованиях проводится поиск фе-

нотипов, связанных с конкретным вариантом нуклеотидной последовательности, в диапазоне тысяч фенотипов человека, или "фенома". Ключевым для PheWAS является значительное количество данных, включающих широкий спектр фенотипов, выявленных у большого числа пациентов [7, 8].

Наличие больших объемов биообразцов с обширной качественной клинической аннотацией, включающей не только стандартные клинические данные, но и, например, результаты визуализирующих, генетических исследований открывает возможности для получения новых научных знаний с применением технологий искусственного интеллекта [9, 10].

Настоящая статья представляет собой обзор литературы по вопросам особенностей формирования клинической аннотации биообразцов, возможностям использования с этой целью электронных медицинских карт (ЭМК) и других современных подходов.

Методологический подход

Поиск публикаций проводился в базах данных PUBMED, eLIBRARY.RU, РИНЦ с использованием ключевых слов: клиническая аннотация биообразцов (biospecimen clinical annotation), биобанк и клиническая аннотация (biobank and clinical annotation), электронные медицинские карты (electronic medical records), электронные истории болезни (electronic health records), технологии клинического аннотирования (clinical annotation technologies), биобанк и индивидуальная регистрационная карта (biobank and case report form), стандарты клинического аннотирования (clinical annotation standards), обмен информации между биобанками (exchange of information between biobanks), интеграция информации коллекций биообразцов (integration of information across sample collections). Из 173 отобранных источников в анализ вошло 40 публикаций, включая литературные обзоры, оригинальные статьи, метаанализы. Глубина поиска составила 10 лет: 2013–2023 гг. В обзоре так-

же представлены источники, опубликованные ранее 2013г, если в них содержится ценная информация, касающаяся данной темы.

Результаты и обсуждение

Подходы к созданию клинической аннотации биообразцов, используемых для научных исследований

Одним из классических подходов к созданию клинической аннотации биообразцов, используемых для научных исследований, является целенаправленный сбор клинической и других видов информации специально обученным сотрудником — первичная информация чаще всего берется из индивидуальных регистрационных карт участника исследования [11]. Такие карты разрабатываются и утверждаются при планировании исследования. Сбор данных может осуществляться как на бумажный носитель (анкеты, опросники, различные виды медицинских карт), так и в электронном виде (чаще всего с использованием специально созданных форм сбора информации, в т.ч. в случае многоцентрового исследования — с использованием сети Интернет и внесением данных в деперсонализированном виде) [11]. При любом варианте в последующем информация обрабатывается таким образом, чтобы была сформирована база данных, пригодная для статистического анализа. Такой метод широко распространен, но сопряжен с рядом ограничений: нередко ввод данных осуществляется сотрудником, не принимающим непосредственное участие в ведении пациента, могут возникать ошибки при переносе данных [5, 12]. Примером широкого использования подобного подхода к сбору информации может служить биобанк Люксембурга, в сферу услуг которого помимо сбора биообразцов из крупнейших клиник страны входит создание так называемых "индивидуальных карт пациента" (Case Report Form, CRF)¹. Подобный метод сбора информации часто используется при проведении различных популяционных исследований, когда изучается отобранная по специальной методике представительная выборка населения. Примером российских исследований, проводимых по данной технологии, являются три этапа крупного эпидемиологического проекта ЭССЕ-РФ (Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации) [13].

Manders P, et al. разработали 3-ступенчатый алгоритм выбора клинических данных, необходимых для регистрации при биобанкировании [14, 15].

В качестве первого этапа предлагается определение сферы планируемого научного исследования. При этом выделяют пять основных сфер. Первой из них является изучение терапевтических подхо-

дов, в т.ч. подбор персонифицированных вариантов лечения в зависимости от выявляемых у пациента уровней биологических маркеров. Второй сферой является профилактика — поиск и совершенствование превентивных подходов. Третья сфера — это диагностика — изучение новых биомаркеров, позволяющих улучшить выявляемость, способствующих более точной постановке диагноза, уточняющих существующие классификации болезней. Четвертая сфера подразумевает изучение прогноза — поиск путей его улучшения и оценка прогностической значимости различных биомаркеров. Пятая сфера — это изучение этиологии того или иного заболевания — постижение механизмов развития и течения патологии [14, 15].

Вторым этапом является выделение основных категорий и подкатегорий информации, необходимой для проведения данного конкретного исследования. В частности, авторы выделяют такие категории, как "идентификация донора" (номер и демографическая информация), "характеристика заболевания" (диагноз, анамнез, результаты обследований и т.п.), "факторы риска" (образ жизни, факторы окружающей среды, семейный анамнез и т.п.), "терапия" (информация о лечении основного заболевания и сопутствующей терапии) и "течение и исход заболевания" (информация о степени тяжести, эффективности лечения и т.п.).

Третий этап — это создание эффективной структуры данных биобанка, которое подразумевает критическую оценку выбранных параметров с целью их оптимизации и при необходимости сокращения [14, 15].

Еще одним вариантом получения клинических и других видов данных является использование ЭМК, электронных историй болезни (ЭИБ) и других документов, в которые естественным образом собирается информация в процессе обследования и лечения пациентов [5]. Данный вариант стал возможен в последние десятилетия благодаря широкому распространению компьютерной техники и массовому переходу медицинских учреждений к электронным вариантам создания и хранения записей при оказании помощи пациенту в рамках так называемых медицинских информационных систем (МИС). Преимуществами такого подхода является широкий спектр получаемых данных (обычно в ЭМК и ЭИБ поступает вся основная клинически значимая информация о пациенте), проспективный характер имеющейся информации (данные о повторных визитах или госпитализациях, в т.ч. на протяжении длительного времени), большая точность информации (обычно ЭМК и ЭИБ заполняются медперсоналом, непосредственно участвующим в лечении пациента), отсутствие ошибок, связанных с переносом данных, более низкая стоимость создания клинической аннотации и др. В то же время существует ряд огра-

¹ Integrated Biobank of Luxembourg (IBBL). <https://www.lih.lu/en/translational-medicine/translational-medicine-operations-hub/integrated-biobank-of-luxembourg-ibbl/>.



Рис. 2 Развитие трансляционной геномики опирается на исследования всего генома и фенома. Прогресс зависит от наличия ресурсов и от аналитических методов и инструментов, позволяющих извлечь пользу из этих ресурсов. Крупномасштабные исследования с использованием новых технологий, основанных на объединении информации из ЭМК и ЭИБ с геномными данными могут привести к совершенствованию оказания медицинской помощи (адаптировано из [8]).

Примечание: GWAS — полногеномный поиск генетических ассоциаций, PheWAS — полнофеномный поиск генетических ассоциаций, е-фенотипирование — фенотипирование на основе данных, хранящихся в электронном виде, ЭМК — электронные медицинские карты, ЭИБ — электронные истории болезни.

ничений, которые необходимо учитывать при использовании данного метода: объем информации для разных пациентов может существенно различаться, длительность наблюдения также может значительно варьировать, неизбежным является смещение выборки — за медицинской помощью более тяжелые больные обращаются чаще, обычно отсутствует четкая стандартизация диагностических и лечебных процедур, проводимых различными операторами и врачами, отсутствует рандомизация и др. [5].

Интересным является опыт создания специальных некоммерческих ресурсов, в т.ч. на государственном уровне, призванных оптимизировать и структурировать деперсонифицированные биомедицинские данные, поступающие из ЭМК и ЭИБ медицинских учреждений страны, с возможностью предоставления их различным исследовательским группам страны для ускорения научных исследований, что, к примеру, уже реализовано в Австралии².

² Connecting health information. <https://www.biogrid.org.au/>.

Массив данных, доступных в ЭМК и ЭИБ, обеспечивает более обширную и потенциально более детальную информацию о состоянии здоровья пациентов по сравнению с той, которую получают в большинстве когортных клинических исследований [8]. Например, результаты лабораторных и инструментальных исследований, консультации врачей разного профиля, эпикризы предоставляют объективные данные, позволяющие определить обоснование диагноза, стадию заболевания и другие показатели. Кроме того, доступность длительного наблюдения дает возможность изучения взаимосвязи факторов риска и заболеваний на протяжении жизни человека.

Недавние достижения в области генетических технологий и широкое использование данных ЭМК и ЭИБ ускорили развитие геномной медицины, привнеся многообещающие результаты исследований генома в клиническую практику. Данные генома и фенома, связанные с ЭМК и накопленные для больших популяций благодаря технологиям биобанкирования,

позволяют изучать генетические вариации в масштабе всего фенома (рисунок 2). Так, совмещение данных ЭМК и ЭИБ с результатами секвенирования соответствующих биообразцов от 50726 пациентов, хранящихся в биобанке, дало возможность изучить влияние генетических вариантов, связанных с семейной гиперхолестеринемией (СГХС), на вероятность развития ишемической болезни сердца в молодом возрасте, которая оказалась в 3,7 раза выше у носителей вариантов, ассоциированных с СГХС [16]. Примечательно, что лишь 25% носителей данных вариантов соответствовали клиническим критериям постановки диагноза СГХС. Это исследование стало возможным только благодаря наличию многолетних данных, хранящихся в ЭМК, и генетическому анализу биообразцов, хранящихся в биобанке [16].

Проект "eMERGE Network" (The Electronic Medical Records and Genomics Network, сеть электронных медицинских карт и геномики), инициированный в 2007г, сфокусирован на изучении возможностей, которые дает объединение данных МИС медицинских учреждений с ресурсами биобанков и биорепопозитория, предоставляющих биообразцы для проведения генетических исследований [17]. С момента основания проект прошел несколько этапов, в рамках которых были проведены работы по таким направлениям, как клиническое аннотирование генетических вариантов, фармакогеномика, интеграция медицинских и генетических результатов в МИС в клинических центрах, изучение распространенных и редких генетических вариантов, развитие научно-обоснованных методов фенотипирования с использованием данных из МИС с целью создания выборок для исследований, изучение влияния получаемых в рамках проекта генетических данных на различные аспекты оказания медицинской помощи пациенту, исследование юридических, этических и социальных особенностей интеграции генетических данных с ЭМК и ЭИБ [5, 17]. В частности, именно в рамках проекта eMERGE впервые был разработан метод PheWAS, а в 2013г был создан каталог PheWAS, процитированный к 2020г >300 раз [18, 19]. Анализ данных и идентификация обобщенных признаков (фенотипа) того или иного заболевания могут занимать довольно продолжительное время. Всю информацию, содержащуюся в МИС, подразделяют на дискретные данные (представленные заранее предопределенными структурированными значениями, например, дата рождения, пол, код диагноза согласно международной классификации болезней, МКБ), а также большое количество другой, менее структурированной информации, часто в виде текста в свободном формате. Сеть eMERGE разработала и внедрила алгоритмы обработки информации на основе ЭМК и ЭИБ для различных фенотипов [20, 21]. Для извлечения клинической информации из текстового формата и об-

легчения идентификации фенотипа применяются различные стандарты представления данных (часть из них описаны ниже): SNOMED-CT (Systemized Nomenclature of Medicine — Clinical Terms, систематизированная номенклатура в медицине — клинические термины), CPT (Current Procedural Terminology, современная терминология процедур), LOINC (Logical Observation Identifiers Names and Codes, имена и коды идентификаторов логических наблюдений), FHIR (Fast Health Interoperability Resources, ресурсы быстрого взаимодействия в сфере здравоохранения) и др., а также системы обработки естественного языка, например, "MedLEE", "MetaMap", "KnowledgeMap" и "cTAKES" [22-24]. Подобный подход позволяет успешно проводить анализ данных как в рамках одного клинического центра, так и в многоцентровых исследованиях, даже при наличии различий в клинической практике между разными учреждениями [20, 24].

Существуют и смешанные варианты создания клинической аннотации биообразцов, объединяющие оба указанных выше подхода. Ярким примером реализации такого смешанного варианта является Биобанк Великобритании (UK Biobank), который включает биоматериал и информацию от ~500 тыс. доноров³. При включении в исследование заполняется целый пул опросников и форм на каждого участника, при этом клиническая аннотация постоянно пополняется благодаря сопряжению с ЭМК национальной системы здравоохранения Великобритании. Кроме того, к клинической аннотации добавляются данные, получаемые в рамках проводимых научных работ — генетическая информация, данные, полученные с помощью высокотехнологичных методов исследования (магнитно-резонансная и мультиспиральная компьютерная томография) и многое другое. Подобный подход позволяет анализировать и проводить исследования в совершенно различных направлениях поиска новых ассоциаций биомаркеров, факторов окружающей среды, образа жизни с развитием того или иного заболевания, выявления предикторов заболеваний и т.п. [25-27].

Стандарты, затрагивающие вопросы клинического аннотирования биообразцов

Учитывая наличие проблемы недостаточной воспроизводимости результатов научных исследований, ряд организаций и консорциумов опубликовали различные стандарты и рекомендации, посвященные аннотированию биообразцов и правилам изложения при публикации результатов исследований.

В 2011г были опубликованы рекомендации BRISQ (Biospecimen Reporting for Improved Study Quality, Правила описания биообразцов для улучшения качества научных исследований) [28, 29]. В этих рекомендациях, помимо описания основных харак-

³ UK Biobank. <https://www.ukbiobank.ac.uk/>.

теристик получения и хранения самого биообразца в соответствии с его жизненным циклом, содержится часть, посвященная клинической аннотации биообразцов. Все элементы по степени важности распределены на 3 группы — обязательные к описанию, рекомендуемые (полезные) и дополнительные. Диагноз, витальный статус и клинические данные пациентов относятся к характеристикам, обязательным к описанию. К рекомендуемым характеристикам исследователи относят демографическую информацию, а также время между постановкой диагноза и взятием биообразца. Дополнительными параметрами клинической аннотации, согласно рекомендациям BRISQ, являются стадия заболевания (например, острая или хроническая), время относительно приема лекарственной терапии, различные виды терапии, которые могут повлиять на биообразцы (например, химио- или лучевая терапия, внутривенные инфузии), статус курения, репродуктивный статус [28].

В литературе представлен ряд рекомендаций, разработанных для конкретных патологий или видов исследований. Например, рекомендации REMARK (Reporting Recommendations for Tumor Marker Prognostic Studies, Рекомендации по представлению данных исследований прогностических опухолевых маркеров) среди прочего содержат такие характеристики, как стадия заболевания, клинические показатели, специфичные для изучаемого заболевания и влияющие на прогноз (в т.ч. в сравнении с изучаемым маркером) и сопутствующие диагнозы [30]. Рекомендации TRIPOD (Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis, четкое представление многомерной модели прогнозирования для индивидуального прогнозирования или диагностики) направлены на стандартизацию при проведении исследований в сфере прогнозирования и содержат 22 элемента; в частности, рекомендуется тщательное описание клинических данных каждого пациента и методов его лечения [31].

Отдельной задачей является объединение усилий различных биобанков при проведении крупномасштабных исследований по различным направлениям. Фактически многие биобанки обладают огромным количеством образцов, которые используются недостаточно, но потенциально представляют собой "золотую жилу" для самых разнообразных научных проектов и коллабораций, при условии, что информация об их наличии станет доступной и видимой для различных исследовательских групп [32, 33]. Предпосылкой для сотрудничества является возможность комплексного поиска и доступа к фенотипической, клинической и другой информации об образцах, которые в настоящее время хранятся в биобанках. Однако проблемы конфиденциальности, наряду с отсутствием согласованных словарей и гетерогенными информационными

системами, приводят к значительным сложностям при поиске образцов в разных биобанках [34].

С целью унификации информации при обмене данными между биобанками в 2012г был инициирован проект MIABIS (The Minimum Information About BioBank data Sharing, Минимальная информация об обмене данными биобанка), в рамках которого предложены 52 характеристики, необходимые для описания как биобанка, так и конкретной коллекции [32]. При описании коллекции часть характеристик посвящена особенностям исследования, в рамках которого данная коллекция собрана (например, "случай-контроль", когортное или популяционное исследование и др.); относительно клинической аннотации выделены такие характеристики, как минимальный, средний и максимальный возраст доноров коллекции, основной диагноз и сопутствующие заболевания. Также рекомендуется предоставление информации о дополнительных медицинских данных, доступных для данной коллекции. Кроме того, в случае уже имеющихся результатов научных исследований, проведенных на биообразцах из конкретной коллекции, рекомендуется предоставить информацию о том, какие "омиксные" данные доступны (например, данные исследования генома, транскриптома, протеома, метаболома и т.п.) [32]. В расширенной обновленной версии MIABIS представлены не только рекомендуемые правила описания на уровне биобанков и коллекций, но также и на уровне биообразцов и доноров биоматериала [35]. В частности, относительно доноров биообразцов составлен предустановленный список вариантов описания, ассоциированных с ним данных и биообразцов: вид биообразцов, данные опросников, изображений, пол, национальность, данные из медицинских карт, национальных регистров, генеалогические данные, информация из патологоанатомических подразделений, физиологические или биохимические измерения, психологические данные и др.; рекомендован формат отображения даты рождения, как гггг-мм-дд [35]. Подчеркивается важность не только ассоциированного с каждым биообразцом диагноза с указанием кода из МКБ, но также временной шкалы событий (даты, возраста пациента в момент развития события) [35].

Полезным представляется опыт консорциума "Биобанкирование материала пациентов с онкологическими заболеваниями головного мозга" (Brain Cancer Biobanking Australia, BCBA), созданного с целью объединения усилий биобанков по всей Австралии, специализирующихся на онкологических, в т.ч. редких патологиях головного мозга у взрослых и детей. Для унификации клинических данных, ассоциированных с биообразцами в разных биобанках страны, был создан специальный "словарь", содержащий стандартизованное описание, структуру и формат для каждого элемента данных и ограничи-

вающий свободный текст во всех возможных случаях, при этом рекомендации по представлению клинических данных сравнивались с другими стандартами, такими как BRISQ и MIABIS [36].

Рабочая группа консорциума BCVA выделила 5 категорий клинических данных: демографическая информация, клинические и радиологические диагнозы, информация о выполненных хирургических вмешательствах, установленный при нейропатологическом исследовании диагноз, методы лечения пациента и данные, получаемые в ходе дальнейшего наблюдения пациента [36]. В каждой из категорий выделены наиболее важные обязательные данные (включают информацию, которая может быть собрана большинством биобанков), рекомендуемые к описанию (включают информацию, которая может повысить ценность потенциальных научных исследований) и расширенные (включают практически всю клиническую информацию, полученную при обследовании и лечения пациента и потенциально важную для проведения исследований в сфере персонализированной медицины). Например, обязательными общими данными о больном являются идентификаторы пациента, дата рождения, пол, возраст при постановке диагноза, рекомендуемыми — фамилия лечащего врача, расширенными — национальность пациента. В отношении диагноза обязательными являются: дата постановки диагноза, первичный источник опухоли, обоснование диагноза, дата и тип радиологического исследования, наличие наследственных синдромов, гистологический тип опухоли и др.; рекомендуемыми к описанию являются радиологический диагноз и заключение, а расширенными данными считаются все имеющиеся клинические данные, в т.ч. оригинальные изображения компьютерной и магнитно-резонансной томографии в формате DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine, стандарт цифровых медицинских изображений и документов) и т.п. В отношении описания лечения в качестве обязательной выбрана информация о том, получал ли пациент лечение, рекомендуемыми — даты терапии, сведения о том, проводилась ли она до или после операционного лечения, проводилась ли химио- или радиолучевая терапия, осуществлялась ли она в рамках того или иного исследования; в качестве расширенных данных приведены точные даты начала и окончания терапии, режимы дозирования, была ли проведена в полном объеме и, если нет, то по какой причине и т.п. [36].

Динамичное развитие индустрии биобанкирования привело к увеличению количества систем с использованием информационных технологий для управления клиническими и другими данными, связанными с биообразцами. Широкодоступные программные инструменты относятся, в основном, к конкретному биобанку или биоколлекции. Сотрудничество между учреждениями, оснащенными различными системами информационных технологий,

затруднено. Эффективные и универсальные протоколы, включающие подробную информацию о доноре и образце, все еще очень ограничены. В связи с этим Jarczak J, et al. создали и предлагают к использованию специальный размещенный в открытом доступе протокол обмена данными (авторское название BioSCOOP), целью которого является гармонизация и стандартизация правил общения между биобанками на уровне информации о доноре вместе с информацией об образце при решении двух видов задач: обмена информацией между различными биобанками и обеспечения поиска и представления наборов образцов и данных при проведении совместных исследований [37]. Импорт данных в формате BioSCOOP реализован в связанном с ним проекте "Bioface". "Bioface" имеет распределенную архитектуру и представлен как браузер для членов сети биобанков Польши и других биобанков, используемый с целью поиска образцов из различных биобанков и биохранилищ [37, 38]. Кроме того, авторы предложили достаточно подробное стандартизированное описание фенотипических и антропометрических данных (например, индекс массы тела, окружность талии, размеры головы, туловища, конечностей и т.п.). Для описания клинических данных авторы предлагают использование МКБ, а также коллекции медицинских терминов SNOMED CT⁴.

"SNOMED International" — некоммерческая организация, которая владеет, управляет и развивает SNOMED CT — базу стандартизированных медицинских терминов, включая разработку стандартов кодифицированного языка, который представляет группы клинических терминов и поддерживает представление подробной клинической информации таким образом, чтобы ее можно было обрабатывать автоматически. В настоящее время база доступна на английском и испанском языках и используется во многих странах мира⁴. Основными типами компонентов в данной системе являются "концепты", "описания" и "отношения". Логическая модель определяет способ связи и представления каждого типа компонентов. Каждый "концепт" представляет собой уникальное клиническое понятие, которое обозначается с помощью числового идентификатора, обеспечивающего ссылку на это понятие. "Отношения" представляют собой связь между двумя понятиями. "Отношения" используются для логического определения значения понятия таким образом, чтобы его мог обработать компьютер. "Описания" — это удобочитаемые термины, связанные с клиническими понятиями. "Описания" включают такие разновидности, как "полностью определенное имя" (FSN, fully specified name) и "синонимы". FSN — это тип описания, которое однозначно и полностью отражает смысл кли-

⁴ SNOMED CT, the world's most comprehensive clinical terminology. <https://www.snomed.org/>.

нического понятия. Выделяют также "синонимы", которые подразумевают описания, позволяющие выразить одно и то же понятие разными способами, каждый из которых связан с одним и тем же идентификатором понятия⁴. Наиболее частым применением данной системы является стандартизация данных в ЭМК и ЭИБ, необходимая для повышения преемственности медицинской помощи, проведения научно-исследовательских работ и др. [39].

Представляет интерес идентификатор LOINC, который создан для унификации представления данных в ЭИБ, в т.ч. результатов лабораторных и других методов обследования⁵. Идентификатор размещен в открытом доступе и широко используется различными лабораториями. Любой термин в кодификаторе LOINC определяется как комбинация кода LOINC и так называемого "полностью определенного имени" (FSN). FSN состоит из пяти или шести основных частей: названия измеряемого компонента или аналита (например, глюкоза, пропранолол), наблюдаемого свойства (например, концентрация вещества, масса, объем), временного аспекта измерения (например, является ли оно протяженным во времени или мгновенным), типа системы или образца (например, моча, сыворотка), шкала измерения (например, качественный или количественный) и, где уместно, метод измерения (например, радиоиммуноанализ, иммуноферментный анализ). FSN представляет собой комбинацию основных частей и символа двоеточия ":", который действует как разделитель, например: <Аналит/компонент>:<вид свойства наблюдения или измерения>:<временной аспект>:<система (образец)>:<масштаб>:<метод>⁶. Системы SNOMED-CT и LOINC были успешно применены для объединения данных 15 региональных биобанков Кореи, а также широко используются в рамках исследований сети eMERGE и других проектов [23, 40].

⁵ <https://loinc.org/>.

⁶ <https://loinc.org/>.

Литература/References

1. Astrin JJ, Betsou F. Trends in Biobanking: A Bibliometric Overview. *Biopreserv Biobank*. 2016;14(1):65-74. doi:10.1089/bio.2015.0019.
2. Mikhailova AA, Nasykhova YA, 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. Pokrovskaya MS, Sivakova OV, Efimova IA, et al. Biobanking as a necessary tool for research in the field of personalized medicine in the scientific medical center. *Per Med*. 2019;16(6):501-9. doi:10.2217/pme-2019-0049.
4. Begley CG, Ellis LM. Raise standards for preclinical cancer research. *Nature*. 2012;483(7391):531-3. doi:10.1038/483531a.
5. Kopylova OV, Ershova AI, Efimova IA, et al. Electronic medical records and biobanking. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3425. (In Russ.) Копылова О. В., Ершова А. И., Ефимова И. А. и др. Электронные истории болезни и биобанкирование. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3425. doi:10.15829/1728-8800-2022-3425.
6. Manolio TA. Genomewide Association Studies and Assessment of the Risk of Disease. Feero WG, Gutmacher AE, eds. *N Engl J Med*. 2010;363(2):166-76. doi:10.1056/NEJMr0905980.
7. Bastarache L, Denny JC, Roden DM. Phenome-Wide Association Studies. *JAMA*. 2022;327(1):75. doi:10.1001/jama.2021.20356.
8. Linder JE, Bastarache L, Hughey JJ, Peterson JF. The Role of Electronic Health Records in Advancing Genomic Medicine. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2021;22:219-38. doi:10.1146/annurev-genom-121120-125204.

В 1987г была основана международная некоммерческая организация по разработке стандартов для обмена, интеграции, совместного использования и поиска электронной медицинской информации (Health Level Seven International, HL7)⁷. "Level Seven (седьмой уровень)" относится к 7-уровневой модели связи Международной организации по стандартизации (ISO) для взаимодействия открытых систем — уровень применения и внедрения. Среди прочего организацией разработан стандарт FHIR, который предназначен для обмена информацией, связанной со здравоохранением (клинические и административные данные, информация из научных исследований и др.). HL7 поддерживают >1600 участников из >50 стран⁷.

Заключение

Таким образом полнота, структурированность и стандартизация относятся к важнейшим характеристикам клинической аннотации, ассоциированной с биообразцами. Основными методами составления клинической аннотации являются использование индивидуальных регистрационных карт пациента и объединение данных МИС с информационной системой биобанка. В настоящее время разрабатываются различные стандарты, позволяющие унифицировать представление клинической аннотации, сделать биобанки и коллекции более "видимыми" для сторонних исследователей и организаций, что необходимо для сотрудничества и более эффективного и интенсивного использования хранящихся биообразцов. Гармонизация методологии клинического аннотирования между различными биобанками открывает широкие горизонты для проведения крупномасштабных исследований в сфере персонализированной и трансляционной медицины.

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

⁷ HL7 International. <https://www.hl7.org/about/index.cfm?ref=nav>.

9. Zhu T, Wang W, Chen Y, et al. Machine Learning of Functional Connectivity to Biotype Alcohol and Nicotine Use Disorders. *Biol Psychiatry Cogn Neurosci Neuroimaging*. 2023;S2451-9022(23)00222-7. doi:10.1016/j.bpsc.2023.08.010.
10. Wang X, Khurshid S, Choi SH, et al. Genetic Susceptibility to Atrial Fibrillation Identified via Deep Learning of 12-Lead Electrocardiograms. *Circ Genomic Precis Med*. 2023;16(4):340-9. doi:10.1161/CIRCGEN.122.003808.
11. Bellary S, Krishnankutty B, Latha M. Basics of case report form designing in clinical research. *Perspect Clin Res*. 2014;5(4):159. doi:10.4103/2229-3485.140555.
12. Cowie MR, Blomster JL, Curtis LH, et al. Electronic health records to facilitate clinical research. *Clin Res Cardiol*. 2017;106:1-9. doi:10.1007/s00392-016-1025-6.
13. Shalnova SA, Drapkina OM. Contribution of the ESSE-RF study to preventive healthcare in Russia. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(3):2602. (In Russ.) Шальнова С.А., Драпкина О.М. Значение исследования ЭССЕ-РФ для развития профилактики в России. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(3):2602. doi:10.15829/1728-8800-2020-2602.
14. Manders P, Peters TM, Siezen AE et al. A Stepwise Procedure to Define a Data Collection Framework for a Clinical Biobank. *Biopreserv Biobank*. 2018;16(2):138-47. doi:10.1089/BIO.2017.0084.
15. Meshkov AN, Glotov AS, Anisimov SV, et al. Biobanking: national guidelines. prepared by experts from the National Association of Biobanks and Biobanking Professionals (NASBIO). М.: Triumph, 2022. р. 308. (In Russ.) Мешков А.Н., Глотов А.С., Анисимов С.В. и др. Биобанкирование: национальное руководство. подготовлено экспертами Национальной ассоциации биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО). М.: Триумф, 2022. 308 с. ISBN: 978-5-93673-322-2.
16. Abul-Husn NS, Manickam K, Jones LK, et al. Genetic identification of familial hypercholesterolemia within a single U.S. health care system. *Science*. 2016;354(6319). doi:10.1126/SCIENCE.AAF7000.
17. Gottesman O, Kuivaniemi H, Tromp G, et al. The Electronic Medical Records and Genomics (eMERGE) Network: past, present, and future. *Genet Med*. 2013;15(10):761-71. doi:10.1038/gim.2013.72.
18. eMERGE Consortium. Lessons learned from the eMERGE Network: balancing genomics in discovery and practice. *Hum Genet Genomics Adv*. 2021;2(1):100018. doi:10.1016/J.XHGG.2020.100018.
19. Denny JC, Ritchie MD, Basford MA, et al. PheWAS: demonstrating the feasibility of a phenome-wide scan to discover gene-disease associations. *Bioinformatics*. 2010;26(9):1205-10. doi:10.1093/BIOINFORMATICS/BTQ126.
20. Dumitrescu L, Goodloe R, Bradford Y, et al. The effects of electronic medical record phenotyping details on genetic association studies: HDL-C as a case study. *BioData Min*. 2015;8(1):15. doi:10.1186/s13040-015-0048-2.
21. Newton KM, Peissig PL, Kho AN, et al. Validation of electronic medical record-based phenotyping algorithms: results and lessons learned from the eMERGE network. *J Am Med Informatics Assoc*. 2013;20(e1):e147-54. doi:10.1136/amiajnl-2012-000896.
22. Duan R, Cao M, Wu Y, et al. An Empirical Study for Impacts of Measurement Errors on EHR based Association Studies. *AMIA. Annu Symp Proc AMIA Symp*. 2016;2016:1764-73.
23. Krishnamoorthy P, Gupta D, Chatterjee S, et al. A Review of the Role of Electronic Health Record in Genomic Research. *J Cardiovasc Transl Res*. 2014;7(8):692-700. doi:10.1007/s12265-014-9586-0.
24. Pacheco JA, Rasmussen LV, Wiley K, et al. Evaluation of the portability of computable phenotypes with natural language processing in the eMERGE network. *Sci Rep*. 2023;13(1):1971. doi:10.1038/s41598-023-27481-y.
25. Khera A V., Chaffin M, Wade KH, et al. Polygenic Prediction of Weight and Obesity Trajectories from Birth to Adulthood. *Cell*. 2019;177(3):587-96.e9. doi:10.1016/j.cell.2019.03.028.
26. Bešević J, Lacey B, Conroy M, et al. New Horizons: the value of UK Biobank to research on endocrine and metabolic disorders. *J Clin Endocrinol Metab*. 2022;107(9):2403-10. doi:10.1210/clinem/dgac407.
27. Conroy MC, Lacey B, Bešević J, et al. UK Biobank: a globally important resource for cancer research. *Br J Cancer*. 2023;128(4):519-27. doi:10.1038/s41416-022-02053-5.
28. 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.
29. Sivakova OV, Pokrovskaya MS, Metelskaya VA, et al. International rules for description of biospecimens are an important factor in improving the quality of researches. *Profilakticheskaya Meditsina*. 2019;22(6):95. (In Russ.) Сивакова О.В., Покровская М.С., Метельская В.А. и др. Международные правила описания биобразцов — важный фактор повышения качества научных исследований. *Профилактическая медицина*. 2019;22(6):95-9. doi:10.17116/profmed20192206295.
30. Sauerbrei W, Taube SE, McShane LM, et al. Reporting Recommendations for Tumor Marker Prognostic Studies (REMARK): An Abridged Explanation and Elaboration. *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2018;110(8):803-11. doi:10.1093/jnci/djy088.
31. Collins GS, Reitsma JB, Altman DG, Moons KGM. Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis (TRIPOD): the TRIPOD Statement. *Eur J Clin Invest*. 2015;45(2):204-14. doi:10.1111/eci.12376.
32. Norlin L, Fransson MN, Eriksson M, et al. A Minimum Data Set for Sharing Biobank Samples, Information, and Data: MIABIS. *Biopreserv Biobank*. 2012;10(4):343-8. doi:10.1089/bio.2012.0003.
33. Metzler I, Ferent LM, Felt U. On samples, data, and their mobility in biobanking: How imagined travels help to relate samples and data. *Big Data Soc*. 2023;10(1):205395172311586. doi:10.1177/20539517231158635.
34. Spjuth O, Krestyaninova M, Hastings J, et al. Harmonising and linking biomedical and clinical data across disparate data archives to enable integrative cross-biobank research. *Eur J Hum Genet*. 2016;24(4):521-8. doi:10.1038/ejhg.2015.165.
35. Eklund N, Andrianarisoa NH, van Enckevort E, et al. Extending the Minimum Information About Biobank Data Sharing Terminology to Describe Samples, Sample Donors, and Events. *Biopreserv Biobank*. 2020;18(3):155-64. doi:10.1089/bio.2019.0129.
36. Gedye C, Sachchithananthan M, Leonard R, et al. Driving innovation through collaboration: development of clinical annotation datasets for brain cancer biobanking. *Neuro-Oncology Pract*. 2020;7(1):31-7. doi:10.1093/nop/npz036.
37. Jarczak J, Lach J, Borówka P, et al. BioSCOOP — Biobank Sample Communication Protocol. New approach for the transfer of information between biobanks. *Database*. 2019;2019. doi:10.1093/database/baz105.
38. Proynova R, Alexandre D, Lablans M, et al. A Decentralized IT Architecture for Locating and Negotiating Access to Biobank Samples. *Stud Health Technol Inform*. 2017;243:75-9.
39. Vuokko R, Vakkuri A, Palojoki S. Systematized Nomenclature of Medicine-Clinical Terminology (SNOMED CT) Clinical Use Cases in the Context of Electronic Health Record Systems: Systematic Literature Review. *JMIR Med Informatics*. 2023;11:e43750. doi:10.2196/43750.
40. Park HS, Cho H, Kim HS. Development of an Integrated Biospecimen Database among the Regional Biobanks in Korea. *Health Inform Res*. 2016;22(2):129. doi:10.4258/hir.2016.22.2.129.

Возможности банка биологических образцов для серологического мониторинга инфекционной заболеваемости

Свитич О. А.¹, Зверев В. В.¹, Соломай Т. В.¹, Семенов Т. А.², Ноздрачева А. В.², Готвянская Т. П.²

¹ФГБНУ "Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова" Минобрнауки России. Москва; ²ФГБУ "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи" Минздрава России. Москва, Россия

В настоящее время проведение мониторинга инфекционной заболеваемости, контроля и прогноза развития эпидемического процесса является чрезвычайно актуальной проблемой здравоохранения.

Цель. Анализ возможностей биобанка для проведения серомониторинга инфекционных болезней на примере инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр (ВЭБ), с которым ассоциированы инфекционный мононуклеоз, а также соматическая, в т.ч. онкологическая патология.

Материал и методы. Методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа на наличие специфических антител к различным белкам ВЭБ проведено изучение образцов сывороток крови от условно здоровых лиц (2010, 2016, 2019, 2020, 2021 и 2022гг) из коллекции отдела эпидемиологии ФГБУ "НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи" Минздрава России.

Результаты. Впервые проведена оценка интенсивности эпидемического процесса ВЭБ-инфекции среди условно здоровых взрослых жителей столицы с использованием образцов биологического материала и информационной базы данных биобанка. Установлено, что в момент обследования 0,8% индивидуумов не были инфицированы ВЭБ, а 9,4% перенесли реактивацию хронической инфекции. Значимых изменений частоты обнаружения маркеров в динамике по годам не выявлено.

Заключение. Паспортизированные коллекции сывороток крови могут эффективно использоваться для изучения популяционного иммунитета, преvalентности отдельных инфекций, защищенности населения в масштабах страны и т.д.

Ключевые слова: биобанк, образцы сыворотки крови, серологический мониторинг, инфекционные болезни, вирус Эпштейна-Барр, популяционный иммунитет.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 08/08-2023

Рецензия получена 05/09-2023

Принята к публикации 07/09-2023



Для цитирования: Свитич О. А., Зверев В. В., Соломай Т. В., Семенов Т. А., Ноздрачева А. В., Готвянская Т. П. Возможности банка биологических образцов для серологического мониторинга инфекционной заболеваемости. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3693. doi:10.15829/1728-8800-2023-3693. EDN SILKYY

Possibilities of a biobank for serological monitoring of infectious morbidity

Svitich O. A.¹, Zverev V. V.¹, Solomay T. V.¹, Semenenko T. A.², Nozdacheva A. V.², Gotvyanskaya T. P.²

¹I. I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera. Moscow; ²N. F. Gamaleya National Center of Epidemiology and Microbiology. Moscow, Russia

Currently, monitoring infectious morbidity, control and forecasting the epidemic process is a topical health problem.

Aim. To analyze the capabilities of the biobank for serological monitoring of infectious diseases using the Epstein-Barr virus (EBV), which is associated with infectious mononucleosis, as well as somatic pathology, including cancer.

Material and methods. Using the quantitative enzyme-linked immunosorbent assay for specific antibodies to various EBV proteins, we studied blood serum samples from healthy individuals (2010, 2016, 2019, 2020, 2021 and 2022) from the collection of the N. F. Gamaleya National Center of Epidemiology and Microbiology.

Results. For the first time, the intensity of EBV epidemic process among apparently healthy adult residents of the capital was assessed using samples of biological material and a biobank information database. At the time of examination, 0,8% of individuals were not infected with EBV, and 9,4% suffered reactivation of a chronic infection. There were no significant changes in detection rate of markers over the years.

Conclusion. Certified collections of blood sera can be effectively used to study population immunity, the prevalence of individual infections, population protection nationwide, etc.

Keywords: biobank, blood serum samples, serological monitoring, infectious diseases, Epstein-Barr virus, herd immunity.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: solomay@rambler.ru

[Свитич О. А. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, директор, ORCID: 0000-0003-1757-8389, Зверев В. В. — д.м.н., профессор, академик РАН, научный руководитель, ORCID: 0000-0002-0017-1892, Соломай Т. В.* — к.м.н., с.н.с., лаборатория эпидемиологического анализа и мониторинга инфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0002-7040-7653, Семенов Т. А. — д.м.н., профессор, руководитель отдела эпидемиологии, ORCID: 0000-0002-6686-9011, Ноздрачева А. В. — к.м.н., с.н.с., ORCID: 0000-0002-8521-1741, Готвянская Т. П. — к.м.н., с.н.с., ORCID: 0000-0002-0814-2666].

Relationships and Activities: none.

Svitich O. A. ORCID: 0000-0003-1757-8389, Zverev V. V. ORCID: 0000-0002-0017-1892, Solomay T. V.* ORCID: 0000-0002-7040-7653, Semenenko T. A. ORCID: 0000-0002-6686-9011, Nozdracheva A. V. ORCID: 0000-0002-8521-1741, Gotvyanskaya T. P. ORCID: 0000-0002-0814-2666.

*Corresponding author: solomay@rambler.ru

Received: 08/08-2023

Revision Received: 05/09-2023

Accepted: 07/09-2023

For citation: Svitch O. A., Zverev V. V., Solomay T. V., Semenenko T. A., Nozdracheva A. V., Gotvyanskaya T. P. Possibilities of a biobank for serological monitoring of infectious morbidity. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3693. doi:10.15829/1728-8800-2023-3693. EDN SILKY

ВЭБ — вирус Эпштейна-Барр, ДИ — доверительный интервал, "НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи" — "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи", IgG VCA — иммуноглобулины класса G к капсидному антигену ВЭБ, IgG EBNA — иммуноглобулины класса G к нуклеарному антигену ВЭБ, IgM VCA — иммуноглобулины класса M к капсидному антигену ВЭБ, IgG EA — иммуноглобулины класса G к раннему антигену ВЭБ.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Технологии биобанкирования являются передовыми практиками мирового здравоохранения и играют важную роль в разработке средств и методов диагностики и лечения соматической патологии, изучения эпидемиологических и патогенетических особенностей известных и "новых" инфекций.
- Сероэпидемиологические исследования, основанные на сборе и изучении образцов сывороток крови, обеспечивают получение максимально надежных сведений о панораме иммунитета популяции.

Что добавляют результаты исследования?

- Исследования сывороток, полученных из биобанка, позволяют ретроспективно оценить интенсивность и динамику эпидемического процесса инфекции вируса Эпштейна-Барр для последующего его моделирования, составления прогноза и разработки комплекса мер по снижению бремени данной инфекции.

Key messages

What is already known about the subject?

- Biobanking technologies are the best practices in global healthcare and play an important role in the development of tools for diagnosing and treating somatic pathologies, studying the epidemiological and pathogenetic features of known and "new" infections.
- Seroepidemiological studies, based on the collection and study of serum samples, provide the most reliable information about the population immune system.

What might this study add?

- Studies of serum obtained from the biobank make it possible to retrospectively assess the intensity and changes of the epidemic process of Epstein-Barr virus infection for its subsequent modeling, forecasting and developing a measures to reduce its burden.

Введение

Технологии биобанкирования являются передовыми практиками мирового здравоохранения и важнейшим инфраструктурным звеном исследовательской работы на фундаментальном и клиническом этапах биомедицины [1, 2]. Они играют критически важную роль в разработке средств и методов диагностики и лечения соматической патологии, а также изучения эпидемиологических и патогенетических особенностей известных и "новых" инфекций [3, 4]. В настоящее время установлено, что важным аспектом построения системы биологической защиты населения является мониторинг инфекционной заболеваемости и прогноз развития эпидемического процесса [5, 6]. Эффективным инструментом для решения данной проблемы является проведение сероэпидемиологических исследований, основанных на сборе и изучении образцов

сывороток крови, что обеспечивает получение максимально надежных сведений о панораме иммунитета популяции [7, 8].

Быстро развивающиеся технологии лабораторной диагностики инфекционных болезней позволяют выявлять маркеры нового поколения, повышая информативность мониторинговых исследований. При этом сопоставить данные с результатами, полученными в предыдущие годы, не всегда представляется возможным ввиду несоответствия современных и ранее используемых методик. Указанное обстоятельство сводит к минимуму попытки адекватно оценить динамику изменения лабораторных показателей. Решение описанной проблемы возможно при одновременном использовании единых иммунологических и молекулярно-биологических методов тестирования образцов, полученных из биобанков [9, 10].

Строгие стандарты сбора и хранения коллекций биологических образцов обеспечивают достоверность результатов исследований и открывают перед учеными возможность анализа особенностей соматической и инфекционной патологии на принципиально новом уровне [11–13]. В РФ требования к организации и деятельности биобанков и правила хранения в них биологического материала утверждены приказом Минздрава России от 20 октября 2017г № 842н¹. Нормативным правовым актом предусмотрено соблюдение ряда условий по созданию системы качества на этапах заготовки, транспортировки, хранения и использования материалов из биобанков. На каждое из указанных действий должны быть разработаны стандарты операционных процедур и организован контроль их соблюдения. Такой подход позволяет обеспечить как высокое качество сохраняемых образцов, так и требования биологической безопасности. Последнее является чрезвычайно важной задачей, поскольку любой биологический материал может быть потенциально инфицирован патогенами, вызывающими болезни человека [14]. Перед поступлением в биобанк все образцы проходят строгий отбор, однако по ряду причин они не могут быть исследованы на наличие всех патогенных микроорганизмов. Значимость популяционных исследований отдельных аспектов инфекционной патологии стала основанием для формирования паспортизированной коллекции образцов сывороток крови еще в 1986г под руководством академика АМН СССР О.В. Барояна. В настоящий момент на базе отдела эпидемиологии ФГБУ "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи" Минздрава России (ФГБУ "НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи" Минздрава России) сформирована обширная коллекция сывороток крови, позволяющая проводить широкомасштабные научные исследования. Изучение распространенности специфических антител к возбудителям инфекционных болезней среди различных групп населения с использованием образцов из биобанка расширило представления об особенностях эпидемиологических процессов таких социально-значимых инфекций, как грипп и острые респираторные вирусные инфекции, вирусные гепатиты, инфекции, управляемые средствами вакцинопрофилактики (корь, краснуха и др.), позволило судить об истинном уровне заболеваемости, эффективности вакцинопрофилактики отдельных инфекций и принятии взвешенных решений при внесении корректировок в календарь прививок [15–19].

¹ Приказ Минздрава России от 20 октября 2017г № 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".

В последние годы в России существенно расширен перечень инфекционных болезней, регистрация которых осуществляется в рамках федерального государственного статистического наблюдения, приняты меры по совершенствованию эпидемиологического надзора и повышению качества лабораторной диагностики. Это оказало влияние на увеличение общего числа регистрируемых заболеваний. Примером тому может служить инфекционный мононуклеоз, регистрация которого в РФ осуществляется с 1990г. На протяжении всего периода статистического наблюдения заболеваемость данной патологией неуклонно росла и к 2022г достигла показателя 13,8 случаев на 100 тыс. населения. Необходимо отметить, что инфекционный мононуклеоз является симптомокомплексом, этиологическими агентами которого могут быть несколько патогенов — вирус Эпштейна-Барр (ВЭБ), цитомегаловирус, вирус герпеса человека 6 типа и др. [20]. Около 90% случаев инфекционного мононуклеоза обусловлены ВЭБ. При этом отдельный статистический учет случаев заболеваний ВЭБ-инфекцией в Российской Федерации не ведется [21].

Заболевание, вызванное ВЭБ, имеет ряд особенностей, определяющих актуальность его изучения. В результате проникновения патогена в организм человека развивается первичная инфекция, которая может протекать как бессимптомно, стерто, так и с выраженными клиническими проявлениями, характерными для инфекционного мононуклеоза. После клинического выздоровления вирус, благодаря способности уклоняться от иммунного ответа, пожизненно сохраняется в организме хозяина. Болезнь переходит в хроническую форму. При этом периоды латентного течения периодически сменяются реактивациями. Хроническая ВЭБ-инфекция обуславливает развитие различной соматической, в т.ч. онкологической патологии. Наиболее изученными болезнями, ассоциированными с ВЭБ, являются лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома, рассеянный склероз [18].

Популяционные исследования частоты выявления специфических иммуноглобулинов (Ig) к белкам ВЭБ среди населения РФ ранее не проводились. В последние годы в научных статьях публикуются данные о распространенности отдельных серологических маркеров, однако сопоставить полученные результаты с данными прошлых лет не представлялось возможным [22]. Восполнить недостаток сведений позволило проведение ретроспективного исследования образцов сывороток крови, полученных из биобанка.

Цель исследования — анализ возможностей биобанка для изучения многолетней динамики частоты выявления маркеров инфицирования ВЭБ.

Таблица 1

Превалентность IgG VCA и IgG EBNA в сыворотках крови

Год	Число обследованных лиц	Выявлено					
		IgG VCA			IgG EBNA		
		абс.	%	95% ДИ	абс.	%	95% ДИ
2010	90	90	100	—	84	93,3	88,1-98,5
2016	90	88	97,8	94,8-100,8	83	92,2	86,6-97,8
2019	142	141	99,3	97,9-100,7	137	96,5	93,5-99,5
2020	92	91	98,9	96,2-101,6	88	95,7	91,5-99,9
2021	89	89	100	—	88	98,9	97,6-100,2
2022	90	89	98,9	96,8-101,0	85	94,4	89,6-99,2
Итого	593	588	99,2	98,5-99,9	565	95,3	93,5-97,1

Примечания: IgG VCA — иммуноглобулины класса G к капсидному антигену ВЭБ, IgG EBNA — иммуноглобулины класса G к нуклеарному антигену ВЭБ, ВЭБ — вирус Эпштейна-Барр, ДИ — доверительный интервал при $p < 0,05$.

Материал и методы

Для проведения настоящего исследования из коллекции отдела эпидемиологии ФГБУ "НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи" Минздрава России (Москва) было получено 593 образца сыворотки крови от условно здоровых лиц в возрасте ≥ 18 лет, проживающих в Москве. В группу условно здоровых лиц были отнесены индивидуумы, прошедшие на момент забора образца крови периодический медицинский осмотр, по результатам которого не было выявлено клинических и лабораторно-инструментальных признаков патологических состояний.

Отбор образцов для формирования коллекции осуществлялся по результатам предоставления информированного добровольного согласия при соблюдении требований Хельсинкской декларации в соответствии с протоколом, одобренным Комитетом по биомедицинской этике ФГБУ "НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи" Минздрава России (Протокол № 2 от 04.02.2016). Образцы хранились при температуре -70°C , нарушений режима на протяжении всего периода нахождения в биобанке не зафиксировано. Размораживание каждого образца осуществлялось однократно непосредственно перед исследованием.

Для достижения поставленной цели были использованы образцы, отобранные в 2010, 2016, 2019, 2020, 2021 и 2022 гг., которые изначально в момент их поступления в коллекцию на наличие маркеров ВЭБ не оценивались. Исследование проведено в ноябре 2022 г. спустя 12, 6, 3, 2, 1 год и 7 мес. после забора крови у условно здоровых лиц, соответственно.

Обнаружение специфических IgM и IgG к белкам ВЭБ осуществлялось методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа с использованием наборов реагентов производства "Вектор-Бест" (Россия). Диагностическая чувствительность и специфичность указанных наборов реагентов согласно инструкциям по применению составляет 100%. Определялось наличие следующих маркеров: IgM и IgG к капсидному (IgM VCA, IgG VCA), IgG к раннему (IgG EA) и нуклеарному (IgG EBNA) антигенам ВЭБ. При обнаружении IgM VCA и/или IgG EA, в т.ч. в сочетании с IgG VCA делалось заключение о наличии первичной ВЭБ-инфекции. Наличие на этом фоне IgG EBNA расценивалось как реактивация заболевания. Выявление только двух маркеров — IgG VCA и IgG EBNA свидетельствовало о латентном течении хронической инфекции.

По результатам проведенных лабораторных исследований рассчитывалась частота выявления маркеров на 100 обследованных лиц. Статистическая обработка проводилась с использованием методов непараметрической статистики. Достоверность различий оценивалась с помощью 95% доверительных интервалов (ДИ). Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Для оценки связи между параметрами использовался коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Результаты

Установлено, что все отобранные для исследования биологические образцы вне зависимости от года забора материала и поступления в банк сывороток крови были пригодны для проведения последующего лабораторного исследования. Маркеры, указывающие на наличие хронической ВЭБ-инфекции, выявлены в 99,2% образцов. При этом, частота обнаружения IgG VCA была достоверно выше таковой IgG EBNA ($p < 0,05$), таблица 1.

Изучение характеристик образцов в зависимости от года их получения не выявило достоверных различий показателей по каждому из описанных маркеров наличия возбудителя ($p > 0,05$). Дополнительно проведенный ранговый корреляционный анализ между превалентностью IgG VCA, IgG EBNA и продолжительностью хранения образцов установил отсутствие какой-либо значимой связи (коэффициент корреляции Спирмена составил $-0,1$ и $-0,3$, соответственно, связь обратная слабая незначимая).

Во всех группах образцов, поступивших в биобанк в разные годы, были выявлены IgM VCA и/или IgG EA, указывающие на наличие скрытых источников инфекции среди условно здоровых индивидуумов (таблица 2). При этом сочетание маркеров указывало на факты реактивации хронической ВЭБ-инфекции или суперинфицирования новым вариантом вируса. Частота выявления IgM VCA во всех исследованных образцах составила 4,4% (95% ДИ: 2,7-6,1) и достоверно не отличалась от таковой IgG EA — 6,1% (95% ДИ: 4,2-8,0) ($p > 0,05$). Наличие

Таблица 2

Частота выявления маркеров реактивации хронической ВЭБ-инфекции

Год	Число обследованных лиц	Выявлено								
		IgM VCA			IgG EA			Всего лиц, имеющих IgM VCA и/или IgG EA		
		абс.	%	95% ДИ	абс.	%	95% ДИ	абс.	%	95% ДИ
2010	90	5	5,6	0,8-10,4	11	12,2	5,4-19,0	13	14,4	7,2-21,6
2016	90	8	8,9	3,0-14,8	2	2,2	0-5,2	9	10,0	3,8-16,2
2019	142	1	0,7	0-2,1	8	5,6	1,8-9,4	9	6,3	2,3-10,3
2020	92	0	0	0	2	2,2	0-5,2	2	2,2	0-5,2
2021	89	3	3,4	0-7,2	9	10,1	3,9-16,3	11	12,4	5,5-19,3
2022	90	9	10,0	3,8-16,2	4	4,4	0,2-8,6	12	13,3	0,3-26,3
Итого	593	26	4,4	2,7-6,1	36	6,1	4,2-8,0	56	9,4	7,1-11,7

Примечания: IgM VCA — иммуноглобулины класса М к капсидному антигену ВЭБ, IgG EA — иммуноглобулины класса G к раннему антигену ВЭБ, ВЭБ — вирус Эпштейна-Барр, ДИ — доверительный интервал при $p < 0,05$.

одновременно двух маркеров инфицирования ВЭБ у одного обследованного лица имело место в шести случаях. Суммарная частота индивидумов, имеющих в образце сыворотки крови один из указанных маркеров или их сочетание, достигла 9,4% (95% ДИ: 7,1-11,7).

В динамике в зависимости от года поступления образца в коллекцию показатели IgM VCA и IgG EA не имели достоверных различий между собой ($p < 0,05$). Корреляционная связь между частотой выявления указанных маркеров присутствия возбудителя и продолжительностью хранения образцов в биобанке была слабой незначимой (коэффициент ранговой корреляции Спирмена составил -0,1 и 0,2, соответственно).

Обсуждение

Проведенное исследование позволило установить ряд важных характеристик образцов сывороток крови, находящихся на длительном хранении, необходимых для дальнейшей оценки эпидемического процесса ВЭБ-инфекции в рамках развития биобанкирования в России. В первую очередь, это отсутствие снижения частоты выявления специфических маркеров конкретного возбудителя, связанного с продолжительностью хранения образца.

Предположение о возможности таких изменений и их влиянии на полученный результат исследования было высказано рядом авторов [9, 23] и вошло в основные положения методических документов². Считается, что IgG способны сохраняться в сыворотке крови при температуре -20° С в неизменной концентрации в течение 8 мес., в то время как IgM при аналогичных условиях хранения — только полгода. При более низкой темпера-

туре (-70° С) концентрация IgG сохраняются более длительный период времени [18]. В то же время, отечественными авторами было показано, что спустя 20 мес. от начала хранения при -70° С уровни IgG к вирусу кори в сыворотках крови незначительно снизились, но это не привело к изменению числа серонегативных образцов [9]. Это согласуется с полученными в настоящем исследовании результатами, в соответствии с которыми спустя 12 лет не только IgG, но и IgM к белкам ВЭБ идентифицировались в концентрациях, превышающих критические значения. Однако для получения убедительных доказательств изменения концентрации иммуноглобулинов к белкам ВЭБ при длительном нахождении в условиях биобанка целесообразно проведение исследования, дизайн которого предусматривал бы оценку образцов при поступлении на хранение и далее в динамике с заданными интервалами [24].

Вторым важным результатом стало обнаружение скрытых источников инфекции в когорте условно здоровых лиц, частота выявления которых варьировала в зависимости от года поступления сывороток в биобанк, что, вероятно, явилось следствием изменения эпидемической ситуации по ВЭБ-инфекции на территории г. Москвы [25]. Индивидумы с бессимптомным и стертым течением болезни, как правило, не обращаются за медицинской помощью и активно вовлекаются в инфекционный процесс, что приводит к распространению патогенов посредством доступных механизмов передачи. Результаты проведенного ретроспективного исследования с использованием современных наборов реагентов обеспечили минимизацию вероятных диагностических погрешностей и позволили объективно оценить интенсивность эпидемического процесса, что необходимо для разработки эффективных подходов к профилактике.

Полученные данные являются уникальными, поскольку ранее оценка эпидемического процесса

² Методические рекомендации "Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований". Одобрены на заседании профильной комиссии Минздрава России по клинической лабораторной диагностике. Москва, 30 мая 2013г.

ВЭБ-инфекции проводилась косвенно по результатам регистрации клинических проявлений инфекционного мононуклеоза, достоверный диагноз которого не может быть установлен без лабораторной этиологической расшифровки [26]. Проведение серологических исследований с использованием возможностей биобанка позволит в будущем осуществлять многофакторный ретроспективный анализ заболеваемости, моделировать и разрабатывать прогнозные сценарии развития эпидемического процесса различных инфекций [27-29].

Работа с коллекцией сывороток отдела эпидемиологии ФГБУ "НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи" Минздрава России (Москва) предоставила уникальные возможности изучения распространенности и частоты выявления специфических иммуноглобулинов к белкам ВЭБ, что может быть использовано для разработки подходов иммунопрофилактики данной инфекции [30].

Литература/References

- Anisimov SV, Akhmerov TM, Balanovsky OP, et al. Biobanking. National Manual. Moscow: TRIUMPH Publishing House LLC, 2022. 308 p. (In Russ.) Анисимов С. В., Ахмеров Т. М., Балановский О. П. и др. Биобанкирование. Национальное руководство. Москва: ООО "Издательство ТРИУМФ", 2022. 308 с. ISBN: 978-5-93673-322-2.
- Anisimov SV, Granstrom 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.
- Semenenko TA, Anan'ina YV, Boev BV, et al. Banks of biological resources in the system of basic epidemiological and clinical studies. Annals of the Russian academy of medical sciences. 2011;10:5-9. (In Russ.) Семенов Т. А., Ананьина Ю. В., Боев Б. В. и др. Банки биологических ресурсов в системе фундаментальных эпидемиологических и клинических исследований. Вестник Российской академии медицинских наук. 2011;10:5-9.
- Coates KM. Opportunities and challenges of a World Serum Bank. Lancet. 2017;389(10066):251-2. doi:10.1016/S0140-6736(17)30052-1.
- Semenenko TA. The role of the blood serum bank in the biological safety system of the country. Bulletin of Roszdravnadzor. 2010;3:55-8. (In Russ.) Семенов Т. А. Роль банка сывороток крови в системе биологической безопасности страны. Вестник Росздравнадзора. 2010;3:55-8.
- Rogier EW, Giorgi E, Tetteh K, Sepúlveda N. Editorial: Current research on serological analyses of infectious diseases. Front Med (Lausanne). 2023;10:1154584. doi:10.3389/fmed.2023.1154584.
- 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.) Семенов Т. А., Акимкин В. Г. Сероэпидемиологические исследования в системе надзора за вакциноуправляемыми инфекциями. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2018;95(2):87-94. doi:10.36233/0372-9311-2018-2-87-94.
- Metcalf CJ, Farrar J, Cutts FT, et al. Use of serological surveys to generate key insights into the changing global landscape of infectious disease. Lancet. 2016;388(10045):728-30. doi:10.1016/S0140-6736(16)30164-7.
- Nozdracheva AV, Semenenko TA. The effect of long-term storage of blood serum samples in a biobank for population-based seroepidemiological 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 сероэпидемиологических исследований. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2022;21(11):3407. doi:10.15829/1728-8800-2022-3407.
- Pokrovskaya MS, Borisova AL, Metelskaya VA, et al. The role of biobanking in the organization of large-scale epidemiological studies. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2021;20(5):2958. (In Russ.) Покровская М. С., Борисова А. Л., Метельская В. А. и др. Роль биобанкирования в организации крупномасштабных эпидемиологических исследований. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2021;20(5):2958. doi:10.15829/1728-8800-2021-2958.
- Semenenko TA, Lunin VG, Ginzburg AL. Blood serum bank as a component of the biological safety system. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2007;4:73-8. (In Russ.) Семенов Т. А., Лунин В. Г., Гинцбург А. Л. Банк сывороток крови как компонент системы биологической безопасности. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2007;4:73-8.
- Annaratone L, De Palma G, Bonizzi G, et al. Basic principles of biobanking: from biological samples to precision medicine for patients. Virchows Arch. 2021;479(2):233-46. doi:10.1007/s00428-021-03151-0.
- 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.
- Solomay TV, Semenenko TA, Karazhas NV, et al. Assessment of the risk of infection with herpesviruses during transfusion of donated blood and its components. Health risk analysis.

Ограничения исследования. Исследование имеет ограничения, обусловленные критериями отбора сывороток из биобанка, а также сопряженные с использованием наборов реагентов, чувствительность и специфичность которых, согласно инструкциям по применению, составляла 100%.

Заключение

Развитие банков сывороток крови и использование их возможностей для проведения серологических исследований позволяет получить информацию об эпидемическом процессе многих инфекций, в т.ч. тех, диагностика которых в предыдущие годы была недоступна, а официальный статистический учет не осуществляется.

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

- 2020;2:136-42. (In Russ.) Соломай Т.В., Семененко Т.А., Каражас Н.В. и др. Оценка риска инфицирования герпесвирусами при переливании донорской крови и её компонентов. Анализ риска здоровью. 2020;2:136-42. doi:10.21668/health.risk/2020.2.15.
15. Gotvyanskaya TP, Mukasheva EA, Nozdracheva AV, et al. Incidence and population immunity to influenza and ARVI in the context of the covid-19 pandemic. Sanitary Doctor. 2023;3:153-63. (In Russ.) Готвянская Т.П., Мукашева Е.А., Ноздрачева А.В. и др. Заболеваемость и популяционный иммунитет к гриппу и ОРВИ в условиях пандемии COVID-19. Санитарный врач. 2023;3:153-63. doi:10.33920/med-08-2303-03.
16. Semenenko TA, Akimkin VG, Burtseva EI, et al. Characteristics of the Epidemic Situation Associated with Acute Respiratory Viral Infections in the Russian Federation during the Pandemic Spread of COVID-19. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2022;21(4):4-15. (In Russ.) Семененко Т.А., Акимкин В.Г., Бурцева Е.И. и др. Особенности эпидемической ситуации по острым респираторным вирусным инфекциям с учетом пандемического распространения COVID-19. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2022;21(4):4-15. doi:10.31631/2073-3046-2022-21-4-4-15.
17. Nozdracheva AV, Asatryan MN, Rybak LA, et al. Improvement of epidemiological diagnosis in the system of epidemiological surveillance of current infections by creating a database of the results of foci investigation. Sanitary Doctor. 2022;5:316-25. (In Russ.) Ноздрачева А.В., Асатрян М.Н., Рыбак Л.А. и др. Совершенствование информационного обеспечения расследования случаев кори с применением новых программных средств. Санитарный врач. 2022;5:316-25. doi:10.33920/med-08-2205-01.
18. Solomay TV, Semenenko TA, Bloch AI. The prevalence of antibodies to the Epstein-Barr virus in different age groups of the population of Europe and Asia: a systematic review and meta-analysis. Healthcare of the Russian Federation. 2021;65(3):276-86. (In Russ.) Соломай Т.В., Семененко Т.А., Блох А.И. Распространённость антител к вирусу Эпштейна-Барр в разных возрастных группах населения Европы и Азии: систематический обзор и метаанализ. Здравоохранение Российской Федерации. 2021;65(3):276-86. doi:10.47470/0044-197X-2021-65-3-276-286.
19. Nozdracheva AV, Semenenko TA, Asatryan MN, et al. Immunological susceptibility of the megalopolis population to measles at the stage of its elimination. Epidemiology and vaccination prevention. 2019;18(2):18-26. (In Russ.) Ноздрачева А.В., Семененко Т.А., Асатрян М.Н. и др. Иммунологическая восприимчивость населения мегаполиса к кори на этапе ее элиминации. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2019;18(2):18-26. doi:10.31631/2073-3046-2019-18-2-18-26.
20. Solomay TV, Semenenko TA. Viral hepatitis B, C and infectious mononucleosis: epidemiological similarities and differences. Problems of virology. 2020;65(1):27-34. (In Russ.) Соломай Т.В., Семененко Т.А. Вирусные гепатиты В, С и инфекционный мононуклеоз: эпидемиологическое сходство и различия. Вопросы вирусологии. 2020;65(1):27-34. doi:10.36233/0507-4088-2020-65-1-27-34.
21. Solomay TV, Semenenko TA, Filatov NN, et al. The role of children and adults as a reservoir of pathogens during the seasonal rise in the incidence of upper respiratory tract infections. Childhood infections. 2020;19(3):5-11. (In Russ.) Соломай Т.В., Семененко Т.А., Филатов Н.Н. и др. Роль детей и взрослых как резервуара возбудителей в период сезонного подъема заболеваемости инфекциями верхних дыхательных путей. Детские инфекции. 2020;19(3):5-11. doi:10.22627/2072-8107-2020-19-3-5-11.
22. Shamsheva OV, Kharlamova FS, Egorova NYu, et al. The results of a long-term study of herpesvirus infection at the Department of Infectious Diseases in Children of the N.I. Pirogov RNIMU. Childhood infections. 2017;16(2):5-12. (In Russ.) Шамшева О.В., Харламова Ф.С., Егорова Н.Ю. и др. Результаты многолетнего изучения герпесвирусной инфекции на кафедре инфекционных болезней у детей РНИМУ им. Н.И. Пирогова. Детские инфекции. 2017;16(2):5-12. doi:10.22627/2072-8107-2017-16-2-5-12.
23. Sivakova OV, Pokrovskaya MS, Efimova IA, et al. Quality control of blood serum and plasma samples for scientific research. Preventive medicine. 2019;22(5):91-7. (In Russ.) Сивакова О.В., Покровская М.С., Ефимова И.А. и др. Контроль качества образцов сыворотки и плазмы крови для научных исследований. Профилактическая медицина. 2019;22(5):91-7. doi:10.17116/profmed20192205191.
24. Kozlova VA, Metelskaya VA, Pokrovskaya MS, et al. To study the stability of biochemical markers during continuous long-term storage of blood serum and with a single defrosting. 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.
25. Solomay TV, Semenenko TA. Epstein-Barr viral infection is a global epidemiological problem. Problems of virology. 2022;67(4):265-77. (In Russ.) Соломай Т.В., Семененко Т.А. Эпштейна-Барр вирусная инфекция — глобальная эпидемиологическая проблема. Вопросы вирусологии. 2022; 67(4):265-77. doi:10.36233/0507-4088-122.
26. Svitich OA, Filina AB, Davydova NV, et al. The role of factors of innate immunity in the process of tumor formation. Medical immunology. 2018;20(2):151-62. (In Russ.) Свитич О.А., Филина А.Б., Давыдова Н.В. и др. Роль факторов врожденного иммунитета в процессе опухолеобразования. Медицинская иммунология. 2018;20(2):151-62. doi:10.15789/1563-0625-2018-2-151-162.
27. Somiari SB, Somiari RI. The Future of Biobanking: A Conceptual Look at How Biobanks Can Respond to the Growing Human Biospecimen Needs of Researchers. Adv Exp Med Biol. 2015;864:11-27. doi:10.1007/978-3-319-20579-3_2.
28. Solomay TV, Semenenko AV, Nikitina GYu, et al. Predictive scenarios of the development of the epidemic process of infection caused by the Epstein-Barr virus at the stage of the absence of specific prevention measures and their implementation. Epidemiology and infectious diseases. Current issues. 2023;13(1):60-9. (In Russ.) Соломай Т.В., Семененко А.В., Никитина Г.Ю., Шувалов А.Н. Прогнозные сценарии развития эпидемического процесса инфекции, вызванной вирусом Эпштейна-Барр, на этапе отсутствия мер специфической профилактики и при их внедрении. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2023;13(1):60-9. doi:10.18565/epidem.2023.13.1.60-9.
29. Coppola L, Cianflone A, Grimaldi AM, et al. Biobanking in health care: evolution and future directions. J Transl Med. 2019;17(1):172. doi:10.1186/s12967-019-1922-3.
30. Vaccines and vaccination: national guidelines. Ed.: V.V. Zverev, B.F. Semenov, R.M. Khaitov. M.: GEOTAR-Media. 2011. 880 p. (In Russ.) Вакцины и вакцинация: национальное руководство. Ред.: В.В. Зверев, Б.Ф. Семёнов, Р.М. Хайтов. М.: ГЭОТАР-Медиа 2011. 880 с. ISBN: 978-5-9704-2052-2.

Оценка надежности результатов серологического мониторинга по материалам биобанка

Ноздрачева А. В., Семененко Т. А.

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

Цель. Оценить сохранность иммуноглобулинов (Ig) разных классов (IgA, IgM, IgG, IgE) в условиях продолжительного низкотемпературного хранения образцов сыворотки крови.

Материал и методы. В работе использованы образцы сывороток крови из коллекции отдела эпидемиологии, исследованные методом иммуноферментного анализа на наличие антител классов IgA, IgM, IgG, IgE двукратно: сразу по поступлению в лабораторию и после хранения при температуре -70°C в течение 8 лет.

Результаты. По истечении периода хранения серопозитивных сывороток уровень антител класса IgA статистически значимо не изменился ($p=0,7$). В отношении остальных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgE) наблюдалось небольшое (не $>15\%$), однако статистически значимое снижение их уровня в сыворотке крови ($p<0,05$), наиболее выраженное для Ig E. Показано, что чем выше был уровень антител в образцах при первом исследовании, тем более он снизился после долгосрочного хранения (корреляционная связь при $p<0,05$). Это не привело к появлению ложноотрицательных результатов, что связано с выявленной нами большей "точностью" измерения именно небольших значений.

Заключение. Длительное низкотемпературное хранение образцов сывороток крови в условиях биобанка обеспечивает сохран-

ность антител разных классов и является основой достоверности результатов будущих исследований.

Ключевые слова: биобанкирование, хранение образцов, иммуноглобулины, сыворотка крови, сохранность антител.

Отношения и деятельность. Работа выполнена при поддержке Государственного задания Минобрнауки РФ № FZWN-2020-0017 (дизайн, анализ и интерпретация данных).

Поступила 29/08-2023

Рецензия получена 26/09-2023

Принята к публикации 28/09-2023



Для цитирования: Ноздрачева А. В., Семененко 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. EDN SHUJMM

Assessment of the reliability of serological monitoring results based on biobank materials

Nozdracheva A. V., Semenenko T. A.

N. F. Gamaleya National Center of Epidemiology and Microbiology. Moscow, Russia

Aim. To evaluate the safety of immunoglobulins (Ig) of different classes (IgA, IgM, IgG, IgE) under conditions of long-term low-temperature storage of blood serum samples.

Material and methods. The work used samples of blood serum from the collection of the Department of Epidemiology, examined by enzyme immunoassay for antibodies of classes IgA, IgM, IgG, IgE twice as follows: immediately upon receipt in the laboratory and after storage at a temperature of -70°C for 8 years.

Results. After the storage of seropositive sera, the level of IgA antibodies did not change significantly ($p=0,7$). For the remaining classes of immunoglobulins (IgM, IgG, IgE), a small (not $>15\%$) but significant decrease ($p<0,05$), most pronounced for IgE, was observed. It was shown that the higher the antibody level in the samples during the first study, the more it decreased after long-term storage (correlation at $p<0,05$). This did not lead to false negative results, which is due to the greater accuracy in measuring small values.

Conclusion. Long-term low-temperature storage of serum samples in biobank conditions ensures the safety of antibodies of different classes and is the basis for the reliability of future studies.

Keywords: biobanking, sample storage, immunoglobulins, blood serum, preservation of antibodies.

Relationships and Activities. The work was supported by the State assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation № FZWN-2020-0017 (design, analysis and interpretation of data).

Nozdracheva A. V.* ORCID: 0000-0002-8521-1741, Semenenko T. A. ORCID: 0000-0002-6686-9011.

*Corresponding author:
nozdracheva0506@gmail.com

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
e-mail: nozdracheva0506@gmail.com

[Ноздрачева А. В.* — к.м.н., зав. лабораторией неспецифической профилактики инфекционных заболеваний отдела эпидемиологии, ORCID: 0000-0002-8521-1741, Семененко Т. А. — д.м.н., профессор, руководитель отдела эпидемиологии, ORCID: 0000-0002-6686-9011].

Received: 29/08-2023
Revision Received: 26/09-2023
Accepted: 28/09-2023

Cardiovascular Therapy and Prevention. 2023;22(11):3709. doi:10.15829/1728-8800-2023-3709. EDN SHUJMM

For citation: Nozdracheva A.V., Semenenko T.A. Assessment of the reliability of serological monitoring results based on biobank materials.

ИФА — иммуноферментный анализ, Ig — иммуноглобулин(-ы), IgA — Ig класса A, IgM — Ig класса M, IgE — Ig класса E, IgG — Ig класса G.

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. Проведено экспериментальное исследование сохранности иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG, IgE при долгосрочном низкотемпературном хранении образцов сыворотки крови.

Что добавляют результаты исследования?

- Установлено, что хранение образцов сывороток крови в течение 8 лет при температуре -70°C оказало незначительное влияние на уровень иммуноглобулинов IgA, IgM, IgG, IgE. 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 blood serum bank materials allows for large-scale research in epidemiology of infectious diseases, including the study of population immunity. An experimental study was carried out on the safety of immunoglobulins IgA, IgM, IgG, IgE during long-term low-temperature storage of serum samples.

What might this study add?

- Storage of blood serum samples for 8 years at a temperature of -70°C had a slight effect on the level of immunoglobulins IgA, IgM, IgG, IgE. The higher the antibody level in the samples during the initial study, the more it decreased in the re-evaluation, which, however, did not change the interpretation of the study results.

Введение

Иммуноглобулины (Ig), вырабатываемые плазматическими клетками в ответ на проникновение в организм чужеродного агента (антигена), являются маркерами, наиболее часто используемыми для диагностики инфекционной патологии [1]. Определение уровня и соотношения антител разных классов в сыворотке крови может служить одним из основных критериев оценки иммунного статуса индивида и использоваться для контроля лечения некоторых инфекционных заболеваний. Кроме того, анализ превалентности Ig позволяет судить о распространении инфекций в популяции, прогнозировать риски осложнения эпидемической ситуации в будущем [2-4].

В условиях бурного развития отрасли биобанкирования в последние годы, создание коллекций биообразцов для изучения инфекционной патологии неотъемлемо связано с определением критериев и сроков сохранности маркерных молекул, в т.ч. антител, а также с необходимостью систематизации требований к процессингу образцов и выработки единых методических рекомендаций [5-7]. Таким образом, гарантия сохранности биообразцов — это обязательное условие

обеспечения достоверности исследований популяционного иммунитета по материалам биобанка.

Сохранение способности Ig вступать в реакцию с антигеном, оцениваемой разными методами, является основным критерием стабильности при долгосрочном низкотемпературном хранении. Известно, что структурные особенности, агрегатное состояние и восприимчивость к протеазам существенно влияют на стабильность антител [8]. При этом многими авторами показано, что высокой стойкостью при замораживании обладают именно белковые молекулы, к которым относятся Ig, тогда как, например, нуклеиновые кислоты значительно быстрее подвергаются деградации [7-9].

Антитела, входящие в гамма-глобулиновую фракцию белков крови, представляют собой гетеродимеры, состоящие из двух тяжелых и двух легких цепей, соединенных дисульфидными связями. Согласно классификации на основе строения константной области тяжелой цепи выделяют пять классов антител, а именно Ig класса A (IgA), Ig класса D (IgD), Ig класса E (IgE), Ig класса G (IgG) и Ig класса M (IgM), которые выполняют разные функции в ор-

ганизме. Постоянные тяжелые области IgA, IgD и IgG имеют три домена и шарнирную область для обеспечения гибкости. В соответствии с разновидностями дисульфидных связей, классы IgG и IgA дополнительно классифицируют на шесть изотипов — IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Все рекомбинантные антитела, используемые для создания терапевтических препаратов, разрабатываемые на сегодняшний день, относятся к классу IgG. Это связано с тем, что указанный класс Ig обладает наиболее высокой стабильностью, имеет самый продолжительный период полувыведения из сыворотки, и составляет ~75% всех антител плазмы крови у человека¹. При этом результаты экспериментальной оценки влияния низкотемпературного долгосрочного хранения на сохранность других классов антител (IgA, IgM, IgE, IgD) представлены в научной литературе фрагментарно.

Известно, что на физико-химическое состояние антител при их долгосрочном хранении влияет множество факторов. Во-первых, большое значение имеет окружающая жидкая среда (цельная кровь, плазма или сыворотка крови)¹. Так, широкое разнообразие белковых и клеточных структур в цельной крови при хранении образца часто приводит к необратимому изменению функционального состояния антител. В связи с этим для закладки в биобанк наиболее часто используют сыворотку или плазму крови. Первую из них получают после естественного свертывания и центрифугирования образца крови, что позволяет удалить сгустки фибрина, клетки крови и связанные с ними факторы свертывания [10]. Плазму получают путем добавления антикоагулянтов (например, ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота), цитрата, гепарина) перед удалением клеток крови центрифугированием. По некоторым оценкам, в сыворотке крови на ~3-4% меньше белка, чем в плазме, в связи с чем использование этого вида биообразцов предпочтительно для сероэпидемиологических исследований на материале биобанков. Кроме того, сыворотку часто считают золотым стандартом метабомики, поскольку она готовится из свернувшейся крови и не требует внесения чужеродных веществ, имеющих потенциал к искажению результатов. Также распространено использование пробирок, содержащих разделительные гели, которые образуют барьер между упакованными клетками и сывороткой во время центрифугирования, улучшая стабильность анализата. Применяют и специальные агенты, активирующие свертывание крови и сокращающие время этого процесса до 30 мин.

Во-вторых, при хранении антитела проявляют тенденцию к агрегации из-за различных химических взаимодействий в растворе, в числе которых сочетание Ван-дер-Ваальсовых сил, гидрофобных вза-

имодействий, дисульфидных и водородных связей. Это может привести к образованию видимых частиц и даже к выпадению антител в осадок [11, 12]. Распространенными причинами агрегации могут стать, в т.ч. контаминация образца на преаналитическом этапе, а также изменение pH. Как известно, на сохранность антител также влияет температура, а наиболее распространенными режимами хранения биообразцов являются: +4° С, -20° С и -70 — -80° С, что призвано замедлить любые типы химического взаимодействия между молекулами с участием Ig [13]. В связи с этим оптимальной температурой хранения является -70 — -80° С. Известно, что агрегацию антител можно уменьшить с помощью криопротекторов за счет замедления кристаллизации льда и эвтектического перехода раствора антител [14, 15].

В-третьих, показано, что риск агрегации антител максимален во время процессов замораживания/оттаивания в результате сложных физических и химических изменений в сыворотке крови [15]. Следовательно, повторения таких циклов увеличивают риск возникновения и степень агрегации. Вне зависимости от класса анализируемых маркеров универсальной рекомендацией для процессинга сывороточного материала является минимизация количества циклов замораживания и оттаивания. С этой целью исходный биообразец необходимо разделить на аликвоты небольшого объема перед замораживанием, которые можно разморозить для проведения исследования по мере необходимости. Таким образом, каждая аликвота подвергается только одному циклу замораживания/оттаивания. Кроме того, некоторыми исследователями показана целесообразность добавления криопротектора глицерина в концентрации 50% для предотвращения повреждения антител при низкотемпературном хранении [16, 17].

И наконец, значение имеет режим размораживания образца. Быстрое оттаивание может денатурировать белки в 11 раз сильнее, чем медленное. Поэтому для минимизации нестабильности антител следует применять более медленное оттаивание, т.е. на льду [15].

Как видно из приведенных данных, причины агрегации и снижения активности антител весьма разнообразны, и полностью их влияние на всех этапах биобанкирования исключить нельзя. Тем не менее, актуальным является проведение экспериментальных исследований сохранности Ig разных классов при условии соблюдения рекомендаций по предотвращению их денатурации.

Для анализа свойств антител, в т.ч. их стабильности/сохранности могут быть использованы разные методы, например иммуноферментный анализ (ИФА), вестерн-блоттинг, хроматография и т.д. [15-17]. Все эти методы оценивают основное свойство Ig — способность связывания антигена. Наиболее простым и доступным методом из них является ИФА.

¹ Abcam: Antibody storage guide. <https://www.abcam.com/protocols/antibody-storage-guide> (25 August 2023).

Суть его заключается в том, что антиген-мишень сначала иммобилизуется на планшете, а затем захватывается специфичным антителом из внесенного образца сыворотки крови. После этого добавляется связанное с ферментом вторичное антитело, которое распознает область, способную к кристаллизации фрагмента первичного антитела (Fc), так называемый конъюгат. На последнем этапе ИФА образовавшийся комплекс связанных антител становится видимым для измерения спектрофотометром при добавлении субстрата фермента (хромогенный, флуориметрический или люминесцентный). Измеренная оптическая плотность в лунках планшета соответствует концентрации антител в исследуемом образце сыворотки крови. При долгосрочном хранении таких образцов способность антител связывать антиген может снижаться, что в свою очередь проявится в изменении оптической плотности исследуемых образцов в ИФА.

Цель исследования — оценить сохранность Ig разных классов в условиях продолжительного низкотемпературного хранения образцов сыворотки крови.

Материал и методы

В исследовании использованы образцы сыворотки крови от случайно выбранных условно здоровых лиц в возрасте 18-45 лет, проживающих в Москве, из коллекции отдела эпидемиологии ФГБУ "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи" Минздрава России. Среди обследованных лиц долевое распределение мужчин и женщин составило 48 и 52%, соответственно. Взятие крови осуществляли из локтевой вены с помощью системы однократного применения BD Vacutainer Safety-Lok (Becton Dickinson and Company, США) в количестве 4-5 мл в лечебно-профилактическом учреждении. Для сбора и хранения образцов крови применяли пробирки с активатором свертывания. После доставки в лабораторию для отделения сыворотки образцы цельной крови отстаивали и центрифугировали при температуре 18-25° С, а затем аликвотировали и маркировали с помощью штрих-кодов. Хранение полученных аликвот при низких температурах (-70° С) в морозильных камерах (производство Sanyo (модель Ultra Low), Япония) осуществляли в криопробирках (производство Axugen Scientific, USA) с закручивающимися крышками, исключающими самопроизвольное вскрытие. Указанное оборудование оснащено температурными датчиками с выводением значений на внешнее табло. Контроль температурного режима в морозильных камерах осуществлялся сотрудником лаборатории ежедневно с отметкой в соответствующем журнале.

Образцы сывороток крови были исследованы двукратно: сразу после поступления в лабораторию (опыт 1) и по завершению 8 лет хранения при температуре -70° С (опыт 2). Повторные циклы замораживания/оттаивания образцов были исключены, т.к. для проведения работы использованы разные аликвоты. Размораживание биообразцов проводили постепенно по ступенчатой схеме, включающей последовательное выдерживание в температурных интервалах: 1) -20 — -22° С (сут.); 2) +4 — +6° С (сут.); 3) +19 — +21° С (2 ч).

Таблица 1

Характеристика распределения уровней антител разных классов (г/л) в образцах сывороток крови при поступлении в лабораторию (опыт 1) и после 8-летнего периода низкотемпературного хранения (опыт 2)

		Медиана (Me)	Нижний квартиль (Q25)	Верхний квартиль (Q75)	Стандартное отклонение (SD)
IgA	Опыт 1	3,2	1,9	4,1	2,7
	Опыт 2	3,3	2,8	3,8	0,9
IgM	Опыт 1	3,2	2,1	5,9	2,9
	Опыт 2	2,7	1,8	4,9	3,6
IgG	Опыт 1	17,0	9,8	20,0	11,2
	Опыт 2	11,0	7,2	13,3	4,3
IgE	Опыт 1	48,0	15,0	251,0	310,7
	Опыт 2	25,1	8,0	170,0	356,6

Примечание: Ig — иммуноглобулин(-ы).

Определение уровня общих Ig классов IgA, IgM, IgG, IgE в образцах сыворотки крови в каждом опыте осуществляли одномоментно методом твердофазного непрямого ИФА с использованием соответствующих тест-систем производства ООО "Хема" (Россия).

Проведение работы одобрено Комитетом по биомедицинской этике ФГБУ "Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи" Минздрава России (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 разных классов 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, рассчитаны следующие показатели: медиана (Me) и интерквартильный размах [Q25-Q75], стандартное отклонение (SD). Для проверки достоверности различий между результатами в опыте 1 и опыте 2 использовали критерий Вилкоксона (T). Критическое значение ($T_{\text{крит}}$) для него согласно табличным данным при $n=90$ удовлетворяло неравенству $T_{\text{крит}} > 466$. Для оценки корреляционной связи использовали коэффициент корреляции Спирмена (ρ).

Результаты

По результатам исследования установлено, что после 8 лет низкотемпературного хранения статистически значимых изменений уровня антител класса IgA не было ($T=1970$, $p=0,7$) (таблица 1). В отношении остальных классов антител (IgM, IgG, IgE) наблюдалось статистически значимое снижение их концентрации в сыворотке в опыте 2 ($p < 0,05$) в пределах 15%, наиболее выраженное в случае IgE. Следует от-

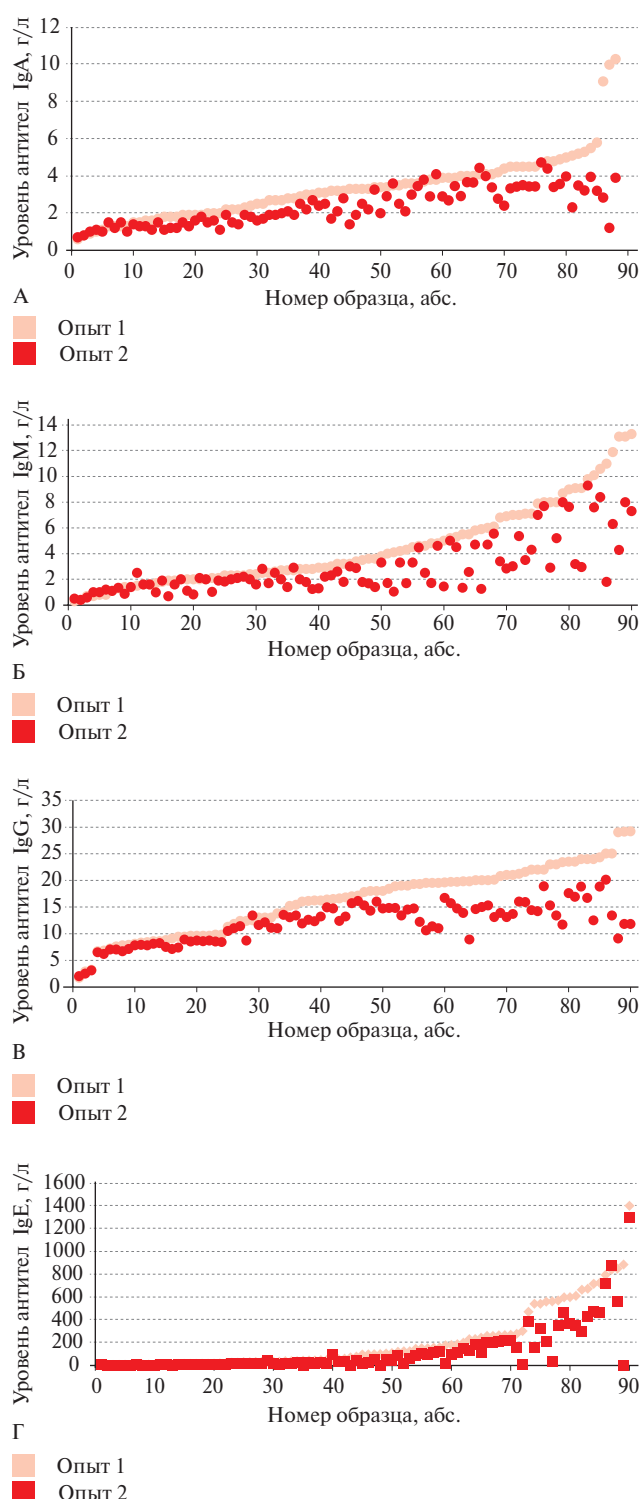


Рис. 1 Распределение образцов сыворотки крови в соответствии с уровнем антител (А — IgA, Б — IgM, В — IgG, Г — IgE) при первичном (опыт 1) и повторном (опыт 2) исследованиях. Примечание: Ig — иммуноглобулин(-ы).

метить, что разброс значений указанного показателя при повторном исследовании уменьшился (интерквартильный размах и стандартное отклонение в опыте 2 было меньше, чем в опыте 1). Такие результаты согласуются с данными, полученными ранее [18].

Все образцы сыворотки крови были серопозитивными при первичном и повторном исследовании. При этом наблюдалось смещение распределения уровней Ig всех исследуемых классов, к значению cut off (минимальное положительное значение согласно инструкции по применению тест-системы).

Установлено, что чем выше был уровень антител в образцах сывороток крови при первичном исследовании (опыт 1), тем более выраженным было его снижение после долгосрочного хранения (опыт 2). Для наглядности мы упорядочили результаты исследования образцов в опыте 1 по мере возрастания указанного показателя, и представили их попарно (рисунок 1). Корреляционный анализ выявил положительную сильную связь между уровнем антител при первичном исследовании и разницей значений (Δ) опыта 1 и опыта 2 для каждого образца сыворотки крови ($\rho=0,8$ при $p<0,05$). Такие результаты соответствовали данным, полученными нами ранее в отношении специфических к вирусам кори и краснухи антител [18].

Например, для IgG видно, что исследуемые показатели в пределах 20 г/л практически совпадали при первичном и повторном исследовании, тогда как при больших значениях разница была более выраженной. Концентрация специфических антител >25 г/л выявлена только в образцах в опыте 1. Корреляционная связь между уровнями антител при первичном и повторном исследованиях была ожидаемо сильной ($\rho=0,8$ при $p<0,05$). Аналогичные данные были получены и в отношении других классов Ig.

Одной из задач работы было оценить влияние продолжительного низкотемпературного хранения на интерпретацию результата исследования относительно полученного для образцов в опыте 1. Уровни антител в двух опытах были сопоставлены со значениями возрастной нормы антител согласно инструкции по применению используемых тест-систем. Установлено, что в отношении IgA, IgM, IgG при повторном исследовании не произошло такого изменения уровня антител, которое могло бы привести к искажению трактовки результатов диагностики в опыте 1. В отношении IgE в двух образцах наблюдалось снижение уровня антител до значений возрастной нормы, тогда как в аналогичных образцах при первичном исследовании он был превышен.

Обсуждение

Основной задачей преаналитического этапа является исключение возможности искажения результатов исследования с использованием коллекции образцов сывороток крови даже после долгосрочного их хранения. На основании полученных нами данных показано, что хранение при температуре -70°C , по всей видимости, не останавливает биохимические процессы в сыворотке крови, о чем может свидетельствовать установленное небольшое снижение среднего (Me) уровня антител всех классов (не $>15\%$).

Наиболее подверженными этому процессу оказались IgE. При условии, что распределение уровней антител не подчинялось закону нормального распределения и было смещено к значению cut off, все это могло привести к появлению ложноотрицательных образцов после хранения. Тем не менее, такие изменения не отразились на интерпретации результатов исследования, т.к. доля проб, в которых уровень антител был выше возрастной нормы, оказалась одинаковой в опытах 1 и 2. Исключением стали IgE, для которых интерпретация результатов исследования изменилась в двух образцах. Важным результатом стало отсутствие образцов с неопределяемым уровнем антител при повторном исследовании через 8 лет.

Отсутствие влияния снижения среднего уровня антител по завершении периода низкотемпературного хранения на интерпретацию результатов исследования, т.е. возникновения ложноотрицательных образцов, может быть объяснено следующим образом. При выполнении работы были подтверждены данные о большей "точности" небольших по сравнению с более высокими значениями уровня разных классов антител, полученные нами ранее в отношении специфических Ig класса G [18]. Такой эффект мог нивелировать снижение среднего (Me) уровня антител в выборке, что является важным для обеспечения достоверности сероэпидемиологических исследований по материалам коллекций биообразцов. Объяснение полученных результатов может быть различным и, вероятно, связано с биохимическими особенностями антител. Однако, по мнению авторов, это связано, прежде всего, с особенностями постановки ИФА. Согласно инструкции по применению используемых тест-систем, для соотнесения оптической плотности с уровнем антител в исследуемых образцах сывороток крови используют калибровочные образцы. В отношении Ig исследуемых классов, указанные калибраторы имеют небольшие значения, например, для IgG — 0; 1; 5; 10; 25 г/л, а для IgA — 0; 0,1; 0,5; 2; 5 г/л. При этом разброс полученных значений в выборке значительно шире указанных значений (рисунок 1). Вероятно, большая "точность" низких значений заложена в самой методике ИФА. В связи с этим актуальным является исследование сохранности антител при помощи разных методов, что могло бы исключить возможные методические погрешности.

Важно заметить, что по некоторым литературным данным процесс денатурации антител более выражен в тех образцах, где они имеют низкий уровень. Однако при средних и высоких титрах IgG и IgM вредные последствия повторных циклов замораживания и оттаивания, а также длительного низкотемпературного хранения минимальны [8]. Например, экспериментально показано, что после завершения 10 циклов замораживания/оттаивания активность указанных Ig сохранилась. Таким образом, очевидно, что выраженное снижение средних и высоких уровней антител, обнару-

женное нами, не может привести к появлению ложноотрицательных результатов в конечном итоге.

Результаты работы показали, что Ig основных классов являются достаточно стойкими при низкотемпературном хранении в течение 8 лет, а снижение среднего их уровня не искажает результатов последующих исследований при помощи ИФА и свидетельствует о надежности использования коллекций образцов биобанков. Полученные данные согласуются с результатами других исследователей. Например, в работе [8] убедительно показано, что длительное низкотемпературное хранение, а также многократные циклы замораживания-оттаивания не имели критического влияния на стабильность специфических антител IgG. Ввиду того, что образцы были отобраны с учетом гетерогенности поликлонального иммунного ответа человека, авторы делают вывод о возможности экстраполяции данных на все антитела против вакцин и лекарств.

Кроме того, стабильность антител при хранении была продемонстрирована и при помощи других высокочувствительных методов лабораторной диагностики, например, изотермической дифференциальной сканирующей флуориметрии в реальном времени [1], а также методом масс-спектропии [2]. Такие данные послужили научной основой разработки биосенсоров в разных областях медицины [3].

Полученные нами результаты, а также данные других авторов свидетельствуют о том, что обеспечение сохранности антител является комплексной задачей и деструктивное влияние многих факторов преаналитического этапа нельзя исключить полностью. В связи с этим перспективным направлением совершенствования технологического процесса биобанкирования является разработка методов и средств автоматизации с целью минимизации ручного труда [19, 20]. Такой подход позволит исключить ошибки и максимально стандартизировать операционные процедуры в биобанкировании, минимализируя, тем самым, влияние преаналитического этапа на результаты исследования.

Заключение

Для обеспечения достоверности результатов исследований приоритетным является использование образцов сывороток крови в ближайшие сутки после их получения. Однако стремительное развитие биобанкирования во всем мире подтверждает оправданность сохранения ценных образцов для будущих исследований и использование для этого разнообразных средств и методов, максимально замедляющих физико-химические процессы. Полученные в работе результаты подтвердили данное заключение и позволили сделать общий вывод о том, что низкотемпературное хранение в течение 8 лет обеспечивает сохранность антител разных классов и не ведет к существенному искажению результатов диагностики.

Ввиду того, что Ig являются одним из самых стойких маркеров контакта с возбудителем инфекционных заболеваний, а метод ИФА — одним из самых надежных; сероэпидемиологические исследования на их основе обладают высокой достоверностью и актуальностью.

Литература/References

1. Ma H, Ó'Fágáin C, O'Kennedy R. Antibody stability: A key to performance — Analysis, influences and improvement. *Biochimie*. 2020;177:213-25. doi:10.1016/j.biochi.2020.08.019.
2. 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.) Семененко Т.А., Акимкин В.Г. Сероэпидемиологические исследования в системе надзора за вакциноуправляемыми инфекциями. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018;95(2):87-94. doi:10.36233/0372-9311-2018-2-87-94.
3. Anisimov SV, Akhmerov TM, Balanovsky OP, et al. Biobanking. National Manual. Moscow: TRIUMPH Publishing House LLC, 2022. 308 p. (In Russ.) Анисимов С.В., Ахмеров Т.М., Балановский О.П. и др. Биобанкирование. Национальное руководство. Москва: ООО "Издательство ТРИУМФ", 2022. 308 с. ISBN: 978-5-93673-322-2.
4. Semenenko TA, Anan'ina YV, Bovev BV, et al. Banks of biological resources in the system of basic epidemiological and clinical studies. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2011;10:5-9. (In Russ.) Семененко Т.А., Ананьина Ю.В., Боев Б.В. и др. Банки биологических ресурсов в системе фундаментальных эпидемиологических и клинических исследований. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2011;10:5-9.
5. Doludin YV, Borisova AL, Pokrovskaya MS, et al. Current best practices and biobanking recommendations. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2019;64(12):769-76. (In Russ.) Долудин Ю.В., Борисова А.Л., Покровская М.С. и др. Современные передовые практики и рекомендации по биобанкированию. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019;64(12):769-76. doi:10.18821/0869-2084-2019-64-12-769-776.
6. Pokrovskaya MS, Borisova AL, Sivakova OV, et al. Quality management in biobank. World tendencies and experience of biobank of FSI "NMRC for preventive medicine" of the Ministry of healthcare of Russia. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2019;64(6):380-4. (In Russ.) Покровская М.С., Борисова А.Л., Сивакова О.В. и др. Управление качеством в биобанке. мировые тенденции и опыт биобанка ФГБУ "НМИЦ профилактической медицины" Минздрава России. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019;64(6):380-4. doi:10.18821/0869-2084-2019-64-6-380-384.
7. 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.
8. 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):870-1. doi:10.1097/OLQ.0000000000000036.
9. 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.
10. Vignoli A, Tenori L, Morsiani C, et al. Serum or Plasma (and Which Plasma), That Is the Question. *J Proteome Res*. 2022;21(4):1061-72. doi:10.1021/acs.jproteome.1c00935.
11. Rouet R, Lowe D, Christ D. Stability engineering of the human antibody repertoire. *FEBS Lett*. 2014;588(2):269-77. doi:10.1016/j.febslet.2013.11.029.
12. Correia IR. Stability of IgG isotypes in serum. *MAbs*. 2010;2(3):221-32. doi:10.4161/mabs.2.3.11788.
13. Moggridge J, Biggar K, Dawson N, et al. Sensitive Detection of Immunoglobulin G Stability Using in Real-Time Isothermal Differential Scanning Fluorimetry: Determinants of Protein Stability for Antibody-Based Therapeutics. *Technol Cancer Res Treat*. 2017;16(6):997-1005. doi:10.1177/1533034617714149.
14. Xiang H, Chan D, Bates R. Minimization of freeze/thaw-induced protein aggregation and optimization of a drug substance formulation matrix. *BioPharm Int*. 2015;28(8):30-7.
15. Martin P, Colandene J, Pruett WA, et al. Impact of manufacturing-scale freeze-thaw conditions on a mAb solution. *BioPharm Int*. 2017;30(2):30-6.
16. Manikwar P, Majumdar R, Hickey JM, et al. Correlating excipient effects on conformational and storage stability of an IgG1 monoclonal antibody with local dynamics as measured by hydrogen/deuterium-exchange mass spectrometry. *J Pharm Sci*. 2013;102(7):2136-51. doi:10.1002/jps.23543.
17. Ma H, O'Kennedy R. Generation and optimization of antibodies for use in biosensors/ In: *Nanobiosensors for personalized in situ biomedical diagnostics* (ed Pranjal Chandra and Esther Sehgal) Institute of Engineering and Technology (IET) Publishing. 2016;209-30. ISBN: 9781849199506; e-ISBN: 9781849199513. 638 p. doi:10.1049/PBHE001E.
18. Nozdracheva AV, Semenenko TA. Influence of long-term storage of blood serum samples in a biobank for population-based seroepidemiologic studies. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2022;21(11):3407. (In Russ.) Ноздрачева А.В., Семененко Т.А. Влияние длительного хранения образцов сывороток крови в условиях биобанка для проведения популяционных сероэпидемиологических исследований. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2022;21(11):3407. doi:10.15829/1728-8800-2022-3407.
19. Voloshkin AA, Rybak LA, Nozdracheva AV, et al. Robotic system based on a delta manipulator for aliquoting in closed chambers and boxes. *Extreme Robotics*. 2022;1(1):436-44. (In Russ.) Волошкин А.А., Рыбак Л.А., Ноздрачева А.В. и др. Роботизированная система на базе дельта манипулятора для аликвотирования в закрытых камерах и боксах. *Экстремальная робототехника*. 2022;1(1):436-44.
20. Khalapyan S, Rybak L, Nebolsin V, et al. Robotic System for Blood Serum Aliquoting Based on a Neural Network Model of Machine Vision. *Machines*. 2023;11(3):349. doi:10.3390/machines11030349.

Исследование особенностей метаболома пациентов с COVID-19

Русских Я. В.¹, Сушенцева Н. Н.¹, Попов О. С.^{1,2}, Апалько С. В.^{1,2}, Анисенкова А. Ю.^{1,2}, Мосенко С. В.^{1,2}, Сарана А. М.^{2,3}, Щербак С. Г.^{1,2}

¹СПбГБУЗ "Городская больница № 40 Курортного района" Отдела здравоохранения Администрации Курортного района г. Санкт-Петербурга. Сестрорецк; ²ФГБОУ ВО "Санкт-Петербургский государственный университет". Санкт-Петербург;

³Комитет по здравоохранению Санкт-Петербурга. Санкт-Петербург, Россия

Цель. Комплексный анализ особенностей метаболомного профиля пациентов с COVID-19 (COroNa Vlrus Disease 2019, новая коронавирусная инфекция) с использованием методов масс-спектрометрии и с учетом клинично-лабораторного анамнеза. Изучение связи между тяжестью симптомов COVID-19 и концентрацией первичных метаболитов, прежде всего аминокислот.

Материал и методы. В ретроспективное исследование включены образцы сыворотки крови в общей сложности 935 человек (445 мужчин и 490 женщин) из коллекции биобанка СПб ГБУЗ "Городская больница № 40" из числа заболевших COVID-19. Во всех образцах хромато-масс-спектрометрическим методом было проведено исследование метаболомного профиля. Для статистической обработки данных использовался язык программирования R.

Результаты. На основании проведенного анализа выявлено различие метаболомического профиля пациентов с COVID-19 в зависимости от тяжести заболевания — для 52 из 84 обнаруженных соединений наблюдались различия с достоверностью $p < 0,01$. Статистически значимые различия в концентрации зафиксированы для органических кислот, аминокислот и их производных.

Заключение. С использованием образцов из коллекции биобанка было проведено метаболомное исследование биоматериала пациентов, госпитализированных с диагнозом COVID-19. Согласно получен-

ным результатам, с тяжестью протекания COVID-19 ассоциированы кинуренин, фенилаланин и ацетилкарнитин. Выявлены различия метаболомного профиля у пациентов с цитокиновым штормом на момент взятия крови, определены метаболиты, подходящие под потенциальные биомаркеры развития цитокинового шторма.

Ключевые слова: биобанк, COVID-19, метаболомный профиль, хромато-масс-спектрометрический анализ, цитокиновый шторм.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 31/08-2023

Рецензия получена 08/09-2023

Принята к публикации 13/09-2023



Для цитирования: Русских Я. В., Сушенцева Н. Н., Попов О. С., Апалько С. В., Анисенкова А. Ю., Мосенко С. В., Сарана А. М., Щербак С. Г. Исследование особенностей метаболома пациентов с COVID-19. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2023; 22(11):3711. doi:10.15829/1728-8800-2023-3711. EDN UOWPDT

Study of the metabolome features of patients with COVID-19

Russkikh Y. V.¹, Sushentseva N. N.¹, Popov O. S.^{1,2}, Apalko S. V.^{1,2}, Anisenkova A. Yu.^{1,2}, Mosenko S. V.^{1,2}, Sarana A. M.^{2,3}, Shcherbak S. G.^{1,2}

¹City Hospital № 40 of the Kurortny District. Sestroretsk; ²Saint-Petersburg State University. St. Petersburg; ³Health Committee of Saint-Petersburg. St. Petersburg, Russia

Aim. To analyze the metabolomic profile of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) using mass spectrometry methods and taking into account clinical and laboratory history. Studying the relationship between the severity of COVID-19 symptoms and the concentration of primary metabolites, primarily amino acids.

Material and methods. The retrospective study included serum samples from a total of 935 people (445 men and 490 women) with COVID-19 from the collection of the biobank of the City Hospital № 40. A metabolomic profile was studied in all samples using chromatography-mass spectrometry. The R language was used for statistical data processing.

Results. Based on the analysis, a difference in the metabolic profile of patients with COVID-19 was identified depending on the disease severity — for 52 of the 84 detected compounds, differences were observed with a significance of $p < 0,01$. Significant differences in concentration were recorded for organic acids, amino acids and their derivatives.

Conclusion. Using samples from the biobank collection, a metabolomic study of the biomaterial of patients hospitalized with a diagnosis of COVID-19 was carried out. According to the results obtained, kynurenine, phenylalanine and acetylcarnitine are associated with COVID-19 severity. Differences in the metabolomic profile were

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: navicula@yandex.ru

[Русских Я. В. — к.х.н., специалист, ORCID: 0000-0003-1762-3055, Сушенцева Н. Н. — начальник научно-исследовательской лаборатории трансляционной биомедицины научно-исследовательского отдела инновационных и конверсионных программ, ORCID: 0000-0002-5100-5229, Попов О. С. — специалист, магистрант, ORCID: 0000-0003-1778-0165, Апалько С. В. — к.б.н., начальник научно-исследовательского отдела инновационных и конверсионных программ, с.н.с. ORCID: 0000-0002-3853-4185, Анисенкова А. Ю. — врач-терапевт, кардиолог, доцент кафедры последипломного медицинского образования, ORCID: 0000-0001-5642-621X, Мосенко С. В. — врач-невролог, с.н.с., ORCID: 0000-0002-1357-4324, Сарана А. М. — доцент кафедры последипломного мед. образования, и.о. декана медицинского факультета, первый заместитель председателя Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга, ORCID: 0000-0003-3198-8990, Щербак С. Г. — главный врач, профессор кафедры последипломного медицинского образования, зав. кафедрой, ORCID: 0000-0001-5047-2792].

identified in patients with cytokine storm at the time of blood collection. Potential biomarkers for cytokine storm were identified.

Keywords: biobank, COVID-19, metabolomic profile, gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytokine storm.

Relationships and Activities: none.

*Corresponding author:
navicula@yandex.ru

Received: 31/08-2023

Revision Received: 08/09-2023

Accepted: 13/09-2023

Russkikh Y. V. ORCID: 0000-0003-1762-3055, Sushentseva N. N.* ORCID: 0000-0002-5100-5229, Popov O. S. ORCID: 0000-0003-1778-0165, Apalko S. V. ORCID: 0000-0002-3853-4185, Anisenkova A. Yu. ORCID: 0000-0001-5642-621X, Mosenko S. V. ORCID: 0000-0002-1357-4324, Sarana A. M. ORCID: 0000-0003-3198-8990, Shcherbak S. G. ORCID: 0000-0001-5047-2792.

For citation: Russkikh Y. V., Sushentseva N. N., Popov O. S., Apalko S. V., Anisenkova A. Yu., Mosenko S. V., Sarana A. M., Shcherbak S. G. Study of the metabolome features of patients with COVID-19. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3711. doi:10.15829/1728-8800-2023-3711. EDN UOWPDT

ADMA — асимметричный диметиларгинин, АМФ — аденозинмонофосфат, ВЭЖХ-МС/МС — высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией, КК — кинуреновая кислота, КТ — компьютерная томография, МС — масс-спектрометрия, СДМА — симметричный диметаларгинин, ТМФ — тимидинмонофосфат, ЦШ — цитокиновый шторм, AhR — арильный углеводородный рецептор, COVID-19 — COrona Vlrus Disease 2019 (новая коронавирусная инфекция), SAH — S-аденозилгомоцистеин, SAM — S-аденозилметионин, lfc — log fold change (логарифм кратности изменения).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Метаболомное профилирование крови пациентов широко используется с целью получения знаний о патогенезе заболевания и возможных терапевтических мишенях.
- Результаты метаболомных исследований пациентов с COVID-19 (COrona Vlrus Disease 2019), полученные различными исследователями, различаются, что может быть обусловлено популяционными факторами.

Что добавляют результаты исследования?

- Одно из первых метаболомных исследований, проведенных с использованием биобанка, со значительной выборкой инфицированных COVID-19 пациентов из Санкт-Петербурга и Ленинградской области (РФ), выполненное методом хромато-масс-спектрометрии с учетом клинко-лабораторного анамнеза.
- COVID-19 оказывает наибольшее влияние на метаболизм аминокислот и соединений, входящих в цикл трикарбоновых кислот.

Key messages

What is already known about the subject?

- Metabolomic profiling of patient blood is widely used to study disease pathogenesis and possible therapeutic targets.
- The results of metabolomic studies of patients with COVID-19 obtained by different researchers vary, which may be due to population factors.

What might this study add?

- We performed one of the first metabolomic studies conducted using a biobank, with a significant sample of COVID-19 patients from St. Petersburg and the Leningrad Oblast, carried out using gas chromatography-mass spectrometry, taking into account clinical and laboratory history.
- COVID-19 has the greatest impact on the metabolism of amino acids and compounds included in the tricarboxylic acid cycle.

Введение

В последнее время появляется все больше исследований, посвященных анализу метаболома крови для диагностики и оценки тяжести заболеваний [1-4]. Метаболомное профилирование биологических жидкостей человека вызывает большой интерес с точки зрения возможностей получения дополнительных знаний о патогенезе заболеваний и возможных терапевтических мишенях.

Основным методом исследования метаболома является масс-спектрометрия (МС), которая позволяет с высокой надежностью, специфичностью и чувствительностью определять широкий круг разнообразных соединений, в т.ч. являющихся маркерами заболеваний, даже в очень низкой концентрации.

Биобанки предоставляют исследователям охарактеризованный биологический материал, что позволяет сформировать оптимальные когорты пациентов. Использование биобанков дает возможность проводить масштабные метаболомные исследования в сжатые сроки и быстро внедрять значимые результаты в клиническую практику.

Сочетание возможностей МС и биобанкирования в метаболомном анализе может использоваться для оценки прогноза развития новой коронавирусной инфекции, а выявленные метаболические профили — для уточнения связанных с заболеванием биологических путей.

Известно, что новая коронавирусная инфекция 2019 (COVID-19 — COrona Vlrus Disease 2019) вызы-

Таблица 1

Половозрастная структура обследованных групп пациентов [M±SD]

Сравнение	Группа	n	n (муж.)	n (жен.)	Возраст	Возраст (муж.)	Возраст (жен.)
Степень тяжести течения заболевания (n=935)	I	25	16	9	51±16,2	50,9±16,6	51,3±16,3
	II	564	263	301	61,5±15,5	59,7±15,3	63,1±15,5
	III	346	166	180	69,1±14,2	67,1±14,3	70,9±13,8
Исход заболевания (n=935)	IV	141	73	68	74,8±12,4	73±12,1	76,7±12,5
	V	794	372	422	62,1±15,3	60±15,2	64±15,2
Наличие ЦШ (n=352)	VI	143	85	58	66,4±13,7	64,5±14,5	69,1±12
	VII	209	86	123	61,8±15,8	58,8±16,5	63,9±15,1

Примечание: I — группа пациентов с легким течением заболевания, II — группа пациентов со среднетяжелым течением заболевания, III — группа пациентов с тяжелым течением заболевания, IV — группа пациентов с летальным исходом заболевания, V — группа пациентов, успешно выписанных после госпитализации, VI — группа пациентов с наличием ЦШ на момент взятия биоматериала, VII — группа пациентов без ЦШ на момент взятия биоматериала. Сравнение — параметр, по которому сравниваются исследуемые группы, в скобках (n) дано общее количество пациентов из выборки, вошедших в группы. ЦШ — цитокиновый шторм, муж. — мужчины, жен. — женщины.

вает у некоторых инфицированных людей продолжительный и неконтролируемый цитокиновый ответ, известный как цитокиновый шторм (ЦШ). ЦШ при COVID-19 часто приводит к диффузному альвеолярному повреждению легких, проявляющемуся острым респираторным дистресс-синдромом с явлениями полиорганной недостаточности, а в ряде случаев тромбгеморрагическим (ДВС-подобным) синдромом, или синдромом диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, и может стать причиной летального исхода [1, 5].

Выявление факторов, позволяющих прогнозировать риск развития тяжелого течения заболевания и его осложнений, а также поиск биомаркеров, определяющих риски развития ЦШ при COVID-19, является важной задачей.

Спектр аминокислот отображает многие процессы, происходящие в организме, и может содержать сведения об особенностях протекания многих заболеваний. Аминокислоты необходимы для синтеза белков, гормонов и нейротрансмиттеров, они являются предшественниками многих жизненно важных молекул и играют ключевую роль в функционировании иммунных клеток, поэтому нарушение метаболизма аминокислот может вызывать неврологические симптомы и полиорганную недостаточность [6, 7]. Аминокислоты плазмы связывают все системы органов и играют важную физиологическую роль в качестве основных метаболитов и регуляторов метаболизма. Соответственно, метаболические изменения, возникающие при заболеваниях различных систем и органов, будут оказывать влияние на аминокислотные профили, а спектр аминокислот может служить прогностическим фактором или указывать на развитие ряда заболеваний [8].

К настоящему времени опубликовано немало работ, посвященных изучению метаболомного профиля пациентов с COVID-19. Большинство из них направлены на определение уникальной метаболитической сигнатуры COVID-19 или на прогнозирование

тяжести заболевания и/или смертности от него [1-3, 9]. Отмечено, что при многих заболеваниях изменение уровня определенных аминокислот может служить прогностическим фактором [4, 6]. Кроме того, в ряде клинических исследований было показано, что на исход заболевания может влиять добавка в рацион аминокислот, концентрация которых уменьшается при тяжелом течении COVID-19 [1, 2]. Таким образом, выявление аминокислотных профилей может быть полезным не только в качестве биомаркеров патологических состояний, но и для разработки стратегий лечения [3, 4].

Концентрации аминокислот в сыворотке крови достаточно сильно связаны с симптоматикой COVID-19 [1, 6, 9-12]. Однако данные об участии отдельных аминокислот в патологических процессах могут значительно расходиться. Так, в ряде исследований сообщалось, что уровень концентрации фенилаланина был положительно связан с тяжестью симптомов [6, 13, 14], тогда как в других работах отмечена обратная связь [15] или отсутствие такой связи [11, 16].

Целью настоящей работы было выявление особенностей метаболомного (прежде всего, аминокислотного) профиля пациентов, инфицированных COVID-19, с различной тяжестью течения и исходами заболевания.

Материал и методы

Используемый материал. Для исследования аминокислотного профиля использовали замороженную сыворотку крови из коллекции биобанка Санкт-Петербургского государственного бюджетного учреждения здравоохранения (СПб ГБУЗ) "Городская больница № 40". Документы в рамках научно-исследовательского проекта "Биобанкирование и биомедицинские исследования образцов тканей и жидкостей человека" были одобрены Экспертным советом по этике СПб ГБУЗ "Городская больница № 40" на заседании № 119 от 09 февраля 2017г. У всех участников исследования было получено письменное информированное добровольное согласие

Таблица 2

Список первичных метаболитов

Гликолитическая система	Органические кислоты	Метионина сульфоксид	Гуанозин-3',5'-циклический монофосфат
Молочная кислота	4-аминобутановая кислота	Симметричный диметиларгинин	Гуанозинмонофосфат
Пировиноградная кислота	Аденилосукцинат	Фенилаланин	Тимидин
Цикл трикарбоновых кислот	Аргинин-янтарная кислота	Пролин	Прочие соединения
2-кетоглутаровая кислота	Холевая кислота	Серин	2-аминобутановая кислота
Аконитовая кислота	Креатин	Орнитин	Ацетилкарнитин
Лимонная кислота	Никотиновая кислота	Треонин	Ацетилхолин
Фумаровая кислота	Офтальмовая кислота	Триптофан	Аллантоин
Изолимонная кислота	Оротовая кислота	Тирозин	Карнитин
Яблочная кислота	Пантотеновая кислота	Валин	Карнозин
Янтарная кислота	Таурохолевая кислота	Цикл метилирования и транссульфурации	Холин
Аминокислоты	Мочевая кислота	Цистатионин	Цитиколлин
4-гидроксипролин	Нуклеозиды и нуклеотиды	Цистеин	Креатинин
Аланин	Аденин	Гомоцистеин	Цистеамин
Аргинин	Цитозин	Метионин	ДОФА (диоксифенилаланин)
Аспарагин	Гуанин	5-глутамилцистеин	Дофамин
Аспарагиновая кислота	Тимин	Глутатион	Адреналин
Лизин	Урацил	Окисленный глутатион	Гистамин
Цитруллин	Ксантин	S-аденозилгомоцистеин (SAH)	Гипоксантин
Цистин	Аденозин	S-аденозилметионин (SAM)	Кинуренин
Диметилглицин	Цитидин	Коферменты	Никотинамид
Глутаминовая кислота	Гуанозин	ФАД (флавинадениндинуклеотид)	Норадреналин
Глутамин	Инозин	ФМН (флавиномононуклеотид)	Серотонин
Глицин	Тимидин	НАДФ (никотинамидадениндинуклеотид)	Внутренние стандарты (ISTD)
Гистидин	Уридин		2-(N-морфолино)этансульфо- новая кислота
Гомоцистин	Аденозин 3',5'-циклический монофосфат		L-метионин сульфон
Изолейцин	Аденозинмонофосфат		
Лейцин	Цитидин-3',5'-циклический монофосфат		
Асимметричный диметиларгинин	Цитидинмонофосфат		

на помещение их биоматериала в биобанк с последующим использованием в научных целях.

Пациенты и группы. В ретроспективное исследование были включены образцы сыворотки 935 пациентов (445 мужчин и 490 женщин) с диагнозом U07.1 — "Коронавирусная инфекция COVID-19, вирус идентифицирован" (таблица 1). Диагноз COVID-19 был поставлен на основании клинической картины и по результатам ПЦР (полимеразной цепной реакции)-тестирования.

Для отбора пациентов в исследование использовали следующие критерии включения:

1. Пациент госпитализирован в отделение реанимации и интенсивной терапии с основным диагнозом "Коронавирусная инфекция COVID-19, вирус идентифицирован" (U07.1)
2. Подписанное информированное согласие на взятие крови и биобанкирование материала.
3. Отсутствие в анамнезе вируса иммунодефицита человека, гепатитов В и С, сифилиса.
4. Материал от пациента поступил на ранних сроках после госпитализации, до начала терапии (антицитокиновой терапии, гемосорбции, переливания плазмы реконвалесцентов и др.).

Пациенты были разделены на группы в соответствии со степенью тяжести заболевания согласно актуальной версии "Временных методических рекомендаций. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)": (I) "легкое течение" — группа пациентов с легким протеканием COVID-19 без изменений при компьютерной томографии (КТ), характерных для вирусного поражения (16 мужчин и 9 женщин); (II) — "среднетяжелое течение" — группа пациентов с повышенной температурой тела ($>38^{\circ}\text{C}$), относительно низким уровнем насыщения крови кислородом и изменениями при КТ, типичными для вирусного поражения (263 мужчин и 301 женщина), (III) — "тяжелое течение" — группа пациентов с тяжелым течением COVID-19, при котором наблюдаются снижение уровня сознания, нестабильная гемодинамика и изменения при КТ вплоть до критической степени поражения и острого респираторного дистресс-синдрома (166 мужчин и 180 женщин).

Также были выделена группа IV — пациенты с летальным исходом заболевания (всего 73 мужчины и 68 женщин), а в качестве группы сравнения использовали группу пациентов, успешно выписанных после лечения — V.

Наличие ЦШ (в любой день на протяжении всей госпитализации) определялось согласно следующим условиям: уровень ферритина >485 мкг/л, С-реактивного белка >50 мг/л, D-димера >2,5 мкг/мл, интерлейкина-6 >25 пг/мл, активность лактатдегидрогеназы >550 ед/л. При совпадении ≥ 3 условий пациента определяли в группу VI, при невыпадении всех условий пациента определяли в группу VII.

Для групп VI и VII использовали дополнительный критерий исключения: отсутствие как минимум двух параметров (лабораторных биомаркеров), используемых для определения ЦШ, измеренных в день взятия биоматериала. После исключения общее количество пациентов в сравнении (VI и VII группы) сократилось с 935 до 352.

Метод исследования профиля метаболитов. Подготовку образцов сыворотки крови проводили в дубликатах (параллельные измерения). В качестве внутренних стандартов использовали 4-морфолинэтансульфоновую кислоту и метионин сульфат (фирмы Sigma-Aldrich). Образцы замораживали при комнатной температуре, далее к 50 мкл сыворотки крови добавляли 100 мкл раствора смеси внутренних стандартов в ацетонитриле. Полученный экстракт разбавляли водой (очищенной с использованием системы Milli-Q), центрифугировали и анализировали с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС). Приготовленные стандартные растворы и экстракты хранили при температуре -20°C .

Контролем качества служили экстракты образцов усредненной сыворотки крови с добавкой внутренних стандартов, приготовленные по той же процедуре, что и экспериментальные образцы. Усредненную сыворотку готовили из предварительно отобранных и тщательно смешанных образцов сыворотки крови нескольких доноров, полученную смесь аликвотировали и замораживали до проведения исследования. В качестве "холостой" пробы использовали 5% раствор этилендиаминтетраацетата натрия и аликвоты растворителей в соответствующих объемах, пропущенные через все стадии пробоподготовки.

Исследование профиля метаболитов проводили с использованием жидкостного хромато-масс-спектрометра с тройным квадруполом LCMS-8050 (фирмы Shimadzu) с хроматографической системой Nexera X2. ВЭЖХ-МС/МС — анализ выполняли с применением коммерчески доступного метода "LC/MS/MS Method Package for Primary Metabolites" для анализа первичных метаболитов с использованием аналитической колонки Discovery HS F5-3 (150×2,1 мм, 3 мкм) (Supelco, Merck) в режиме мониторинга множественных реакций. Метод позволяет проводить одновременный анализ 98 первичных метаболитов (таблица 2), включающих аминокислоты, органические кислоты, нуклеотиды, нуклеозиды и коферменты. Масс-спектрометрические и хроматографические условия и параметры задавали согласно инструкции для метода "LC/MS/MS Method Package for Primary Metabolites". Сбор и обработку данных проводили с применением программного обеспечения LabSolutions по методу внутреннего стандарта.

Статистическая обработка данных. Для проверки гипотезы о нормальном распределении данных использовался тест Шапиро-Уилка. Для выявления межгруппового различия в уровнях концентрации исследуемых соединений использовался однофакторный дисперсионный анализ по критерию Краскела-Уоллиса, в качестве *post-hoc* анализа применялся критерий Манна-Уитни. В качестве меры, ото-

бражающей разность диапазона значений между выборками, использовался логарифм кратности изменения (log fold change, lfc), описательная статистика представлена медианой (Me) и интерквартильным размахом [Q25-Q75]. Для оценки связи между индексом коморбидности и концентрацией исследуемых соединений использовался коэффициент корреляции Спирмена. Различие между выборками считали значимым при $p < 0,05$ и $lfc > 1$. Обработка и статистический анализ данных выполнены с использованием языка программирования R версии 4.3.1.

Исследование выполнено в рамках проекта Санкт-Петербургского государственного университета ID 94029859 и при взаимодействии с базой Ресурсного центра Биобанк (Core facility center "Biobank").

Результаты

Каждый образец анализировали на наличие первичных метаболитов основных химических классов клинически значимых низкомолекулярных соединений. Для дальнейшего анализа использовали только те метаболиты, которые показали ненулевые значения как минимум в нескольких повторях. Таким образом, из 98 метаболитов, которые могут быть детектированы используемым методом, были отобраны 84 соединения.

Результаты проведенного анализа первичных метаболитов выявили различия метаболомного профиля в зависимости от тяжести заболевания для 52 из 84 детектированных соединений (со значимостью $p < 0,01$). Наибольшее различие в сравнении групп по тяжести течения COVID-19 показали следующие метаболиты: кинуренин ($p < 0,0001$; $lfc = 1,62$), фенилаланин ($p < 0,0001$; $lfc = 1,13$) и ацетилкарнитин ($p < 0,0001$; $lfc = 1,28$).

Различия между группами с высоким уровнем статистической значимости обнаружены и для концентрации следующих соединений: цитруллин, орнитин, цистин, диметилглицин, асимметричный диметиларгинин (АДМА), аланин, цистатион, карнозин, 5-глутамилцистеин, аргинин (таблица 3).

Кроме того, при прогрессировании тяжести COVID-19 последовательно изменялись уровни содержания тирозина, гистидина, пролина, треонина, симметричного диметиларгинина (СДМА), креатинина, аденозина, тимидинмонофосфата (ТМФ), цитозина, S-аденозилгомоцистеина (SAH), никотинамида.

Отличия в метаболомическом профиле пациентов I группы с COVID-19 от II группы наблюдались для более чем 30 исследованных соединений (таблица 3). Для II группы пациентов были выявлены повышенные уровни кинуренина, фенилаланина, ацетилкарнитина, диметилглицина, пролина, цитозина, тирозина, аденозина, SAH, ТМФ, а несколько меньше для изолейцина, аллантаина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, 4-гидроксипролина, цистатиона, лизина, глицина, 5-глутамилцистеина, глутатиона, валина, серина, аденозинмонофосфата (АМФ), 2-кетоглутаровой, яблочной и оротовой кислот, креатина, лимонной,

Таблица 3

Концентрации метаболитов в крови пациентов разных групп,
разделенных по тяжести течения заболевания [Ме (Q25-Q75)]

Метаболит	I (легкое)	II (средне-тяжелое)	III (тяжелое)	"Значимость"	I, II	I, III	II, III
L-цистин	0,191 (0,132-0,667)	1,77 (0,207-5,44)	2,76 (0,395-6,07)	<0,001	0,001	<0,001	0,001
L-аспарагин	1,63 (0,778-1,95)	2,6 (1,74-3,94)	2,8 (1,76-4,11)	<0,001	<0,001	<0,001	0,249
L-аспарагиновая кислота	1,45 (0,692-1,78)	2,32 (1,51-3,31)	2,17 (1,53-3,38)	<0,001	<0,001	<0,001	0,445
L-аланин	34,4 (25,3-38,7)	21,4 (12-32,6)	16,3 (10,4-27,5)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
L-циста-тионин	0,042 (0,015-0,08)	0,147 (0,085-0,298)	0,201 (0,11-0,439)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
L-яблочная кислота	0,009 (0,002-0,016)	0,016 (0,007-0,025)	0,022 (0,013-0,038)	<0,001	0,029	<0,001	<0,001
L-цистеин	0,145 (0,059-0,329)	0,09 (0,02-0,255)	0,042 (0,019-0,153)	<0,001	0,111	0,001	<0,001
Цитруллин	4,12 (3,18-5,76)	2,76 (0,88-4,54)	2,02 (0,85-3,35)	<0,001	0,001	<0,001	<0,001
L-пролин	10,1 (8,41-16,9)	26,9 (11,9-44,9)	31,8 (14,6-51,8)	<0,001	<0,001	<0,001	0,033
Орнитин	7,87 (6,29-10,6)	5,89 (3,12-9,3)	4,47 (2,79-6,85)	<0,001	0,005	<0,001	<0,001
ТМФ	0,001 (0-0,002)	0,004 (0-0,074)	0,029 (0,001-0,358)	<0,001	0,002	<0,001	<0,001
Серин	9,43 (2,76-11,6)	15 (9,7-21,4)	15 (9,04-19,9)	<0,001	<0,001	<0,001	0,392
Фумаровая кислота	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0,007)	<0,001	0,005	<0,001	<0,001
5-глутамил-цистеин	0 (0-0)	0 (0-0,014)	0,009 (0-0,018)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Креатинин	26,9 (23,9-32,3)	38,7 (29,5-53,1)	44,8 (30,8-60,5)	<0,001	<0,001	<0,001	0,001
Норадреналин	2,99 (1,58-3,39)	1,54 (0,106-2,48)	1,19 (0,086-2,33)	<0,001	<0,001	<0,001	0,022
Карнозин	0,07 (0,03-0,11)	0,026 (0,006-0,07)	0,017 (0,004-0,055)	<0,001	0,003	<0,001	0,001
SAM	1,3e-10 (0-0,004)	0 (0-0,003)	0 (0-0)	<0,001	0,022	<0,001	0,001
Асимметричный диметиларгинин	0,504 (0,419-0,659)	0,233 (0,007-0,52)	0,041 (0,004-0,4)	<0,001	<0,001	<0,001	0,001
Симметричный диметиларгинин	0,132 (1,28e-10-0,588)	0,039 (0,008-0,134)	0,018 (0-0,098)	<0,001	0,085	0,004	<0,001
SAH	0,014 (0,004-0,021)	0,014 (0-0,028)	0,022 (0,009-0,037)	<0,001	0,568	0,008	<0,001
L-кинуруенин	1,21 (0,813-1,98)	1,6 (1,13-2,19)	1,96 (1,29-2,86)	<0,001	0,012	<0,001	<0,001
L-фенил-аланин	107 (59,2-148)	144 (82,8-219)	173 (106-243)	<0,001	0,021	<0,001	<0,001
L- ацетил-карнитин	45,5 (36,4-57,9)	68,2 (43-103)	86 (52,6-135)	<0,001	0,002	<0,001	<0,001
Гистамин	0 (0-0,011)	0,0154 (0-0,029)	0,022 (0,006-0,048)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Аллантоин	0,01 (0,006-0,0147)	0,015 (0,007-0,023)	0,017 (0,01-0,032)	0,001	0,047	0,002	<0,001
Диметилглицин	1,32 (0,898-1,83)	1,83 (1,25-2,66)	2,1 (1,3-3,64)	0,001	0,005	<0,001	0,002
Глицин	2,4 (0,838-4,04)	3,78 (2,5-5,65)	3,3 (2,19-4,86)	0,001	0,005	0,046	<0,001
L-карнитин	20,4 (17,5-24,2)	26,4 (20,8-33,4)	27,5 (21,2-34,8)	0,001	<0,001	<0,001	0,182
Цитиколин	0,002 (0-0,005)	0,01 (0,002-0,023)	0,009 (0,002-0,022)	0,0012	<0,001	<0,001	0,404
L-треонин	7,48 (5,87-10,4)	8,05 (5,92-11,2)	7,07 (4,81-10,1)	0,0012	0,249	0,803	<0,001
Пировиноградная кислота	0 (0-0,043)	0,027 (0-0,052)	0,021 (0-0,036)	0,001	0,035	0,211	<0,001
Лимонная кислота	0 (0-0,064)	0,067 (0,02-0,153)	0,069 (0,016-0,191)	0,001	<0,001	<0,001	0,46
Аденозин	0,132 (0,063-0,186)	0,166 (0,065-0,435)	0,245 (0,087-0,46)	0,001	0,112	0,005	0,001
Серотонин	0,046 (0,029-0,096)	0,08 (0,032-0,19)	0,047 (0,026-0,141)	0,001	0,057	0,652	<0,001
L-глутамин	42,8 (34,8-87,3)	109 (53,5-160)	111 (57,4-162)	0,001	<0,001	<0,001	0,429
АМФ	2,07e-09 (1e-09-0,001)	0,006 (1,95e-09-0,019)	0,012 (0,001-0,022)	0,001	0,018	0,002	0,009
Цитидин	0,001 (0-0,003)	0 (0-4,21e-4)	0 (0-0,002)	0,001	<0,001	0,001	0,492
Тимидин	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0,001	0,423	0,609	<0,001
Цистеамин	0 (0-0)	0 (0-1,02e-11)	0 (0-0,001)	0,001	0,005	0,001	0,03
Никотинамид	0,112 (0,037-0,261)	0,132 (0,055-0,233)	0,169 (0,076-0,298)	0,002	0,595	0,11	0,001
DL-гомоцистин	0,004 (0-0,016)	0,003 (0-0,0144)	0,002 (0-0,007)	0,002	0,506	0,709	<0,001
Урацил	0,06 (0,037-0,067)	0,0382 (0,017-0,071)	0,0326 (0,012-0,06)	0,002	0,052	0,003	0,01
Офальмовая кислота	0 (0-0)	0 (0-0,002)	0 (0-0,002)	0,003	0,003	0,001	0,159

Таблица 3. Продолжение

Метаболит	I (легкое)	II (средне-тяжелое)	III (тяжелое)	"Значимость"	I, II	I, III	II, III
Дофамин	0,01 (0,004-0,0184)	0,0084 (1,75e-08-0,0158)	0,011 (0,004-0,018)	0,004	0,522	0,639	0,001
Изолимонная кислота	0 (0-0,04)	0,0142 (0,003-0,032)	0,01 (0-0,028)	0,004	0,017	0,085	0,011
L-ДОФА	0,01 (0-0,016)	0,008 (0-0,016)	0,011 (0,002-0,018)	0,004	0,997	0,286	0,001
L-тирозин	36,9 (20,9-47,4)	46,6 (27,8-82)	53,6 (31-81,5)	0,006	0,021	0,002	0,072
L-лизин	75,4 (56-125)	141 (64,3-219)	153 (69,7-226)	0,006	0,006	0,002	0,213
L-гистидин	29,1 (23,1-34,1)	20,8 (12,7-33,2)	19,6 (11,6-31,9)	0,006	0,008	0,003	0,136
Холевая кислота	0,002 (0,001-0,003)	0,002 (7,23e-4-0,004)	0,001 (4,33e-4-0,003)	0,008	0,967	0,299	0,002
L-валин	73,8 (60,1-82)	87,7 (66,9-118)	89,9 (68,1-116)	0,01	0,004	0,002	0,653
2-кето-глутаровая кислота	0,194 (5,71e-08-0,6)	0,303 (0,131-0,592)	0,42 (0,137-0,836)	0,01	0,386	0,169	0,004

Примечание: "Значимость" — р-значение по критерию Краскела-Уоллиса. В столбцах с названием групп, перечисленных через запятую — р-значение posthoc тест (критерий Манна-Уитни) для обозначенных групп. I — группа пациентов с легким течением заболевания, II — группа пациентов со среднетяжелым течением заболевания, III — группа пациентов с тяжелым течением заболевания. В таблице представлены только те метаболиты, разница в концентрации которых была статистически значима ($p \leq 0,01$). SAN — S-аденозилгомоцистеин, SAM — S-аденозилметионин, АМФ — аденозинмонофосфат, L-ДОФА — L-диоксифенилаланин, ТМФ — тимидинмонофосфат.

Таблица 4

Концентрации метаболитов в крови пациентов разных групп, разделенных по наличию ЦШ [Ме (Q25-Q75)]

Метаболит	VII (пациенты без ЦШ)	VI (пациенты с ЦШ)	р-значение
L-треонин	8,46 (6,27-11,5)	6,72 (4,67-9,26)	<0,001
L-кинуренин	1,5 (1,03-2,06)	2,12 (1,47-2,94)	<0,001
Глицин	4 (2,54-5,87)	3 (2,06-4,65)	<0,001
L-фенилаланин	141 (79,4-204)	180 (113-270)	<0,001
L-ацетилкарнитин	71,4 (38,9-101)	88,1 (54,7-135)	<0,001
SAN	0,014 (0-0,026)	0,021 (0,009-0,04)	0,001
4-гидроксипролин	2,56 (1,62-3,54)	1,83 (1,24-3,13)	0,001
Цитруллин	2,82 (0,859-4,21)	1,77 (0,795-2,9)	0,001
Цитозин	0,01 (0,001-0,023)	0,018 (0,005-0,033)	0,002
L-цистатинин	0,138 (0,083-0,265)	0,181 (0,112-0,423)	0,004

Примечание: VI — группа пациентов с наличием ЦШ на момент взятия биоматериала, VII — группа пациентов без ЦШ на момент взятия биоматериала. "Значимость" — р-значение по критерию Манна-Уитни. В таблице представлены только те метаболиты, разница в концентрации которых была статистически значима ($p \leq 0,01$). ЦШ — цитокиновый шторм, SAN — S-аденозилгомоцистеин.

2-аминобутановой и никотиновой кислот, гипоксантина, гомоцистина, холина, уридина, креатинина, карнитина, никотинамида, офтальмовой кислоты, карнозина, гуанозина, аденина, адреналина, гистамина.

В то же время уровни треонина, орнитина, цитруллина, цистеина, АДМА и СДМА, гистидина, аргинина, аланина, изолимонной и пировиноградной кислот, АМФ, глицина, норадреналина, S-аденозилметионина (SAM), холевой кислоты у пациентов II группы были ниже, чем у пациентов I группы.

Метаболический профиль пациентов III группы характеризовался дальнейшим изменением уровней тех же соединений, которые отличали I группу от II. Дополнительно были отмечены различия в уровнях изолимонной кислоты, АМФ и урацила.

При этом метаболомные профили I и III групп различались уровнями 4-гидроксипролина, аллантоина, СДМА, уридина, аденозина и SAN.

Уровни ацетилхолина, лейцина, глутамина и глутаминовой кислоты, метионин сульфоксида, гидроксипролина, гомоцистина, 2-аминобутановой кислоты, глутатиона, карнозина, триптофана, инозина, холина, пантотеновой кислоты, цитидина, аденина, адреналина, дофамина, серотонина в метаболомных профилях пациентов различных групп различались незначительно.

Для пациентов с ЦШ наблюдались повышенные уровни кинурина, треонина, фенилаланина, глицина, 4-гидроксипролина, цитруллина, SAN, цитозина, цистатина, ацетилкарнитина по сравнению с пациентами без ЦШ (таблица 4).

Различие в метаболомных профилях между выжившими и умершими пациентами отмечалось для 37 соединений из 82 (таблица 5). Различия с высоким уровнем значимости были зафиксированы для цистина ($p < 0,0005$; $lfc = 1,36$), цистеина ($p < 0,0001$; $lfc = 1,81$) и диметилглицина ($p < 0,0001$; $lfc = 1,29$).

Таблица 5

Концентрации метаболитов в крови пациентов разных групп, разделенных по исходу заболевания [Ме (Q25-Q75)]

Метаболит	V (выжившие)	IV (умершие)	p
L-треонин	7,88 (5,71-11,1)	6,9 (4,32-8,93)	<0,001
L-цистатионин	0,15 (0,085-0,303)	0,251 (0,126-0,769)	<0,001
L-яблочная кислота	0,017 (0,008-0,026)	0,023 (0,013-0,045)	<0,001
Изолимонная кислота	0,014 (0,002-0,032)	0,005 (0-0,022)	<0,001
Пировиноградная кислота	0,026 (0-0,049)	0,016 (0-0,031)	<0,001
L-молочная кислота	12,3 (8,71-17,1)	15,6 (11,3-22,9)	<0,001
Мочевая кислота	3,91 (2,7-5,66)	5,17 (3,46-7,85)	<0,001
Креатин	13 (7,94-21,9)	17,1 (9,61-40,3)	<0,001
Креатинин	38,9 (29,2-53,1)	49,3 (32,7-70,5)	<0,001
Пантотеновая кислота	0,089 (0,063-0,118)	0,106 (0,077-0,156)	<0,001
Дофамин	0,009 (0,001-0,016)	0,0135 (0,006-0,019)	<0,001
SAH	0,015 (0-0,028)	0,032 (0,018-0,055)	<0,001
L-кинурунин	1,63 (1,14-2,26)	2,4 (1,5-3,5)	<0,0001
L-фенилаланин	145 (83,9-218)	202 (143-258)	<0,0001
L-ацетилкарнитин	68,1 (43-104)	110 (68,1-175)	<0,001
L-ДОФА	0,008 (0-0,016)	0,013 (0,006-0,019)	<0,001
2-кетоглутаровая кислота	0,307 (0,129-0,598)	0,581 (0,149-1,09)	0,001
Тимидинмонофосфат	0,006 (0-0,104)	0,025 (0,002-0,348)	0,001
DL-гомоцистин	0,003 (0-0,014)	0,001 (0-0,004)	0,001
Цитруллин	2,63 (0,89-4,29)	1,97 (0,78-3,04)	0,001
Гидроксилизин	0 (0-0,136)	0 (0-0,009)	0,001
Гистамин	0,0162 (0-0,031)	0,025 (0-0,056)	0,001
L-цистин	1,88 (0,208-5,49)	2,83 (1,37-6,11)	0,001
АМФ	0,006 (1,58e-09-0,012)	0,014 (0,001-0,024)	0,001
Фумаровая кислота	0 (0-2,11e-08)	0 (0-0,009)	0,001
L-цистеин	0,075 (0,021-0,241)	0,034 (0,019-0,123)	0,001
Цитозин	0,013 (0,003-0,028)	0,021 (0,004-0,046)	0,001
Гипоксантин	0,786 (0,387-1,29)	1,07 (0,504-1,72)	0,001
L-карнитин	26 (20,4-32,9)	28,6 (23,1-39,7)	0,001
Холевая кислота	0,002 (6,61e-4-0,004)	9,92e-4(0,0002-0,003)	0,001
Тимидин	0 (0-0)	0 (0-0)	0,001
L-изолейцин	43 (27,2-74,4)	56,4 (34,6-82,6)	0,003
Серотонин	0,07 (0,03-0,181)	0,039 (0,025-0,123)	0,003
5-глутамилцистеин	0 (0-0,015)	0,01 (0-0,017)	0,003
Никотинамид	0,136 (0,058-0,251)	0,184 (0,089-0,286)	0,003
L-лейцин	67,3 (41,7-110)	87,7 (55,5-123)	0,009
Диметилглицин	1,83 (1,25-2,72)	2,28 (1,34-4,1)	0,0099

Примечание: IV — группа пациентов с летальным исходом заболевания, V — группа пациентов, успешно выписанных после госпитализации. "Значимость" — p-значение по критерию Манна-Уитни. В таблице представлены только те метаболиты, разница в концентрации которых была статистически значима ($p \leq 0,01$). АМФ — аденозинмонофосфат, L-ДОФА — L-диоксифенилаланин, SAH — S-аденозилгомоцистеин.

В метаболоме умерших пациентов наблюдались существенно более низкие уровни треонина, цистеина, гомоцистина, гидроксилизина, гипоксантина, изолимонной, пировиноградной и холевой кислот, серотонина. В то же время уровни кинурунина, фенилаланина, цитруллина, цитозина, диметилглицина, гистамина, 5-глутамилцистеина, цистина, карнитина, креатинина, креатина, цистатиона, лейцина и изолейцина, АМФ, ТМФ, SAH, ацетилкарнитина, 2-кетоглутаровой, яблочной, пантотеновой, молоч-

ной, мочевой и фумаровой кислот, никотинамида, дофамина были выше, чем у выживших пациентов.

При этом по уровню аллантиона, гистидина, пролина, аспарагина и аспарагиновой кислоты, орнитина, аргинина, карнитина, валина, серина, триптофана, метионина, глицина, цитидина, инозина, аденина, оротовой и 4-аминобутановой кислот, холина, уридина, никотиновой и офтальмовой кислот, адреналина, урацила эти группы пациентов практически не различались между собой.

Индекс коморбидности Чарлсона у пациентов с COVID-19 был значимо связан только с 4-мя метаболитами: серином ($p < 0,0001$; $\rho = 0,28$), цитидином ($p < 0,0001$; $\rho = 0,28$), цитидинмонофосфатом ($p < 0,0001$; $\rho = 0,26$) и SAH ($p < 0,0001$; $\rho = 0,31$).

Обсуждение

Согласно полученным результатам, наиболее ассоциированными с тяжестью протекания COVID-19 являются кинуренин, фенилаланин и ацетилкарнитин. Это согласуется с данными о повышении уровня кинуренина и фенилаланина для пациентов с COVID-19 [3, 10, 17, 18] и их отрицательной корреляции с тяжестью инфекции [6, 12]. Увеличение уровня кинуренина при COVID-19 связывают с усилением деградации триптофана из-за сверхактивации иммунного ответа через повышение уровня интерферона-гамма (усиление воспалительного ответа) и сильную активацию Т-клеток [1, 17]; отмечена взаимосвязь метаболитов кинуренинового пути с промежуточными продуктами цикла трикарбоновых кислот, воспалительной реакцией и гибелью клеток [4]. В ряде работ наблюдали взаимосвязь уровней фенилаланина и треонина плазмы с маркерами воспаления интерлейкин-6/фактор некроза опухоли, что указывает на существенную роль биосинтеза фенилаланина в иммунном ответе организма на вирус COVID-19 [6, 13]. Однако в нашем исследовании изменение уровней триптофана и треонина у пациентов с COVID-19 разных групп было незначительным.

Ацетилкарнитины играют существенную роль в энергетическом обмене и переносе жирных кислот в митохондриях. Дисбаланс ацетилкарнитинов при COVID-19 отмечен в ряде работ [3, 13, 17]. Респираторные вирусы типа вируса гриппа усугубляют накопление ацетилкарнитина; увеличение содержания ацетилкарнитинов в плазме пациентов с COVID-19 может быть обусловлено тем же механизмом [13].

Четкая корреляция с тяжестью COVID-19 зафиксирована также для цитруллина, орнитина, цистина, диметилглицина, АДМА, аланина, цистатиона, карнозина, 5-глутамилцистеина, аргинина.

Кроме того, при прогрессировании тяжести COVID-19 последовательно изменялись уровни содержания тирозина, аденозина, гистидина, креатинина, ТМФ, пролина, треонина, цитозина, СДМА, SAH, никотиамида, что согласуется с данными о корреляции путей биосинтеза тирозина с тяжестью протекания COVID-19 [19], а также о взаимосвязи между тяжелым течением COVID-19 и уровнями таких аминокислот, как фенилаланин, пролин, валин, глутамат, глутамин, триптофан, гистидин, аланин, лейцин, изолейцин, цистеин [20, 21].

Нарушение синтеза и метаболизма аминокислот аргинина, треонина, орнитина, цитруллина и аланина у пациентов с COVID-19, особенно в условиях гипоксии, отмечено во многих работах [11, 13, 18, 20, 21].

Снижение в сыворотке пациентов с COVID-19 уровней глутамата, цитруллина, орнитина, глутамина, мочевины и фумарата, а также АДМА и СДМА связывали с нарушениями функции печени [16].

Метаболический профиль пациентов с COVID-19 в тяжелом состоянии (III группа) характеризовался значительно большими изменениями по сравнению с I и II группами (таблица 3) и затрагивал все исследованные классы метаболитов, что свидетельствует о системных метаболических нарушениях, возникающих в результате развития COVID-19 и влияющих на функционирование различных органов и систем организма.

В метаболомном профиле пациентов с ЦШ отмечены повышенные уровни кинуренина, треонина, фенилаланина, глицина, 4-гидроксипролина, цитруллина, SAH, цитозина, цистатиона, ацетилкарнитина по сравнению с пациентами без ЦШ, что еще раз подчеркивает взаимосвязь этих соединений (особенно, кинуренина, фенилаланина и треонина) с тяжестью COVID-19 (таблица 4).

Аминокислота цитруллин вырабатывается практически исключительно энтероцитами и используется в качестве биомаркера массы и функции энтероцитов тонкой кишки. COVID-19 может инфицировать клетки кишечника человека, а также реплицироваться в линиях эпителиальных клеток кишечника и органоидных моделях толстой кишки человека, участвуя, таким образом, в распространении COVID-19 с повышенной вируемией [22]. Исследование различий в уровнях аминокислот в плазме между острой стадией и стадиями выздоровления у людей с внебольничной пневмонией показало, что уровни аргинина и цитруллина в плазме снижаются [21], что согласуется с полученными нами данными.

Повышенные уровни цитозина в плазме у пациентов с COVID-19 могут быть связаны с ускользанием вируса от врожденного иммунитета [23], а метаболиты на основе цитозина являются координаторами клеточного метаболизма при COVID-19, и имеют большое значение для врожденного противовирусного иммунитета и эволюции вируса.

Метаболомные профили выживших и умерших пациентов различались прежде всего уровнями кинуренина, фенилаланина, треонина, цитруллина, креатина и креатинина, цистатиона, цистина, карнитина, гидроксипролина, цистеина, диметилглицина, АМФ, ТМФ, цитозина, лейцина, изолейцина, гистамина, гомоцистина, 5-глутамилцистеина, 2-кетоглутаровой, яблочной, и изолимонной, пировиноградной, молочной, мочевой, фумаровой и пантотеновой кислот, SAH, ацетилкарнитина, холевой кислоты, серотонина, дофамина, никотиамида, гипоксантина (таблица 5). Наблюдаемое значительное увеличение содержания креатина и креатинина в метаболомных профилях умерших пациентов по сравнению с выжившими свидетельствует о развитии почечной дисфункции [17].

Максимальные различия в метаболических профилях между выжившими и умершими пациентами зафиксированы для цистина, цистеина и диметилглицина. Снижение уровня диметилглицина у пациентов с неблагоприятным течением COVID-19 отмечено также Silvagno F, et al. [24].

Падение уровней глутатиона наблюдали [24, 25] при заболеваниях, повышающих риск COVID-19, а возникающий дефицит глутатиона связывали с тяжестью протекания и смертью у пациентов с COVID-19. В нашем исследовании корреляции уровней глутатиона с развитием ЦШ или летальными исходами не наблюдалось, но установлена корреляция с цистином и цистеином — продуктами катаболизма глутатиона. Увеличение уровней цистина и цистеина в плазме пациентов с COVID-19 при усилении тяжести инфекции (от средней к тяжелой форме протекания инфекции) было зафиксировано также в работе [26]. L-цистин образуется во внеклеточном пространстве из восстановленного глутатиона, функционирует как общий маркер инфекции и может служить индикатором выработки глутатиона и активности его цикла в условиях окислительного стресса [24, 26].

О дисбалансе цистина и цистеина в зависимости от тяжести заболевания COVID-19, иммунной активности и наличия сопутствующих заболеваний также сообщалось Pérez-Franco JC [27]. Отмечается, что уровни цистина имеют решающее значение для борьбы с активными формами кислорода при COVID-19, а также при некоторых злокачественных новообразованиях. Корреляция уровня цистина с уровнями аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы у пациентов с тяжелой формой COVID-19 может указывать на потенциальное участие печени в метаболизме цистеина и цистина при COVID-19, что может быть вероятным, поскольку этот орган является основным местом синтеза глутатиона и часто поражается при тяжелой форме COVID-19 [27].

Цистеин/цистин, цистеинилглицин/цистинилглицин и глутатион/глутатиондисульфид являются основными окислительно-восстановительными парами тиол/дисульфидного равновесия во внеклеточной жидкости, являясь биологическим индикатором возрастного снижения системного окислительно-восстановительного потенциала и его метаболического и функционального влияния на ткани, включая легкие [28]. COVID-19 нарушает цистин-цистеиновый цикл клетки и механизмы окислительно-восстановительного гомеостаза внеклеточных тиолов и способствует созданию прооксидантной среды в инфицированной ткани для процесса репликации вируса. Действительно, предпочтительное включение клеточного цистеина в вирусные белки, а не в глутатион клеточных белков наблюдается как общий механизм и при других типах вирусных инфекций [28].

Повышение уровня SAM в метаболомных профилях пациентов с высоким значением индекса

коморбидности можно рассматривать как маркер риска поражения легких у больных COVID-19 и, возможно, как фактор, связанный с развитием воспалительного процесса, т.к. SAM и SAH являются индикаторами глобального трансметилирования и могут играть важную роль в качестве маркеров тяжести COVID-19 [29].

В литературе отмечается возможная специфичная для пола связь с тяжестью протекания и клиническими исходами при COVID-19 [30]. Отмечается, что мужчины имеют более высокий риск тяжелой формы заболевания COVID-19. Считается, что основным фактором, ответственным за это, является кинуреновая кислота (KK) — эндогенный лиганд арильного углеводородного рецептора (AhR). KK положительно связана с иммунными маркерами, особенно у мужчин, и отрицательно связана с количеством Т-клеток. При этом у женщин с COVID-19 наблюдали более сильную активацию Т-клеток, чем у мужчин. Стоит отметить, что активированный AhR является главным регулятором иммунных реакций и воспаления. Изменения в пути AhR опосредуют дифференциальный иммунный ответ у мужчин, особенно потому, что этот путь ингибируется тестостероном, уровень которого снижается у пожилых лиц мужского пола. Это согласуется с повышенной уязвимостью здоровых пожилых мужчин к активации AhR эндогенными соединениями. Сахарный диабет 2 типа и ожирение повышают активность лиганда AhR, а также увеличивают риск заражения COVID-19. При наличии обоих этих факторов возрастает риск цитокинового шторма в результате COVID-19 у пожилых мужчин. Таким образом, различия в иммунном ответе между полами связывают с метаболизмом кинуренина и KK. В нашем исследовании на основании моделей логистической регрессии среди соединений, на концентрацию которых оказывал влияние пол пациента, были выделены креатин ($p<0,001$), креатинин ($p<0,001$), кинуренин ($p<0,001$), аланин ($p=0,025$), глицин ($p=0,049$) и серин ($p=0,045$).

Заключение

Согласно полученным результатам, наиболее ассоциированными с тяжестью протекания COVID-19 являются кинуренин, фенилаланин, цитруллин, треонин, креатин и креатинин. Максимальное различие в метаболомных профилях между выжившими и умершими пациентами отмечалось для цистина, цистеина и диметилглицина. Влияние коморбидности сказывалось на уровнях серина, цитидина, цитидинмонофосфата и SAH, а пол пациентов оказывал влияние на уровни аланина, глицина и серина.

Резюмируя полученные результаты, следует отметить, что COVID-19 оказывает наибольшее влияние на метаболические пути, связанные с метаболизмом аминокислот и соединений, входящих в цикл трикарбоновых кислот (лимонная, изолимонная и оротовая кислоты). Возникающее вследствие это-

го нарушение клеточного метаболизма аминокислот приводит к нарушению множества физиологических процессов и может быть одним из критических механизмов, лежащих в основе патогенеза COVID-19.

Насколько известно, это первое метаболомное исследование, проведенное с использованием биобанка со значительной выборкой пациентов из Санкт-Петербурга и Ленинградской области (РФ). Настоящее исследование стало возможным бла-

годаря наличию биобанка в структуре СПб ГБУЗ "Городская больница № 40", что позволило своевременно получить и сохранить нужные образцы и объемы крови пациентов, а в затем сформировать оптимальные для исследования когорты пациентов.

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

Литература/References

- Chen X, Gu M, Li T, et al. Metabolite reanalysis revealed potential biomarkers for COVID-19: a potential link with immune response. *Future Microbiol.* 2021;16:577-88. doi:10.2217/fmb-2021-0047.
- Mierzchala-Pasierb M, Lipinska-Gediga M, Fleszar MG, et al. Altered profiles of serum amino acids in patients with sepsis and septic shock — Preliminary findings. *Arch Biochem Biophys.* 2020;30:691:108508. doi:10.1016/j.abb.2020.108508.
- Costanzo M, Caterino M, Fedele R, et al. COVIDomics: The Proteomic and Metabolomic Signatures of COVID-19. *Int J Mol Sci.* 2022;22(23):2414. doi:10.3390/ijms23052414.
- Beloborodova NV, Olenin AY, Pautova AK. Metabolomic findings in sepsis as a damage of host-microbial metabolism integration. *J Crit Care.* 2018;43:246-55. doi:10.1016/j.jcrr.2017.09.014.
- Wan S, Xiang Y, Fang W, et al. Clinical features and treatment of COVID-19 patients in northeast Chongqing. *J Med Virol.* 2020;92(7):797-806. doi:10.1002/jmv.25783.
- Atila A, Alay H, Yaman ME, et al. The serum amino acid profile in COVID-19. *Amino Acids.* 2021;53(10):1569-88. doi:10.1007/s00726-021-03081-w.
- Whittaker A, Anson M, Harky A. Neurological Manifestations of COVID-19: A systematic review and current update. *Acta Neurol Scand.* 2020;142(1):14-22. doi:10.1111/ane.13266.
- Synakiewicz A, Stanislawski-Sachadyn A, Sawicka-Zukowska M, et al. Plasma free amino acid profiling as metabolomic diagnostic and prognostic biomarker in pediatric cancer patients: a follow-up study. *Amino Acids.* 2021;53(1):133-8. doi:10.1007/s00726-020-02910-8.
- Philips AM, Khan N. Amino acid sensing pathway: a major check point in the pathogenesis of obesity and COVID-19. *Obes Rev.* 2021;22(4):e13221. doi:10.1111/obr.13221.
- Rees CA, Rostad CA, Mantus G, et al. Altered amino acid profile in patients with SARS-CoV-2 infection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2021;118(25):e2101708118. doi:10.1073/pnas.2101708118.
- Paez-Franco JC, Torres-Ruiz J, Sosa-Hernandez VA, et al. Metabolomics analysis reveals a modified amino acid metabolism that correlates with altered oxygen homeostasis in COVID-19 patients. *Sci Rep.* 2021;11(1):6350. doi:10.1038/s41598-021-85788-0.
- Song JW, Lam SM, Fan X, et al. Omics-driven systems interrogation of metabolic dysregulation in covid-19 pathogenesis. *Cell Metab.* 2020;32:1-15. doi:10.1016/j.cmet.2020.06.016.
- Barberis E, Timo S, Amede E, et al. Large-Scale Plasma Analysis Revealed New Mechanisms and Molecules Associated with the Host Response to SARS-CoV-2. *Int J Mol Sci.* 2020;21(22):8623. doi:10.3390/ijms21228623.
- Danlos FX, Grajeda-Iglesias C, Durand S, et al. Metabolomic analyses of COVID-19 patients unravel stage-dependent and prognostic biomarkers. *Cell Death Dis.* 2021;12(3):258. doi:10.1038/s41419-021-03540-y.
- Caterino M, Costanzo M, Fedele R, et al. The Serum Metabolome of Moderate and Severe COVID-19 Patients Reflects Possible Liver Alterations Involving Carbon and Nitrogen Metabolism. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):9548. doi:10.3390/ijms22179548.
- Shen B, Yi X, Sun Y, et al. Proteomic and Metabolomic Characterization of COVID-19 Patient Sera. *Cell.* 2020;182(1):59-72. e15. doi:10.1016/j.cell.2020.05.032.
- Thomas T, Stefanoni D, Reisz JA, et al. COVID-19 infection alters kynurenine and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status. *JCI Insight.* 2020;5(14):e140327. doi:10.1172/jci.insight.140327.
- Ceballos FC, Virseda-Berdices A, Resino S, et al. Metabolic Profiling at COVID-19 Onset Shows Disease Severity and Sex-Specific Dysregulation. *Front. Immunol.* 2022;13:925558. doi:10.3389/fimmu.2022.925558.
- Valdés A, Moreno LO, Rello SR, et al. Metabolomics study of COVID-19 patients in four different clinical stages. *Sci Rep.* 2022;12(1):1650. doi:10.1038/s41598-022-05667-0.
- Maltais-Payette I, Lajeunesse-Trempe F, Pibarot P, et al. Association between Circulating Amino Acids and COVID-19 Severity. *Metabolites.* 2023;13(2):201. doi:10.3390/metabo13020201.
- Ozturk A, Bayraktar N, Bayraktar M, et al. Evaluation of amino acid profile in serum of patients with Covid-19 for providing a new treatment strategy. *J Med Biochem.* 2022;41(4):526-33. doi:10.5937/jomb0-37514.
- Stanifer ML, Kee C, Cortese M, et al. Critical Role of Type III Interferon in Controlling SARS-CoV-2 Infection in Human Intestinal Epithelial Cells. *Cell Rep.* 2020;32(1):107863. doi:10.1016/j.celrep.2020.107863.
- Danchin A, Marlière P. Cytosine drives evolution of SARS-CoV-2. *Environ Microbiol.* 2020;22(6):1977-85. doi:10.1111/1462-2920.15025.
- Perla-Kaján J, Jakubowski H. COVID-19 and One-Carbon Metabolism. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(8):4181. doi:10.3390/ijms23084181.
- Silvagno F, Vernone A, Pescarmona GP. The Role of Glutathione in Protecting against the Severe Inflammatory Response Triggered by COVID-19. *Antioxidants.* 2020;9(7):624. doi:10.3390/antiox9070624.
- Bramer LM, Hontz RD, Eisfeld AJ, et al. Multi-omics of NET formation and correlations with CNDP1, PSPB, and L-cystine levels in severe and mild COVID-19 infections. *Heliyon.* 2023;9(3):e13795. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e13795.
- Paez-Franco JC, Maravillas-Montero JL, Mejía-Domínguez NR, et al. Metabolomics analysis identifies glutamic acid and cystine imbalances in COVID-19 patients without comorbid conditions. Implications on redox homeostasis and COVID-19 pathophysiology. *PLoS One.* 2022;17(9):e0274910. doi:10.1371/journal.pone.0274910.
- Galli F, Marcantonini G, Giustarini D, et al. How Aging and Oxidative Stress Influence the Cytopathic and Inflammatory Effects of SARS-CoV-2 Infection: The Role of Cellular Glutathione and Cysteine Metabolism. *Antioxidants (Basel).* 2022;11(7):1366. doi:10.3390/antiox11071366.
- Kryukov EV, Ivanov AV, Karpov VO, et al. Plasma S-Adenosylmethionine Is Associated with Lung Injury in COVID-19. *Dis Markers.* 2021;2021:7686374. doi:10.1155/2021/7686374.
- Cai Y, Kim DJ, Takahashi T, et al. Kynurenine acid may underlie sex-specific immune responses to COVID-19. *Sci Signal.* 2021;14:eabf8483. doi:10.1126/scisignal.abf8483.

Криоконсервация гемопоэтических стволовых клеток периферической крови в трансплантологии: современное состояние и перспективы

Кит О.И., Гненная Н.В., Филиппова С.Ю., Чембарова Т.В., Лысенко И.Б.,
Новикова И.А., Розенко Л.Я., Димитриади С.Н., Шалашная Е.В., Ишонина О.Г.

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

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) периферической крови хорошо зарекомендовала себя как процедура лечения гематологических, онкологических и аутоиммунных заболеваний. У онкологических больных трансплантация ГСК позволяет использовать в процессе лечения высокодозные цитотоксические препараты в сочетании с лучевой терапией, что обеспечивает выраженный противоопухолевый эффект. Гематологическая токсичность подобного лечения устраняется последовательным введением стволовых клеток, способствующих восстановлению роста кроветворения. Перед трансплантацией ГСК периферической крови подвергают процедуре сбора и криоконсервации с целью дальнейшего хранения. Важным требованием, предъявляемым к криоконсервации, является сохранение жизнеспособности ГСК, ответственных за восстановление роста кроветворения. Цель обзора — анализ литературы, посвященной изучению влияния различных способов криоконсервации ГСК периферической крови человека на сохранение жизнеспособности клеток после размораживания, а также развитие нежелательных явлений у пациентов. Рассмотрены вопросы, связанные с использованием различных криопротекторов, а также методы хранения трансплантатов ГСК. Представленные данные свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения влияния криопротекторов на организм человека

и клеточный состав трансплантата и усовершенствования протоколов криоконсервации ГСК.

Ключевые слова: биобанкирование, гемопоэтические стволовые клетки, криоконсервация, криопротекторы, трансплантация.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 06/08-2023

Рецензия получена 21/09-2023

Принята к публикации 10/10-2023



Для цитирования: Кит О.И., Гненная Н.В., Филиппова С.Ю., Чембарова Т.В., Лысенко И.Б., Новикова И.А., Розенко Л.Я., Димитриади С.Н., Шалашная Е.В., Ишонина О.Г. Криоконсервация гемопоэтических стволовых клеток периферической крови в трансплантологии: современное состояние и перспективы. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3691. doi:10.15829/1728-8800-2023-3691. EDN YCTTMM

Cryostorage of peripheral blood hematopoietic stem cells in transplantology: current status and prospects

Kit O. I., Gnennaya N. V., Filippova S. Yu., Chembarova T. V., Lysenko I. B., Novikova I. A., Rozenko L. Ya., Dimitriadi S. N., Shalashnaya E. V., Ishonina O. G.

National Medical Research Center of Oncology. Rostov-on-Don, Russia

Peripheral blood hematopoietic stem cell (HSC) transplantation is a well-established procedure for the treatment of hematological, cancer and autoimmune diseases. In cancer patients, HSC transplantation allows the use of high-dose cytotoxic drugs in combination with radiation therapy during treatment, which provides a pronounced antitumor effect. The hematological toxicity of such treatment is eliminated by the sequential introduction of stem cells, which contribute to hematopoiesis restoration. Before transplantation, peripheral blood HSCs are subjected to collection and cryopreservation for further storage. An important requirement for cryopreservation is viable HSCs responsible for hematopoietic restoration. The aim

of the review was to analyze the literature devoted to the influence of various methods of cryopreservation of human peripheral blood HSCs on the preservation of cell viability after thawing, as well as the development of adverse events in patients. Issues related to the use of various cryoprotectants, as well as methods for storing HSC grafts, are considered. The presented data indicate the need for further study of the effect of cryoprotectants on the human body and the cellular composition of the graft and improvement of protocols for HSC cryopreservation.

Keywords: biobanking, hematopoietic stem cells, cryopreservation, cryoprotectants, transplantation.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: ngnennaya@inbox.ru

[Кит О.И. — д.м.н., профессор, академик РАН, генеральный директор, ORCID: 0000-0003-3061-6108, Гненная Н.В. — м.н.с. лаборатории клеточных технологий, ORCID: 0000-0002-3691-3317, Филиппова С.Ю. — н.с. лаборатории клеточных технологий, ORCID: 0000-0002-4558-5896, Чембарова Т.В. — м.н.с. лаборатории клеточных технологий, ORCID: 0000-0002-4555-8556, Лысенко И.Б. — д.м.н., профессор, зав. отделением онкогематологии, ORCID: 0000-0003-4457-3815, Новикова И.А. — д.м.н., зам. генерального директора по науке, ORCID: 0000-0002-6496-9641, Розенко Л.Я. — д.м.н., профессор, врач-радиотерапевт отделения радиотерапии № 2, ORCID: 0000-0001-7032-8595, Димитриади С.Н. — д.м.н., врач-уролог отделения онкоурологии, ORCID: 0000-0002-2565-1518, Шалашная Е.В. — к.б.н., с.н.с. лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ORCID: 0000-0001-7742-4918, Ишонина О.Г. — к.б.н., зав. отделом подготовки и переподготовки специалистов, ORCID: 0000-0002-5300-1213].

Relationships and Activities: none.

Kit O.I. ORCID: 0000-0003-3061-6108, Gnennaya N.V.* ORCID: 0000-0002-3691-3317, Filippova S.Yu. ORCID: 0000-0002-4558-5896, Chembarova T.V. ORCID: 0000-0002-4555-8556, Lysenko I.B. ORCID: 0000-0003-4457-3815, Novikova I.A. ORCID: 0000-0002-6496-9641, Rozenko L.Ya. ORCID: 0000-0001-7032-8595, Dimitriadi S.N. ORCID: 0000-0002-2565-1518, Shalashnaya E.V. ORCID: 0000-0001-7742-4918, Ishonina O.G. ORCID: 0000-0002-5300-1213.

*Corresponding author: ngennaya@inbox.ru

Received: 06/08-2023

Revision Received: 21/09-2023

Accepted: 10/10-2023

For citation: Kit O.I., Gnennaya N.V., Filippova S.Yu., Chembarova T.V., Lysenko I.B., Novikova I.A., Rozenko L.Ya., Dimitriadi S.N., Shalashnaya E.V., Ishonina O.G. Cryostorage of peripheral blood hematopoietic stem cells in transplantology: current status and prospects. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3691. doi:10.15829/1728-8800-2023-3691. EDNYTCTTM

ГСК — гемопоэтические стволовые клетки, ДМСО — диметилсульфоксид, PIM — pentaisomaltose (пентаизомальтоза), КОЕ — колониеобразующие единицы, 7-AAD — 7-аминоактиноцин D.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Токсичность диметилсульфоксида диктует необходимость поиска новых агентов, обладающих криопротекторными свойствами.

Что добавляют результаты исследования?

- Приведены литературные данные о методах снижения негативного влияния диметилсульфоксида на клеточный состав трансплантата, а также рассмотрены вещества, которые сохраняют жизнеспособность гемопоэтических стволовых клеток, и могут рассматриваться как потенциальные криопротекторы для широкого использования в трансплантации.

Key messages

What is already known about the subject?

- The toxicity of dimethyl sulfoxide dictates the need to search for novel cryoprotective agents.

What might this study add?

- Literary data on methods for reducing the negative effect of dimethyl sulfoxide on the cellular composition of a transplant are presented. Agents preserving the viability of hematopoietic stem cells are described and can be considered as potential cryoprotectants for widespread use in transplantation.

Введение

Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) представляют собой мультипотентные стволовые клетки, которые могут дифференцироваться в лимфоидные и миелоидные клетки-предшественники, давая начало лейкоцитам, эритроцитам и тромбоцитам. Трансплантация ГСК является одним из наиболее широко используемых методов клеточной иммунотерапии. Используют ее для лечения онкологических, а также гематологических и аутоиммунных заболеваний.

Выделяют две основные формы трансплантации ГСК:

- Аутологичная (аутоотрансплантация) — происходит забор собственных ГСК пациента с их последующей реинфузией;
- Аллогенная (аллотрансплантация) — забор ГСК происходит от HLA-идентичного родственного донора, родственного либо неродственного донора, совместимого по HLA-генам, с последующей инфузией реципиенту [1, 2].

Множественная миелома и лимфома являются основными показаниями для аутоотрансплантации, острый миелоидный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, миелодиспластический синдром и миелолипролиферативные новообразования — для ал-

лотрансплантации [3]. Проведение трансплантации ГСК также может быть использовано для лечения некоторых солидных опухолей, таких как герминогенные опухоли, нейробластомы [4], саркома Юинга [5] и медуллобластома [6].

Трансплантация ГСК представляет собой многоэтапную процедуру, включающую сбор ГСК периферической крови, проведение химиолучевого лечения с последующей инфузией ГСК с целью восстановления роста кроветворения. Аутоотрансплантация ГСК позволяет реципиенту оправиться от аплазии костного мозга, которая неизбежно следует за высокодозной терапией, поэтому аутоотрансплантацию следует рассматривать как форму спасательной терапии таких пациентов.

ГСК, используемые в трансплантации, могут быть получены из костного мозга, пуповинной или периферической крови [7]. Трансплантаты пуповинной крови содержат меньшее количество ГСК, чем трансплантаты, полученные из костного мозга или периферической крови, поэтому восстановление иммунитета при их применении, как правило, медленное. Кроме того, использование пуповинной крови ассоциировано с более высоким риском развития инфекционных осложнений и смерти в раннем посттрансплантационном периоде [8, 9].

Костный мозг, изъятый из гребня подвздошной кости, был первым источником ГСК. Материал получали в операционной под местной анестезией. Развитие эффективных и безопасных методов мобилизации ГСК сдвинуло приоритет в сторону использования ГСК, выделенных из периферической крови [10]. Периферическая кровь — предпочтительный источник ГСК, используемых для трансплантации, поскольку позволяет регулярно собирать материал для трансплантации, избегая общей анестезии и распространенных осложнений, которые наблюдаются при взятии костного мозга. Использование трансплантатов, полученных из периферической крови, ассоциировано с меньшим количеством рецидивов, но с более высоким риском развития реакции "трансплантат против хозяина" у пациентов, перенесших аллогенную трансплантацию [11]. С последним фактом, вероятно, связано снижение общей выживаемости пациентов после использования ГСК из периферической крови, в сравнении с ГСК, изъятых из костного мозга [12].

Восстановление иммунитета влияет на клиническое течение опухолевой болезни, вероятность развития рецидива и общую выживаемость онкологических больных. Поэтому справедливо считать, что скорость восстановления иммунитета играет ключевую роль в успехе трансплантации ГСК. В работе Sugiyanto M, et al. (2023), посвященной анализу способности ГСК, выделенных из различных источников, к восстановлению иммунитета, было показано, что среди трех ранее перечисленных источников ГСК, именно использование ГСК периферической крови ассоциируется с более высокой скоростью восстановления нейтрофилов [13].

Без криоконсервации ГСК обычно хранятся при температуре 2–6° С не >72 ч и в основном используются для аллотрансплантаций или аутоотрансплантаций у пациентов с множественной миеломой или лимфомой. В случаях возникновения у реципиента осложнений, трансплантация ГСК может задерживаться на >72 ч, в связи с чем необходимо проведение процедуры криоконсервации образцов [14]. Криоконсервация ГСК значительно продлевает срок их хранения и позволяет проводить более строгий контроль качества и тестирования образцов на различные маркеры, что сопровождается повышением безопасности трансплантации. Кроме того, долгосрочное хранение обеспечивает решение различных логистических задач, таких как соблюдение временного интервала между сбором ГСК, высокодозной терапией и последующей инфузией продукта пациенту.

Цель настоящего обзора — анализ литературы, посвященной изучению влияния различных способов криоконсервации ГСК периферической крови человека на сохранение жизнеспособности клеток после размораживания, а также развитие нежелательных явлений у пациентов.

Методология поиска

Представлен несистематический обзор зарубежных и отечественных публикаций, находящихся в базах PubMed, Science Direct, Google Scholar и eLibrary с использованием ключевых слов: криоконсервация, cryopreservation, криопротектор, cryoprotectant, диметилсульфоксид, ДМСО, Dimethyl Sulfoxide, DMSO, аутологичная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, autologous hematopoietic stem cell transplantation, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, allogeneic stem cell transplantation, а также их комбинаций. Глубина поиска составила 20 лет. Также в данный обзор было включено несколько источников старше 20 лет, имеющих фундаментальное значение. Была проанализирована информация, представленная в оригинальных исследованиях и обзорах литературы, всего 58 источников.

Результаты

Криоконсервация ГСК

В настоящее время периферическая кровь является наиболее часто используемым источником ГСК для проведения как аутоотрансплантаций, так и аллотрансплантаций. Аферез используется для сбора мобилизованных ГСК из периферической крови после введения гранулоцитарного колоние-стимулирующего фактора отдельно либо в сочетании с препаратами, способствующими пролиферации и миграции таких клеток из костного мозга в периферическую кровь. В сравнении с трансплантатом ГСК, полученным из костного мозга, трансплантат с использованием ГСК периферической крови обладает преимуществами более быстрого восстановления лейкоцитов у реципиента и более низкой частоты отторжения трансплантата.

Процедуру трансплантации ГСК условно можно разделить на следующие этапы:

1. Мобилизация ГСК;
2. Проведение процедуры лейкафереза, при которой происходит сбор мобилизованных ГСК [15];
3. Криоконсервация ГСК.

Криоконсервация ГСК сопряжена с рядом проблем, в первую очередь, со снижением жизнеспособности клеток после оттаивания и побочными реакциями у пациентов из-за используемых криопротекторов. Процедура криоконсервации включает в себя несколько этапов. На первом этапе проводят расчет необходимого количества раствора криопротектора, который впоследствии будет добавлен к ГСК. После чего ГСК с криопротектором переносят в контейнер для криоконсервации, тщательно удаляют пузыри воздуха. Далее следует процесс заморозки и хранения биоматериала в емкости с парами жидкого азота.

Устойчивость клеток к криоконсервации

Важный параметр, который необходимо учитывать при трансплантации ГСК периферической

крови — количество введенных CD34+ клеток. Принято считать, что количество CD34+ клеток, превышающее $2,0 \times 10^6$ клеток/кг массы тела реципиента на момент сбора ГСК, является надежным предиктором успешного приживления нейтрофилов и тромбоцитов. Традиционно подсчет количества CD34+ клеток происходит перед криоконсервацией, следовательно, количество клеток после оттаивания не учитывается. В работе D'Rozario J, et al. (2014) оценивали количество CD34+ клеток во время сбора ГСК и после оттаивания, а также анализировали приживление нейтрофилов и тромбоцитов после проведения процедуры трансплантации ГСК. Было показано, что средняя потеря количества жизнеспособных CD34+ клеток при обработке и криоконсервации составляет ~33% от исходного количества. Однако низкое количество жизнеспособных CD34+ клеток, введенное после оттаивания, по-прежнему приводит к приживлению нейтрофилов, но может влиять на скорость приживления тромбоцитов [16].

Несмотря на то, что предиктором успешного приживления принято считать количество введенных CD34+ клеток, значительная потеря CD3+ клеток также может быть клинически значимой, поскольку инфузия недостаточного количества CD3+ клеток при аллотрансплантации может ухудшить предполагаемый эффект "трансплантат против лейкемии" [17]. В работе Arai AB, et al. (2021) проведена оценка влияния концентрации клеток, а также процессов криоконсервации и оттаивания на жизнеспособность и функциональность ГСК. Было показано, что продолжительность хранения, а также концентрация ядросодержащих клеток оказывали негативное влияние на жизнеспособность CD45+ и CD34+ клеток, а также их функциональную активность [18].

Помимо клеточного состава трансплантата при проведении процедуры криоконсервации важно учитывать условия пробоподготовки. Поскольку при добавлении диметилсульфоксида (ДМСО) к ГСК происходит экзотермическая реакция, существует опасение, что высвобождение энергии может спровоцировать повреждение клеток. Dijkstra-Tiekstra MJ, et al. (2014) провели исследование с использованием предварительно охлажденного ДМСО, а также с использованием предварительно охлажденного лейкоконцентрата. Было показано, что предварительное охлаждение оказывает минимальное влияние на скорость восстановления лейкоцитов [19].

После криоконсервации наблюдаются высокие уровни апоптотических клеток CD34+ (до 30%), что коррелирует со сниженной способностью к приживлению, замедленным восстановлением нейтрофилов после аутоотрансплантации ГСК [20]. Точные механизмы криоповреждения, приводящие к потере жизнеспособности криоконсервированных клеток остаются малоизученными. Су-

ществуют два механизма негативного воздействия замораживания/оттаивания на клетки: (1) механическое повреждение клеточных мембран кристаллами льда при замораживании; (2) осмотическое повреждение клеток вследствие резкого увеличения концентрации растворенных веществ в оставшейся жидкой фазе при оттаивании. Принято считать, что значительное влияние на жизнеспособность клеток оказывают две переменные: скорость охлаждения трансплантата и концентрация криопротектора. При быстром замораживании клетки замерзают до того, как произойдет выравнивание осмотического давления. Это связано с ограниченной пропускной способностью клеточных мембран, что приводит к образованию внутриклеточного льда, вызывающего механическое повреждение клеток. Поэтому существует некоторая выживаемость клеток при оптимальной скорости охлаждения, которая обеспечит сохранность ГСК [21]. Замораживание с контролируемой скоростью является наиболее распространенным методом криоконсервации. Однако данный способ является сложной, длительной и финансово затратной процедурой. Поэтому активно растет интерес к процессу замораживания с неконтролируемой скоростью с использованием стандартных морозильных камер, который можно легко адаптировать в условиях ограниченных ресурсов. Тем более, что консервация с неконтролируемой скоростью не приводит к существенному снижению эффективности трансплантации ГСК периферической крови [22]. С целью изучения и проверки более простых и экономичных способов заморозки ГСК, Calvet L, et al. (2012) провели клиническое исследование 342 аутоотрансплантатов после хранения в течение 3, 6 и 12 мес. при температуре -80°C . У наблюдаемых пациентов отмечалось успешное приживление трансплантатов и восстановление кроветворения [23]. В работе Detry G, et al. (2014) также было установлено, что на восстановление кроветворения длительное (>1 года) хранение трансплантата при температуре -80°C негативного влияния не оказывало [24].

К повреждению ГСК приводит не только слишком быстрая заморозка, но и слишком медленное оттаивание, что связывают с расстеклованием и рекристаллизацией воды с последующим механическим повреждением мембран клеток. Однако это только гипотеза, поскольку почти ничего неизвестно о возможной роли биомолекул в механизмах повреждения клеток, появляющихся в процессе оттаивания [25].

Влияние криопротектора на ГСК

Негативное влияние на жизнеспособность и состав ГСК способны оказывать и криопротекторы, поэтому актуальным остается вопрос поиска новых криопротекторов с минимальными побочными эффектами. Наиболее часто используе-

мым криопротектором является ДМСО. Помимо ДМСО криопротекторными свойствами обладают глицерин, этиленгликоль, пропиленгликоль, поливинилпирролидон, полиэтиленоксид, гидроксиэтиленкрахмал. Однако, в силу различных причин, эти вещества не нашли активного применения в рутинной практике [26].

Процедура криоконсервации ГСК характеризуется высокой неоднородностью между различными учреждениями. Отличия касаются многих факторов, которые способны повлиять на качество ГСК после оттаивания. Особенно пристальное внимание уделяется конечной концентрации ДМСО. Предполагается, что состав разбавителя ДМСО может потенциально оказывать влияние на качество трансплантата, однако, в отношении ГСК периферической крови, данный вопрос широко не исследовался. Сильно могут различаться и используемые в процедуре криоконсервации растворы криопротекторов.

Фармакологические свойства ДМСО

ДМСО представляет собой небольшую амфифильную молекулу с гидрофильной сульфоксидной группой и двумя гидрофобными метильными группами, обладающую сродством как к полярным, так и к неполярным растворителям. Амфифильная природа ДМСО является, по-видимому, важной определяющей характеристикой его действия на мембраны. Ключевой аспект механизма действия ДМСО — способность вызывать образование пор в мембранах клеток, чем объясняется значительное повышение их проницаемости для гидрофильных молекул. Поскольку ДМСО легко проникает через мембраны, его активно используют в качестве криопротектора. В исследовании Gurtovenko AA и Anwar J (2007) было показано, что выбор концентрации ДМСО имеет решающее значение. Авторами было рассмотрено 14 различных молярных концентраций ДМСО от 0 до 100%. Было показано, что ДМСО оказывает различное действие на клеточные мембраны в зависимости от его концентрации. При концентрации <10% ДМСО приводит к значительному латеральному расширению мембраны с одновременным уменьшением ее толщины. При концентрации ДМСО в диапазоне 10-20% наблюдается образование пор в дополнение к прогрессирующему истончению мембраны. Дальнейшее увеличение концентрации ДМСО приводит к десорбции отдельных молекул липидов с поверхности мембраны с последующим разрушением ее бислойной липидной структуры [27]. Кроме того, нарастание количества молекул ДМСО в растворе снижает температуру его замерзания [28].

Как правило, конечная концентрация ДМСО при криоконсервации ГСК составляет 10%. Однако несмотря на то, что протоколы использования данного криопротектора в биологии и медицине уже

давно разработаны и активно внедрены в практику, определение оптимальной концентрации ДМСО во многом обусловлено эмпирическим подходом.

Влияние ДМСО на организм человека

Непосредственно перед трансплантацией клеточный продукт размораживают на водяной бане при температуре 37° С. Трансплантация размороженных ГСК часто сопровождается развитием у пациентов побочных реакций. Общие побочные реакции, вызываемые ДМСО, включают тошноту, рвоту, боли в животе. Они имеют место у 50% пациентов. Реже сообщается о побочных эффектах со стороны сердечно-сосудистой системы в виде гипертонии и аритмии, а также со стороны дыхательной системы с остановкой дыхания и диффузным альвеолярным кровотечением [29]. Эти эффекты могут быть обусловлены не только непосредственным действием ДМСО, но и высвобождением гистамина, индуцированным ДМСО; при этом механизмы некоторых сердечно-сосудистых побочных эффектов могут быть многофакторными [30].

Побочные реакции со стороны центральной нервной системы, такие как эпилептические припадки, инсульт, временная лейкоэнцефалопатия, бывают еще реже [31, 32]. Предполагается, что в основе патофизиологии подобных процессов лежит острая вазоконстрикция или прямое проникновение ДМСО через гематоэнцефалический барьер и прямое токсическое воздействие на мозг [33].

Несмотря на то, что токсическая доза ДМСО для человека не определена, считается, что тяжесть оказываемого токсического влияния на мозг и другие органы связана с количеством ДМСО, присутствующим в трансплантате, а также со скоростью его введения. Принято считать, что максимальная рекомендуемая доза ДМСО для введения за один сеанс составляет 1 г/кг массы тела пациента или 10 мл/кг 10% раствора ДМСО. Когда объем для инфузии превышает данный предел, следует разделять трансплантат на две или три части с интервалом между введениями в несколько часов или дней с целью уменьшения токсического действия ДМСО [34]. В работе González-López T, et al. (2011) описывается случай развития ишемического инсульта во время инфузии аутотрансплантата ГСК, криоконсервированного с использованием ДМСО, несмотря на то что максимальная рекомендуемая доза вводимого ДМСО не была достигнута. Предполагается, что токсичность ДМСО может быть идиосинкратической [35].

Помимо дробления дозы на несколько частей, еще одним способом уменьшения побочных реакций на введение трансплантата с ДМСО является использование более низких концентраций криопротектора. В работе Mitrus I, et al. (2013) исследовали влияние концентрации ДМСО (10, 7,5 и 5%) на приживление трансплантата и частоту побочных явлений у пациентов. Установлено, что самая

низкая частота побочных реакций наблюдалась в группе пациентов, получавших трансплантат с 5% ДМСО [36]. Концентрация ДМСО 7,5% благоприятно сказывалась на скорости восстановления лейкоцитов [37], тогда как при концентрации ДМСО 10% восстановление ядерных клеток и клоногенного потенциала клеток снижалось [38].

Одним из способов уменьшения общего объема, переливаемого ДМСО с целью снижения риска нежелательных явлений, является промывание трансплантата после оттаивания физиологическим раствором с последующим добавлением антикоагулянта, в качестве которого выступает цитрат декстрозы. Однако такой подход трудозатратен и связан со значительной потерей жизнеспособных клеток CD34+, что приводит к увеличению времени восстановления тромбоцитов после трансплантации [39, 40]. Таким образом, несмотря на то что предварительное удаление ДМСО из трансплантата может снизить частоту возникновения побочных реакций у пациентов, данная процедура создает риск повреждения трансплантата. Кроме того, вследствие увеличения количества манипуляций с трансплантатом увеличивается риск его контаминации.

Некоторые учреждения используют ДМСО, разведенный 5% сывороточным альбумином человека в 0,9% растворе хлорида натрия (NaCl). Данная процедура позволяет предотвратить осмотический шок клеток, а также снизить количество выделяемого тепла при смешивании клеток трансплантата с неразбавленным раствором ДМСО. В то же время, поскольку современная практика работы с коммерческими препаратами сывороточного альбумина человека по-прежнему связана с высоким риском контаминации, в качестве альтернативной замены Smagur A, et al. (2015) [41] предлагают использовать аутологичную плазму, получаемую в ходе процедуры лейкафереза. Данная процедура позволяет проводить приготовление криозащитной среды "в закрытой системе". При этом важно учитывать, что в случае использования аутологичной плазмы, содержание белка в криоконсервирующем растворе может быть переменным из-за различной концентрации альбумина и других белков плазмы. В своей работе авторы поставили цель оценить качество трансплантата и скорость его приживления при использовании криозащитного раствора с аутологичной плазмой. Результаты исследования показали, что медиана восстановления ядерных клеток и колониеобразующих единиц (КОЕ) не различались между криозащитными смесями с аутоплазмой и сывороточным альбумином человека. По клинической оценке, среднее время восстановления лейкоцитов, тромбоцитов и нейтрофилов было сопоставимо в обеих группах [41].

Влияние ДМСО на ГСК периферической крови

Наиболее важным фактором, связанным с восстановлением гемопоэза, считается количество

введенных CD34+ клеток [42, 43]. Ряд переменных в процессе криоконсервации может влиять на качество и количество жизнеспособных CD34+ клеток в трансплантате, в частности, общее количество ядерных клеток, количество лейкоцитов, криопротектор, условия процессов замораживания/оттаивания, продолжительность хранения [44]. Имеется ряд исследований, посвященных оценке влияния ДМСО на жизнеспособность ядерных клеток, восстановление CD34+ клеток, количество жизнеспособных CD34+ клеток, клеток, находящихся в состоянии апоптоза после оттаивания, а также клоногенный потенциал ГСК. Veeraputhiran M, et al. (2010) в результате анализа 262 образцов ГСК, замороженных с использованием 5 и 10% ДМСО, методом проточной цитометрии показали, что статистически значимая разница в жизнеспособности CD34+ клеток между группами отсутствует, как не было различий и в жизнеспособности в зависимости от периода криохранения, а также времени приживления лейкоцитов и тромбоцитов [45]. В работе Abrahamsen JF, et al. (2002) оценивали изменения жизнеспособности, апоптоза, а также некроза CD34+ клеток, криоконсервированных в 5 и 10% растворах ДМСО. Образцы подвергали криоконсервации с контролируемой скоростью с последующим хранением в жидком азоте на протяжении от 3 до 22 мес. Оценку количества жизнеспособных клеток CD34+, а также доли апоптотических и некротических клеток в образцах после оттаивания проводили с использованием метода проточной цитометрии. Результаты данного исследования показали, что по количеству жизнеспособных клеток образцы, криоконсервированные с 5 и 10% ДМСО, не различались, однако доля апоптотических и некротических CD34+ клеток была значительно ниже в образцах, замороженных с использованием 5% раствора ДМСО [46].

Считается, что общая жизнеспособность ядерных клеток трансплантата не является подходящим методом оценки состояния ГСК, поскольку CD34+ клетки демонстрируют более высокую устойчивость к повреждениям, связанным с криоконсервацией, по сравнению с другими лейкоцитами. Поэтому более ценным предиктором приживления ГСК служит оценка жизнеспособных CD34+ клеток после оттаивания трансплантата с использованием метода проточной цитофлуориметрии. Однако некоторые авторы ставят под сомнение клиническую полезность этого метода, отдавая предпочтение оценке способности CD34-экспрессирующих клеток формировать колонии клеток *in vitro*, т.к. показатель колониеобразующей способности клеток позволяет оценить количество не просто живых клеток, но клеток, способных к восстановлению гемопоэза [47].

Несмотря на то, что ДМСО используется в качестве криопротектора уже >50 лет, его краткосроч-

ное и долгосрочное воздействия на функциональный потенциал, а также клеточный состав трансплантата ГСК периферической крови остаются малоизученными. Имеются исследования, показывающие, что использование ДМСО снижает экспрессию факторов транскрипции, таких как *Oct-4*, *Sox-2*, *Nanog* и *Rex-1*, специфичных для эмбриональных стволовых клеток человека [48, 49], а также влияние на эпигенетическое состояние клеток [50]. Предполагается, что добавление новых криопротекторов позволит улучшить жизнеспособность клеток после оттаивания и повысит успешность трансплантации [51].

Альтернативные криоконсерванты

В настоящее время существует значительный интерес к разработке новых криопротекторных растворов, которые по своей эффективности не уступали бы ДМСО, но при этом оказывали менее токсичное воздействие на организм человека. Одним из перспективных классов криопротекторов являются низкомолекулярные углеводы. Так, в работе Wu LK, et al. (2011) сообщается о том, что добавление в раствор криопротектора моно- и дисахаридов, обладающих способностью ингибировать рекристаллизацию льда, защищает CD34+ клетки от криоповреждения. Было показано, что трегалоза и сахароза при добавлении к ДМСО способны сохранять ГСК также эффективно, как и 10% ДМСО [52]. Эффективность оценивалась с точки зрения сохранения клоногенного потенциала клеток, их жизнеспособности и количества CD45+/34+, а использование 0,3 М сахарозы с 5% ДМСО приводило к улучшению функциональной способности ГСК [53]. Трегалоза, являясь внеклеточным криопротектором, может посредством липосом транспортироваться внутрь клетки, увеличивая, тем самым, количество сохраняемых клеток при криоконсервации трансплантата. В исследовании Motta JPR, et al. (2014) оценивали жизнеспособность ГСК пуповинной крови после оттаивания с использованием красителя 7-аминоактиномицина D (7-AAD), количественным определением CD45+/CD34+, МТТ-теста, а также анализом КОЕ. Была показана эффективность раствора, содержащего внутри- и внеклеточную трегалозу, используемого для криоконсервации клеток пуповинной крови, эквивалентную текущему стандарту 10% ДМСО [54]. Svalgaard JD, et al. (2016) провели сравнительную оценку восстановления жизнеспособных клеток CD34+, а также анализ колониеобразующих клеток образцов ГСК периферической крови *in vitro*. В качестве криопротекторов использовался 10% ДМСО или 16% раствор низкомолекулярного углевода пентаизомальтозы (pentaisomaltose, PIM). Было показано, что эффективность PIM в качестве криопротектора ГСК периферической крови эквивалентна таковой для ДМСО. Также не было обна-

ружено различий ни в отношении восстановления CD34+ клеток, ни в потенциале КОЕ [55]. Предполагается, что PIM может заменить ДМСО в качестве безопасного и эффективного криопротектора. Использование PIM может устранить необходимость инфузии охлажденного клеточного продукта, которая необходима, если используется ДМСО. Кроме того, PIM быстро выводится посредством клубочковой фильтрации и при деградации не образует вредных метаболитов в организме человека. Важным преимуществом данного криопротектора является его неспособность проникать через клеточную мембрану [56].

Помимо углеводов внимание исследователей привлекает новый класс криопротекторов на основе N-акрил-d-альдонамидов. В работе Briard JG, et al. (2016) сообщается о способности молекул этого класса ингибировать рекристаллизацию льда. При добавлении к обычному раствору криопротекторов эти малые нетоксичные молекулы позволяли сохранять колониеобразующую способность CD34+ клеток [57].

Клеточная мембрана является наиболее уязвимым компонентом клетки, поскольку при криоконсервации вещества, проникающие внутрь клетки, способны изменять и даже разрушать ее структуру. ДМСО, проникая через клеточную мембрану, способен вызывать ее ослабление, а также образовывать в ней поры. Следовательно, для обеспечения жизнеспособности клеток и сохранения их функциональной активности клеточная мембрана должна быть защищена от повреждений во время процедуры замораживания/оттаивания. Белки-антифризы, полимеры-антифризы, а также гликопептиды привлекают внимание как эффективные вещества, подавляющие образование кристаллов льда и способные стабилизировать мембранные фосфолипиды. Электростатические взаимодействия, гидрофобные взаимодействия и водородные связи являются основополагающими во влиянии белков-антифризов и сахаров на клеточную мембрану. Кроме того, внимание исследователей привлекают жирные кислоты, такие как стеарат, а также холестерин, поскольку они используются в качестве скаффолдов для доставки на поверхность клеточной мембраны физиологически активных веществ, удерживаемых на мембране с помощью липидного якоря. Встраивание липидного якоря в клеточную мембрану может обеспечить ее защиту в процессе криоконсервации. С целью поиска новых соединений, обладающих криопротекторными свойствами, Yoshida K, et al. (2021) синтезировали вещество, являющееся производным трегалозы, олеил-трегалозу, в котором олеильная группа и трегалоза представляют собой гидрофобную и гидрофильную части, соответственно [58]. Олеиновая кислота в составе полученного соединения

служит липидным якорем. Выбор этой кислоты обусловлен тем, что только якорь с ненасыщенной липидной цепью может быть прикреплен к клеточной мембране, не оказывая при этом негативного влияния на липидные рафты (особые мембранные домены) и клеточные сигналы. Для обеспечения вставки липидного якоря в клеточную мембрану необходимо, чтобы вещество обладало и гидрофильными свойствами. С этой целью использовали трегалозу, как вещество с уже известными криопротекторными свойствами. Трегалоза ингибирует образование кристаллов льда и стабилизирует клеточную мембрану посредством образования водородных связей с водой и фосфолипидами клеточных мембран. Полученное вещество, благодаря своим свойствам, не способно проникать через клеточную мембрану, поэтому авторы рекомендуют рассматривать его использование в сочетании с криопротектором, способным проникать внутрь мембраны. Исследователи продемонстрировали криопротекторные свойства олеил-трегалозы на гепатоцитах, показав, что ее применение в сочетании с ДМСО привело к увеличению количества жизнеспособных и функционально активных клеток в сравнении с применением только 10% ДМСО без олеил-трегалозы.

Литература/References

1. Balassa K, Danby R, Rocha V. Haematopoietic stem cell transplants: principles and indications. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2019; 80(1):33-9. doi:10.12968/hmed.2019.80.1.33.
2. Afanasiev BV, Zubarovskaya LS, Alyanskiy AL, et al. Selection of donor of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology*. 2016; 3(3):30-6. (In Russ.) Афанасьев В.В., Зубаровская Л.С., Аланский А.Л. и др. Выбор донора при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. *Российский журнал детской гематологии и онкологии (РЖДГиО)*. 2016;3(3):30-6. doi:10.15829/1560-4071-2011-6-4-8.
3. Firsova MV, Mendeleva LP, Parovichnikova EN, et al. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with multiple myeloma. *Terapevticheskii Arkhiv*. 2021;93(7):778-84. (In Russ.) Фирсова М.В., Менделеева Л.П., Паровичникова Е.Н. и др. Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток пациентам с множественной миеломой. *Терапевтический архив*. 2021;93(7):778-84. doi:26442/00403660.2021.07.200929.
4. Adra N, Abonour R, Althouse SK, et al. High-Dose Chemotherapy and Autologous Peripheral-Blood Stem-Cell Transplantation for Relapsed Metastatic Germ Cell Tumors: The Indiana University Experience. *J Clin Oncol*. 2017;35(10):1096-102. doi:10.1200/JCO.2016.69.5395.
5. Laurence V, Pierga JY, Barthier S, et al. Long-term follow up of high-dose chemotherapy with autologous stem cell rescue in adults with Ewing tumor. *Am J Clin Oncol*. 2005;28(3):301-9. doi:10.1097/01.coc.0000156921.28880.e1.
6. Gajjar A, Chintagumpala M, Ashley D, et al. Risk-adapted craniospinal radiotherapy followed by high-dose chemotherapy and stem-cell rescue in children with newly diagnosed medulloblastoma (St Jude Medulloblastoma-96): long-term

Заключение

Криоконсервация ГСК требует учета нескольких факторов, включая состав раствора криопротектора, концентрацию клеток, а также скорость замораживания/оттаивания образца и температуру хранения. Большая часть исследований, посвященных криоконсервации ГСК, сосредоточена на оптимизации протоколов криоконсервации, которые бы сводили к минимуму изменения в трансплантате после оттаивания. Растворы для криоконсервации, содержащие 10% ДМСО, до сих пор широко используются на практике, однако появляется все больше информации о повреждающем влиянии данного криопротектора на ГСК и его токсическом действии на организм человека.

Разработка эффективных методов криоконсервации без использования ДМСО или с уменьшенным его содержанием, обеспечивающих высокую жизнеспособность трансплантата после оттаивания — ключевой момент, играющий существенную роль в повышении безопасности процедуры трансплантации ГСК и увеличении ее эффективности.

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

- results from a prospective, multicentre trial. *Lancet Oncol*. 2006;7(10):813-20. doi:10.1016/S1470-2045(06)70867-1.
7. Suredd A, Bader P, Cesaro S, et al. Indications for allo- and auto-SCT for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2015. *Bone Marrow Transplant*. 2015;50(8):1037-56. doi:10.1038/bmt.2015.6.
8. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med*. 2006;354(17):1813-26. doi:10.1056/NEJMra052638.
9. Keever-Taylor CA. Immune Reconstitution after Allogeneic Transplantation. *HSCT*. 2008;377-420. doi:10.1007/978-1-59745-438-4_18.
10. Miller JP, Perry EH, Price TH, et al. Recovery and Safety Profiles of Marrow and PBSC Donors: Experience of the National Marrow Donor Program. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008;14(9):29-36. doi:10.1016/j.bbmt.2008.05.018.
11. Stem Cell Trialists' Collaborative Group. Allogeneic peripheral blood stem-cell compared with bone marrow transplantation in the management of hematologic malignancies: an individual patient data meta-analysis of nine randomized trials. *J Clin Oncol*. 2005;23(22):5074-87. doi:10.1200/JCO.2005.09.020.
12. Friedrichs B, Tichelli A, Bacigalupo A, et al. Long-term outcome and late effects in patients transplanted with mobilised blood or bone marrow: a randomised trial. *Lancet Oncol*. 2010;11(4):331-8. doi:10.1016/S1470-2045(09)70352-3.
13. Sugiyanto M, Gosal S, Kosim A, et al. Impact of the source of hematopoietic stem cells on immune reconstitution after transplantation: A systematic review. *Eur J Haematol*. 2023;111(1):4-14. doi:10.1111/ejh.13966.
14. Mohanna A, Owaidah A, Albahrani A, et al. Validation of long-term handling and storage conditions for hematopoietic stem cell products for autologous transplants. *J Med Life*. 2023;16(4):515-9. doi:10.25122/jml-2022-0230.

15. Gal'tseva IV, Davydova YuO, Gaponova TV, et al. Absolute numbers of peripheral blood CD34+ hematopoietic stem cells prior to a leukapheresis procedure as a parameter predicting the efficiency of stem cell collection. *Terapevticheskiy Arkhiv*. 2017;89(7):18-24. (In Russ.) Гальцева И.В., Давыдова Ю.О., Гапонова Т.В. и др. Абсолютное количество гемопоэтических стволовых клеток CD34+ в периферической крови перед процедурой лейкофереза как параметр, прогнозирующий эффективность сбора стволовых клеток. *Терапевтический архив*. 2017;89(7):18-24. doi:10.17116/terarkh201789718-24.
16. D'Rozario J, Parisotto R, Stapleton J, et al. Pre infusion, post thaw CD34+ peripheral blood stem cell enumeration as a predictor of haematopoietic engraftment in autologous haematopoietic cell transplantation. *Transfus Apher Sci*. 2014;50(3):443-50. doi:10.1016/j.transci.2014.02.021.
17. Chang Y-J, Huang X-J. Donor lymphocyte infusions for relapse after allogeneic transplantation. When, if and for whom? *Blood Rev*. 2013;27(1):55-62. doi:10.1016/j.blre.2012.11.002.
18. Araújo AB, Salton GD, Angeli MH, et al. Effects of cell concentration, time of fresh storage, and cryopreservation on peripheral blood stem cells. *Transfus Apher Sci*. 2022;61(1):103298. doi:10.1016/j.transci.2021.103298.
19. Dijkstra-Tiekstra MJ, Setroikromo AC, Kraan M, et al. Optimization of the freezing process for hematopoietic progenitor cells: effect of precooling, initial dimethyl sulfoxide concentration, freezing program, and storage in vapor-phase or liquid nitrogen on in vitro white blood cell quality. *Transfusion*. 2014;54(12):3155-63. doi:10.1111/trf.12756.
20. Wu L, Al-Hejazi A, Filion L, et al. Increased apoptosis in cryopreserved autologous hematopoietic progenitor cells collected by apheresis and delayed neutrophil recovery after transplantation: a nested case-control study. *Cytotherapy*. 2012;14(2):205-14. doi:10.3109/14653249.2011.610302.
21. Mazur P, Leibo SP, Chu EHY. A two-factor hypothesis of freezing injury. *Exp Cell Res*. 1972;71(2):345-55. doi:10.1016/0014-4827(72)90303-5.
22. Arora S, Setia R, Handoo A, et al. Outcome of 51 autologous peripheral blood stem cell transplants after uncontrolled-rate freezing ("dump freezing") using -80°C mechanical freezer. *Asian J Transfus Scie*. 2018;12(2):117. doi:10.4103/ajts.ajts_42_17.
23. Calvet L, Cabrespine A, Boiret-Dupré N, et al. Hematologic, immunologic reconstitution, and outcome of 342 autologous peripheral blood stem cell transplantations after cryopreservation in a -80°C mechanical freezer and preserved less than 6 months. *Transfusion*. 2013;53(3):570-8. doi:10.1111/j.1537-2995.2012.03768.x.
24. Detry G, Calvet L, Straetmans N, et al. Impact of uncontrolled freezing and long-term storage of peripheral blood stem cells at -80° C on haematopoietic recovery after autologous transplantation. Report from two centres. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(6):780-5. doi:10.1038/bmt.2014.53.
25. Wang M, Karlsson JOM, Aksan A. FTIR Analysis of Molecular Changes Associated with Warming Injury in Cryopreserved Leukocytes. *Langmuir*. 2018;35(23):7552-9. doi:10.1021/acs.langmuir.8b02982.
26. Zubairov RR, Korotayev YeV, Rabinovich VI. Cryopreservation and cryogenic storage of hemopoietic stem cells. HIV Infection and Immunosuppressive Disorders. 2011;3(2):39-48. (In Russ.) Зубаиров Р.Р., Коротаев Е.В., Рабинович В.И. Криоконсервация и криохранение гемопоэтических стволовых клеток. ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2011;3(2):39-48.
27. Gurtovenko AA, Anwar J. Modulating the Structure and Properties of Cell Membranes: The Molecular Mechanism of Action of Dimethyl Sulfoxide. *J Phys Chem B*. 2007;111(35):10453-60. doi:10.1021/jp073113e.
28. Hornberger K, Yu G, McKenna D, Hubel A. Cryopreservation of Hematopoietic Stem Cells: Emerging Assays, Cryoprotectant Agents, and Technology to Improve Outcomes. *Transfus Med Hemotherapy*. 2019;46(3):188-96. doi:10.1159/000496068.
29. Shu Z, Heimfeld S, Gao D. Hematopoietic SCT with cryopreserved grafts: adverse reactions after transplantation and cryoprotectant removal before infusion. *Bone Marrow Transplant*. 2013;49(4):469-76. doi:10.1038/bmt.2013.152.
30. Mancias-Guerra C, Sánchez-García SA, Carreño-Salcedo SA, et al. Dimethyl sulfoxide toxicity in umbilical cord blood transplantation in patients less than 4.5 kilos of weigh. *Hematology, Transfus Cell Therapy*. 2023;45(1):1-4. doi:10.1016/j.htct.2021.04.009.
31. Marcacci G, Corazzelli G, Becchimanzi C, et al. DMSO-associated encephalopathy during autologous peripheral stem cell infusion: a predisposing role of preconditioning exposure to CNS-penetrating agents? *Bone Marrow Transplant*. 2009;44(2):133-5. doi:10.1038/bmt.2008.442.
32. Ataseven E, Tüfekçi Ö, Yılmaz Ş, et al. Neurotoxicity Associated With Dimethyl Sulfoxide Used in Allogeneic Stem Cell Transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2017;39(5):e297-9. doi:10.1097/MPH.0000000000000784.
33. Windrum P, Morris TCM, Drake MB, et al. Variation in dimethyl sulfoxide use in stem cell transplantation: a survey of EBMT centres. *Bone Marrow Transplant*. 2005;36(7):601-3. doi:10.1038/sj.bmt.1705100.
34. Júnior A, Arrais C, Saboya R, et al. Neurotoxicity associated with dimethylsulfoxide-preserved hematopoietic progenitor cell infusion. *Bone Marrow Transplant*. 2008;41:95-6. doi:10.1038/sj.bmt.1705883.
35. González-López T, Sánchez-Guijo F, Ortín A, et al. Ischemic stroke associated with the infusion of DMSO-cryopreserved auto-PBSCs. *Bone Marrow Transplant*. 2011;46:1035-6. doi:10.1038/bmt.2010.242.
36. Mitrus I, Smagur A, Fidyk W, et al. Reduction of DMSO concentration in cryopreservation mixture from 10% to 7.5% and 5% has no impact on engraftment after autologous peripheral blood stem cell transplantation: results of a prospective, randomized study. *Bone Marrow Transplant*. 2017;53(3):274-80. doi:10.1038/s41409-017-0056-6.
37. Mitrus I, Smagur A, Giebel S, et al. A faster reconstitution of hematopoiesis after autologous transplantation of hematopoietic cells cryopreserved in 7.5% dimethyl sulfoxide if compared to 10% dimethyl sulfoxide containing medium. *Cryobiology*. 2013;67(3):327-31. doi:10.1016/j.cryobiol.2013.09.167.
38. Smagur A, Mitrus I, Giebel S, et al. Impact of different dimethyl sulphoxide concentrations on cell recovery, viability and clonogenic potential of cryopreserved peripheral blood hematopoietic stem and progenitor cells. *Vox Sanguinis*. 2013;104:240-7. doi:10.1111/j.1423-0410.2012.01657.x.
39. Foïs E, Desmartin M, Benhamida S, et al. Recovery, viability and clinical toxicity of thawed and washed haematopoietic progenitor cells: analysis of 952 autologous peripheral blood stem cell transplantations. *Bone Marrow Transplant*. 2007;40(9):831-5. doi:10.1038/sj.bmt.1705830.
40. Akkök ÇA, Holte MR, Tangen JM, et al. Hematopoietic engraftment of dimethyl sulfoxide-depleted autologous peripheral blood progenitor cells. *Transfusion*. 2009;49(2):354-61. doi:10.1111/j.1537-2995.2008.01949.x.
41. Smagur A, Mitrus I, Ciomber A, et al. Comparison of the cryoprotective solutions based on human albumin vs. autologous plasma: its effect on cell recovery, clonogenic potential of peripheral blood hematopoietic progenitor cells and engraftment

- after autologous transplantation. *Vox Sanguinis*. 2015;108(4): 417-24. doi:10.1111/vox.12238.
42. Jeyaraman P, Borah P, Dayal N, et al. Adequate Engraftment With Lower Hematopoietic Stem Cell Dose. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2020;20(4):260-3. doi:10.1016/j.clml.2019.12.018.
43. Fernandez-Sojo J, Cid J, Azqueta C, et al. Post thawing viable CD34+ Cells dose is a better predictor of clinical outcome in lymphoma patients undergoing autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2022;57(8):1341-3. doi:10.1038/s41409-022-01722-6.
44. Watts MJ, Linch DC. Optimisation and quality control of cell processing for autologous stem cell transplantation. *Br J Haematol*. 2016;175(5):771-83. doi:10.1111/bjh.14378.
45. Veeraputhiran M, Theus JW, Pesek G, et al. Viability and engraftment of hematopoietic progenitor cells after long-term cryopreservation: effect of diagnosis and percentage dimethyl sulfoxide concentration. *Cytotherapy*. 2010;12(6):764-6. doi:10.3109/14653241003745896.
46. Abrahamsen JF, Bakken AM, Bruserud Ø. Cryopreserving human peripheral blood progenitor cells with 5-percent rather than 10-percent DMSO results in less apoptosis and necrosis in CD34+ cells. *Transfusion*. 2002;42(12):1573-80. doi:10.1046/j.1537-2995.2002.00242.x.
47. Balashova VA, Rugal' VI, Bessmeltsev SS, et al. Correlation of CD34+ Hematopoietic Stem Cells and CFU in Peripheral Blood Apheresis Products in Patients with Malignant Lymphoproliferative Diseases Before and After Cryopreservation Prior to auto-HSCT. *Clinical oncohematology*. 2018;11(4):368-77. (In Russ.) Балашова В.А., Ругаль В.И., Бессмельцев С.С. и др. Корреляция гемопоэтических стволовых клеток CD34+ и колониеобразующих единиц в продуктах афереза периферической крови у пациентов со злокачественными лимфопролиферативными заболеваниями до и после криоконсервирования перед аутоТГСК. *Клиническая онкогематология*. 2018;11(4):368-77. doi:10.21320/2500-2139-2018-11-4-368-377.
48. Pal R, Mamidi MK, Das AK, et al. Diverse effects of dimethyl sulfoxide (DMSO) on the differentiation potential of human embryonic stem cells. *Arch Toxicol*. 2011;86(4):651-61. doi:10.1007/s00204-011-0782-2.
49. Katkov II, Kim MS, Bajpai R, et al. Cryopreservation by slow cooling with DMSO diminished production of Oct-4 pluripotency marker in human embryonic stem cells. *Cryobiology*. 2006;53(2):194-205. doi:10.1016/j.cryobiol.2006.05.005.
50. Iwatani M, Ikegami K, Kremenska Y, et al. Dimethyl sulfoxide has an impact on epigenetic profile in mouse embryoid body. *Stem Cells*. 2006;24(11):2549-56. doi:10.1634/stemcells.2005-0427.
51. Kaushal R, Jahan S, McGregor C, et al. Dimethyl sulfoxide-free cryopreservation solutions for hematopoietic stem cell grafts. *Cytotherapy*. 2022;24(3):272-81. doi:10.1016/j.jcyt.2021.09.002.
52. Wu LK, Tokarew JM, Chaytor JL, et al. Carbohydrate-mediated inhibition of ice recrystallization in cryopreserved human umbilical cord blood. *Carbohydr Res*. 2011;346(1):86-93. doi:10.1016/j.carres.2010.10.016.
53. Petrenko YA, Jones DR, Petrenko AY. Cryopreservation of human fetal liver hematopoietic stem/progenitor cells using sucrose as an additive to the cryoprotective medium. *Cryobiology*. 2008;57(3):195-200. doi:10.1016/j.cryobiol.2008.08.003.
54. Motta JPR, Paraguassú-Braga FH, Bouzas LF, et al. Evaluation of intracellular and extracellular trehalose as a cryoprotectant of stem cells obtained from umbilical cord blood. *Cryobiology*. 2014;68(3):343-8. doi:10.1016/j.cryobiol.2014.04.007.
55. Svalgaard JD, Haastrup EK, Reckzeh K, et al. Low-molecular-weight carbohydrate Pentaisomaltose may replace dimethyl sulfoxide as a safer cryoprotectant for cryopreservation of peripheral blood stem cells. *Transfusion*. 2016;56(5):1088-95. doi:10.1111/trf.13543.
56. Klotz U, Kroemer H. Clinical pharmacokinetic considerations in the use of plasma expanders. *Clin Pharmacokinet*. 1987;12(2): 123-35. doi:10.2165/00003088-198712020-00003.
57. Briard JG, Jahan S, Chandran P, et al. Small-Molecule Ice Recrystallization Inhibitors Improve the Post-Thaw Function of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells. *ACS Omega*. 2016; 1(5):1010-8. doi:10.1021/acsomega.6b00178.
58. Yoshida K, Ono F, Chouno T, et al. Creation of a novel lipid-trehalose derivative showing positive interaction with the cell membrane and verification of its cytoprotective effect during cryopreservation. *J Biosci Bioeng*. 2021;132(1):71-80. doi:10.1016/j.jbiosc.2021.03.010.

Валидация шкал генетического риска развития сахарного диабета 2 типа на выборке населения регионов России из биобанка "НМИЦ ТПМ"

Киселева А. В.¹, Сопленкова А. Г.¹, Куценко В. А.^{1,2}, Сотникова Е. А.¹, Вяткин Ю. В.^{1,2}, Жарикова А. А.^{1,2}, Ершова А. И.¹, Зайченко М.³, Раменский В. Е.^{1,2}, Скирко О. П.¹, Сметнев С. А.¹, Копылова О. В.¹, Лимонова А. С.¹, Блохина А. В.¹, Покровская М. С.¹, Шальнова С. А.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; ³ФГАОУ ВО "Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)". Московская область, Долгопрудный, Россия

Цель. Провести валидацию и оценить точность 14 шкал генетического риска (ШГР) сахарного диабета 2 типа (СД2), созданных ранее в других странах, на выборке населения регионов России из биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России.

Материал и методы. Для генетического анализа были использованы данные секвенирования следующего поколения на выборке из российской популяции (n=1165) на основе коллекции биобанка. Исследование включало 14 ШГР, ассоциированных с СД2.

Результаты. В рамках исследования было продемонстрировано, что предсказательная сила 12 из 14 ШГР для СД2 воспроизводится на российской популяции. В качестве метрик качества была использована площадь под ROC-кривой, которая для моделей с включением только ШГР варьировалась от 54,49 до 59,46%, а для моделей, включающих ШГР, пол и возраст — от 77,56 до 78,75%.

Заключение. Впервые в России проведено исследование 14 ШГР СД2, разработанных на других популяциях. 12 ШГР прошли валидацию и в будущем могут быть применены для улучшения прогнозирования риска развития и профилактики СД2 в России.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, шкала генетического риска, валидация, популяционное исследование, биобанк.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 22/09-2023

Рецензия получена 18/10-2023

Принята к публикации 24/10-2023



Для цитирования: Киселева А. В., Сопленкова А. Г., Куценко В. А., Сотникова Е. А., Вяткин Ю. В., Жарикова А. А., Ершова А. И., Зайченко М., Раменский В. Е., Скирко О. П., Сметнев С. А., Копылова О. В., Лимонова А. С., Блохина А. В., Покровская М. С., Шальнова С. А., Мешков А. Н., Драпкина О. М. Валидация шкал генетического риска развития сахарного диабета 2 типа на выборке населения регионов России из биобанка "НМИЦ ТПМ". *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3746. doi:10.15829/1728-8800-2023-3746. EDN VADXMO

*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, Сопленкова А. Г. — лаборант отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, лаборатория биостатистики, ORCID: 0000-0003-0703-146X, Куценко В. А. — с.н.с. отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, лаборатория биостатистики, аспирант Механико-математического факультета, ORCID: 0000-0001-9844-3122, Сотникова Е. А. — с.н.с. лаборатории молекулярной генетики Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0002-8395-4146, Вяткин Ю. В. — программист лаборатории геномной и медицинской биоинформатики Института персонализированной терапии и профилактики, с.н.с. Института перспективных исследований проблем искусственного интеллекта и интеллектуальных систем, ORCID: 0000-0002-9056-8796, 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, Ершова А. И. — д.м.н., зам. директора по фундаментальной науке, руководитель лаборатории клинической, ORCID: 0000-0001-7989-0760, Зайченко М. — аспирант, ORCID: 0000-0002-2798-9811, Раменский В. Е. — к.ф.-м.н., в.н.с., руководитель лаборатории геномной и медицинской биоинформатики Института персонализированной терапии и профилактики, в.н.с. Института перспективных исследований проблем искусственного интеллекта и интеллектуальных систем, доцент Факультета биоинженерии и биоинформатики, ORCID: 0000-0001-7867-9509, Скирко О. П. — м.н.с. лаборатории молекулярной генетики Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0003-3755-0279, Сметнев С. А. — м.н.с. отдела персонализированной диагностики, профилактики и терапии атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0002-8493-4761, Копылова О. В. — к.м.н., с.н.с. лаборатории клинической, ORCID: 0000-0001-5397-5387, Лимонова А. С. — н.с. лаборатории клинической, ORCID: 0000-0003-1500-3696, Блохина А. В. — к.м.н., н.с. лаборатории клинической, ORCID: 0000-0002-3019-3961, Покровская М. С. — к.б.н., в.н.с., руководитель лаборатории "Банк биологического материала" Института персонализированной терапии и профилактики, ORCID: 0000-0001-6985-7131, Шальнова С. А. — д.м.н., профессор, руководитель отдела эпидемиологии хронических неинфекционных заболеваний, ORCID: 0000-0003-2087-6483, Мешков А. Н. — д.м.н., руководитель отдела персонализированной диагностики, профилактики и терапии атеросклеротических сердечно-сосудистых заболеваний, 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].

Validation of genetic risk scores for type 2 diabetes on a Russian population sample from the biobank of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine

Kiseleva A. V.¹, Soplenkova A. G.¹, Kutsenko V. A.^{1,2}, Sotnikova E. A.¹, Vyatkin Yu. V.^{1,2}, Zharikova A. A.^{1,2}, Ershova A. I.¹, Zaichenoka M.³, Ramensky V. E.^{1,2}, Skirko O. P.¹, Smetnev S. A.¹, Kopylova O. V.¹, Limonova A. S.¹, Blokhina A. V.¹, Pokrovskaya M. S.¹, Shalnova S. A.¹, Meshkov A. N.¹, Drapkina O. M.¹

¹National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow; ²Lomonosov Moscow State University. Moscow; ³Moscow Institute of Physics and Technology. Moscow Oblast, Dolgoprudny, Russia

Aim. To validate and evaluate the accuracy of 14 genetic risk scores (GRSs) for type 2 diabetes (T2D), created earlier in other countries, using a Russian population sample from the biobank of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine.

Material and methods. For genetic analysis, next generation sequencing data was used on a sample from the Russian population (n=1165) based on the biobank collection. The study included 14 GRSs associated with T2D.

Results. The study demonstrated that the predictive power of 12 out of 14 GRSs for T2D was replicated in the Russian population. As quality metrics, we used the area under the ROC curve, which for models including only GRS varied from 54,49 to 59,46%, and for models including GRS, sex and age — from 77,56 to 78,75%.

Conclusion. For the first time in Russia, a study of 14 T2D GRSs developed on other populations was conducted. Twelve GRSs have been validated and can be used in the future to improve risk prediction and prevention of T2D in Russia.

Keywords: type 2 diabetes, genetic risk score, validation, population study, biobank.

Relationships and Activities: none.

Kiseleva A. V.* ORCID: 0000-0003-4765-8021, Soplenkova A. G. ORCID: 0000-0003-0703-146X, Kutsenko V. A. ORCID: 0000-0001-9844-3122, Sotnikova E. A. ORCID: 0000-0002-8395-4146, Vyatkin Yu. V. ORCID: 0000-

0002-9056-8796, Zharikova A. A. ORCID: 0000-0003-0723-0493, Ershova A. I. ORCID: 0000-0001-7989-0760, Zaichenoka M. ORCID: 0000-0002-2798-9811, Ramensky V. E. ORCID: 0000-0001-7867-9509, Skirko O. P. ORCID: 0000-0003-3755-0279, Smetnev S. A. ORCID: 0000-0002-8493-4761, Kopylova O. V. ORCID: 0000-0001-5397-5387, Limonova A. S. ORCID: 0000-0003-1500-3696, Blokhina A. V. ORCID: 0000-0002-3019-3961, Pokrovskaya M. S. ORCID: 0000-0001-6985-7131, Shalnova S. A. ORCID: 0000-0003-2087-6483, Meshkov A. N. ORCID: 0000-0001-5989-6233, Drapkina O. M. ORCID: 0000-0002-4453-8430.

*Corresponding author: sanyutabe@gmail.com

Received: 22/09-2023

Revision Received: 18/10-2023

Accepted: 24/10-2023

For citation: Kiseleva A. V., Soplenkova A. G., Kutsenko V. A., Sotnikova E. A., Vyatkin Yu. V., Zharikova A. A., Ershova A. I., Zaichenoka M., Ramensky V. E., Skirko O. P., Smetnev S. A., Kopylova O. V., Limonova A. S., Blokhina A. V., Pokrovskaya M. S., Shalnova S. A., Meshkov A. N., Drapkina O. M. Validation of genetic risk scores for type 2 diabetes on a Russian population sample from the biobank of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3746. doi:10.15829/1728-8800-2023-3746. EDN VADXMO

ВНП — вариант нуклеотидной последовательности, СД2 — сахарный диабет 2 типа, ШГР — шкала генетического риска, ЗССЕ-РФ — Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации, AUC — Area Under the Curve (площадь под ROC-кривой), GWAS — genome-wide association studies (полногеномный поиск ассоциаций), NGS — next-generation sequencing (секвенирование следующего поколения).

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Для оценки генетической предрасположенности человека к определенному признаку или заболеванию используют шкалы генетического риска (ШГР).
- Большинство ШГР объясняют лишь небольшую часть вариабельности признака, но они являются устойчивой мерой генетической предрасположенности человека к заболеваниям.

Что добавляют результаты исследования?

- Впервые в России проведена валидация 14 ШГР сахарного диабета (СД) 2 типа, разработанных на популяциях европейского происхождения.
- Из 14 ШГР СД 2 типа 12 были значимо ассоциированы с СД 2 типа в российской популяции.

Key messages

What is already known about the subject?

- To assess a person's genetic predisposition to a particular trait or disease, genetic risk scores (GRS) are used.
- Most GRSs explain only a small portion of trait variance, but they are a robust measure of a person's genetic susceptibility to disease.

What might this study add?

- For the first time in Russia, 14 GRSs for type 2 diabetes, developed on European populations, were validated.
- Of the 14 GRSs for type 2 diabetes, 12 were significantly associated with type 2 diabetes in the Russian population.

Введение

В 2019г сахарный диабет (СД) стал причиной ~2 млн смертей по всему миру. Более 95% от общего числа пациентов, страдающих СД, имеют СД 2 типа (СД2)¹. Кроме того, СД2 является фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний [1]. Данные о наследуемости СД2 сильно варьируются от 26 до 72% согласно различным близнецовым исследованиям [2, 3].

За последние 20 лет, благодаря полногеномному поиску ассоциаций (genome-wide association studies — GWAS) показано, что большинство распространенных заболеваний человека объясняются не вариантами в одном гене, а большим количеством отдельных вариантов, распределенных по всему геному [4]. GWAS Catalog, база данных, агрегирующая информацию об исследованиях по полногеномному поиску ассоциаций, содержит информацию о 227 исследованиях, где одним из изучаемых признаков был СД2². На основании выявленных ассоциаций создаются шкалы генетического риска (ШГР), используемые для оценки генетической предрасположенности человека к определенному признаку или заболеванию. Значение ШГР для некоторого признака конкретного человека рассчитывается на основе генотипа человека и данных, полученных в GWAS для этого признака [5, 6]. Для создания ШГР могут быть использованы данные GWAS, проведенного в рамках того же исследования [7] или выполненного ранее на другой выборке [8, 9]. Число включенных в ШГР вариантов широко варьируется и может достигать нескольких млн³. Большинство ШГР объясняют лишь небольшую часть вариабельности признака, однако они являются устойчивой мерой генетической предрасположенности человека к заболеваниям, что привело к рутинному применению ШГР в биомедицинских исследованиях [5].

Для проведения валидации уже существующих ШГР необходимы выборки, включающие тысячи участников. Поэтому наиболее оптимальным является использование данных биобанков, содержащих информацию об изучаемом признаке. Примером может выступать коллекция данных биобанка Соединенного Королевства (UK Biobank) [8, 10], которая позволяет проводить как повторные исследования, так и оценивать этнические особенности наследуемости заболевания или признака. На сегодняшний день в России такие исследования стали доступны благодаря развитию биобан-

ков. В частности, в настоящей работе использованы данные биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России [11] — одного из наиболее крупных биобанков РФ, члена Национальной ассоциации биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО) [12].

К настоящему времени созданы десятки ШГР СД2 [13]. В рамках ряда исследований было продемонстрировано, что при применении моделей оценки риска возникает необходимость принимать во внимание популяционный эффект даже для лиц из разных европейских популяций одинаковой этнической принадлежности [4, 14, 15]. Генетическая структура российской и европейской популяции различается еще более существенно [16, 17]. Кроме того, популяционные исследования, проведенные на выборках регионов европейской части России, показали достоверные отличия в аллельных частотах некоторых клинически значимых вариантов нуклеотидной последовательности (ВНП) от данных, полученных на европейской популяции (non-Finnish Europeans) [18, 19].

Целью настоящей работы: провести валидацию и оценить точность 14 шкал ШГР СД2, созданных ранее в других странах, на выборке населения регионов России из биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России.

Материал и методы

Выборка

В исследование была включена подвыборка из репрезентативной выборки населения Вологодской области (n=707) из исследования "Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации" (ЭССЕ-Вологда) [20] и 460 пациентов, чья кровь была биобанкирована в Биобанке ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России, общая выборка составила 1167 участников, доля мужчин в выборке — 48,8%. Общая характеристика выборки представлена в таблице 1. В рамках исследования ЭССЕ-РФ проводился опрос по стандартному вопроснику, разработанному на основе адаптированных международных методик и включающему информацию о поведенческих привычках, анамнестических данных и т.д. [20]. Диагноз СД2 ставился при наличии хотя бы одного из следующих критериев: уровень глюкозы натощак >7 ммоль/л; положительный ответ на вопрос: "Говорил ли Вам когда-нибудь врач, что у Вас имеется/имелся сахарный диабет 2 типа?"; прием гипогликемической терапии. В общей выборке в анализ включены возраст, пол, уровень глюкозы натощак (ммоль/л) и/или диагноз СД2, и/или сахароснижающая терапия. Показатель, "диагноз СД2" был доступен для обеих выборок, а показатели "уровень глюкозы натощак (ммоль/л)" и "прием гипогликемической терапии" — только для ЭССЕ-Вологда (n=703). Количество участников с СД2 (поставленный диагноз или уровень глюкозы >7 ммоль/л) составило 286 из 1167. Обе выборки являются коллекцией биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России [11]. Исследование одобрено Независимым Этическим Комитетом ФГБУ "НМИЦ ТПМ"

¹ World Health Organization. <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes> (23 October 2023).

² GWAS Catalog. https://www.ebi.ac.uk/gwas/efotraits/MONDO_0005148 (23 October 2023).

³ PGS Catalog. https://www.pgscatalog.org/trait/MONDO_0005148/ (23 October 2023).

Таблица 1

Характеристика выборки

Показатель	Вся выборка, n=1167	Мужчины, n=569 (48,8%)	Женщины, n=598 (51,2%)	p
Возраст, лет (Me [Q25; 75], n=1167)	50 [38; 58]	48 [37; 56]	52,0 [39,3; 60,0]	<0,001
Уровень глюкозы, ммоль/л (Me [Q25; 75], n=703)	5,09 [4,7; 5,6]	5,25 [4,9; 5,8]	4,96 [4,6; 5,4]	<0,001
Диагноз СД2, % (n=1167)	286 (24,5%)	161 (28,3%)	125 (20,9%)	0,003
Рост, см (Me [Q25; 75], n=1164)	169,0 [161,5; 176,5]	176,55 [172,7; 181,0]	162,0 [158,0; 166,0]	<0,001
Вес, кг (Me [Q25; 75], n=1164)	83,0 [69,0; 100,3]	90,15 [77,4; 107,9]	74 [62,5; 92,0]	<0,001
ИМТ, кг/м ² (Me [Q25; 75], n=1165)	28,8 [24,2; 35,0]	29,0 [25,0; 34,0]	28,0 [23,4; 35,8]	0,064

Примечание: ИМТ — индекс массы тела, СД2 — сахарный диабет 2 типа, Me — медиана, Q — квартиль.

Минздрава России. Все участники дали письменное информированное согласие.

Выбор ШГР

В исследование были включены 14 ШГР [8, 9, 21–32], которые были доступны на момент начала исследования в 2021г, рассчитанные для европейской популяции (non-Finnish Europeans) [13]. Исходные данные по всем 14 ШГР были подробно описаны ранее [13].

Генетический анализ

Геномная дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) из образцов цельной крови была выделена с помощью набора QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Германия). Концентрацию ДНК определяли на флуориметре Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США) или спектрофотометре NanoDrop OneC (Thermo Fisher Scientific, США). Секвенирование следующего поколения (NGS — next-generation sequencing) с использованием таргетной панели, включавшей 14 ШГР СД2, было проведено для всех участников исследования. Библиотеки, приготовленные с помощью SeqCap EZ Prime Choice Library (Roche, Швейцария), были отсекуированы на приборе NextSeq 550 (Illumina, США). Все этапы NGS были выполнены в соответствии с протоколами производителей.

Биоинформатический анализ

Парноконцевые прочтения были получены в формате fastq и выровнены на референсный геном GRCh38. Дальнейшая обработка данных и оценка контроля качества были выполнены на основе ранее разработанного пайплайна [19] на базе GATK 3.8 [33]. ШГР были вычислены для генотипов каждого образца путем суммирования эффектов каждого ВНП из оригинальных исследований с учетом количества копий аллеля.

Статистический анализ

Для статистического анализа использовались библиотеки base, stats, dplyr и pROC языка R v. 4.1⁴. Непрерывные признаки описаны медианой и интерквартильным размахом Me [Q25; Q75]. Сравнение непрерывных параметров в независимых выборках выполнено с помощью критерия Манна-Уитни. Анализ ассоциаций ШГР с СД2 проведен при помощи логистической регрессии с поправкой на пол и возраст. В качестве метрики качества для моделей регрессии использована площадь под ROC-кривой (AUC). Уровень статистической значимости принят равным 0,05.

Результаты

Сила ассоциации между включенными в анализ ШГР и наличием СД2 оценена при помощи AUC, которые представлены в таблице 2. AUC для регрессии СД2 на пол и возраст без добавления ШГР составила 77,12%. AUC является стандартной метрикой качества и используется для определения общей производительности модели, благодаря чему можно сравнить результаты данной работы с полученными в исходных исследованиях. В таблице 2 приведены данные по количеству ВНП, включенных в каждую из 14 ШГР, а также количество ВНП, которое было использовано в данном исследовании. Кроме того, приведены данные AUC из оригинальных исследований, при условии их наличия. Результаты анализ AUC приведены и для ШГР, и для моделей, включающих ШГР, пол и возраст).

Из 14 ШГР, включенных в исследование, только две не показали достоверно значимых результатов на российской выборке [25, 30]. Наиболее высокий результат получен для ШГР Langenberg C, et al. (2014) [24] (49 ВНП), Liu SY, et al. (2015) [26] (39 ВНП) и Qi Q, et al. (2017) [29] (80 ВНП). Добавление к этим ШГР общепринятых факторов риска (пол, возраст) значимо увеличивало AUC с 59,05 до 78,75% (p<0,001), с 59,25 до 78,56% (p<0,001), с 59,46 до 78,41% (p<0,001), соответственно. AUC только для ШГР варьировался от 54,49 [23] до 59,46% [29], а AUC для моделей, включающих ШГР, пол и возраст — от 77,56 [23] до 78,75% [24].

К сожалению, данные AUC только для ШГР были указаны лишь в двух оригинальных работах [22, 27], а для моделей с включением ШГР, пола и возраста — в трех [8, 9, 21], что не позволило провести полноценное сравнение между исследованиями.

Обсуждение

В рамках настоящего исследования впервые проведена валидация на российской популяции 14 ШГР СД2, рассчитанных на выборках европейского происхождения и включавших от 296 до 303 053 участников и от 12 до 80 ВНП [8, 9, 21–32]. Включение лишь небольших по размеру ШГР объясня-

⁴ R Development Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria, 2013. <https://www.R-project.org/> (23 October 2023).

Таблица 2

Анализ AUC для СД2 с участием ШГР, пола и возраста в исследуемой выборке (n=1167)

ШГР	Количество ВНП в оригинальном исследовании	Количество ВНП в этом исследовании	AUC в оригинальном исследовании (ШГР)/ШГР + пол + возраст), %	AUC в этом исследовании (ШГР)/ШГР + пол + возраст), %	p для ШГР в этом исследовании
Vassy JL, et al. (2014) [9]	62	62	-/72,6	58,96/78,64	$3,97 \times 10^{-06}$
Walford GA, et al. (2014) [21]	62	62	-/64,1	58,96/78,64	$3,97 \times 10^{-06}$
Cormier H, et al. (2014) [22]	36	34	54,78/-	57,3/77,88	$4,13 \times 10^{-04}$
Villegas R, et al. (2014) [23]	15	12	-/-	54,49/77,56	0,0158
Langenberg C, et al. (2014) [24]	49	49	-/-	59,05/78,75	$4,91 \times 10^{-06}$
Klimentidis YC, et al. (2015) [25]	31	31	-/-	50,65/77,12	0,94
Liu SY, et al. (2015) [26]	39	39	-/-	59,25/78,56	$7,85 \times 10^{-06}$
Talmud PJ, et al. (2015) [27]	65	65	60,2/-	58,74/78,07	$8,13 \times 10^{-06}$
Leong A, et al. (2016) [28]	38	36	-/-	56,27/77,73	$1,22 \times 10^{-03}$
Qi Q, et al. (2017) [29]	80	79	-/-	59,46/78,41	$1,38 \times 10^{-06}$
Liu T, et al. (2018) [30]	12	12	-/-	53,1/77,51	0,134
Szczerbiński L, et al. (2019) [31]	19	19	-/-	56,13/77,97	$2,93 \times 10^{-03}$
Kaplinski M, et al. (2019) [32]	44	44	-/-	57,28/78,04	$1,37 \times 10^{-04}$
Chen X, et al. (2021) [8]	60	59	-/68,1	58,58/78,25	$7,95 \times 10^{-06}$

Примечание: ВНП — вариант нуклеотидной последовательности, ШГР — шкала генетического риска, AUC — площадь под ROC-кривой.

ется тем, что в качестве метода генотипирования использовалось NGS с помощью таргетной панели отдельных участков генома, а не полногеномное секвенирование или высокоплотные микрочипы.

Невозможность валидации ШГР, включавших сотни тысяч и миллионы ВНП, была одним из ограничений этого исследования. Так, например, ШГР из 136795 ВНП была разработана в GWAS Mahajan A, et al. (2018) [10] на выборке UK Biobank (n=441894). С-статистика (аналог AUC) составила 66%, а доля объясненной вариативности СД2 — 18% [10]. В другой работе, выполненной Khera A, et al. (2018) (n=288978), на основе GWAS [34] была создана ШГР из 6 млн ВНП, объясняющая 2,9% вариативности СД2 [35]. В этих исследованиях использовался обобщенный коэффициент детерминации. Этот коэффициент в настоящем исследовании не оценивался, т.к. его сложно интерпретировать и сравнивать между исследованиями [5].

Пять ШГР из 6 исследований [8, 9, 21, 24, 27, 31], включенных в настоящее исследование, были построены на GWAS Morris AP, et al. (2012) [36]. ШГР, созданная на основе этого GWAS в работе Vassy JL, et al. (2014), включала 62 ВНП, AUC для моделей с включением ШГР, пола и возраста составила 72,6% [9]. В настоящем исследовании добавление ШГР к факторам риска (пол, возраст) значительно увеличивало AUC с 77,12 до 78,64% (p=0,009). Эта же шкала была использована в работе Walford GA, et al. (2014), где AUC для модели, включающей только ШГР, составила 64,1% [21]. Кроме того, еще в двух других исследованиях, в которых были разработаны ШГР на основе GWAS [34], были предоставлены данные по AUC: в исследовании Talmud PJ, et al. (2015) AUC

для модели, включающей только ШГР (65 ВНП), составила 60,2% [27], в работе Chen X, et al. (2021) AUC для модели с включением ШГР (60 ВНП), пола и возраста составила 68,1% [8].

Из 14 ШГР, разработанных на европейской популяции, 12 продемонстрировали достоверно значимые результаты на российской выборке. Одним из возможных объяснений отсутствия значимых результатов для двух ШГР является то, что их конструирование проводилось с нарушениями принятой методологии, описанной в работе Choi SW, et al. (2020) [5]. Эти результаты подчеркивают, что воспроизводимы только те ШГР, которые построены при помощи методов статистики, специфических для данной области количественной генетики.

В первой работе с нарушенной методикой, выполненной Klimentidis YC, et al. (2015), изучалась ассоциация генетического риска для повышенного уровня триглицеридов (ТГ) в плазме со случаями СД2 [25]. В частности, ассоциация ШГР для ТГ с СД2 подменена на ассоциацию взаимодействия ШГР для ТГ и СД2 при регрессии на ТГ. Во второй работе Liu T, et al. (2018) разработана ШГР из 12 ВНП, ассоциированных с процентным содержанием жира в организме [30]. В работе игнорировалась поправка на множественные сравнения и использовались невзвешенные ШГР.

Таким образом, представляется крайне важным обязательная валидация на выборках российских пациентов для ШГР, разработанных в других популяциях. При этом важно подчеркнуть, что проведение таких валидаций невозможно без использования данных о пациентах и их биообразцах из коллекций российских биобанков. Проведение

настоящего исследования стало возможным благодаря коллекциям биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России [11], содержащих информацию о наличии заболевания СД2, уровне глюкозы натощак и приеме сахароснижающей терапии.

Заключение

Впервые в России было проведено исследование 14 ШГР СД2, разработанных на других попу-

ляциях; 12 ШГР прошли валидацию и в будущем могут быть применены для улучшения прогнозирования риска развития и профилактики СД2 в России. Таким образом, Российские биобанки играют очень важную роль в валидации таких ШГР.

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

Литература/References

1. Kopylova OV, Ershova AI, Meshkov AN, et al. Lifelong prevention of cardiovascular disease. Part I: preconceptional, prenatal and infant periods of life. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2020;19(6):2647. (In Russ.) Копылова О.В., Ершова А.И., Мешков А.Н. и др. Профилактика сердечно-сосудистых заболеваний на протяжении жизни. Часть I: преконцепционный, пренатальный и грудной периоды. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2020;19(6):2647. doi:10.15829/1728-8800-2020-2647.
2. Poulsen P, Kyvik KO, Vaag A, et al. Heritability of Type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance — a population-based twin study. Diabetologia. 1999;42:139-45. doi:10.1007/s001250051131.
3. Willemsen G, Ward KJ, Bell CG, et al. The concordance and heritability of type 2 diabetes in 34,166 twin pairs from international twin registers: the discordant twin (DISCOTWIN) consortium. Twin Res Hum Genet. 2015;18(6):762-71. doi:10.1017/thg.2015.83.
4. Koch S, Schmidtke J, Krawczak M, et al. Clinical utility of polygenic risk scores: a critical 2023 appraisal. J Commun Genet. 2023;1-17. doi:10.1007/s12687-023-00645-z.
5. Choi SW, Mak TSH, O'Reilly PF. Tutorial: a guide to performing polygenic risk score analyses. Nat Protoc. 2020;15(9):2759-72. doi:10.1038/s41596-020-0353-1.
6. Reddi HV, Wand H, Funke B, et al. Laboratory perspectives in the development of polygenic risk scores for disease: A points to consider statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Genet Med. 2023;25(5):100804. doi:10.1016/j.gim.2023.100804.
7. Locke AE, Kahali B, Berndt SI, et al. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. Nature. 2015; 518(7538):197-206. doi:10.1038/nature14177.
8. Chen X, Liu C, Si S, et al. Genomic risk score provides predictive performance for type 2 diabetes in the UK biobank. Acta Diabetol. 2021;58(4):467-74. doi:10.1007/s00592-020-01650-1.
9. Vassy JL, Hivert MF, Porneala B, et al. Polygenic type 2 diabetes prediction at the limit of common variant detection. Diabetes. 2014;63(6):2172-82. doi:10.2337/db13-1663.
10. Mahajan A, Taliun D, Thurner M, et al. Fine-mapping type 2 diabetes loci to single-variant resolution using high-density imputation and islet-specific epigenome maps. Nat Genet. 2018;50(11):1505-13. doi:10.1038/s41588-018-0241-6.
11. 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.
12. 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;19:73-82. doi:10.1089/bio.2020.0049.
13. Kurilova OV, Kiseleva AV, Meshkov AN, et al. Scales for assessing the genetic risk of developing type 2 diabetes mellitus. Preventive medicine. 2021;24(12):115-22. (In Russ.) Курилова О.В., Киселева А.В., Мешков А.Н. и др. Шкалы для оценки генетического риска развития сахарного диабета 2-го типа. Профилактическая медицина. 2021;24(12):115-22. doi:10.17116/profmed202124121115.
14. Gola D, Erdmann J, Läll K, et al. Population bias in polygenic risk prediction models for coronary artery disease. Circ-Genom Precis Me. 2020;13(6):e002932. doi:10.1161/CIRCGEN.120.002932.
15. Duncan L, Shen H, Gelaye B, et al. Analysis of polygenic risk score usage and performance in diverse human populations. Nat Commun. 2019;10(1):3328. doi:10.1038/s41467-019-11112-0.
16. Moffatt MF, Phil D, Gut IG, et al. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. New Engl J Med. 2010;363(13):1211-21. doi:10.1056/NEJMoa0906312.
17. Usoltsev D, Kolosov N, Rotar O, et al. Understanding complex trait susceptibilities and ethnical diversity in a sample of 4,145 Russians through analysis of clinical and genetic data. bioRxiv. 2023:2023.03.23.534000. doi:10.1101/2023.03.23.534000.
18. Sotnikova EA, Kiseleva AV, Kutsenko VA, et al. Identification of pathogenic variant burden and selection of optimal diagnostic method is a way to improve carrier screening for autosomal recessive diseases. J Pers Med. 2022;12(7):1132. doi:10.3390/jpm12071132.
19. Ramensky VE, Ershova AI, Zaichenok M, et al. Targeted sequencing of 242 clinically important genes in the Russian population from the Ivanovo region. Front Genet. 2021; 12:709419. doi:10.3389/fgene.2021.709419.
20. Boytsov SA, Chazov EI, Shlyakhto EV, et al. Epidemiology of cardiovascular diseases in different regions of Russia (ESSE-RF). The rationale for and design of the study. Preventive medicine. 2013;16(6):25-34. (In Russ.) Бойцов С.А., Чазов Е.И., Шляхто Е.В. и др. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России (ЭССЕ-РФ). Обоснование и дизайн исследований. Профилактическая медицина. 2013;16(6):25-34.
21. Walford GA, Porneala BC, Dauriz M, et al. Metabolite traits and genetic risk provide complementary information for the prediction of future type 2 diabetes. Diabetes Care. 2014;37(9):2508-14. doi:10.2337/dc14-0560.
22. Cormier H, Vigneault J, Garneau V, et al. An explained variance-based genetic risk score associated with gestational diabetes

- antecedent and with progression to pre-diabetes and type 2 diabetes: a cohort study. *BJOG*. 2015;122(3):411-9. doi:10.1111/1471-0528.12937.
23. Villegas R, Goodloe RJ, McClellan BE, et al. Gene-carbohydrate and gene-fiber interactions and type 2 diabetes in diverse populations from the National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES) as part of the Epidemiologic Architecture for Genes Linked to Environment (EAGLE) study. *BMC Genet*. 2014;15:69. doi:10.1186/1471-2156-15-69.
24. Langenberg C, Sharp SJ, Franks PW, et al. Gene-lifestyle interaction and type 2 diabetes: the EPIC interact case-cohort study. *PLoS Med*. 2014;11(5):e1001647. doi:10.1371/journal.pmed.1001647.
25. Klimentidis YC, Chougule A, Arora A, et al. Triglyceride-Increasing Alleles Associated with Protection against Type-2 Diabetes. *PLoS Genet*. 2015;11(5):e1005204. doi:10.1371/journal.pgen.1005204.
26. Liu SY, Walter S, Marden J, et al. Genetic vulnerability to diabetes and obesity: does education offset the risk? *Soc Sci Med*. 2015;127:150-8. doi:10.1016/j.socscimed.2014.09.009.
27. Talmud PJ, Cooper JA, Morris RW, et al. Sixty-five common genetic variants and prediction of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2015;64(5):1830-40. doi:10.2337/db14-1504.
28. Leong A, Porneala B, Dupuis J, et al. Type 2 diabetes genetic predisposition, obesity, and all-cause mortality risk in the U.S.: a multiethnic analysis. *Diabetes Care*. 2016;39(4):539-46. doi:10.2337/dc15-2080.
29. Qi Q, Stilp AM, Sofer T, et al. Genetics of type 2 diabetes in U.S. hispanic/latino individuals: results from the hispanic community health study/study of latinos (HCHS/SOL). *Diabetes*. 2017;66(5):1419-25. doi:10.2337/db16-1150.
30. Liu T, Li C, Shen L, et al. Heterogeneity in effects of genetically determined adiposity on insulin resistance and type 2 diabetes: The atherosclerosis risk in communities study. *J Diabetes Complicat*. 2018;32(3):330-4. doi:10.1016/j.jdiacomp.2017.12.012.
31. Szczerbiński Ł, Gościk J, Bauer W, et al. Efficacy of family history, genetic risk score, and physical activity in assessing the prevalence of type 2 diabetes. *Pol Arch Intern Med*. 2019;129(7-8):442-50. doi:10.20452/pamw.14866.
32. Kaplinski M, Taylor D, Mitchell LE, et al. The association of elevated maternal genetic risk scores for hypertension, type 2 diabetes and obesity and having a child with a congenital heart defect. *PloS one*. 2019;14(5):e0216477. doi:10.1371/journal.pone.0216477.
33. Van der Auwera, Geraldine A, O'Connor B. *Genomics in the cloud: using Docker, GATK, and WDL in Terra*. O'Reilly Media. 2020. ISBN: 9781491975190.
34. Khera AV, Chaffin M, Aragam KG, et al. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations. *Nat Genet*. 2018;50(9):1219-24. doi:10.1038/s41588-018-0183-z.
35. Scott RA, Scott LJ, Mägi R, et al. An expanded genome-wide association study of type 2 diabetes in Europeans. *Diabetes*. 2017;66(11):2888-902. doi:10.2337/db16-1253.
36. Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, et al. Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2012;44(9):981-90. doi:10.1038/ng.2383.

Оценка осведомленности о биобанкировании среди пациентов и врачей: опыт Томской области

Каменских Е. М., Бахарева Ю. О., Демченко Ю. Д., Соколова Т. С., Казаков С. Д., Чубакова К. А., Федорова О. С.

ФГБОУ ВО "Сибирский государственный медицинский университет" Минздрава России. Томск, Россия

Цель. Оценить осведомленность о биобанкировании среди пациентов и медицинских работников, а также выявить факторы, влияющие на готовность становиться донорами, и участвовать в сборе биологического материала.

Материал и методы. Проведено качественное исследование на основе полуструктурированного интервью врачей (n=11) и пациентов (n=11) медицинских организаций г. Томска. Полученные результаты обрабатывались при помощи методик лексического и сравнительного анализа.

Результаты. Опыт участия в биобанкировании со стороны пациентов и врачей был крайне ограничен, но имеющие опыт оценивали его положительно. Пациенты и врачи ранее не получали информацию о биобанках из официальных источников, но интуитивно правильно понимали их функции и роль в биомедицинских исследованиях. Пациенты были готовы жертвовать биоматериалом, а врачи — собирать, но субъектам важно было понимать цель работ и дальнейшее использование биоматериала. Пациенты хотели быть уверены, что процедуры сбора будут для них безопасны, а в дальнейшем сохранится конфиденциальность их личных данных. Основными мотивами к донорству биоматериала стали: вклад в научное развитие, потенциальная ценность для потомков доноров, общественное признание и материальное вознаграждение.

Заключение. Популяризация биобанкирования и повышение осведомленности потенциальных доноров и врачей о нормативном регулировании, в рамках которого осуществляются работы, поможет установить доверие и повысить готовность к донорству, даже в отношении инвазивных процедур забора биоматериала.

Ключевые слова: биобанки, аннотированные коллекции, биологический материал, качественное исследование, врачи, пациенты, биобанкирование, знания.

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 21/07-2023

Рецензия получена 04/09-2023

Принята к публикации 07/09-2023



Для цитирования: Каменских Е. М., Бахарева Ю. О., Демченко Ю. Д., Соколова Т. С., Казаков С. Д., Чубакова К. А., Федорова О. С. 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. EDN IJVACS

Awareness of biobanking among patients and doctors: experience of the Tomsk Oblast

Kamenskikh E. M., Bakhareva Yu. O., Demchenko Yu. D., Sokolova T. S., Kazakov S. D., Chubakova K. A., Fedorova O. S.
Siberian State Medical University. Tomsk, Russia

Aim. To assess awareness of biobanking among patients and healthcare professionals, and to identify factors influencing willingness to become donors and participate in the collection of biological material.

Material and methods. A qualitative study was conducted based on semi-structured interviews of doctors (n=11) and patients (n=11) of Tomsk medical organizations. The results obtained were processed using lexical and comparative analysis techniques.

Results. The experience of participation in biobanking was extremely limited among both patients and doctors, but those who had previous experience evaluated it positively. Patients and doctors had not received information about biobanks from official sources, but intuitively understood their functions and roles in biomedical research.

Patients were willing to donate biomaterials, while doctors were willing to collect them, but both parties emphasized the importance of understanding the purpose and future use of the biomaterials. Patients wanted to ensure the safety of the collection procedures and the confidentiality of their personal data. The main motives for donating biomaterial were contribution to scientific development, potential attractiveness for the descendants of donors, social origin and material reward.

Conclusion. Popularizing biobanking and increasing the awareness of donors and healthcare professionals about the regulatory framework governing biobanking activities can help establish trust and enhance readiness for donation, even regarding invasive biomaterial collection procedures.

Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: water0434@gmail.com

[Каменских Е. М. — ассистент научно-образовательной лаборатории "Живая лаборатория популяционных исследований", ORCID: 0000-0003-0814-8344, Бахарева Ю. О. — к.м.н., н.с. научно-образовательной лаборатории, ORCID: 0000-0003-2845-8278, Демченко Ю. Д. — лаборант-исследователь научно-образовательной лаборатории, ORCID: 0009-0008-5801-9157, Соколова Т. С. — к.м.н., н.с. научно-образовательной лаборатории, ORCID: 0000-0002-1085-0733, Казаков С. Д. — ассистент научно-образовательной лаборатории, ORCID: 0000-0001-9818-5549, Чубакова К. А.* — лаборант-исследователь научно-образовательной лаборатории, ORCID: 0000-0001-9010-4142, Федорова О. С. — д.м.н., профессор, проректор по научной работе и последипломной подготовке, ORCID: 0000-0002-7130-9609].

Keywords: biobanks, annotated collections, biomaterial, qualitative study, physicians, patients, biobanking, knowledge.

Relationships and Activities: none.

Kamenskikh E. M. ORCID: 0000-0003-0814-8344, Bakhareva Yu. O. ORCID: 0000-0003-2845-8278, Demchenko Yu. D. ORCID: 0009-0008-5801-9157, Sokolova T. S. ORCID: 0000-0002-1085-0733, Kazakov S. D. ORCID: 0000-0001-9818-5549, Chubakova K. A. * ORCID: 0000-0001-9010-4142, Fedorova O. S. ORCID: 0000-0002-7130-9609.

*Corresponding author: water0434@gmail.com

Received: 21/07-2023

Revision Received: 04/09-2023

Accepted: 07/09-2023

For citation: Kamenskikh E. M., Bakhareva Yu. O., Demchenko Yu. D., Sokolova T. S., Kazakov S. D., Chubakova K. A., Fedorova O. S. Awareness of biobanking among patients and doctors: experience of the Tomsk Oblast. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11): 3678. doi:10.15829/1728-8800-2023-3678. EDN IJVACS

1п/1в — в качестве доказательных примеров в тексте статьи приведены цитаты пациентов и врачей, где цифра — номер информанта в кодировочной таблице, а буква — субъект исследования: п — пациент, в — врач; СМЖ — спинномозговая жидкость.

Ключевые моменты

Что известно о предмете исследования?

- Осведомленность общественности о биобанках варьирует от 20 до 80%.
- Отношение к биобанкированию зависит от культурных, религиозных, этнических, юридических факторов и доверия населения к медицинским работникам и научно-исследовательским институтам.

Что добавляют результаты исследования?

- Проведено качественное исследование осведомленности о биобанкировании среди пациентов и врачей Томской области.
- Участники низко оценили свой уровень знаний о биобанках, хотя интуитивно правильно понимали их функции.
- Основные мотивы донорства биоматериала в биобанкировании: вклад в научное развитие, потенциальная ценность для потомков доноров, общественное признание и материальное вознаграждение.

Key messages

What is already known about the subject?

- Public awareness of biobanks varies from 20 to 80%.
- Attitude towards biobanking depends on cultural, religious, ethnic, legal factors and public trust in medical professionals and research institutions.

What might this study add?

- A qualitative study of awareness of biobanking among patients and doctors in the Tomsk region was performed.
- Participants estimated their knowledge about biobanks as low, although they intuitively correctly understood its functions.
- Contribution to scientific development, potential value for descendants of donors, public recognition and a financial reward are the main motives for donating biomaterial in biobanks.

Введение

В течение последних нескольких десятилетий в мире наблюдается динамичное развитие биобанков, что вызвано признанием их высокого потенциала в области общественного здравоохранения и ожиданием того, что они расширят знания о генетических, поведенческих и средовых детерминантах большинства заболеваний, поддержат разработку новых лекарственных средств и методов диагностики. Биобанкирование позволяет накапливать ценнейший биологический материал и проводить широкомасштабные популяционные исследования высокого качества.

Создание популяционных биобанков получило межсекторальную поддержку в развитых странах. Например, благодаря инициативе "All of Us", удалось создать крупнейшую биоресурсную коллекцию и изучить этнические особенности течения

социально-значимых заболеваний в когорте жителей США [1, 2].

В Российской Федерации отрасль диктует такую же задачу. За последние 5 лет предприняты значительные усилия по стимулированию развития биобанкирования, что привело к формированию биоресурсных коллекций в России, которые послужили основой для проведения крупных эпидемиологических исследований, в т.ч. популяционного уровня [3-8].

Успешное функционирование любого биобанка требует постоянного пополнения биоресурсных коллекций и возможности их быстрого формирования под цели исследований. По этой причине крайне важно изучать отношение населения и медицинских работников к биобанкам и факторы, влияющие на готовность респондентов становиться донорами и участвовать в сборе биологического материала. Изу-

чение этого вопроса позволит выявить региональные и национальные особенности для разработки оптимальной стратегии развития биобанков. В мире активно проводятся исследования на тему осведомленности о биобанкировании, доверия к научно-исследовательским институтам, готовности и мотивации общества жертвовать свои биообразцы, причины отказа от участия в биомедицинских исследованиях и биобанкировании, предпочтительного варианта информированного согласия, отношения к передаче в другие организации и страны биоматериала и связанных данных. Анализ публикаций базы данных Medline показал, что методология таких исследований преимущественно включала количественные опросы [9-16], также ряд исследований выполнен с применением качественных методов полуструктурированного или структурированного интервью [17-23] и методом фокус-группы [24-26].

Согласно результатам исследований, осведомленность широкой общественности о биобанках в разных странах значительно отличается, а отношение к биобанкированию зависит от культурных, религиозных, этнических, юридических факторов и доверия населения к медицинским работникам и научно-исследовательским институтам. Высокая осведомленность наблюдалась в североевропейских странах, включая Исландию (80%), Швецию (75%) и Норвегию (65%) [27]. В Китае среди преимущественно городских жителей с высшим образованием ($n=945$) 20,7% были знакомы с термином "биобанк" [10]. В исследовании 2014г, с участием молодых людей в России ($n=542$, средний возраст $19,5 \pm 2$), осведомленность о биобанках составила 21% [16]. Большинство пациентов в Марокко (97%) никогда ранее не слышали о биобанках ($n=1133$) [23].

Авторы демонстрируют, что обществу не хватает знаний о биобанкировании, однако многие респонденты заявляют о готовности жертвовать свой биоматериал для проведения научных исследований [12, 16, 23, 28]. В России выявлена высокая потенциальная готовность респондентов стать донорами биоматериала для исследовательских целей. Антонова Н. А. и др. (2022) провели качественное исследование с участием доноров клинического биобанка в Санкт-Петербурге ($n=13$) и выявили, что основными мотивами для пожертвований биоматериала в биобанк были просоциальная активность, желание помочь другим и внутреннее убеждение в необходимости участия в биомедицинских исследованиях для блага общества [21]. Большинство (74%) опрошенных российских студентов также заявили о готовности пожертвовать свой биоматериал в биобанк [16]. Однако теоретическая готовность не всегда соответствует реальной ситуации. В Финляндии, где общество показало потенциальную готовность пожертвовать биоматериал, исследователи столкнулись с проблемами при наборе до-

бровольцев при открытии первых биобанков [29]. Кроме того, недостаток знаний о биобанкировании может привести к отзыву согласия со стороны некоторых доноров. Например, некоторые бывшие доноры популяционного биобанка Нидерландов отзывали свое согласие на предоставление биологических образцов и персональных данных из-за опасений, что информация может использоваться для дискриминации определенных групп населения и не принесет пользы обществу [20].

На ранних этапах создания биобанков высокий уровень доверия к научным исследованиям способствует привлечению добровольцев для формирования биоресурсных коллекций. Однако со временем возникает риск искажения восприятия целей сбора биоматериала, и манипуляции общественным мнением. Анализ мнений лиц, отказавшихся жертвовать свой биоматериал в биобанк, показал, что основной причиной отказа является недоверие в сохранение конфиденциальности информации [20, 30]. Особенно людей беспокоят возможные изменения в тарифах медицинского страхования, основанные на научных исследованиях, связанных с генетической предрасположенностью к определенным заболеваниям [20, 30]. Также существует обеспокоенность относительно передачи персональных данных коммерческим организациям и их использования в коммерческих целях для извлечения прибыли [20, 30].

Необходимо отметить, что реакция общества и медицинских специалистов на концепцию биобанкирования может существенно различаться в зависимости от национального и регионального контекста. Это обусловлено многообразием культурных, социальных и этических ценностей. Например, в некоторых странах наблюдается негативное отношение общества к идее транспортировки их биообразцов в научные организации Европы и/или сотрудничество с фармакологическими компаниями [31-33]. Таким образом, в разработке стратегий развития биобанкирования необходимо учитывать региональные особенности и мнения различных культурных и социальных групп. Важно проводить широкие общественные дискуссии, включающие все заинтересованные стороны, чтобы учесть разнообразные этические, правовые и социокультурные аспекты, связанные с биобанкированием.

Цель настоящего исследования — оценить осведомленность о биобанкировании среди пациентов и медицинских работников в г. Томске, а также выявить факторы, влияющие на их готовность участвовать в биобанкировании и преаналитических работах.

Материал и методы

Исследование проведено на базе ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России в г. Томск. Было получено одо-

Таблица 1

Характеристика выборки исследования

	Врачи (n=11)	Пациенты (n=11)
Мужчины, n (%)	4 (36)	6 (55)
Женщины, n (%)	7 (64)	5 (45)
Возраст, лет (min-max)	27–52	19–65
Уровень образования, (%)	Высшее (100)	Высшее (45) Среднее-специальное (45) Неполное высшее (10)
Отрасль медицины/профессиональная сфера, чел.	Неврология (5) Эндокринология (1) Педиатрия (1) Пульмонология (1) Терапия (1) Хирургия (2)	Педагогика (1) Инженерия (1) Агрономия (1) Бухгалтерия (1) Кулинария (1) Студенты (2) Пенсионер (1) Специалист по рекламе (1) Рабочий персонал (2)
Опыт участия в клинических исследованиях, чел.	5	0

брение Этического комитета № 9235 от 23.09.2022г. Все участники дали добровольное информированное согласие на участие в исследовании. Подробнее с характеристиками информантов можно ознакомиться ниже (таблица 1).

Для достижения исследовательской цели проведено качественное исследование на основе метода полуструктурированного интервью с практикующими врачами (n=11) и пациентами (n=11) больниц города. Метод полуструктурированного интервью включал заполнение индивидуальной регистрационной карты с описанием демографических и анамнестических данных, и ответы на открытые вопросы, составленные авторами данного исследования в соответствии с его задачами. В качественном исследовании описывался опыт из практики врачей и жизни пациентов, который играет ключевую роль в определении отношения к биобанкированию и формировании у представителей обеих групп определенных паттернов восприятия этого процесса. С учетом использования метода насыщения данных, при котором участники интервьюируются до повторяющейся значимой информации, и получаемых качественных, а не количественных результатов, объем выборок расценивался как достаточный [34–38]. Полуструктурированное интервью проводилось в формате беседы по разработанному научным коллективом инструменту — гайду (перечню открытых вопросов), который включал вопросы про знания, мотивацию, опыт и сотрудничество с биобанками. Для каждой группы субъектов был отдельный гайд (таблица 2). Интервью проходили в формате один на один с предварительным согласованием места и времени с субъектами исследования, беседа записывалась на звукозаписывающее устройство. Аудиозапись проведенных интервью была транскрибирована для последующего анализа содержания. Анализ результатов исследования был основан на принципах теоретического синонимирования и лексического анализа. Данный метод заключался в сравнении текста на предмет схожих смысловых единиц, в результате чего были выделены тематические категории с описанием основных тезисов и примеров ответов информантов [37, 38]. Данные были категоризированы с учетом оцениваемых факторов, влияющих на

отношение к биобанкированию, что позволило осуществить аналитический этап исследования [37, 38].

Результаты

Опыт участия в клинических исследованиях

Среди участников исследования, все пациенты не имели опыта участия в клинических исследованиях. Врачи (n=5), имея подобный опыт, отметили ряд преимуществ:

1. Развитие коммуникативных навыков: *"Все понравилось, контакт с пациентами, освоение и лечение новыми методами, приобретение дополнительного опыта"* [2в];

2. Приобретение новых знакомств и связей: *"Опыт положительный, нравилось участвовать в различных исследованиях на разных кафедрах, интересен процесс, результат, воплощение задумок в жизнь"* [6в];

3. Возможность реализовывать научные идеи и быть участником создания нового: *"Нравилась идея того, что делаем большое дело, вдохновляло делать рутинную работу, набирать людей для большой выборки"* [9в].

Среди недостатков и ограничений врачи определяли большой объем бюрократической работы, недостаточное материальное обеспечение, отсутствие финансовой поддержки и недостаточную обратную связь от руководителей проектов. Важно отметить, что среди врачей, которые не имели опыта (n=6), были и те, кто делал попытки участия (n=2), однако их опыт оказался ограничен из-за проблем с коммуникацией на уровне "исполнитель — руководитель":

"Проблема с научным руководителем случилась, а позднее из-за бюрократии потерял интерес" [5в].

Также среди врачей был и желающий принять участие в исследованиях (n=1):

Гайды для проведения полуструктурированного интервью

Гайд для пациентов	Гайд для врачей
1. Скажите, пожалуйста, предлагали ли Вам когда-либо участие в клинических исследованиях? • Если да, и пациент согласился, спросить, почему согласился. • Если предлагали, а респондент не согласился, спросить, почему отказал.	1. Скажите, пожалуйста, принимали ли Вы когда-либо участие в клинических исследованиях в качестве исследователя? • Если да, расскажите о вашем опыте, что понравилось, а что нет. • Если предлагали, а респондент не согласился, спросить, почему отказал.
2. Вы когда-нибудь слышали о биобанке (хранилище биологических образцов, биорепопозитории)? • Если да, уточнить: *что именно Вы понимаете под биобанком? <i>После объяснения респондента следует дать уточнение:</i> "Таким образом, подытожим — в биобанках хранятся образцы биологического материала, такие как кровь, слюна и ткани человека. Они там хранятся длительное время в специальных условиях под зашифрованными номерами и могут быть использованы для научных исследований". • Если не слышал и не способен дать уточнение пояснить, что "В биобанках хранятся образцы биологического материала, такие как кровь, слюна и ткани человека. Они там хранятся длительное время в специальных условиях под зашифрованными номерами и могут быть использованы для научных исследований".	2. Вы когда-нибудь слышали о биобанке (хранилище биологических образцов, биорепопозитории)? • Если да, уточнить: *что именно Вы понимаете под биобанком? *где Вы получили информацию? <i>После объяснения респондента следует дать уточнение:</i> "Таким образом, подытожим — в биобанках хранятся образцы биологического материала, такие как кровь, слюна и ткани человека. Они там хранятся длительное время в специальных условиях под зашифрованными номерами и могут быть использованы для научных исследований". • Если не слышал и не способен дать уточнение пояснить, что "В биобанках хранятся образцы биологического материала, такие как кровь, слюна и ткани человека. Они там хранятся длительное время в специальных условиях под зашифрованными номерами и могут быть использованы для научных исследований".
3. Готовы ли Вы предоставить образцы для хранения в биобанке? • Расскажите, пожалуйста, почему (готов и не готов)?	3. Был ли у Вас опыт сотрудничества с биобанком? Если да, попросить рассказать: • что понравилось? • что не понравилось?
4. Какой именно материал Вы не готовы пожертвовать в биобанк? (уточнить, готовы ли пожертвовать кровь/мочу/кал/СМЖ/половые клетки, готовы ли сделать биопсию органов для научных целей).	4. Как Вы понимаете роль биобанков в биомедицинских исследованиях?
5. Как бы вы отнеслись, если бы Вам предложили денежное или другое вознаграждение, например, скидку на какое-нибудь исследование или анализ? • Если не готов предоставлять материал, перейти к 9-му вопросу.	5. Готовы ли Вы участвовать в сборе биообразцов пациентов для передачи их в биобанк?
6. Хотели бы Вы знать, кто проводит исследование, какова его цель, кто будет иметь доступ к результатам, где и как образцы будут храниться ваши образцы?	6. Какой биоматериал Вы были бы готовы собирать? (если затрудняется, перечислить кровь/моча/кал/СМЖ/тканевые образцы/половые клетки...)
7. Готовы ли Вы отдельно прийти в биобанк для сдачи материала или готовы это сделать только попутно во время визита в больницу, когда получаете медицинскую помощь?	7. Если Вам предложили бы участвовать на этапе сбора, то что было бы для Вас мотивирующим фактором?
8. Представьте себе такую ситуацию: Вы пожертвовали, скажем, кровь в биобанк для длительного хранения и использования в научных целях. Ваша кровь может понадобиться ученым для проведения нескольких исследований в разное время. Хотели бы, чтобы у Вас спрашивали разрешение каждый раз, когда Ваш материал необходим для исследования или достаточно одного раза, перед тем как Вы жертвуете вашу кровь в биобанк?	8. Какую бы Вы хотели узнать дополнительную информацию о биобанках в России и в мире? (Например, цели исследования, виды исследований, как можно присоединиться)
9. Есть ли у Вас субъекты, находящиеся на иждивении? (несовершеннолетние дети, недееспособные взрослые).	
10. Готовы ли Вы принять за них решение о пожертвовании биоматериала? Расскажите, почему готовы/не готовы?	
11. Какие Вы видите преимущества для медицины в создании биобанков? (если затрудняется ответить: Как считаете, есть ли польза в создании и развитии биобанков?)	
12. Что у Вас вызывает опасения в сотрудничестве с биобанками?	
13. Какую бы Вы хотели узнать дополнительную информацию о биобанках в России и в мире? (Например, цели исследования, виды исследований, как можно присоединиться)	

"Я — практик, если предложили исследование какого-то стоящего препарата, то да, поучаствовала бы" [1в].

Опыт совместной работы с биобанками имели три врача. Они отметили продуманную организацию биобанка СибГМУ и возможность осуществлять различные проекты совместно с другими исследователями:

"Хорошо, что есть четкая система, где все хранится без личных данных пациентов, с помощью зашифрованных данных, ты можешь в любой момент туда обратиться, использовать как хранилище своего материала, и если у тебя есть научная идея, то воспользоваться готовыми коллекциями для реализации своих идей, это очень полезно, из минусов четкие часы работы, не всегда возможно туда попасть" [3в];

"У нас был опыт участия с командой из других городов, с привлечением разных узкопрофильных специалистов и оборудованием для анализа, которого у нас пока нет" [11в].

Биобанк: понятие, задачи, функции

В ходе индивидуальной беседы выявлено, что пациенты (n=5) и врачи (n=3) не слышали о биобанках, однако все врачи правильно определили задачи и функции биобанков, в то время как шесть пациентов не смогли даже предположить, в чем заключается их деятельность, и оставили этот вопрос без ответа. Среди ответов пациентов можно увидеть, что интуитивно они правильно определяли понятие биобанков:

"Понимаю, как хранилище биологических образцов, в которых какие-то биологические материалы хранятся, какие-то данные содержатся" [1п];

"Это место, где содержатся биоматериалы, чтобы потом их использовать, точно сказать не могу зачем, например, использовать для лечения" [4п].

Однако среди ответов также встречались искаженные смыслы, например, информанты ассоциировали биобанки как посредника между донором и реципиентом, а также путали с центрами репродуктивных технологий:

"Слышала, что это касается сложных заболеваний, для которых нужны органы, для которых нужны пересадки костного мозга, эти банки плохо развиты и развивать их очень важно" [9п];

"Собирать и хранить, а потом использовать при процедурах, таких как оплодотворение" [11п].

Врачи охарактеризовали биобанк как:

"Место, где хранятся биологические материалы разного характера: кала, мочи, разные ткани и клетки, которые там хранятся и замораживаются. В общем, создаются коллекции биоматериалов, которые можно в дальнейшем исследовать, прорабатывать исследовательские модели без набора новых групп пациентов" [3в].

"Хранилище стандартизированного биологического материала людей или животных, распределенного по определенным критериям, которые могут быть использованы для различных исследований" [9в].

Готовность предоставлять и собирать биоматериал

Пациенты в большинстве случаев (n=8) были готовы предоставить свои биообразцы, преследуя альтруистические цели: "Полезно в научных целях" [1п], "Не против, потому что для науки, для людей, в будущем им может это помочь" [7п], а также для того, чтобы быть сопричастными новому: "Из собственного интереса, что ты сделал что-то такое" [4п]. Пациенты противоположных взглядов (n=2) аргументировали свою позицию нежеланием участвовать в виду отсутствия интереса:

"Не знаю, как объяснить, наверное, нет, ну зачем это, пусть она (кровь — примечание авторов) лучше со мной будет, отказалась бы, пускай у других берут" [3п].

Узнавая, какие типы биообразцов сдаются в биобанк и используются для исследований, пациенты охотно соглашались (n=8) предоставить слюну, мочу, кал и кровь:

"Для научных целей все можно, благородная цель" [4п].

Однако участники с опасением (n=7) относились к сбору спинномозговой жидкости (СМЖ), тканей и половых клеток, причем риски связывали с возникновением нежелательных явлений во время процедуры и после ее проведения:

"Думаю, готов пожертвовать любой материал, если меня это не убьет и не сделает инвалидом" [1п];

"СМЖ — нет, боюсь, половые клетки не знаю, как берутся, но, наверное, это неприятно, нет, биопсию — нет, малоинвазивное — да" [5п];

"Мочу, кал, кровь сдала бы, везде же сдаем, органы бы не хотелось, пункцию СМЖ могла бы сдать, половые клетки — не знаю, органы все же нужны для чего-то, с годами теряют функцию, поэтому ничего хорошего — отщипывать что-то лишнее" [6п];

"Кровь, моча, конечно, СМЖ — процедура довольно болезненная, подумал бы, биопсия органов — если это не больно, половые — без проблем" [7п];

"Все бы сдал, биопсию не знаю, может и да. При сдаче СМЖ боюсь, что, если неправильно возьмут, можно остаться калеккой" [8п];

"При жизни, что не вредит здоровью, а после смерти даже мозг" [9п].

Медицинские работники (n=9) готовы собирать биоматериалы, если соблюдены формальные требования: "Да, если есть обоснование и протокол" [2в], в рамках своих проектов и для помощи коллегам: "Если я беру у пациента кровь для своего исследования, и, если кому-то еще нужна эта кровь, лишнюю пробирку взять не сложно" [4в], при создании дополнительных условий: отдельно выделенного времени и помещения, а также при сопутствующей работе с населением инициаторов исследования:

"В рамках научного исследования — о'кей. Если я в роли врача — в теории звучит классно, т.к. разбавит ежедневную рутину. Но возник вопрос, будет ли уклады-

ваться в рамки приема. Но, возможно, можно выделить 1-2 дня в нед. специальных. Или разработать какой-то скрипт с готовыми ответами на вопросы пациентов, памятки, чтобы читали, пока сидят в очереди. Могла бы и бесплатно в таком участвовать" [9в].

Готовность собирать биоматериалы зависит от степени инвазивности процедуры и имеющейся квалификации сотрудника ее выполнить в большинстве случаев (n=7) врачи готовы осуществлять сбор:

"Биопсия — не ко мне, наверное. Да — кровь, моча, фекалии. СМЖ — если и так проводится пункция, взять лишнюю пробирку для биобанка. Отдельно — нет" [1в];

"Кровь, части органов, с учетом моей хирургической работы можно было бы брать пунктаты, гистологические материалы" [4в];

"Все, что разрешено: кровь, слюна, биопсия, инцизионные материалы" [5в].

При этом сотрудники (1) выразили низкую готовность или неготовность сбора биоматериала, связанного с процедурами, которые не относятся к общеклиническим, в т.ч. и инвазивным:

"Те материалы, которые и так сдаются (кровь, моча) попутно набирать и для биобанка готов, более "сложные" материалы — например, сперма, биопсийный материал — скорее нет" [9в].

Это может быть связано как с риском нежелательных явлений, так и со сложностью в коммуникации с пациентами для получения согласия на процедуру. Врачи, которые не готовы принимать участие в сборе биоматериалов (n=2), аргументировали это высокой занятостью и отсутствием личного интереса в данной теме.

Мотивы и стимулы участия в биобанкировании

Вклад в научные исследования и будущее, забота о здоровье являются ключевыми мотивами для пациентов сотрудничать с биобанками, т.к. многие люди видят в сдаче биоматериала для биобанков возможность внести свой вклад в научные исследования и помочь развитию медицины. Другим пациентам важно знать, что их биоматериалы будут использоваться для разработки новых методов диагностики и лечения заболеваний, что может помочь им и их близким в будущем. Некоторые люди сдают биоматериалы для биобанков с целью обеспечить лучшее будущее своих детей и внуков, осознавая, что в дальнейшем может понадобиться доступ к этим материалам в рамках медицинского лечения, хотя это не связано напрямую с исследовательскими биобанками. При этом стимулами для группы пациентов могут быть материальные факторы и общественное признание их роли в получении нового научного знания:

1. Компенсации (материальные возмещения) за предоставленный образец: "Кровь можно просто, все, что более важное — за деньги, деньги никогда не лишние" [2п];

2. Скидки при обращении за платной медицинской помощью в дальнейшем и бесплатная диа-

гностика состояния здоровья проведение состояний здоровья: "Было бы интересно получать бонусы на будущее, которые можно использовать самому или родственникам" [11п];

3. Упоминание в научных работах по результатам исследования или получение сведений об исследованиях, в которых использовались образцы: "Вознаграждение не важно, важно, как на здоровье повлияет, а также интересно, какие результаты получены, какие выводы сделаны" [6п].

Мотивами для врачей являются разработка новых методов лечения, повышение квалификации, помощь в научной работе. Многие врачи считают, что биобанки могут стать важным инструментом в разработке новых методов диагностики и лечения заболеваний, что может повысить их приверженность к работе с биобанками. Работа с биобанками может быть полезной для врачей, давая им возможность изучать новейшие методы анализа биоматериалов и развивать свои профессиональные навыки. Несмотря на понимание врачами всех преимуществ работы с биобанками и ее пользы для пациентов, медицинской науки, а также включая их профессиональные возможности, стимулирующим фактором для этой исследовательской группы является материальное поощрение: финансовое вознаграждение, отдельное премирование:

"Этот труд должен быть оплачиваемым, это отдельная работа, это, конечно, хорошо и важно для медицины, но оплачиваться тоже должно" [1в];

"Финансирование было бы очень даже мотивирующим фактором, потому что, начав на энтузиазме, он может закончиться. Поэтому спонсирование — полезно, еще было бы хорошо участвовать в исследованиях и написании статей по результатам, если были бы гранты, поддерживающие проект, это тоже мотивирует" [3в];

"Включение в авторский состав работы, материальное вознаграждение" [5в].

При этом среди дополнительных условий, влияющих на мотивацию участия медицинских сотрудников, были выделены помощь среднего медицинского персонала и дополнительных мест и времени для проведения процедуры.

Таким образом, роль биобанков в биомедицинских исследованиях врачами определялась как:

1. Возможность реализовывать новые исследовательские задачи и инициативы: "Они нужны для того, чтобы у нас постоянно был доступ к материалам для исследований и не приходилось каждый раз набирать заново, одну когорту можно исследовать несколько раз" [3в];

2. Возможность прецизионно подходить к разным отраслям медицинского знания: "С какой-то целью на будущее, например, женщина не может забеременеть, может отложить свою яйцеклетку на потом, для исследований — потом посмотреть интересные показатели" [2в];

3. Возможность проводить многоцентровые исследования для сбора биоресурсной коллекции: *"Есть будущее за этим, я думаю тоже, можно будет ускорить процесс и повысить качество исследований, увеличить выборку"* [1в];

4. Возможность использовать высокотехнологичные методы на этапах транспортировки, пробоподготовки и хранения и дальнейшего распространения: *"Длительное хранение и предоставление какого-либо материала, или если исследование масштабное, хранение и передача биоматериалов"* [4в];

5. Возможность обеспечить преемственность исследовательской деятельности в случае прекращения работы одной исследовательской группы/участника и передаче материалов другим исполнителям: *"Положительная роль, если по ходу исследования собрали образцы, а оно заглохло, или кто-то делает похожее исследование, это было бы хорошо для науки"* [6в];

6. Возможность апробации новых методов и проведение сравнительного анализа с уже проведенными ранее аналитическими методиками: *"Сохранение биоматериалов для дальнейшего забора и исследования, если появятся новые методы исследования. Думаю, это полезно, чтобы можно было достать из архивов материал, если что-то не получилось"* [7в];

7. Распределение ресурсного планирования за счет выделения отдельного преаналитического этапа: *"Важная, пока сложно сказать, какие перспективы, но хорошо, что можно собирать"* [8в];

8. Возможность осуществлять поддержку в коммуникации между врачами и пациентами или добровольцами, а также осуществлять просветительскую деятельность с населением: *"Возможность выстроить помощь людям в рамках научных знаний, есть много нерешенных вопросов в медицине, хочется помочь пациентам, для которых пока нет лечения, и, если рутинная работа поможет продвинуться ближе, это вдохновляет"* [9в].

Обсуждение

В ходе исследования выявлен ряд положительных мнений о сотрудничестве с биобанками, как среди пациентов, так и медицинских работников, среди которых осознание важности сохранения биоматериалов для научных исследований, готовность сотрудничать с биобанками, уверенность в надежности и эффективности работы. Несмотря на то, что биобанки являются важным исследовательским ресурсом для различных областей медицины, некоторые пациенты и врачи высказывали негативно-нейтральное мнение о работе с этими структурами. В основном, такие мнения связаны с незнанием целей и задач, которые ставятся перед ассоциациями биобанков или отдельными научно-исследовательскими проектами, так и с опасениями, связанными с нежелательными явлениями процедур забора биологических образцов. Например, Singh S, et al. (2023), проводившие опрос

среди врачей, исследователей и аспирантов в области биобанкирования в Южной Африке (n=25), выявили общую атмосферу недоверия к биобанкам, которая сформировалась вследствие низкого уровня осведомленности [17].

Пациенты интуитивно верно формулировали основные виды деятельности биобанков, однако многие подчеркивали неуверенность в собственном мнении и нехватку знаний о целях и задачах биобанков. Некоторые пациенты путали исследовательские биобанки с центрами донорства крови и репродуктивных технологий. В целом, можно сказать, что пациенты не понимали, какие биологические образцы у них могут запрашиваться и для каких целей в дальнейшем использоваться. В связи с этим в релевантной литературе все чаще поднимается вопрос важности активного сотрудничества между представителями научного сообщества и потенциальными донорами биоматериала [20, 30]. Это необходимо для создания и поддержания вовлеченности населения в "научное" донорство, т.к. в противном случае становится высоким риск отзыва согласия из-за потери интереса или возникших опасений. Так, Luthuli M, et al. (2022) провели качественное исследование методом полуструктурированного интервью среди доноров биобанков Южной Африки (n=30) и выявили, что уже через 7 мес. после проведения подробной консультации и получения информированного согласия доноры забывают о целях отбора биоматериала [19].

Мотивирующими и стимулирующими факторами донорства биоматериалов в биобанки для пациентов являлись: повышение осведомленности о новейших методах исследований, содействие развитию науки и медицины, а также упоминание их роли в научных публикациях и общественное признание. Похожие результаты получили Broekstra R, et al. (2020), которые провели опрос как среди доноров биобанков Нидерландов, так и людей, отказавшихся жертвовать свой биоматериал и передавать персональные данные (n=36). Авторы заключили, что донорство было мотивировано желанием помочь другим людям и возможностью сделать свой вклад в развитие науки [20].

Врачи ожидают от руководителей биобанков и инициаторов исследований более тщательной работы по просвещению широкой общественности и членов медицинского сообщества о том, какие именно исследования будут проводиться на собранных образцах, и как они могут быть полезны для науки. Sedig LK, et al. (2022) провели опрос в фокус-группах (n=30) и заключили, что руководителям биобанков и исследователям хотелось бы иметь доступ к открытому ресурсу, например, веб-сайту, на котором бы были перечислены общие цели текущих и предыдущих исследовательских проектов биобанков, их значимость для науки

и общества. Большинство опрошенных высказывали мнение, что им необходимо определенное время для принятия решения о донорстве биоматериала и возможность подробно ознакомиться с информацией об исследованиях в комфортной, безопасной обстановке [24]. Мотивирующими и стимулирующими факторами участия в биобанкировании для врачей являлись: получение дополнительной поддержки в организации и проведении исследований, академическое признание и поощрение (карьерный рост, награды, приглашения на конференции, упоминание в публикациях по результатам работ), повышение квалификации, гранты и научные проекты, участие в научных стажировках и программах обмена. Важным стимулом также являлось получение материального вознаграждения за работу.

Пациенты и врачи смогли сформулировать положения в отношении пользы сбора и хранения данных в биобанках для медицинских и научных исследований. Обе категории опрошенных выражали опасения по поводу того, что собранные образцы могут быть использованы без их согласия, что нарушает права на конфиденциальность и личную свободу. Данная проблема стоит наиболее остро в развитых странах, которые имеют уже достаточный опыт работы с донорами и биоресурсными коллекциями [20, 30]. Так, доноры биобанка Шотландии рассматривали модель повторного согласия как одну из важных гарантий и способ демонстрации уважения к ценностям и предпочтениям доноров [39]. Кроме того, некоторые пациенты боялись, что биоматериалы могут быть использованы в коммерческих целях, что также, по их мнению, противоречит этическим нормам. По данным литературы, в некоторых Азиатских странах общество крайне негативно реагировало на вероятность транспортировки пожертвованных биообразцов в научные

организации Европейских стран [31]. Из-за этих опасений пациенты и врачи могут отказаться от участия в сборе биообразцов, что может привести к снижению объема данных и, следовательно, к возможному снижению их ценности для научных и медицинских исследований. В этом случае необходимо проводить работу по повышению уверенности пациентов и врачей в безопасности и строгом соблюдении требований Этических комитетов в работе биобанков, а также разрабатывать и реализовывать политики, нацеленные на защиту конфиденциальности и уважение к правам людей в отношении сбора и использования их биологических и личных данных.

Заключение

Таким образом, типология ответов респондентов позволяет выявить ключевые факторы, влияющие на мотивацию и опыт сотрудничества с биобанками среди медицинских работников и пациентов. В ходе исследования были выявлены установки информантов обеих групп, включающие в себя имеющиеся представления (когнитивные установки), эмоциональные состояния (аффективные установки) и действия (поведенческие установки), которые можно применить на большой выборке с целью дальнейшего изучения вопросов доверия и готовности сотрудничать с биобанками, подтверждая актуальные запросы уже количественными данными. Результаты исследования могут использоваться для улучшения работы биобанков, повышения качества и использования биоматериалов в научных целях.

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

Литература/References

1. Yu J, Sullivan BG, Senthil GN, et al. Prevalence of Primary Liver Cancer is Affected by Place of Birth in Hispanic People Residing in the United States: All of Us Research Program Report. *American Surg.* 2022;2565-71. doi:10.1177/00031348221109465.
2. Nagar SD, Pemu P, Qian J, et al. Investigation of hypertension and type 2 diabetes as risk factors for dementia in the All of Us cohort. *Sci Rep.* 2022;19797. doi:10.1038/s41598-022-23353-z.
3. Zhabagin MK, Damba LD, Korotkova NA, et al. Analysis of Clan Structure of Tuvans by Y-Chromosome Markers. *Russian J. of Genetics.* 2020;56(6):732-8. (In Russ.) Жабагин М.К., Дамба Л.Д., Короткова Н.А. и др. Анализ родоплеменной структуры тувинцев по маркерам Y-хромосомы. *Генетика.* 2020;56(6):732-8. doi:10.31857/S0016675820060132.
4. Kozlov AI, Balanovsky OP, Vershubskaya GG, et al. Genetically determined trehalase deficiency in various population groups of Russia and neighboring countries. *Vopr Pitan.* 2021;90:96-103. (In Russ.) Козлов А.И., Балановский О.П., Вершубская Г.Г. и др. Генетически детерминированная недостаточность трегалазы в различных группах населения России и сопредельных стран. *Вопросы Питания.* 2021;90:96-103. doi:10.33029/0042-8833-2021-90-5-96-103.
5. 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 Российского Государственного Медицинского Университета.* 2022;5:31-40. doi:10.24075/vrgmu.2022.047.
6. Drapkina OM, Shalnova SA, Imaeva AE, et al. Epidemiology of Cardiovascular Diseases in Regions of Russian Federation. Third survey (ESSE-RF-3). Rationale and study design. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2022;21(5):3246. (In Russ.) Драпкина О.М., Шальнова С.А., Имаева А.Э. и др. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и их факторов риска в регионах Российской Федерации. Третье исследование (ЭССЕ-РФ-3). Обоснование и дизайн исследования. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2022;21(5):3246. doi:10.15829/1728-8800-2022-3246.
7. Maksimov SA, Shalnova SA, Muromceva GA, et al. Menopause and Hyperuricemia in Women in the Russian Population (Results of the ESSE-RF Study). *Annals of the Russian Academy of Me-*

- dical Sciences. 2021;449-57. (In Russ.) Максимов С. А., Шальнова С. А., Муромцева Г. А. и др. Менопауза и гиперурикемия у женщин в российской популяции (результаты исследования ЭССЕ-РФ). Вестник Российской Академии Медицинских Наук. 2021;449-57. doi:10.15690/vramn1455.
8. Kurilova OV, Klimushina MV, Kiseleva AV, et al. Carrier frequency of heterozygous phenylketonuria mutations in the population-based cohort study (ESSE-VOLOGDA). Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2021;38-45. (In Russ.) Курилова О. В., Климущина М. В., Киселева А. В. и др. Частота гетерозиготного носительства вариантов нуклеотидной последовательности гена PAH, ассоциированных с развитием фенилкетонурии, в популяционном исследовании ЭССЕ-Вологда. Молекулярная Генетика, Микробиология и Вирусология. 2021;38-45. doi:10.17116/molgen20213902138.
9. Neidich AB, Joseph JW, Ober C, et al. Empirical data about women's attitudes towards a hypothetical pediatric biobank. Am J Med Genetics. Part A. 2008;297-304. doi:10.1002/ajmg.a.32145.
10. Gao Z, Huang Y, Yao F, et al. Public awareness and attitudes toward biobank and sample donation: A regional Chinese survey. Front Public Health. 2022;1025775. doi:10.3389/fpubh.2022.1025775.
11. Mezinska S, Kaleja J, Mileiko I, et al. Public awareness of and attitudes towards research biobanks in Latvia. BMC Med Ethics. 2020;65. doi:10.1186/s12910-020-00506-1.
12. Bossert S, Kahrass H, Strech D. The Public's Awareness of and Attitude Toward Research Biobanks — A Regional German Survey. Front Genet. 2018;190. doi:10.3389/fgene.2018.00190.
13. Ahram M, Abdelgawad F, ElHafeez SA, et al. Perceptions, attitudes, and willingness of the public in low- and middle-income countries of the Arab region to participate in biobank research. BMC Med Ethics. 2022;122. doi:10.1186/s12910-022-00855-z.
14. Mwaka E, Horn L. Researchers' perspectives on informed consent and ethical review of biobank research in south africa: a cross-sectional study. JERHRE. 2019;307-17. doi:10.1177/1556264619866991.
15. De Vries RG, Tomlinson T, Kim HM, et al. The moral concerns of biobank donors: the effect of non-welfare interests on willingness to donate. Life Sci Soc Policy. 2016;3. doi:10.1186/s40504-016-0036-4.
16. Tsvetkova LA, Eritsyen KY, Antonova NA. Russian students' awareness of and attitudes toward donating to biobanks. Psychol Russ.: State Art. 2016;30-8. doi:10.11621/psr.2016.0203.
17. Singh S, Cadigan RJ, Moodley K. Research-related stakeholders' perspectives on sociocultural considerations in biobanking practice in South Africa. Biopreserv Biobank. 2023;81-9. doi:10.1089/bio.2021.0149.
18. Singh S, Moodley K. Stakeholder perspectives on the ethico-legal dimensions of biobanking in South Africa. BMC Med Ethics. 2021;84. doi:10.1186/s12910-021-00645-z.
19. Luthuli M, Ngwenya N, Gumede D, et al. Participant recall and understandings of information on biobanking and future genomic research: experiences from a multi-disease community-based health screening and biobank platform in rural South Africa. BMC Medical Ethics. 2022;43. doi:10.1186/s12910-022-00782-z.
20. Broekstra R, Maecelberghe ELM, Aris-Meijer JL, et al. Motives of contributing personal data for health research: (non-) participation in a Dutch biobank. BMC Med Ethics. 2020;62. doi:10.1186/s12910-020-00504-3.
21. Antonova N, Eritsyen K. It is not a big deal: a qualitative study of clinical biobank donation experience and motives. BMC Med Ethics. 2022;7. doi:10.1186/s12910-022-00743-6.
22. Abdelhafiz AS, Sultan EA, Ziady HH, et al. What Egyptians think. Knowledge, attitude, and opinions of Egyptian patients towards biobanking issues. BMC Med Ethics. 2019;57. doi:10.1186/s12910-019-0394-6.
23. Lhousni S, Boulouiz R, Abda N, et al. Assessment of knowledge, attitudes and support of health professionals towards biobanks in eastern Morocco. Open J Epidemiol. 2019;191-201. doi:10.4236/ojepi.2019.93016.
24. Sedig LK, De Loney EH, Bailey SB, et al. Perspectives from a predominantly african american community about biobank research and a biobank consent form. Ethics amp; hum res. 2022;26-33. doi:10.1002/eahr.500134.
25. Raivola V, Snell K, Helén I, et al. Attitudes of blood donors to their sample and data donation for biobanking. Eur J Human Genetics: EJHG. 2019;1659-67. doi:10.1038/s41431-019-0434-1.
26. Savich RD, Tigges BB, Rios LI, et al. Willingness of women to participate in obstetrical and pediatric research involving biobanks. J Community Genet. 2020;215-23. doi:10.1007/s12687-019-00446-3.
27. Gaskell G, Gottweis H, Starkbaum J, et al. Publics and biobanks: Pan-European diversity and the challenge of responsible innovation. Eur J Hum Genet. 2013;14-20. doi:10.1038/ejhg.2012.104.
28. Domaradzki J, Pawlikowski J. Public attitudes toward biobanking of human biological material for research purposes: a literature review. Int J Environ Res Public Health. 2019;2209. doi:10.3390/ijerph16122209.
29. Snell K, Tarkkala H. Questioning the rhetoric of a "willing population" in Finnish biobanking. Life Sci Soc Policy. 2019;4. doi:10.1186/s40504-019-0094-5.
30. Porteri C, Pasqualetti P, Togni E, et al. Public's attitudes on participation in a biobank for research: an Italian survey. BMC Med Ethics. 2014;81. doi:10.1186/1472-6939-15-81.
31. Abou-Zeid A, Silverman H, Shehata M, et al. Collection, storage and use of blood samples for future research: views of Egyptian patients expressed in a cross-sectional survey. J Med Ethics. 2010;539-47. doi:10.1136/jme.2009.033100.
32. Abdelhafiz AS, Sultan EA, Ziady HH, et al. Knowledge, perceptions and attitude of Egyptian physicians towards biobanking issues. PloS One. 2021;e0248401. doi:10.1371/journal.pone.0248401.
33. Staunton C, Moodley K. Data mining and biological sample exportation from South Africa: A new wave of bioexploitation under the guise of clinical care? S Afr Med J = Suid-Afrikaanse Tydskrif Vir Geneeskunde. 2016;136-8. doi:10.7196/SAMJ.2016.v106i2.10248.
34. Bloor M, Wood F. Keywords in qualitative methods. SAGE Publications Ltd, 2006. p. 208. ISBN: 9780761943303. doi:10.4135/9781849209403.
35. Yasmin F, Ali L, Banu B, et al. Understanding patients' experience living with diabetes type 2 and effective disease management: a qualitative study following a mobile health intervention in Bangladesh. BMC Health Serv Res. 2020;20(1):29. doi:10.1186/s12913-019-4811-9.
36. Yong ASJ, Cheong MWL, Hamzah E, et al. A qualitative study of lived experiences and needs of advanced cancer patients in Malaysia: Gaps and steps forward. Qual Life Res. 2023;32(8):2391-402. doi:10.1007/s11136-023-03401-5.
37. Henriksson A, Moen H, Skeppstedt M, et al. Synonym extraction and abbreviation expansion with ensembles of semantic spaces. J Biomed Semantics. 2014;5(1):6. doi:10.1186/2041-1480-5-6.
38. Liu K, Hogan WR, Crowley RS. Natural Language Processing methods and systems for biomedical ontology learning. J Biomed Inform. 2011;44(1):163-79. doi:10.1016/j.jbi.2010.07.006.
39. Dixon-Woods M, Kocman D, Brewster L, et al. A qualitative study of participants' views on re-consent in a longitudinal biobank. BMC Med Ethics. 2017;18(1):22. doi:10.1186/s12910-017-0182-0.

Мнение эксперта о статье "Оценка осведомленности о биобанкировании среди пациентов и врачей: опыт Томской области"

Ершова А. И.

ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России.
Москва, Россия

Отношения и деятельность: нет.

Поступила 02/11-2023

Принята к публикации 02/11-2023



Для цитирования: Ершова А. И. Мнение эксперта о статье "Оценка осведомленности о биобанкировании среди пациентов и врачей: опыт Томской области" *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2023;22(11):3843. doi:10.15829/1728-8800-2023-3843. EDN LXOVEF

Expert opinion on the article "Assessment of awareness of biobanking among patients and doctors: experience of the Tomsk Oblast"

Ershova A. I.

National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow, Russia

Relationships and Activities: none.

Ershova A. I. ORCID: 0000-0001-7989-0760.

Corresponding author: alersh@mail.ru

Received: 02/11-2023

Accepted: 02/11-2023

For citation: Ershova A. I. Expert opinion on the article "Assessment of awareness of biobanking among patients and doctors: experience of the Tomsk Oblast". *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2023;22(11):3843. doi:10.15829/1728-8800-2023-3843. EDN LXOVEF

Биобанкирование — важный научный ресурс, который во многом определяет развитие современной медицинской науки. Поскольку биобанки предполагают сбор и хранение биообразцов, а также дополнительных личных данных, вовлеченность общественности имеет большое значение для их прогресса, однако различные факторы ограничивают ее участие. Так, уровень осведомленности о биобанках и донорстве образцов не поспевает за строительством биобанков, при этом общественное доверие имеет важное значение для стимулирования участия граждан в биобанкировании [1]. Изучение осведомленности населения о биобанках и их отношения к биобанкированию — актуальная задача, способствующая повышению эффективности биобанкирования.

В работе Каменских Е. М. и др. осуществлена попытка проанализировать осведомленность о биобанкировании среди пациентов и медицинских работников в г. Томске, а также выявить факторы, влияющие на готовность респондентов участвовать в биобанкировании и проведении преаналитических работ. Актуальность работы сомнения не вызывает, однако возникают вопросы по методологии исследования, а именно по методу полуструктурированного интервью, который имеет ряд ограничений сам по себе, а также требует очень строгого соблюдения правил при его проведении.

Метод полуструктурированного интервью действительно используется в научной среде, в т.ч. для изучения отношения к биобанкированию. Преимуществом такого подхода является отсутствие

Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: alersh@mail.ru

[Ершова А. И. — д.м.н., руководитель лаборатории клиномики, зам. директора по фундаментальной науке, ORCID: 0000-0001-7989-0760].

ограничений по высказыванию мнения. Однако у данного метода имеется ряд недостатков, к которым относятся нерепрезентативность исследуемых выборок и низкая воспроизводимость получаемых результатов. Исследования с применением полуструктурированного интервью имеют высокий риск смещения результатов ввиду открытого характера интервью и гибкости его проведения [2].

Работа Каменских Е. М. и др. наглядно отражает ограничения применения метода полуструктурированного интервью в научной практике. Неясно, каким образом формировали группы участников исследования: как врачей, так и пациентов. Остаются открытыми следующие вопросы: кому и по каким критериям предлагали участие в интервьюировании, сколько человек отказалось от интервьюирования. Более того, отсутствие четких критериев включения в исследование и крайняя малочисленность групп исследования (11 врачей и 11 пациентов) не позволяют экстраполировать данные на всю Томскую область, как это представлено в работе.

Обращает на себя внимание и разнородность участников исследования. Неоднородным было знание о биобанке до участия в интервью. Часть врачей и большинство пациентов узнали о существовании биобанков только при интервьюировании. Более половины врачей ранее не принимали участия в клинических исследованиях. Интервьюированные пациенты имели разный уровень образования, разную профессиональную сферу деятельности, их возраст варьировал от 19 до 65 лет, а, следовательно, они имели разный накопленный багаж знаний. При анализе литературы обращает на себя внимание тот факт, что исследования осведомленности или отношения к биобанкированию с применением метода полуструктурированного интервью обычно проводят среди определенных групп лиц, которых объединяет либо сфера профессиональной деятельности [3], либо, например, готовность быть донором [4].

Имеются замечания к точности формулирования вопросов в гайде. Действительно ли пациенты понимали, о чем их спрашивали? Если пациент только что узнал о существовании биобанков, как он может ответить на вопрос "Как Вы понимаете роль биобанков в биомедицинских исследованиях?". Скорее всего, в процессе интервью требовалось давать дополнительную информацию и очень сильно отступать от исходного плана, что тоже указывает на смещение полученных данных.

В работе Каменских Е. М. не указано, кто именно (с каким профессиональным базисом) и сколько человек проводили интервью, какой опыт у них в проведении данного типа интервью. Вышеперечисленное ставит под сомнение единообразие проведения опроса, а, следовательно, также указывает на возможное смещение полученных результатов.

Одним из примеров разнородности данных, получаемых, в исследованиях с применением интервью, служит сопоставление результатов российского исследования Antonova N, Eritsyayn K (2022), в котором с использованием полуструктурированного интервью анализировалось отношение к биобанкированию 13 доноров биобанка и 3 медицинских работников, занимающихся набором доноров для клинического биобанка, показали, что в отличие от пациентов во многих странах Запада доноры клинического биобанка в России не выражают негативного отношения к биобанкированию и практически не беспокоятся о хранении своих биоматериалов. Основным мотиваторами пожертвования биоматериала были просоциальные установки [4]. Полученному выводу противоречат результаты биобанкирования в стационаре ФГБУ "НМИЦ ТПМ", когда при попытке создать сплошную выборку госпитализированных в стационар пациентов, удалось забиобанкировать биообразцы только 74,2% пациентов [5]. Одной из причин отсутствия 100%-биобанкирования стационарных пациентов стал их отказ. Работа Каменских Е. М. и соавт. продемонстрировала как сходные с выявленными в работе Antonova N, Eritsyayn K (2022) мотивирующие к биобанкированию факторы (вклад в научное развитие и потенциальную ценность для потомков доноров), так и другие, противоречащие альтруизму стимулы: материальное вознаграждение и общественное признание.

Авторы не приводят ограничения опубликованного исследования, при этом делают выводы о том, что выявлены ключевые факторы, влияющие на мотивацию и опыт сотрудничества с биобанками среди медицинских работников и пациентов. В действительности результаты работы Каменских Е. М. могут лишь натолкнуть на какие-то мысли при разработке опросников для дальнейшего изучения отношения общественности к биобанкированию в рамках научных исследований более высокого уровня в иерархии доказательств в системе доказательной медицины. В то же время в зарубежной литературе имеются более весомые научные работы по изучению осведомленности о биобанкировании. Так, Domaradzki J, et al. [6] в 2019г опубликовали обзор литературы, в который включили анализ 61 исследования, из которых 92% составили исследования с более высоким уровнем доказательств, чем интервью. Авторы пришли к выводу, что несмотря на недостаток знаний у общественности о биобанкировании, многие люди заявляют о готовности стать донором биобанка. На принятие решения о донорстве влияют их знания о биобанкировании, тип донорской ткани, цели исследования, опасения по поводу безопасности данных, содержание информированного согласия и доверие к биобанкам.

В России более крупные исследования, чем полуструктурированные интервью, не опубликова-

ны, однако для развития в стране биобанкирования и повышения его качества необходима популяризация целей и пользы биобанков и глубокое изучение отношения разных представителей общественности к биобанкированию.

Литература/References

1. Gao Z, Huang Y, Yao F, et al. Public awareness and attitudes toward biobank and sample donation: A regional Chinese survey. *Front Public Health*. 2022;10:1025775. doi:10.3389/fpubh.2022.1025775.
2. Knott E, Rao AH, Summers K, et al. Interviews in the social sciences. *Nat Rev Methods Primers*. 2022;2:73. doi:10.1038/s43586-022-00150-6.
3. Abdelhafiz AS, Ahram M, Ibrahim ME, et al. Biobanks in the low- and middle-income countries of the Arab Middle East region: challenges, ethical issues, and governance arrangements-a qualitative study involving biobank managers. *BMC Med Ethics*. 2022;23(1):83. doi:10.1186/s12910-022-00822-8.
4. Antonova N, Eritsyk K. It is not a big deal: a qualitative study of clinical biobank donation experience and motives. *BMC Med Ethics*. 2022;23(1):7. doi:10.1186/s12910-022-00743-6.
5. 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 ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России 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.
6. Domaradzki J, Pawlikowski J. Public Attitudes toward Biobanking of Human Biological Material for Research Purposes: A Literature Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16(12):2209. doi:10.3390/ijerph16122209.

Отношения и деятельность: автор заявляет об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

RU. SCIENTIA

SINE FINIBUS
ПРОЕКТ: "НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ —
РОССИЙСКАЯ НАУКА БЕЗ ГРАНИЦ"

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)

Мешков А. Н.¹, Покровская М. С.¹, Глотов А. С.², Ершова А. И.¹, Родионова Ю. В.¹, Драпкина О. М.¹

¹ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Минздрава России. Москва; ²ФГБНУ "Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта". Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: биобанк, биобанкирование, НАСБИО.



Для цитирования: Мешков А. Н., Покровская М. С., Глотов А. С., Ершова А. И., Родионова Ю. В., Драпкина О. М. 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. EDN DWMKXC

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)

Meshkov A. N.¹, Pokrovskaya M. S.¹, Glotov A. S.², Ershova A. I.¹, Rodionova Yu. V.¹, Drapkina O. M.¹

¹National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine. Moscow; ²D. O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology. St. Petersburg, Russia

Keywords: biobank, biobanking, NASBIO.

For citation: Meshkov A. N., Pokrovskaya M. S., Glotov A. S., Ershova A. I., Rodionova Yu. V., Drapkina O. M. 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. doi:10.15829/1728-8800-2023-3864. EDN DWMKXC

В 2018г при поддержке Минздрава России была создана Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию (НАСБИО). Цель организации — объединение усилий специалистов в области биобанкирования для развития сети биобанков в России, оказания специализированных

и образовательных услуг в области биобанкирования, а также — содействия в разработке и реализации научных и практических проектов и программ, связанных с использованием фондов и инфраструктуры Биобанков, для предоставления и защиты общих интересов членов Ассоциации.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: YRodionova@gnicpm.ru

[Мешков А. Н. — к.м.н., руководитель лаборатории "Молекулярная генетика", ORCID: 0000-0001-5989-6233, Покровская М. С. — в.н.с., руководитель лаборатории "Банк биологического материала", ORCID: 0000-0001-6985-7131, Глотов А. С. — д.б.н., зав. отдела геномной медицины им. В. С. Баранова, профессор кафедры генетики и биотехнологии, ORCID: 0000-0002-7465-4504, Ершова А. И. — д.м.н., руководитель лаборатории клиномики, зам. директора по фундаментальной науке, ORCID: 0000-0001-7989-0760, Родионова Ю. В. — к.м.н., руководитель отдела рецензирования, редактирования и издательской деятельности, руководитель секции, ORCID: 0000-0002-6378-6317, Драпкина О. М. — д.м.н., профессор, академик РАН, директор, ORCID: 0000-0002-4453-8430].

Основные задачи, которые ставила перед собой ассоциация, включали в себя организацию и проведение ежегодных конференций НАСБИО, в т.ч. симпозиумов, посвященных биобанкированию, в рамках различных конференций, образовательных мероприятий, школ, научных заседаний и др.; организацию печатного альманаха,

посвященного биобанкированию, на постоянной основе; подготовку "Национального руководства по биобанкированию", поддержку возникающих и развивающихся биобанков.

Стоит отметить, что все эти идеи, заложенные в планы по развитию ассоциации, с успехом воплощаются в жизнь.

Биобанкирование. Национальное руководство / С. В. Анисимов, Т. М. Ахмеров, О. П. Балановский [и др.]. — Москва: ООО "Издательство ТРИУМФ", 2022. — 308 с. — ISBN 978-5-93673-322-2. — EDN JHMXD.

В руководстве представлена информация о юридических и этических аспектах биобанкирования, а также о важных практических особенностях, правилах сбора, пробоподготовки, транспортировки и хранения различного биоматериала для научно-исследовательских целей.

Руководство содержит разделы и главы, подготовленные в виде обзоров литературы с выводами и рекомендациями, на которые могут опираться исследователи, использующие биоматериал в своей работе, организаторы и сотрудники биобанков. Издание будет полезно студентам медицинских и биологических направлений, врачам и научным сотрудникам.



Развитие биобанкирования в России, как и во всем мире, — надежная основа повышения эффективности и качества научно-медицинских исследований, ускорения прогресса в биомедицинской науке.

С 2020г в каждом одиннадцатом номере журнала "Кардиоваскулярная терапия и профилактика"

публикуются научные рецензируемые статьи, определяющие текущие усилия членов НАСБИО и развитие биобанкирования в нашей стране. В 2023г в выпуск вошли публикации на актуальные темы, демонстрирующие возможности биобанков для научных исследований:

Биоресурсные коллекции: алгоритмы формирования и функционирования, фундаментальная и прикладная значимость, доступ к информации через платформу "БиоВитрина".

Оценка осведомленности о биобанкировании среди пациентов и врачей.

Криоконсервация гемопоэтических стволовых клеток периферической крови в трансплантологии: современное состояние и перспективы.

Геногеографические технологии популяционного биобанка.

Сплошное биобанкирование в многопрофильном стационаре научно-медицинского центра как потенциал для широкого спектра научных исследований.

Исследование особенностей метаболома пациентов с COVID-19.

Валидация шкал генетического риска развития сахарного диабета 2 типа на выборке населения регионов России из биобанка "НМИЦ ТПМ".

Возможности банка биологических образцов для серологического мониторинга инфекционной заболеваемости.



Международная конференция "Биобанкирование. От идеи к внедрению" успешно прошла 19-20 сентября 2023г и собрала более 200 участников из России, Китая, Беларуси, Казахстана и Узбекистана.



Ключевые направления конференции:

- **Биобанкирование в России и в мире:** текущее состояние и перспективы развития
- Актуальные **правовые и этические вопросы** в сфере биобанкирования
- Взаимодействие с пациентами и донорами
- **Стандарты и методические рекомендации** для проведения преаналитического этапа хранения различного биологического материала
- **Персонализированная медицина и биобанки**
- Современная инфраструктура биобанков
- Биобанкирование и развитие биотехнологий

Программа конференции включала научные симпозиумы, круглые столы, мастер-класс и панельную дискуссию, посвященные развитию биобанкирования в РФ и сотрудничеству между научным сообществом, биобанками и индустрией. Доклады коллег были насыщены информацией и вызвали большой интерес аудитории.

Конференция открыла несколько направлений, которым сейчас следуют ученые: "биобанкирование и нейронауки", "регенеративная биомедицина", "трансляционное биобанкирование", "биобанкирование и персонализированная медицина", эпидемиологические исследования, развитие биотехнологий на основе биобанкирования и др.



Драпкина Оксана Михайловна — академик РАН, д.м.н., профессор, директор ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Министерства здравоохранения Российской Федерации, **президент НАСБИО**.

Драпкина О. М.: "Биобанкирование в Российской Федерации активно развивается последние десять лет. Перспектива достижения широкого охвата деятельностью биобанков всех направлений научных исследований весьма близка. НАСБИО играет в этом процессе ключевую роль".

Мешков Алексей Николаевич — д.м.н., руководитель Института персонализированной терапии и профилактики ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Министерства здравоохранения Российской Федерации, директор НАСБИО.

Мешков А. Н.: "Единая информационная система даст возможность более эффективного использования ресурсов российских биобанков и повысит качество научно-исследовательских разработок.

Уже разработана архитектура национальной информационной платформы, но предстоит решить проблемы реализации этого амбициозного проекта — наладить совместимость НИПБ РФ с большим количеством типов систем хранения данных в биобанках РФ, согласовать единые стандарты представления информации о биообразцах и применяемую терминологию в описании.

Создание сети биобанков с единой базой данных на цифровой платформе в масштабах страны является актуальной задачей, решение которой зависит от слаженной работы всех заинтересованных структур и соответствующего финансирования".



Был выдвинут ряд практических вопросов, которые мы попросили прокомментировать ведущих специалистов в этой области.

Одна из важных тем конференции — **"Информатизация и автоматизация биобанкирования"**. А. Н. Мешков в своем докладе "Концепция национальной информационной платформы биобанков РФ", сообщил, что "создаваемая "Националь-

ная информационная платформа биобанков РФ" (НИПБ РФ) представляет собой информационную систему, предназначенную для консолидации, обработки и использования данных о биологических коллекциях и образцах биобанков страны в интересах развития биобанкирования и научных исследований в области медицины, биотехнологии, промышленности и др."



Глотов Андрей Сергеевич — д.б.н., заведующий отделом геномной медицины ФГБНУ "Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д. О. Отта", профессор кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ, вице-президент НАСБИО.

Глотов А. С.: "В рамках дискуссии поднимали ряд актуальных вопросов, касающихся перспектив взаимодействия индустрии и биобанков, обсуждали возможность создания экосистемы биобанков для централизованного предоставления информации и услуг. Участники активно поддерживали разработку всероссийской информационной платформы биобанков и поиск решений для информирования представителей индустрии о возможностях и совместных выгодах сотрудничества с биобанками. Это нашло отражение в решениях, сформулированных в резолюции конференции. Подобные открытые дискуссии имеет смысл ввести

в традицию на площадках НАСБИО, например, в рамках научно-практических заседаний. Создание рабочей группы между биобанками и потенциальными потребителями их услуг может решить многие вопросы".

В панельной дискуссии "Наведение мостов между биобанками и потребителями — научно-исследовательскими институтами, фармацевтическими и биотехнологическими компаниями" приняли участие представители биобанков, профессиональных ассоциаций, научных и образовательных организаций и представители индустрии, включая производителей диагностических тест-систем, фармацевтические компании и контрактные исследовательские организации.

Этические и правовые вопросы биобанкирования человеческого биоматериала были проблемными с момента возникновения института биобанкирования и остаются актуальными по сей день. Ключевые темы этого направления обсудили на круглом столе "Биобанки-врачи-доноры. Этические и правовые аспекты": социологические вопросы, посвященные отношению доноров, врачей и исследователей к процессу биобанкирования, готовность медицинских работников к биобанкированию, оценка мотивирующих и ограничивающих факторов (было отмечено, что по статистике профессиональное сообщество медицинских учреждений знает о донорстве для биобанкирования в научных целях не больше, чем пациенты); этические аспекты — особенности содержания текста информированного согласия на биобанкирование в научных целях, регламент выхода участников из ис-

следований, судьба биологических материалов при прекращении деятельности биобанков; правовая модель обеспечения деятельности биобанков.

Глотов А. С.: "Отсутствие системной законодательной базы в области биобанкирования создает трудности в развитии сотрудничества биобанков и биотехнологических компаний, необходимого для разработки и внедрения новых диагностических систем и препаратов в практику здравоохранения. Стала очевидной необходимость разработки законов для обеспечения деятельности биобанков в правовом поле. Но при этом создание правовой модели биобанков требует усилий специалистов различных специальностей".

На мастер-классе "Как построить биобанк с нуля?", Покровская М. С., вице-президент НАСБИО, представила опыт организации и работы биобанка ФГБУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России.



Покровская Мария Сергеевна — к.б.н., вице-президент НАСБИО, руководитель лаборатории "Банк биологического материала" ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Покровская М. С.: "Эта часть программы конференции вызвала большой интерес у сотрудников научно-медицинских центров, только начинающих процесс внедрения технологий биобанкирования в работу. Накопленный опыт позволил предложить эффективный алгоритм действий, необходимых для организации биобанка "с нуля". Важным является принцип — следовать с самого начала международным правилам построения биобанков. Муравьев А. И., исполнительный директор НАСБИО, рассказал о принципах организации инфраструктуры биобанков. Важную тему

раскрыла Борисова А. Л., вице-президент НАСБИО, выступив с докладом "Система менеджмента качества биобанка: от разработки к сертификации". Внедрение такой системы обеспечивает высокое качество биобанкирования. Мировая тенденция — сертифицировать все биобанки по международному стандарту ISO 20387 "Биотехнология. Биобанкинг. Общие требования".



В резолюции конференции, опубликованной на сайте НАСБИО, сформулированы основные актуальные задачи ассоциации. Среди них:

- Поддержать развитие нормативной правовой базы биобанкирования различных типов биоматериала человека.
- Создать рабочую группу для реализации мероприятий по развитию межотраслевых связей между представителями биобанков и индустрии с целью повышения эффективности разработки и производства современной биотехнологической продукции в Российской Федерации.
- Поддержать создание единой цифровой платформы национального реестра биобанков.
- Инициировать создание единого реестра контрольных образцов и стандартов в связи с обозначенным в рамках конференции запросом индустрии.
- Наделить НАСБИО полномочиями экспертной организации, участвующей на регулярной основе в разработке нормативной документации для стандартизации сбора, хранения, использования и предоставления биоматериала человека в научных целях в области медицины.
- Совершенствовать меры по сбору и каталогизации результатов генетических исследований биообразцов коллекций биобанков и развитию генетических баз данных человека.
- Поддержать разработку комплекса мер, направленных на популяризацию отечественных научных достижений в области биобанкирования.



РЕЗОЛЮЦИЯ

III международной конференции «Биобанкирование 2023: от идеи к внедрению» 19-20 сентября 2023 г., Москва

III международная конференция «Биобанкирование 2023: от идеи к внедрению», была организована Национальной ассоциацией биобанков и специалистов по биобанкированию НАСБИО (<http://nasbio.ru/>) и компанией КвадросБио.

Программа конференции включала пленарные доклады, научные симпозиумы, круглые столы, мастер-класс и панельную дискуссию, посвященные развитию биобанкирования в РФ и сотрудничеству между научным сообществом, клиницистами, биобанками и индустрией (разработчиками и производителями диагностических систем, фармпрепаратов и биомедицинских клеточных продуктов). Конференция собрала более 200 участников из России, Китая, Беларуси, Казахстана и Узбекистана.

Открыла конференцию президент НАСБИО, директор ФГБУ «НМИЦ терапии и профилактической медицины» Минздрава России, академик РАН Оксана Михайловна Драпкина. Доклады о роли биобанкирования в научно-медицинских исследованиях и разработках инновационных биотехнологических продуктов представили руководители и ведущие специалисты Национальных медицинских исследовательских центров РФ, Федеральных университетов, НИИ, РАН, Минздрава России, Минобрнауки России, ФМБА, а также представители биотехнологических и фармацевтических компаний. Большое внимание было уделено проблемам, связанным с правовым регулированием биобанкирования в России. Насыщенная программа конференции показала, что использование технологии биобанкирования является базой для эффективного решения научно-практических задач, связанных с развитием биомедицины в России.

Участники Конференции постановили:

1. Поддержать развитие нормативной правовой базы биобанкирования различных типов биоматериала человека, в основе которой будут использоваться единые подходы и принципы, а также общий словарь (гlossарий) терминов, необходимый для реализации этих принципов.
2. Создать рабочую группу для реализации мероприятий по развитию межотраслевых связей между представителями биобанков и индустрии с целью повышения эффективности разработки и производства современной биотехнологической продукции в Российской Федерации.
3. Поддержать инициативу НАСБИО по созданию единой цифровой платформы национального реестра биобанков и биоресурсных коллекций с высоким уровнем

защиты персональных данных, генетической информации, личной и семейной тайны на современном высокотехнологичном уровне.

4. Инициировать создание единого реестра контрольных образцов и стандартов в связи с обозначенным в рамках конференции запросом индустрии.
5. Поддержать необходимость внедрения системы менеджмента качества в российских биобанках и биоресурсных коллекциях для обеспечения высокого качества и стандартизации разработок в области лабораторной и клинической медицины, особенно в области создания БМКП.
6. Определить НАСБИО как организацию, ответственную за сертификацию системы менеджмента качества в биобанках по ГОСТ Р ИСО 20387-2021 «Биотехнологии. Биобанкинг. Общие требования». Наделить НАСБИО полномочиями экспертной организации, участвующей на регулярной основе в разработке нормативной документации для стандартизации сбора, хранения, использования и предоставления биоматериала человека в научных целях в области медицины.
7. Образовать на базе НАСБИО систему добровольной сертификации, сформировать критерии оценки биобанков и биоресурсных коллекций, гарантирующие качество образцов и достоверность связанной с ними информации.
8. Совершенствовать меры по сбору и каталогизации результатов генетических исследований биообразцов коллекций биобанков и развитию генетических баз данных человека.
9. Поддерживать в связи с запросом со стороны производителей биотехнологической продукции создание и развитие биобанков, специализирующихся на формировании коллекций образцов биоматериала человека в рамках проспективных и лонгитудных исследований. Изучить формы существующих мер государственной поддержки создания таких коллекций.
10. Поддерживать необходимость разработки мер, направленных на комплексную поддержку молодых ученых и специалистов, принимающих участие в создании и использовании биоресурсных коллекций, включая проведение конференций, школ и иных образовательных мероприятий.
11. Поддерживать разработку комплекса мер, направленных на популяризацию отечественных научных достижений в области биобанкирования.

Президент НАСБИО,
Академик РАН

Драпкина О.М.



Ершова Александра Игоревна — д.м.н., заместитель директора по фундаментальной науке ФГБУ "Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины" Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ершова А. И.: "Популяционно-нозологический исследовательский Биобанк позволяет качественно проводить различные научные проекты, связанные с использованием биоматериала. Более 50-и проектов, в т.ч. 17 текущих, использовали этот ресурс центра. По регламенту биобанкирования реализован сбор образцов крови и ее производных от репрезентативной выборки населения 41 региона России в рамках широкомасштабного эпидемиологического исследования распространенности рисков развития хронических неинфекционных заболеваний. Сейчас в биобанке хранится >837 тыс. образцов биоматериала от 96 тыс. человек.

В настоящее время в центре осуществляется проект "Сплошное биобанкирование", описание которого и первые результаты продемонстрированы в статьях, вошедших в данный номер. Все госпитализированные пациенты, подписавшие информированное согласие на биобанкирование, участвуют в проекте. Благодаря объединению данных электронных историй болезней в медицинской информационной системе (МИС) и базы данных биобанка, возникает ценная широко аннотированная коллекция биоматериала, которая станет базой для повышения эффективности научных исследований путем создания выборок из коллекции по критериям для планирования и проведения научно-исследовательских работ. Проект стартовал 8 ноября 2022г, к настоящему времени "забиобанкированы" >5 тыс. человек.

Надо отметить, что не все пациенты дают согласие на участие в проекте, что может повлечь проблему потери важных данных. Во многом именно от лечащих врачей и заведующих отделениями зависит разъяснительная работа о важности биобанкирования для развития науки, для разработки новых подходов к диагностике и лечению заболеваний. Недостаточную мотивированность пациентов и врачей обсуждали на конференции НАСБИО. Эту проблему в мире решают разъяснительными кампаниями, рекламой. Было бы правильно организовать в научно-медицинских центрах семинары для врачей, среднего медицинского персонала и исследователей, посвященные вопросам биобанкирования".

ФБГУ "НМИЦ ТПМ" Минздрава России — учредитель журнала "Кардиоваскулярная терапия и профилактика", является активным членом и инициатором создания НАСБИО. Руководство и коллектив "НМИЦ ТПМ" развивают биобанкирование в Центре как перспективное направление современной медицинской науки.

Драпкина О. М.: "Биобанкирование — это прорыв в науке, который очень важен для медицины будущего. Врачи и пациенты, участники создания биокolleкций являются свидетелями и творцами научной истории!"



Руководство "НМИЦ ТПМ" с сотрудниками Биобанка.

Отношения и деятельность/Relationships and Activities: нет/none.

Поступила/Received: 21/11-2023

Принята к публикации/Accepted: 24/11-2023.

