

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства»

Итоговая научно-практическая конференция 2025

## **ТЕЗИСЫ УСТНЫХ ДОКЛАДОВ**

**20-21 января 2026 года**

**РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ЭКСПРЕССИИ С ПОЛНЫМ ПОДАВЛЕНИЕМ  
БАЗАЛЬНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ И АКТИВАЦИЕЙ ПОСРЕДСТВОМ  
РЕДАКТИРОВАНИЯ СИСТЕМОЙ CRISPR-CAS9**

Бобровский П.А., Манувера В.А., Харлампиева Д.Д., Графская Е.Н., Бровина К.А.,

Серебренникова М.Ю , Лазарев В.Н.

Лаборатория генной инженерии

Проблема экспрессии генов, кодирующих токсичные белки в бактериальных системах, давно волнует научное сообщество - даже минимальная базальная экспрессия таких генов может приводить к ингибированию роста клеток или их гибели. Традиционные подходы, включающие использование усиленных промоторов, дополнительных репрессорных систем или плазмид с регулируемой копийностью, не обеспечивают необходимого уровня репрессии базальной транскрипции. Эффективные системы экспрессии на основе промотора T7, часто демонстрируют нежелательную базальную экспрессию рекомбинантных генов. В случае экспрессии генов антимикробных пептидов или цитотоксических белков это приводит к ингибированию роста культуры-продуцента, селекции нефункциональных мутантов и, как следствие, к невозможности получения целевого продукта. В рамках данного проекта была разработана альтернативная стратегия, основанная на регуляции длины транскрипта. В 5'-нетранслируемую область целевого рекомбинантного гена были встроены терминары транскрипции, приводящие к преждевременной терминации и образованию нефункциональных РНК. Ключевой особенностью метода является использование системы CRISPR-Cas9 для точного вырезания терминаторной последовательности из плазмидной ДНК, что позволяет восстановить экспрессию целевого гена. Наиболее эффективным оказалось применение двойного терминатора, сочетающего элементы терминатора гена *rrnB* *E. coli* и модифицированного терминатора T7. В ходе многоэтапного экспериментального исследования система была сначала апробирована на модели eGFP. Мы показали отсутствие накопления флуоресцентного белка при наличии в среде индуктора экспрессии. Были оптимизированы параметры редактирования плазмид, а также оценена эффективность терминации транскрипции при использовании плазмид, кодирующих токсичные для клетки продукты. Система была успешно протестирована на генетических конструкциях, кодирующих четыре различных антимикробных пептида с выраженной бактерицидной активностью. Разработанная платформа открывает новые возможности для контролируемой экспрессии высокотоксичных белков в бактериальных системах с потенциальным применением в биотехнологии и фармацевтике.

Финансирование: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда, № 23-15-00084, <https://rscf.ru/project/23-15-00084/>.

## **НОВЫЕ ЦИСТЕИН-БОГАТЫЕ АНТИКОАГУЛЯНТЫ КРОВОСОСУЩИХ ПИЯВОК**

Манувера В.А., Бровина К.А., Бабенко В.В., Бобровский П.А., Графская Е.Н.,

Харлампиева Д.Д., Лазарев В.Н.

Лаборатория генной инженерии

Кровососущие пиявки в процессе эволюции получили ряд особенностей, облегчающих им питание кровью. В том числе они вырабатывают антикоагулянты, которые при укусе со слюной попадают в кровоток. Самым известным из них является гирудин, однако это не единственный белковый антикоагулянт пиявок. Одним из механизмов подавления коагуляции является специфичное ингибиение сериновых протеиназ, задействованных в гемостазе. К этой же группе ингибиторов протеиназ относится и белок мексиканской пиявки антистазин (Ans), который ингибирует фактор Xa. Антистазин и его гомологи были описаны у американских пиявок еще в конце прошлого века, однако у европейских пиявок их долгое время не находили. Ранее мы провели комплексное омиксное исследование трех близких видов европейских медицинских пиявок — *Hirudo medicinalis*, *H. verbana* и *H. orientalis*. При анализе геномных и транскриптомных данных мы целенаправленно искали гомологи антистазина. В результате мы нашли ряд кандидатов, которые весьма сильно отличались от Ans, но сохраняли характерный цистеиновый паттерн в первичной структуре. Мы отобрали 15 кандидатов, получили рекомбинантные белки и проверили их антикоагуляционные свойства. В результате нам удалось обнаружить только один белок, эффективно подавляющий гемостаз — Cysteine-rich anticoagulant (CRA). Этот белок имеет сходный с антистазином паттерн распределения остатков цистеина, который повторяется дважды и соответствует двум структурным доменам Ans. За пределами этого паттерна гомология аминокислотных последовательностей CRA и Ans практически не прослеживается. Этим, по-видимому, объясняется то, что длительное время не удавалось описать у европейских пиявок антикоагулянтов, родственных антистазину. Существенным отличием CRA является наличие С-концевого мотива, удаление которого приводит к потере сродства белка к мембранным везикулам и изменению специфичности в антикоагуляционных тестах. Кроме того, два домена CRA связаны между собой более коротким и жестким линкером, чем домены антистазина. После того, как мы получили рекомбинантный CRA и обнаружили его способность подавлять свертывание крови, мы решили провести повторный поиск в геномных и транскриптомных данных *H. medicinalis*. Однако, на этот раз мы искали уже гомологи не Ans, а именно CRA. В результате мы обнаружили новый ген, который, судя по всему, кодирует удвоенный паралог CRA, состоящий из четырех доменов, а не двух. Мы клонировали кДНК и получили рекомбинантный белок, который назвали MCRA. Этот белок также, как и CRA, показал высокую активность в лабораторных тестах на коагуляцию крови. CRA не является уникальным белком *H. medicinalis*. Поиск в базах данных нуклеотидных последовательностей позволил обнаружить несколько ортологов CRA у других видов кровососущих пиявок. Мы получили пять из них в виде рекомбинантных белков и определили их антикоагуляционные свойства с помощью стандартных тестов АЧТВ, ТВ и ПВ. Все пять белков показали высокую активность на качественном уровне, но существенно различающуюся количественно. Установление причины различий в активности и их связи со структурой белков является текущей темой изучения в лаборатории генной инженерии.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019-2030 годы, соглашение № 075-15-2025-518\*)

# **ИЗОФОРМА G-БЕЛКА GNAO1-В ПРЕОБЛАДАЕТ В АСТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА И ЛОКАЛИЗУЕТСЯ В РЕТРАКЦИОННЫХ ФИБРИЛЛАХ И МИГРАСОМАХ**

Воловиков Е.А., Емец Е.В., Давиденко А.В., Лагарькова М.А., Богомазова А.Н.

Лаборатория клеточной биологии

Ген *GNAO1* кодирует альфа-субъединицу комплекса G-белков, участвующего в передаче сигналов между нейронами. Мутация G203R в гене *GNAO1* часто возникает *de novo* и вызывает эпилептическую энцефалопатию и двигательные расстройства. *GNAO1* имеет две основные изоформы, *GNAO1*-A и *GNAO1*-B, возникающие в результате альтернативного сплайсинга, но функциональные различия и паттерн экспрессии этих изоформ изучены слабо. Молекулярные функции *GNAO1* в основном изучают в нейронах, однако глиальные клетки также экспрессируют *GNAO1* и участвуют в развитии эпилепсии. Поэтому мы использовали модели на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) человека для исследования локализации и экспрессии изоформ *GNAO1* в астроцитах.

Мы показали, что в астроцитах почти 100% транскриптов *GNAO1* кодируют изоформу *GNAO1*-B, тогда как экспрессия *GNAO1*-A крайне низка. Мы не обнаружили различий в локализации между *GNAO1*-A и *GNAO1*-B как в состоянии дикого типа (WT), так и при наличии мутации G203R. Мы также показали, что *GNAO1* локализуется в астроцитарных ретракционных фибрillах и миграсомах — структурах, ранее не описанных в этом типе клеток. Мы продемонстрировали, что *GNAO1*-положительные ретракционные фибрillы соседних клеток обеспечивают межклеточные контакты, а также зафиксировали распространение по ним кальциевых волн при возбуждении астроцитов. Сверхэкспрессия как *GNAO1*-A, так и *GNAO1*-B снижает кальциевую активность астроцитов, причем *GNAO1*-A вызывает более значительное нарушение активности.

Наши результаты демонстрируют, что астроциты, наряду с нейронами, следует использовать для изучения нарушений, связанных с *GNAO1*, и что мутации в *GNAO1* следует оценивать в контексте обеих изоформ — *GNAO1*-A и *GNAO1*-B.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, грант № 24-25-00360

# **ПРИМЕНЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ТИТАНОВЫХ ИМПЛАНТАТОВ ПРИ РАНЕНИЯХ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ ВЫСОКОЭНЕРГИТИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ**

И.В. Решетов (1,2,3) , И.В. Пономарев (1), А.А. Закирова (1,2),

Е.В. Черевко (1), С.К. Алексеева (3), А.Р. Раширова (2), Святославов Д.С. (3)

1.ФГБУ ФНКЦ ФХМ ИМ. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Клиническая больница №123, Московская область, Одинцово, Россия.

2. Академия постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России, кафедра онкологии и пластической хирургии, Москва, Россия

3. ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), кафедра онкологии, радиотерапии и пластической хирургии, Москва, Россия

4. Филиал №3 ФГБУ «НМИЦ ВМТ им. А.А. Вишневского Минобороны России М.О.

**Актуальность.** Минно-взрывные, осколочные и пулевые ранения черепно-лицевой области являются наиболее сложными для реконструкции, что обусловлено как сложным анатомическим строением, так и необходимостью восстановления функциональных нарушений. Многооскольчатый характер травмы требует тщательного сопоставления и фиксации отломков, либо замещения целых костных фрагментов, несущих функциональную и эстетическую нагрузку. Наиболее оптимальным решением данной проблемы является использование индивидуальных титановых имплантатов, созданных методами аддитивного производства на основе данных КТ и МРТ.

**Целью** работы явилось использование индивидуальных титановых имплантатов для пациентов с боевыми травмами челюстно-лицевой области. Клинические наблюдения представлены случаями из практики лечения пациентов, получивших ранения в ходе боевых действий во время специальной военной операции.

**Материалы и методы:** В период с июня 2024 по декабрь 2025 года на базе клинической больницы №123 ФГБУ ФНКЦ ФХМ ИМ. Ю.М. Лопухина ФМБА России было прооперировано 17 бойцов, получивших ранение челюстно-лицевой области. Мы использовали Российскую разработку от изготовителя НПЦ медицинских изделий АО «ГНЦ РФ ТРИНИТИ» на базе программного комплекса фирмы АО «Наука и инновации» (Регистрационное удостоверение на МИ № 2022/19196 от 30 декабря 2022г). На основе предоперационных данных магнитно-резонансной и компьютерной томографии специалистами были созданы индивидуальные имплантаты из титанового сплава для лечения сложных костных дефектов различной формы и протяжённости.

**Результаты.** Исследовательская работа продолжается. Использование индивидуальных имплантатов позволило сократить длительность операции. Все раны зажили первичным натяжением без признаков воспаления, швы были сняты в срок. Всем пациентам была обеспечена ранняя реабилитация на сроке две недели после операции.

**Заключение.** Активное внедрение в рутинную медицинскую практику 3D-моделирования и аддитивных технологий позволит сократить длительность оперативного вмешательства, минимизировать возможные осложнения, повысит эффективность лечения и сократит сроки реабилитации пациентов на всех этапах.

# **БЕЛКОВЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ: ПОЛУЧЕНИЕ, ИССЛЕДОВАНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ЦИТОТОКСИЧНОСТИ.**

Богданова А, Матвеева А, Москалец А, Бойченко О, Морозова О, Козырев Н, Клинов Д.

Лаборатория медицинских нанотехнологий

В данной работе исследовались модельные композиционные белковые наночастицы: от технологии их создания и оптимизации свойств до изучения структурных характеристик, стабильности, функциональной активности и биологического действия *in vitro*. Конструирование белковых наночастиц методом нанопреципитации без сшивания проводили на основе бычьего сывороточного альбумина (БСА), РНКазы А и липазы. Использовали следующие препараты: липазу из поджелудочной железы свиньи (Sigma, США), РНКазу А из поджелудочной железы крупного рогатого скота (Sigma, США), метотрексат-Эбеве (раствор для инъекций, Sandoz, Швейцария) и метотрексат (стандартный образец Eur. Ph., Merck, США).

Для отслеживания формирования, введения и распределения наночастиц в клетках методом флуоресцентной микроскопии каждый тип белка метили разными красителями. В качестве меток использовали флуоресцеин изотиоцианат (FITC), родамин B (RhoB), а также цианины Cy5 и Cy7. Конъюгацию красителей с белками проводили с использованием изотиоцианатных производных (FITC, RhoB) или сукциниimidных эфиров (цианины). Структуру частиц контролировали методом СЭМ.

Наиболее стабильные и воспроизводимые композиционные наночастицы были получены при содержании белка-носителя (БСА) не менее 75% по массе. Исходя из результатов электрофореза (рисунок 5.1) можно сделать вывод, что наибольшую эффективность проявляют частицы приготовленные при содержании РНКазы 25% и 75% по массе. В соответствующих дорожках наблюдалась только полоса с короткоцепочечными фрагментами, эквивалентная положительному контролю (РНК с чистой РНКазой А).

На основе измерения спектров флуоресценции нами были получены данные о кинетике высвобождении низкомолекулярного цитостатика метотрексата из белковых частиц, состоящих из БСА. Показано, что в течение 40 часов в условиях, приближенных к физиологическим происходит высвобождение 12% метотрексата. При этом наблюдается также частичная деструкция наночастиц.

Экспериментально доказано, что композитные НЧ в концентрациях до 2 мг/мл по белку являются биосовместимыми и не проявляют существенной токсичности (выживаемость не менее 80%) в отношении эукариотических клеточных линий HEK293 и 2T. В результате исследований мы получили инструмент с пониженной цитотоксичностью, который позволяет более мягко влиять на жизнеспособность клеток по сравнению с исходными цитотоксичными веществами, которые входили в состав наночастиц.

**РАННИЙ ВЫХОД ИЗ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА В ПРОЦЕССЕ  
ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ДОФАМИНЕРГИЧЕСКИХ НЕЙРОНОВ КАК ОБЩАЯ  
СИГНАТУРА БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА, АССОЦИИРОВАННОЙ С  
МУТАЦИЯМИ *LRRK2* И *PRKN***

Копылова И.В., Иванов А.Б. , Грехнёв Д.А., Богомазова А.Н, Вигонт В.А.,  
Казначеева Е.В., Лагарькова М.А., Лебедева О.С., Олехнович Е.И.

Лаборатория клеточной биологии

Клиническая и генетическая гетерогенность болезни Паркинсона (БП) значительно осложняет поиск общих патологических механизмов. В данном исследовании с помощью системной биологии и транскриптомики были изучены дофаминергические нейроны, дифференцированные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с наследственными формами БП, ассоциированными с мутациями в генах *LRRK2* и *PRKN*. Целью работы было выявление конвергентных и специфических молекулярных путей, лежащих в основе избирательной уязвимости дофаминергических нейронов при БП. Ключевым результатом стало обнаружение общей для обеих наследственных форм БП транскриптомной сигнатуры. Она характеризуется согласованным подавлением путей, связанных с клеточным циклом и ключевой сигнальной осью в нейрогенезе – WNT/β-катенина, на фоне активации программ терминальной нейрональной специализации. При этом на общую сигнатуру накладываются мутационно-специфичные профили. Так, для *LRRK2*-нейронов характерна повышенная экспрессия генов, отвечающих за передачу сигнала и организацию постсинаптической плотности, а для *PRKN*-нейронов – подавление эпигенетических программ регуляции. Таким образом, результаты указывают на общий механизм для исследуемых наследственных форм БП, который заключается в преждевременном созревании дофаминергических нейронов пациентов с БП, что выражается в подавлении путей развития и клеточного цикла и активации программ нейрональной специализации.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019-2030 годы, соглашение № 075-15-2025-518).

# ОСОБЕННОСТИ ТКАНЕВОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *SLC4A11*

Котова Е.С., Ковалева П.А., Шарова Е.И., Скородумова Л.О.

Лаборатория медицинской геномики ФГБУ ФНКЦ ФХМ им Ю.М. Лопухина ФМБА  
России

Ген *SLC4A11* кодирует ионный транспортер, по-видимому, играющий роль в поддержании водного гомеостаза стромы роговицы. В литературе *SLC4A11* фигурирует как ген с повсеместной экспрессией, при этом редкие варианты этого гена ассоциированы только с наследственными заболеваниями заднего эпителия роговицы глаза (эндотелия роговицы) и внутреннего уха. Исследования экспрессии *SLC4A11* ограничивались анализом представленности транскриптов v1-3, анализа экспрессии и белок-кодирующего потенциала 24 других транскрипт-вариантов, представленных в крупных базах данных (RefSeq и ENCODE) не проводилось. Также предполагалось, что основными транскрипт-вариантами *SLC4A11* являются v2 и v3, однако в различных исследованиях получены сильно различающиеся результаты об их соотношении [1].

Целью нашей работы стало охарактеризовать экспрессию *SLC4A11* в эндотелии роговицы и других тканях, применив не использовавшиеся ранее подходы.

Нами впервые было показано, что экспрессия гена *SLC4A11* является тканеспецифичной как минимум для эндотелия роговицы. И изучавшиеся ранее экспрессирующие его ткани (щитовидная железа, почка, слюнная железа) имеют низкий (не менее, чем в 18.5 раз ниже;  $p<0.00001$ ) уровень экспрессии этого гена.

Также нами было показано, что наиболее представленными среди белок-кодирующих транскрипт-вариантов являются v3 и ранее не исследованный v6. По нашим данным транскрипт-вариант v6 является более представленным. Для транскрипта v2 был показан значимо ( $p<0.01$ ) более низкий уровень экспрессии. Кроме того, мы продемонстрировали, что основной сайт старта транскрипции в эндотелии роговицы - это начало транскрипта v6, а также транскрипта, соответствующего v3 с удлиненной 5'-нетранслируемой областью. Рамка считывания v6 кодирует белковую изоформу v2M36, которая по литературным данным является основной белковой изоформой *SLC4A11* в эндотелии роговицы. Ранее v2M36 рассматривалась как продукт неканонической трансляции v2. Мы показали, что полноразмерный v6 экспрессируется в роговице и обеспечивает трансляцию v2M36. При этом транскрипт v6 ранее не фигурировал в публикациях, посвященных *SLC4A11*. В качестве MANE транскрипта (универсальный стандартный набор транскриптов для использования в медицинской генетике) сейчас указан v3, но большая часть опубликованных функциональных исследований проводилась на v2, который был MANE транскриптом ранее.

Эти результаты не просто предоставляют новую информацию об экспрессии гена *SLC4A11*, а поднимают вопрос о необходимости изменения MANE транскрипта. Также наше исследование позволяет более корректно оценивать функциональную роль некоторых геномных вариантов, выявляемых у пациентов с *SLC4A11*-ассоциированными наследственными эндотелиальными дистрофиями.

1. Kovaleva et al.“*SLC4A11* Revisited: Isoforms, Expression, Functions, and Unresolved Questions.” *Biomolecules* vol. 15,6 875. 16 Jun. 2025

# ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАЙМОСВЯЗИ ПРОЦЕССОВ РЕПАРАЦИИ ДНК И СПЛАЙСИНГА ПРЕ-МРНК

И.В. Бекбаева<sup>1</sup>, Е.А. Свирина<sup>2</sup>, П.В. Шнайдер<sup>2</sup>, О.М. Иванова<sup>2</sup>, К.С. Ануфриева<sup>1</sup>,  
А.О. Гончаров<sup>2</sup>, В.О. Шендер<sup>2</sup>, Г.П. Арапиди<sup>1</sup>

Лаборатория системной биологии<sup>1</sup>, лаборатория молекулярной онкологии<sup>2</sup>

Сплайсинг пре-мРНК является одним из ключевых процессов регуляции экспрессии генов и часто значительно нарушен в опухолевых клетках. Ингибиция сплайсосомы представляет собой перспективный подход к разработке противоопухолевой терапии, однако его использование в клинической практике ограничено низкой эффективностью и высокой цитотоксичностью ингибиторов сплайсинга в режиме монотерапии. Понимание того, какие клеточные процессы могут угнетаться при ингибиции сплайсинга, может привести к созданию комбинированной терапии с использованием ингибиторов сплайсинга и уже известных противоопухолевых агентов.

В данной работе мы провели мета-анализ данных РНК- секвенирования 33 опухолевых клеточных линий до и после обработки пятью типами ингибиторов сплайсинга. Оказалось, что ингибиторы сплайсинга, совершенно различные по механизмам действия, вызывают схожие паттерны нарушения сплайсинга пре-мРНК. Мы показали, что все ингибиторы сплайсинга приводили к пропуску экзонов в транскриптах, кодирующих преимущественно белки, важные для репарации ДНК и клеточного деления. Согласно экспериментальным данным, ингибиция сплайсинга препаратами групп плацинолидов, сульфаниламидов и ингибиторов PRMT снижает способность опухолевых клеток репарировать повреждения ДНК и усиливает их чувствительность к ДНК-повреждающим агентам. В качестве контроля, мы провели анализ альтернативного сплайсинга под действием ингибиторов протеасомы и тирозинкиназ, имитирующих стрессовое воздействие на опухолевые клетки, несвязанное с ингибицией сплайсинга. В данном случае нами не было выявлено подобного эффекта, что может свидетельствовать о специфичной уязвимости генов ДНК-репарации и клеточного цикла к нарушениям функционирования сплайсосомы.

Анализ экспрессии генов по данным TCGA и секвенирования одиночных клеток показал, что гены, кодирующие белки сплайсосомы, коэкспрессируются с генами, кодирующими белки репарации ДНК и клеточного цикла. Однако обработка опухолевых клеток низкими дозами ингибитора сплайсинга плацинолида Б (Pl-B) (1.56 нМ) вызывала разобщение наблюдаемых паттернов коэкспрессии, приводя к повышению представленности генов регуляции сплайсинга и снижению экспрессии генов репарации ДНК. Для того, чтобы установить причину данного эффекта, мы проанализировали данные о представленности свежесинтезированной пре-мРНК и тотальной мРНК в ответ на обработку клеток Pl-B. С помощью кластеризации по временным паттернам экспрессии генов было установлено, что при ингибиции сплайсинга в клетках значительно повышается транскрипция генов, кодирующих белки сплайсосомы, клеточного цикла и репарации ДНК, однако уровень тотальной мРНК для них почти не повышается либо снижается, что может говорить о высоком уровне деградации свежесинтезированных транскриптов. Для генов, кодирующих белки окислительного фосфорилирования и синтеза белка уровень деградации был заметно ниже, в результате чего происходило накопление уровня зрелой мРНК в клетках.

Таким образом, разобщение в паттернах экспрессии под действием Pl-B может быть объяснено тем, что в ответ на угнетение сплайсинга в клетке наблюдается компенсаторное повышение экспрессии генов сплайсосомы, с которыми коэкспрессируются гены репарации ДНК. Однако, вследствие дефектного сплайсинга синтезируются деградируемые изоформы, и уровень зрелой мРНК этих генов снижается, приводя к неэффективной работе процессов репарации ДНК. Работа поддержана грантом РНФ 25-15-00520.

# **ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА И ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ ОПУХОЛЬ-АССОЦИИРОВАННЫХ ФИБРОБЛАСТОВ В ПЕРВИЧНЫХ ОПУХОЛЯХ ЯИЧНИКА И МЕТАСТАЗАХ**

**А.Н. Казакова<sup>1</sup>, К.С. Ануфриева<sup>1</sup>, П.В. Шнайдер<sup>2</sup>, О.М. Иванова<sup>2</sup>,  
В.О. Шендер<sup>2</sup>, Г.П. Арапиди<sup>1</sup>**

**Лаборатория системной биологии<sup>1</sup>, лаборатория молекулярной онкологии<sup>2</sup>**

Опухоль-ассоциированные фибробласты (ОАФ) составляют значительную долю клеток опухолевого микроокружения и вносят свой вклад на каждом этапе развития опухоли. Поэтому на данный момент активно разрабатываются таргетные методы, основанные на использовании мембранных и секрецируемых белков ОАФ в качестве терапевтических мишней. Однако на данный момент ни одна из предложенных терапевтических стратегий не продемонстрировала клинической эффективности. Существующие терапевтические подходы направлены на исключение всех ОАФ и не учитывают их гетерогенную природу. В опухоли присутствуют несколько популяций ОАФ, отличающихся транскриптомными профилями, функциональными свойствами, пространственной организацией, которые могут оказывать противоположное влияние на развитие опухоли. Отсутствие единого и воспроизведимого описания этих популяций, а также понимания их динамики и взаимодействий с другими клетками в процессе прогрессирования и метастазирования опухоли, остается одной из ключевых нерешенных проблем. Учитывая, что каждая популяция ОАФ выполняет специфическую роль в развитии опухоли, их комплексное изучение может способствовать улучшению методов диагностики, мониторинга онкологических заболеваний, а также разработке новых терапевтических подходов.

В данной работе мы всесторонне изучили отличительные особенности транскриптома ОАФ опухолей яичников, соответствующих метастазов в брюшину, сальник, кишечник и асцитных жидкостей на основании биоинформационного анализа большого массива данных РНК секвенирования одиночных клеток опухолей 42 пациентов. В результате в опухоли яичников и метастазах выявлено 8 основных популяций ОАФ с различными профилями экспрессии генов. При этом основной вклад в разделение ОАФ на подтипы вносят гены, связанные с ремоделированием внеклеточного матрикса и участвующие в воспалительных процессах.

Для сравнения состава фибробластов опухоли и нормальной ткани были проанализированы 4 набора данных РНК секвенирования одиночных клеток нормальных тканей яичников и фаллопиевых труб 45 пациентов. При сравнении нормальных и опухолевых тканей обнаружена только одна общая популяция фибробластов - васкулярная. При этом в нормальных тканях присутствуют васкулярные фибробласты как с воспалительной, так и гормон-стимулированной сигнатурой, тогда как в первичных опухолях яичника только с гормон-стимулированной, а в метастазах только с воспалительной.

Было обнаружено, что представленность отдельных популяций ОАФ носит пациент-специфический характер и демонстрирует высокую степень сходства между первичной опухолью и соответствующими метастазами, независимо от анатомической локализации. Более того, стромальное микроокружение опухоли может быть глобально разделено на 2 типа. Для одной группы пациентов как первичные опухоли, так и метастазы характеризуются иммунно-васкулярной нишей, включающей воспалительные ОАФ, Т- и В-клетки и развитую эндотелиальную сеть. Для другой группы пациентов характерна матрикс-продуцирующая ниша, преимущественно представленная матрикс-продуцирующими ОАФ и макрофагами. Благодаря анализу данных пространственной транскриптомики опухоли яичника в составе матрикс-продуцирующей ниши были выделены два специфических скопления клеток, в каждом из которых локализуются определенные популяции ОАФ. В состав IFN $\gamma$ -индуцированного агрегата входят ОАФ, макрофаги и эпителиальные клетки, генная сигнатура которых связана с ответом на IFN $\gamma$ , а также CD8+ Т клетки. Гипоксийный агрегат представлен ОАФ с гипоксийной сигнатурой, TREM2+ макрофагами и tip-эндотелиальными клетками.

## **ОСОБЕННОСТИ ТРАВМАТИЗМА СОВРЕМЕННОГО МЕГАПОЛИСА**

Науменко М.В., Литвина Е.А., Малетин С.Э.

Глобальное внедрение средств индивидуальной мобильность (СИМ) способствует развитию и преобразованию городской инфраструктуры. Экологичность, финансовая доступность, скорость передвижения, рационализация маршрутов и разнообразие досуга - положительные стороны использования СИМ, однако травматизм, связанный с этим видом транспорта, вносит негативные последствия в эволюцию городской инфраструктуры в сфере индивидуальной мобильности.

Актуальность травм, связанных с средствами индивидуальной мобильности, подтверждаются множественными научными публикациями, сохраняющимся повсеместным высоким уровнем травматизма. В соответствии с «Планом мероприятий, направленных на дополнительное нормативно-правовое регулирование развития средств индивидуальной мобильности и обеспечение безопасности дорожного движения при их использовании», утвержденным правительством РФ с 2023 начато проведение научно-исследовательской работы по определению характерных травм, их лечения и реабилитации при использовании СИМ.

Доля травм с использованием средств индивидуальной мобильности в структуре городского травматизма составляет 18%. За 2024г в травматизме связанным с СИМ, было вовлечено в исследование 4678 человек. Продолженное в 2025г исследование включило показано схожие цифры в 4567 случаев. Средний возраст пострадавших составил 35 лет. Следует отметить что более 30% пострадавших потребовали стационарного лечения. Среди последних, частота травм, несущих непосредственную угрозу жизни (сочетанная, политравма) превысила уровень 9%.

Согласно полученным данным, среди всех СИМ лидерами по травматизму являются электросамокаты, которые в последние 5 лет лидируют на рынке кикшеринга.

Наиболее характерными видами травм по локализации крацио - фациальная травма. пояс верхних конечностей, и травмы голени. Однако, травмы связанные с использованием СИМ являются высокоэнергичными, что подтверждает выявление серии случаев со скрытыми повреждениями паренхиматозных органов и подчеркивает необходимость соблюдения высокого уровня клинической настороженности и проведения диагностики в соответствии с протоколами обследования пациента при политравме даже при отсутствии явных клинических признаков.

Проведенное многоцентровое исследование позволило оценить структуру, уровень и клинические особенности тяжелых повреждений, связанных с использованием СИМ в мегаполисе. Выявленное доминирование электросамокатов в структуре травматизма, связанного с СИМ, объясняется их широкой доступностью, высокой скоростью и отсутствием требований к навыкам управления, что создает ложное ощущение безопасности, сформированы практические рекомендации включающие использование как индивидуальных защитных средств, так и алгоритмов обследования и лечения.

## **ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ ПРИ СЕКВЕСТРАЦИИ ЛЕГКОГО. КЛИНИЧЕСКОЕ НАБЛЮДЕНИЕ.**

Абдуллаев А.Г., Нечаенко А.М., Харбедия Е.Х., Якунин Е.А.

Хирургическое отделение КБ 123 ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина

Секвестрация легкого — аномалия развития легочной ткани. При данной патологии происходит обособление фрагмента легкого от бронхиального дерева, а кровоснабжение осуществляется за счет aberrантной артерии, чаще всего отходящей от нисходящего отдела аорты. Основным методом лечения остается хирургическое вмешательство, однако международные исследования указывают на высокий риск операционных осложнений, что подчеркивает необходимость тщательной оценки показаний к операции и послеоперационного мониторинга. В презентации описан клинический случай 28-летней пациентки с диагнозом «Секвестрация левого легкого». Клиническая картина складывалась из периодических эпизодов кровохарканья, болей в левой половине грудной клетки, а также признаков воспаления в области пораженной доли легкого, в связи с чем было принято решение о хирургическом лечении. Выполнена анатомическая резекция левого легкого – нижняя лобэктомия. Интраоперационно были подтверждены редкие варианты сосудистой анатомии, а также выраженный спаечный процесс в проекции междолевой борозды. Послеоперационный период протекал гладко. При последующем наблюдении за пациенткой в течение года признаков воспаления в легких не отмечалось. Данный пример демонстрирует значение современного комплексного обследования при жалобах на кровохарканье и повторяющиеся пневмонии в одной и той же анатомической зоне легкого, даже у пациентов молодого возраста. Раннее выявление и своевременное лечение подобной патологии способствуют улучшению прогноза и снижению риска осложнений заболевания.

# КИШЕЧНЫЙ ФАГЕОМ ПРИ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ МЕЛНОМЕ: АЛГОРИТМ АНАЛИЗА И ПЕРСПЕКТИВЫ

Захаревич Н. В., Климина К. М.

Лаборатория геномных исследований и вычислительной биологии

За последние 25 лет, во всем мире отмечается неизменная тенденция к постоянному росту заболеваемости метастатической меланомой – одним из наиболее смертельных первичных кожных новообразований, что делает чрезвычайно актуальной проблему повышения эффективности её лечения. Иммунотерапия ингибиторами иммунных контрольных точек (ИИКТ) уже обеспечила значимые улучшения в клинических исходах. Однако, эффективность ИИКТ существенно варьирует между пациентами и, как показывают последние данные, зависит от кишечной микробиоты (КМ). Исследования в данной области преимущественно сосредоточены на бактериальной составляющей КМ, тогда как вклад фагеома кишечника остаётся практически неизученным. В связи с этим, мы поставили перед собой задачу изучить кишечные фагеомы пациентов с метастатической меланомой (отвечающих и не отвечающих на иммунотерапию) для оценки роли бактериофагов и их потенциала в качестве прогностических маркеров исхода терапии ИИКТ. Для решения поставленной задачи нами был разработан вычислительный алгоритм идентификации и анализа фагов в метагеномных данных, который был применён к семи наборам: шести опубликованным метагеномным коллекциям и собственной российской когорте. Всего в исследование вошло 490 образцов кишечных метагеномов, в том числе 62 – из России. Идентификация и аннотация фаговых последовательностей позволили нам выделить 1185 кандидатов в прогностические маркеры ответа на иммунотерапию. Из них подавляющее большинство – 1175 (99,2%) – было ассоциировано с ответом на терапию, и лишь 10 (0,8%) – с отсутствием ответа. Полученные нами результаты показали преобладание умеренных фагов в КМ, что согласуется с литературными данными. По итогам таксономической аннотации около 40% фаговых последовательностей не удалось отнести к известным таксонам, среди классифицированных преобладают *Faecalibacterium phages* (~ 7%) и *Bacillus phages* (~ 4,5%), хотя их доли и невелики. В число наиболее частых бактериальных хозяев полученных фагов вошли *Phocaeicola*, *Bacteroides*, *Alistipes*, *Bifidobacterium* и *Faecalibacterium*. Для проверки гипотезы о молекулярной мимикрии мы сопоставили фаговые последовательности с известными, доступными в открытых базах данных эпитопами опухоле-ассоциированных антигенов (ОАА). Проведённый анализ выявил около 4000 последовательностей в фагах со значимым сходством ( $E\text{-value} \leq 0,001$ ) с эпитопами, что согласуется с недавними исследованиями, демонстрирующими сходство между микробными/вирусными пептидами и ОАА. Такой пул мимикрирующих антигенов потенциально способен индуцировать перекрестно-реактивный Т-клеточный ответ, усиливая противоопухолевый иммунитет и повышая вероятность ответа на иммунотерапию. Таким образом, проводимый нами анализ, уже на данном шаге показывает, что фагеом кишечника – особенно умеренные бактериофаги – представляет собой перспективный источник неинвазивных прогностических маркеров эффективности иммунотерапии при метастатической меланоме и потенциальную терапевтическую мишень. Новизна работы заключается в разработке алгоритма анализа и масштабном сравнительном анализе фаговых профилей у пациентов с различным клиническим ответом, ранее никем не проводившимся.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (№ 23-75-10125, <https://rscf.ru/project/23-75-10125/>).

# РАЗРАБОТКА ТКАНЕЙ ИЖЕНЕРНОГО КОНСТРУКТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНСУЛИНДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ

Е.В.Загайнова<sup>1,2</sup>, А.В. Кашина<sup>2</sup>, А.С. Каширина<sup>2</sup>, П.С.Ермакова<sup>2</sup>, М.А Батенькин<sup>3</sup>, С.Э. Чесноков<sup>3</sup>, А.Ю. Богомолова<sup>1</sup>, А.В. Панова<sup>1,4</sup>, А.А. Баринова<sup>1</sup>, А.Н. Богомазова<sup>1</sup>

Лаборатория клеточной биологии

<sup>1</sup> ФНКЦ Физико-химической медицины им. Ю.М.Лопухина ФМБА России, Москва, Россия. Лаборатория

<sup>2</sup> Институт экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий, ПИМУ, Нижний Новгород, Россия

<sup>3</sup> Институт металлоорганической химии РАН, Нижний Новгород, Россия

<sup>4</sup> Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

Инсулин-дефицитные состояния включают: сахарный диабет 1 типа - аутоиммунное заболевание с разрушением  $\beta$ -клеток, заболевания поджелудочной железы (некрозы, опухоли, фиброз) с развитием дефицита островков Лангенгарса. Несмотря на успех в трансплантации островков для лечения инсулин-дефицитных состояний, остаются нерешенные проблемы: нехватка донорских тканей, иммунное отторжение трансплантата, быстрое угасание функциональной активности<sup>1</sup>. Создание и внедрение технологии трансплантации инсулин-продуцирующих клеток (островков), защищенных от иммунного ответа, откроет новые перспективы для лечения таких пациентов.

Цель исследования - разработка высокоэффективной системы на основе дифференцированных из ИПСК  $\beta$ -клеток в иммуноизолирующей капсule для компенсации инсулин-дефицитов. Работа выполняется в рамках междисциплинарного РНФ проекта. Завершен второй год исследований.

Разработана методика формирования альгинатных капсул на основе солей трехвалентных и двухвалентных металлов. Трехвалентные металлы проявляют более высокую эффективность в сшивке альгиновой кислоты по сравнению с барием. По данным *in vitro* тестирования капсулы, сшитые солями трехвалентных металлов более стабильны в физиологическом растворе, но не стабильны в биологических жидкостях и не проходят тест на деформацию осмотическим давлением. Капсулы, сшитые хлоридом бария, успешно прошли тесты на стабильность и устойчивость<sup>2</sup>. В *in vitro* биологическом тестировании альгинатные капсулы, сшитые катионами трехвалентных металлов и хлоридом бария не оказывали цитотоксического эффекта и были безопасны для инкарпуляции. Не наблюдалось адгезии макрофагов к капсулам, что указывает на снижение воспалительной реакции. Островки Лангерганса помещенные в капсулы, с хлоридом бария оставались жизнеспособными и функционально активными. Проведено *in vivo* тестирование на стерптоzoциновой модели диабета у животных.

Выбраны четыре линии ИПСК с высокой представленностью маркеров дефинитивной энтодермы для получения инсулин-продуцирующих  $\beta$ -клеток. Подобран протокол дифференцировки, выявлено, что создание гипертонических условий повышает эффективность почти вдвое, изменена продолжительность некоторых стадий дифференцировки. Выполнена эффективная дифференцировка в энтодермальном направлении двух линий ИПСК: первичной и гипоиммуногенной.

**Финансирование:** Работа выполнена при финансовой поддержке междисциплинарного РНФ проекта 24-65-00044.

## Список литературы

1. Bellofatto K. et al. Current Transplantation Reports. 2021. V. 8. P. 57–66
2. Ermakova P., et al. Polymers. 2024. №. 17. P. 2479

## **ОТ МИРНОГО СОТРУДНИЧЕСТВА К ПАТОГЕННОСТИ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВИРУЛЕНТНОТИ АДГЕЗИВНО-ИНВАЗИВНОЙ *Escherichia coli* (AIEC).**

Побегуц О.В., Галямина М.А., Трусов Н.В., Михайлычева М.В., Авшалумов А. С., Семенов А.А., Уразаева Д.Р., Борзенко Н.И., Зайцев И.Л., Богомякова М.Е., Перепелов А.В., Шпирт А.М., Горбачев А.Ю.

Лаборатория протеомного анализа ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России.

Адгезивно-инвазивные *Escherichia coli* (AIEC) были впервые обнаружены и отнесены к патобионтам в 1998 году A. Darfeuille-Michaud. С тех пор получено множество штаммов AIEC, выделенных из биологического материала пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. AIEC отличаются способностью прикрепляться и проникать внутрь эпителиальных клеток, выживать и размножаться внутри макрофагов, а также провоцировать воспалительный процесс. Доказано, что в процессе колонизации в организме хозяина определенные факторы микроокружения способствуют переключению комменсальных штаммов *E. coli* на патогенный фенотип. Однако механизмы такого переключения не известны. Сравнительный фенотипический анализ 34 изолятов *E. coli*, полученных от пациентов с болезнью Крона (БК) и 6 контрольных от здоровых доноров, показал, что в отличие от контрольных, практически все БК-изоляты обладают адгезивно-инвазивным фенотипом и способностью выживать в макрофагах. Показано, что в отличие от контрольных изолятов, пропионат (РА) в качестве источника углерода вызывает значительное увеличение, а глюкоза - снижение вирулентных свойств БК-изолятов. Сравнительный анализ геномных последовательностей всех 40 изолятов не выявил уникальных для AIEC генетических детерминант, что указывает на участие совокупности нескольких факторов, определяющих вирулентный фенотип. Показано, что в геномах AIEC чаще встречаются гены pdu-оперона, rarp-оперона, кодирующего компоненты Р-пилей, гены компонентов секреции TSS3, TSS4 и TSS6, а также большое количество нРНК. Для более глубокого анализа был отобран AIEC ZVL, проведен тщательный сравнительный анализ его вирулентного (ZVL-PA) и невирулентного (ZVL-Glu) фенотипа. Обнаружено, что вирулентные свойства ZVL-PA формируются постепенно, достигая максимума к 4-му пассажу на минимальной среде с РА, что коррелирует с повышением экспрессии генов утилизации пропионата и гексуронатов. Постепенный характер формирования вирулентных свойств указывает на возможное участие эпигенетических факторов в регуляции фенотипического перехода. Сравнительный анализ полногеномных последовательностей ZVL-PA и ZVL-GLU не выявил каких-либо изменений в геноме при переходе от одного источника углерода к другому. Сравнительный анализ метилома показал, что переход на РА-содержащую среду сопровождается специфичным метилированием промоторных областей генов, связанных с метаболизмом и адаптацией к стрессу. Сравнительный анализ транскриптома и протеома ZVL-PA и ZVL-Glu показал, что РА вызывает глобальную перестройку, переключая клетку в состояние метаболического стресса и одновременно активируя ключевые системы, необходимые для формирования вирулентного фенотипа AIEC - системы адгезии, подвижности, ответа на стресс оболочки, коммуникации и модификации клеточной поверхности. Предполагается участие путей утилизации гексуронатов (путь Эшвелла) и синтеза UDP- $\alpha$ -D-глюкуронатов в формировании капсульных и липополисахаридов (ЛПС). Это сопровождается регуляторными событиями с участием глобального репрессора H-NS, сигма-факторов groS, groE, hupAB и регуляторных нуклеоид-ассоциированных нРНК. С помощью одномерной и двумерной спектроскопии  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР установлено, что состав и структура полисахаридов О-антитела ZVL-PA и ZVL-Glu не отличаются. Анализ липида А с помощью газово-жидкостной хроматографии и МАЛДИ масс-спектрометрии показал, что в случае ZVL-PA в составе липида А содержится 6 ацильных групп и все они имеют нечетное

количество атомов углерода, что нехарактерно для *E. coli*. Более интенсивные полосы при электрофоретическом разделении капсулных полисахаридов у ZVL-PA по сравнению с ZVL-Glu указывает на активацию синтеза и транспорта компонентов капсулы. С помощью с транспозон-инсерционного секвенирования (Tn-seq), а также нокаутных мутантов показано, что для формирования вирулентного фенотипа AIEC необходимо участие генов синтеза и транспорта капсулных полисахаридов, ЛПС, поринов, генов биосинтеза нуклеотид-аминосахаров, H-NS, ihfAB и нуклеоид-ассоциированных нРНК. Предполагается, что регуляция переключения AIEC на вирулентный фенотип происходит на уровне изменения архитектуры нуклеоида с участием нуклеоид-ассоциированных белков и нРНК.

**ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИИ ИПСК ИЗ МСК ПУЛЬПЫ ЗУБА ПАЦИЕНТА С  
ПРОГРЕССИРУЮЩЕЙ ОССИФИЦИРУЮЩЕЙ ФИБРОДИСПЛАЗИЕЙ**  
**Голубинская П.А.<sup>1</sup>, Лиманская Т.В.<sup>1</sup>, Ручко Е.С.<sup>1</sup>, Копылов Е.Д.<sup>2</sup>, Деев Р.В.<sup>2</sup>, Еремеев  
А.В.<sup>1</sup>**

1. *ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва, Россия, лаборатория трансляционной биомедицины*

2. *Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия*

Прогрессирующая оссифицирующая фибродисплазия (ФОП) — редкое наследственное заболевание с распространённостью примерно 1 случай на 1,5–2,0 млн человек. Основная причина болезни заключается в мутации гена *ACVR1*, который кодирует одноимённый рецептор, участвующий в регуляции остеогенеза. Мутация нарушает внутриклеточную передачу сигналов, что приводит к гетеротипическому окостенению мягких тканей — мышц, сухожилий и связок. Клиническая картина заболевания может варьироваться: у некоторых пациентов наблюдаются дополнительные симптомы, предположительно связанные с редкими мутациями в других доменах рецептора *ACVR1*. Несмотря на проведенные исследования, точные клетки-предшественники, ответственные за патологический остеогенез, до сих пор не идентифицированы. Предполагают, что в процесс вовлечены несколько типов клеток, включая мезенхимальные стромальные стволовые клетки (МСК) и эндотелиальные клетки. В настоящее время эффективного лечения ФОП не существует, что подчёркивает необходимость поиска новых терапевтических мишеней. Перспективным направлением является генная терапия, успешно применяемая при других моногенных заболеваниях. Несколько экспериментальных подходов, включая таргетные ингибиторы сигнального пути *ACVR1*, находятся на стадии доклинических и клинических испытаний. Известно, что индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) могут стать хорошим инструментом для изучения подобных патологий. Однако к настоящему моменту нет данных о создании *in vitro* модели данного заболевания на основе ИПСК для изучения этиопатогенеза, безопасности и эффективности новых подходов терапии ФОП.

С целью создания *in vitro* модели ФОП была проведена работа по получению и характеристике линии ИПСК из МСК пульпы зуба пациента с мутацией в гене *ACVR1*.

На первом этапе из пульпы молочного зуба пациента с ФОП была получена первичная линия МСК. В качестве контроля использовалась линия МСК пульпы молочного зуба условно здорового донора. Фенотип МСК был подтвержден с помощью проточной цитофлуориметрии: CD90+, CD73+, CD105+ >90%; CD45-, CD34- <2%. Остеогенную дифференцировку полученных линий проводили по стандартному протоколу в течение 21 дня с последующей окраской ализариновым красным. По результатам визуальной оценки количество солей кальция было выше в культурах МСК пульпы зуба. Репрограммирование МСК *ACVR1* в ИПСК было проведено с помощью эпизомальных векторов *SOX2*, *KLF4*, *L-MYC*, *LIN28*, *OCT3/4*, *EBNA1*, *p53* с использованием электропоратора Neon. Для оценки интеграции эпизом в полученных клонах ИПСК проводилась ПЦР, в качестве контроля использовалась геномная ДНК линии ИПСК, полученных не эпизомальным методом (Bogomilakova M.E., et al., 2021). Было выявлено, что все клоны ИПСК содержат интеграции *p53* и *EBNA1*. Путём визуальной оценки морфологии колоний из 23 клонов было выбрано два, которые подверглись дальнейшему исследованию. С помощью ПЦР была выявлена экспрессия генов плюрипотентности *REXI*, *SALL4*, *OCT4*. Исследование клонов 17 и 22 показало, что мутация пациента в ИПСК присутствует, линии ИПСК, так же как и пациент гетерозиготны по с.617G>A (p.Arg206His). STR-анализ подтвердил, что клоны 17 и 22 получены из МСК пациента с ФОП. Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Генно-клеточная регуляция регенерации тканей опорно-двигательного аппарата и разработка лекарственных препаратов на их основе» FURG-2025-0050. 1024100700005-8.

# ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ АКТИВИРУЮЩИХ РЕЦЕПТОРОВ В ИММУННОМ ОТВЕТЕ NK-КЛЕТОК НА КАРДИАЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ИПСК

Кастуева Э. А., Шерман Д.К., Богомякова М. Е., Богомазова А.Н., Лагарькова М.А.

Лаборатория клеточной биологии

Дифференцированные производные индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) являются перспективным источником клеток для регенеративной медицины. Особый интерес представляют кардиальные производные ИПСК как инструмент для моделирования болезней и терапии сердечной недостаточности. Аллогенная трансплантация тканей, полученных из кардиальных производных ИПСК, представляет собой перспективный подход, однако сопряжена с высоким риском иммунного отторжения. В то же время использование пациент-специфических клеток в теории должно сопровождаться минимальными рисками иммунной реакции. Однако ранее в нашей лаборатории была показана чувствительность дифференцированных производных ИПСК к цитотоксическому действию как аллогенных, так и аутологичных NK-клеток. Это объясняется нарушением экспрессии лигандов к активирующему и ингибирующему рецепторам NK-клеток. Целью данного исследования является изучение роли активирующих рецепторов в иммунном ответе NK-клеток на кардиальные производные ИПСК.

Методом направленной дифференцировки из линий ИПСК дикого типа и ИПСК с нокаутом гена *B2M* были получены кардиальные производные (далее — iPS-CD и ΔiPS-CD, соответственно), экспрессирующие сердечный тропонин Т. Анализ экспрессии NK-клеточных лигандов методом проточной цитометрии показал, что по сравнению с исходными фибробластами, использованными для репрограммирования, iPS-CD характеризуются повышенной экспрессией лигандов активирующих рецепторов DNAM-1 (PVR и Nectin-2) и NKG2D (MICA). В то же время экспрессия *B2M* и HLA-I — лигандов ингибирующих рецепторов — была снижена у iPS-CD дикого типа и полностью отсутствовала у ΔiPS-CD. Таким образом, на поверхности кардиальных производных ИПСК формируется профиль, смешанный в сторону преобладания активирующих сигналов. Функциональные иммунные тесты с использованием мононуклеаров периферической крови семи аллогенных доноров подтвердили высокую способность iPS-CD к активации цитотоксического NK-клеточного ответа. В то же время нокаут гена *B2M* дополнительно усиливал цитотоксичность NK-клеток, что согласуется с механизмом «отсутствия своего». Эксперименты с блокирующими антителами продемонстрировали, что блокирование DNAM-1 значительно снижает цитотоксический ответ NK-клеток против iPS-CD, тогда как блокирование NKG2D оказывает менее выраженное влияние. В случае ΔiPS-CD оба рецептора вносили сопоставимый вклад в активацию NK-клеток. Полученные данные указывают на ключевую роль сигнального пути DNAM-1 в активации NK-клеток кардиальными производными ИПСК и целесообразность редактирования генов его лигандов (*PVR* и *NECTIN2*) для создания универсальных клеточных продуктов с пониженной иммуногенностью.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, грант № 25-25-00945.

## КОМБИНИРОВАННЫЕ МЕТАБОЛОМНЫЕ ПОДХОДЫ В ДИАГНОСТИКЕ ВЗК

Захаржевская Н.Б.<sup>1</sup>, Эрдес С.И.<sup>2</sup>, Белоусова Е.А.<sup>3</sup>, Кардонский Д.А.<sup>1</sup>, Воробьева Е.А.<sup>1</sup>, Шагалеева О.Ю.<sup>1</sup>, Казакова В.Д.<sup>1</sup>, Колесникова И.В.<sup>1</sup>, Кашатникова Д.А.<sup>1</sup>, Калачнюк Т.Н.<sup>1</sup>, Ефимов Б.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. Н.И. Лопухина Федерального медико-биологического агентства, Москва, Российская Федерация;

<sup>2</sup>Кафедра пропедевтики детских болезней Клинического института здоровья детей им. Н.Ф. Филатова, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Россия.

<sup>3</sup>Кафедра гастроэнтерологии Московского областного научно-исследовательского клинического института им. М.Ф. Владимирского, Россия;

**Введение** Микробиота кишечника существенно различается по своему составу у детей и взрослых как в нормальных условиях, так и при воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК). Эти структурные отличия сопровождаются заметными изменениями в микробной метаболической активности. Целью исследования было выявление новых ранних диагностических биомаркеров ВЗК методами метаболомного и метагеномного анализа у детей и взрослых с язвенным колитом (ЯК) и болезнью Крона (БК).

**Методы:** Исследуемая когорта включала две отдельные возрастные группы с подтвержденным диагнозом ВЗК. Взрослые участники (средний возраст =  $57,5 \pm 15,5$  лет) — всего 45 человек, а дети (средний возраст =  $10,5 \pm 5,5$  лет) с диагностированными заболеваниями, такими как болезнь Крона ( $n=35$ ) и язвенный колит ( $n=35$ ). Секвенирование гена 16S рРНК осуществлялось на платформе MinION™ Mk1B. Метаболомное исследование проводилось с помощью газовой хроматографии/масс-спектрометрии Shimadzu QP2010 Ultra с парофазным экстрактором Shimadzu HS-20. Для статистических сравнений между группами применяли непараметрический тест Манна-Уитни, t-критерия Стьюдена, дисперсионный анализ (ANOVA), тест Шапиро-Уилка, корреляцию Спирмена.

**Результаты:** Микробиологическое профилирование позволило определить *Streptococcus salivarius*, как универсальный метагеномный маркер, характеризующий развитие ВЗК у детей ( $\log_2\text{FoldChange}=3,31$ ,  $\text{FDR} < 0,0001$ ). Аналогично, *Escherichia coli* также может служить общим маркером ВЗК у детей, поскольку значительное увеличение его численности наблюдалось как при язвенном колите ( $\log_2\text{FoldChange}=2,45$ ,  $\text{FDR}=0,049$ ), так и при болезни Крона ( $\log_2\text{FoldChange}=3,45$ ,  $\text{FDR}=0,007$ ). Кроме того, метагеномный анализ выявил пять микробных сигнатур, обладающих потенциалом для диагностики болезни Крона: *Ralstonia insidiosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Erysipelatoclostridium ramosum*, *Blautia sp.* и *Coprococcus comes*. На основе комплексного метаболомного профилирования был разработан и подтвержден новый алгоритм для прогнозирования риска ВЗК у детей. Модель стратификации риска при БК выявляет пациентов с высоким риском на основе двух ключевых биомаркеров: повышенного коэффициента риска ВЗК и сниженного уровня скатола. Модель прогнозирования риска язвенного колита включает определение Kr и трех метаболитных биомаркеров, указывающих на повышенный риск: высокий коэффициент риска, повышенный уровень ацетата, сниженный уровень пентановой кислоты и измененную экскрецию п-крезола (4-метилфенола).

**Выходы:** Различия в метаболических и метагеномных профилях, выявленные у детей, могут отражать первоначальные изменения, связанные с ВЗК, что предоставляет важные сведения для исследования новых механизмов, лежащих в основе патогенеза этой группы заболеваний.

\*Работа выполнена при государственном финансировании проекта «IBD-ONCO 25–27», государственный регистрационный номер НИОКР 125030703327–1

**СТАЦИОНАР-ОРИЕНТИРОВАННАЯ ИНГАЛЯЦИОННАЯ ФАГОТЕРАПИЯ:  
ТРАНСЛЯЦИОННЫЙ ПОДХОД НА ОСНОВЕ ЛОКАЛЬНОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИИ  
*KLEBSIELLA PNEUMONIAE***

Городничев Р.Б., Кривуля А.О., Корниенко М.А., Малахова М.В., Зайчикова М.В.,  
Беспятых Д.А., Шитиков Е.А.

Лаборатория молекулярной генетики микроорганизмов

Вентилятор-ассоциированная пневмония (ВАП), вызванная полирезистентной *Klebsiella pneumoniae*, представляет серьезную проблему в лечении критических состояний. Ингаляционная бактериофаговая терапия рассматривается как перспективное дополнение к антибиотикам, однако её клиническое применение тормозится необходимостью персонализированного подбора фагов. Альтернативным подходом является использование стационар-ориентированных фаговых коктейлей, разработанных с учётом локальной эпидемиологии возбудителя.

Целью настоящей работы была оценка эффективности и безопасности стационар-ориентированного фагового коктейля, разработанного на основе локальной эпидемиологии *K. pneumoniae*.

Проведено проспективное одноцентровое открытое нерандомизированное пилотное сравнительное исследование. Стационар-ориентированный фаговый коктейль (8 фагов) сформирован по результатам ретроспективного анализа капсульного разнообразия и *in vitro* чувствительности к фагам локальных изолятов *K. pneumoniae*. В исследование включён 21 пациент с хроническим критическим состоянием после тяжёлого повреждения головного мозга, трахеостомией и длительной искусственной вентиляции легких, с клинико-рентгенологически и микробиологически подтверждённой ВАП, обусловленной *K. pneumoniae*. Все пациенты получали стандартную антибиотикотерапию и были распределены на три группы ( $n=7$  в группе): целевая фаготерапия (PT; коктейль активен *in vitro*), контроль неспецифического взаимодействия (NTPC; коктейль неактивен *in vitro*) и контроль без применения фагов (CON). Ингаляционное введение коктейля осуществляли через небулайзер 2 раза в сутки в течение 14 дней. Первичной конечной точкой являлась микробиологическая эрадикация *K. pneumoniae* к 14-му дню; вторичные конечные точки включали клинический ответ и безопасность, оцениваемые по клиническим и лабораторным параметрам.

К 14-му дню микробиологическая эрадикация *K. pneumoniae* была достигнута у 86% (6/7) пациентов группы PT, у 57% (4/7) группы CON и не наблюдалась в группе NTPC. Значимое снижение бактериальной нагрузки при внутригрупповом анализе отмечено в группах PT и CON. В группе PT чаще регистрировалась ранняя и устойчивая эрадикация возбудителя; медианное время до эрадикации составило 7 дней против 14 дней в группах CON и NTPC. В группах PT и NTPC у части пациентов наблюдалась смена штамма *K. pneumoniae* с изменением капсульного типа и профиля чувствительности к антибиотикам и/или бактериофагам. Межгрупповые различия по клинико-лабораторным показателям к 14-му дню отсутствовали. В группе PT зафиксировано статистически значимое внутригрупповое улучшение показателя оксигенации ( $SpO_2/FiO_2$ ), а также тенденция к более ранней дезскалации респираторной поддержки и прекращению антибактериальной терапии. Ингаляционное введение бактериофагов характеризовалось хорошей переносимостью; клинически значимых нежелательных явлений, связанных с терапией, не зарегистрировано.

Полученные данные демонстрируют реализуемость трансляционного подхода «от локальной эпидемиологии к клиническому применению» и обосновывают дальнейшую проверку стационар-ориентированных фаговых коктейлей в более крупных контролируемых исследованиях.

# **ТРАНСКРИПТОМНЫЕ СИГНАТУРЫ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СОСТОЯНИЯ ХОНДРОЦИТОВ ПРИ ДЕГЕНЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СУСТАВОВ.**

Веретин Е.С.<sup>1</sup>, Олехнович Е.И.<sup>2</sup>, Еремеев А.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория трансляционной биомедицины

<sup>2</sup>Лаборатория клеточной биологии

Остеоартроз (OA) является наиболее распространенным дегенеративно-дистрофическим заболеванием суставов, которое характеризуется прогрессирующей деградацией суставного хряща, субхондральным склерозом и синовитом. Ключевой особенностью в патогенезе OA является патологическая трансформация хондроцитов. Однако скоординированные транскриптомные сигнатуры и молекулярные механизмы, лежащие в основе такой трансформации, остаются недостаточно изученными.

Целью данной работы явилось выявление транскриптомных сигнатур в хондроцитах при OA. В ходе исследования был проведен сравнительный анализ транскриптомов нативных хондроцитов, выделенных из хрящевой ткани пациентов с OA и относительно здоровых доноров, а также хондроцитов, полученных из ИПСК. Биоинформационический анализ включал контроль качества (FastP), выравнивание на референсный геном (STAR), подсчет количества прочтений (HTSeq), анализ дифференциальной экспрессии (DESeq2), обогащение генов по функциональной принадлежности (GSEA) и анализ взвешенных сетей коэкспрессии генов (WGCNA) для выявления функциональных модулей.

Анализ дифференциальной экспрессии выявил 254 гена с повышенной и 145 генов со сниженной экспрессией в хондроцитах пациентов с OA. С помощью WGCNA были идентифицированы два биологически значимых коэкспрессионных модуля, тесно коррелированные с OA. Модуль Green объединяет гены, ответственные за восприятие механического стресса и взаимодействие с внеклеточным матриксом (*ITGA3*, *PKD1*), передачу сигнала (*FYN*) и перестройку цитоскелета (*LASPI*, *SEMA3F*, *PLXND1*). Модуль Greenyellow включает группу генов, ассоциированных с усилением системы reparации ДНК (*ERCC1*), подавлением апоптоза, переключением на гликолиз (*PFKP*), возникновением окислительного стресса (*SMOX*), с формированием фиброзного матрикса, эпителиально-мезенхимального перехода (*TGFBI*) и деградации внеклеточного матрикса (*PLAUR*).

Полученные результаты позволили сформулировать гипотезу о молекулярных механизмах патологической трансформации хондроцитов при OA. Активация генов модуля Green может представлять начальную адаптивную реакцию клетки на повреждение матрикса, ведущую к дедифференцировке. Последующее включение генов модуля Greenyellow знаменует переход к агрессивному патологическому фенотипу: клетка приобретает становится пролиферирующей, инвазивной, устойчивой к апоптозу, активно разрушающей нормальный внеклеточный матрикс и способствующей фиброзно-деструктивному ремоделированию ткани.

Таким образом, нам удалось выявить транскриптомные сигнатуры и возможные молекулярные механизмы, лежащие в основе патологической трансформации хондроцитов. Гены, представленные в коэкспрессионных модулях, могут выступать в качестве перспективных мишений для дальнейшего функционального анализа и терапии.

# ВОЗМОЖНОСТИ КОСВЕННЫХ МЕТОДОВ В КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКЕ ПОДКОЖНОГО И ВИСЦЕРАЛЬНОГО ЖИРООТЛОЖЕНИЯ В АБДОМИНАЛЬНОЙ ОБЛАСТИ

Э.А. Бондарева<sup>1</sup>, Б.А. Гарасько<sup>1</sup>, С.П. Щелыкалина<sup>2</sup>, Д.В. Николаев<sup>2</sup>, О.И. Парфентьева<sup>1</sup>,  
А.Н. Гаджиахмедова<sup>1</sup>, Э.В. Генерозов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства», Москва

<sup>2</sup> ООО НТЦ «МЕДАСС», Москва

Абдоминальное ожирение – хорошо известный фактор риска развития метаболического синдрома (МС), на фоне которого увеличиваются риски развития тяжелых неинфекционных хронических заболеваний. Биоимпедансный анализ состава тела человека (БИА) широко применяется во всем мире для оценки состава тела. В мире активно разрабатываются и исследуются возможности локальных отведений биоимпедансных измерений для раздельной количественной оценки подкожного и висцерального жироотложения в дополнение к традиционной схеме оценки состава тела. Поиск и разработка методов точной количественной оценки подкожного и висцерального жира в абдоминальной области, лишенных ограничений КТ и МРТ – актуальная задача, востребованная медицинскими специалистами во многих областях.

Целью исследования является: оценка взаимосвязи показателей, косвенно характеризующих жироотложение в абдоминальной области, со значениями площади поперечного сечения подкожной и висцеральной жировой ткани, определенными с использованием компьютерной томографии (КТ).

**Материалы и методы.** Проведено одноцентровое, поперечное, обсервационное обследование 47 добровольцев (31 женщина и 16 мужчин) в возрасте от 20 до 77 лет. Обследование проводились натощак в первой половине дня. Был проведен биоимпедансный анализ состава тела, определение локальных импедансных характеристик (R50sc и R50visc) абдоминальной области ABC-02 «МЕДАСС» (НТЦ «МЕДАСС»). Проводили КТ органов брюшной полости и забрюшинного пространства (ADVIN Ventum Pro 128). Для расчета площади поперечного сечения подкожной (SAT) и висцеральной (VAT) жировой ткани на уровне проекции тела поясничного позвонка L4 использовали модуль «Висцеральный жир» Vidar Dicom Viewer (ПО Видар). Критерии исключения: несовершеннолетние, наличие металлических имплантов, наличие кардиостимулятора, беременность и лактация, диагностированные заболевания почек, прием диуретиков.

**Результаты.** Антропометрические признаки – обхват талии и сагиттальный диаметр живота – показали сильную корреляционную связь с КТ-оценкой площади поперечного сечения висцерального жира. Жировая масса и R50sc скоррелированы с VAT умеренно. Один из наиболее перспективных с точки зрения практического применения результатов исследования – тесная линейная связь между оценками жировой массы тела, полученной в стандартном отведении ABC-02 «МЕДАСС» и площадью поперечного сечения подкожной жировой клетчатки в абдоминальной области. Получаемые в рутинном применении ABC «МЕДАСС» оценки жировой массы могут быть конвертированы в показатель SAT без каких-либо дополнительных измерений. Активное сопротивление в «висцеральном» отведении, которое по данным других исследований, позволяет оценить количество VAT с достаточно высокой точностью, не показало каких-либо значимых связей с результатами КТ.

## ПРЕДАСТМА – ПУТЬ К РЕШЕНИЮ ПРОБЛЕМЫ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ

Комов В.В.

Лаборатория клинической иммунологии

БРОНХИАЛЬНАЯ АСТМА (БА) – одно из самых распространённых и быстро распространяющихся заболеваний в мире. По данным ВОЗ около 262-340 миллионов человек в мире страдают астмой. В России - около 5-7% взрослых и 10% детей. БА – гетерогенное заболевание, резко сокращающее качество жизни и быстро приводящее к инвалидизации. Основными методами лечения остаются глюкокортикоидные препараты и  $\beta_2$ -симпатомиметики. Эта терапия носит симптоматический характер. 20% Больных страдают тяжёлой формой, что говорит о низкой эффективности существующих методов лечения.

*БА – воспалительное заболевание органов дыхания, основным клиническим признаком которого является приступ удушья, а основным патогенетическим механизмом – бронхоспазм.* Первую классификацию БА предложили в 1969 году А.Д. Адо и П.К. Булатов, выделив две формы – инфекционно-зависимую и не инфекционно-зависимую (атопическую). Данная классификация до настоящего времени остаётся актуальной, при этом на сегодняшний день выделяется до 10 фенотипов заболевания. Авторы выделили стадию предастмы (ПА), трактуя её как комплекс начальных патологических состояний дыхательных путей, которые значительно повышают риск развития бронхиальной астмы. Наши многолетние исследования убедительно доказывают необходимость раннего начала лечения БА, начиная уже на стадии ПА. Это потребовало объективизировать её диагностику. Изучение анамнестических и лабораторных данных позволяют сформулировать только предварительный диагноз. Для достоверности постановки окончательного диагноза мы предложили использовать оценку бронхо-рецепторного аппарата (БРА) на предмет выявления его готовности к развитию бронхоспазма. Это возможно при исследовании функции внешнего дыхания в пробах с нагрузкой. Для оценки используются две характеристики гиперреактивность и гиперчувствительность. В целях конкретизации и возможности статистической обработки данных был разработан коэффициент чувствительности БРА, определяемый как  $\ln$  отношения уровня падения ФВД к величине пороговой дозы провоцирующего фактора. У больных ПА и БА он больше 1,0. Данный подход позволил конкретизировать понятие ПА **как доклинической стадии БА, характеризующейся наличием латентной гиперчувствительности БРА на фоне воспаления органов дыхания**. Такой подход повышает комплаентность работы с пациентом, позволяет назначать адекватную терапию, в т.ч. – методы экстракорпоральной гемокоррекции. Как показали многолетние наблюдения, данная тактика позволяет существенно отодвинуть трансформацию ПА в развёрнутую БА и предупредить развитие тяжёлых форм БА.

# **ИСКУССТВЕННЫЙ ИНТЕЛЛЕКТ И ОМИКСНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПРОМЫШЛЕННОЙ МЕДИЦИНЕ. ПИЛОТНЫЙ ПРОЕКТ «ЛЕСНОЙ»**

**Боташева Ф.Б., Буйлова Н.Н., Горбачев А.Ю., Генерозов Э.В., Климина К.М.,  
Загайнова Е.В.**

**Клиническая больница 123, лаборатории протеомного анализа, молекулярной генетики  
человека, геномных исследований и вычислительной биологии**

Разработка индивидуальных траекторий наблюдения, лечения, медицинской и социальной реабилитации для работников критически важных отраслей промышленности является новым направлением персонализированной промышленной медицины. Традиционно, для наблюдения за здоровьем работников используются профилактические ежегодные осмотры и углубленная диспансеризация. Однако, для более детального персонального анализа статуса здоровья и выработки персональных рекомендаций этого недостаточно. Современная биомедицина предлагает для оценки врожденных и приобретенных рисков заболеваний, а также ускоренного старения технологии генетического и эпигенетического анализа. Для всестороннего анализа первичного статуса здоровья требуется переработка большого количества данных, в сочетании которых необходимо проследить корреляции и риски развития заболеваний, поэтому к анализу привлекается искусственный интеллект.

**Цель исследования –** на основе оцифрованных данных о соматическом состоянии, генетических, эпигенетических, иммунологических показателей с использованием алгоритмов ИИ выявить риски заболеваний, ускоренного старения и разработать персональные траектории ведения сотрудников для продления трудовой активности.

## **Предварительные результаты.**

Из работников комбината Росатома сформированы три группы: базовая (1163 человека), оцифрованы ретроспективные данные профосмотров: 170 показателей на каждого, - переданы как обучающая выборка для искусственного интеллекта, основная (536 человек), оцифрованы данные профосмотров за 2024-2025 гг. У 200 человек выполнены иммунологические, генетические, эпигенетические исследования с первичным биоинформационическим анализом. В части генетических исследований: у каждого выделены геномные мутации, из них выделены высокопатогенные. В части эпигенетических исследований: определен уровень метилирования ДНК и гены, которые сейчас активно «работают». Проведен сопоставительный анализ персональных соматических показателей работников (имеющиеся признаки заболеваний) с врожденными (генетическими) и приобретенными (эпигенетическими) рисками развития заболеваний. Также проанализировано соответствие биологического возраста - паспортному (ускоренное старение). После проведенного анализа клинических данных, результатов генетики и эпигенетики, а также расчета биологического возраста (рассчитанного по модели PhenoAge), к сожалению в 23,7% случаев клинические симптомы преобладали над предсказанными рисками, например, по эпигенетическим показателям наблюдалось замедление старения и снижение всех рисков заболевания, а у пациента наблюдалось выраженное заболевание. Возможно, поскольку такие несовпадения наблюдались в большинстве случаев при сердечно-сосудистой патологии, в дальнейшем добавить более детальную шкалу анализа рисков развития именно ССЗ.

# **ПОЛУЧЕНИЕ ПРОТОТИПА ПРЕПАРАТА ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ НА ОСНОВЕ КЛЕТОК РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПОРАЖЕНИЙ СУСТАВОВ**

Голубинская П.А.<sup>1</sup>, Цыганова (Пикина) А.С.<sup>1</sup>, Емец Е.В.<sup>1,2</sup>, Ручко Е.С.<sup>1</sup>, Ильина П.Н.<sup>2,3</sup>,  
Еремеев А.В.<sup>1</sup>

1. *ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва, Россия, лаборатория трансляционной биомедицины*
2. *ФГБНУ «НИИГБ им. М.М. Краснова», Москва, Россия*
3. *Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва, Россия*

В настоящее время в мире активно ведётся разработка высокотехнологичных препаратов для терапии повреждений хрящевой ткани. Продукты на основе аутологичных хондроцитов пациента неприменимы при большом объеме поражения ткани, при наличии воспалительного процесса в суставе, сопутствующих заболеваний, длительной фармакотерапии, генетических аномалий. Дифференцированные производные индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), обладают ювенильным фенотипом, высокой скоростью синтеза внеклеточного матрикса, что потенциально повышает эффективность имплантата на основе производных ИПСК в терапии хряща (Wu C.L., 2021), однако в случае отсутствия воспаления в хрящевой ткани. Предполагается, что включение клеток с противовоспалительными свойствами может обойти это ограничение. С целью проверки данного предположения для получения прототипов продуктов тканевой инженерии использовали различные типы клеток – хондроциты (ХЦ, полученные из донорского хряща или ИПСК), мезенхимальные стромальные клетки (МСК) и макрофагоподобные клетки, дифференцированные из клеток линии ТНР-1. Оценивали возможность получения сфероидов из разного по составу и количественному соотношению типов клеток, их стабильность при культивировании, скорости адгезии и миграции, а также механические свойства, которые очевидно важны, поскольку сустав подвергается высоким физическим нагрузкам (Omelyanenko N.P., 2020).

Для подбора условий получения сфероидов и оценки механических свойств методом наноиндентирования и атомно-силовой микроскопии, а также противовоспалительных свойств с помощью ИФА были получены эмбриональные тельца (ЭТ) из ИПСК, сфероиды из хондроцитарных производных ИПСК, из ХЦ человека и МСК; МСК и макрофагов или из всех трех типов клеток. В качестве контроля использовался биоптат донорского гиалинового хряща. Подобраны комбинации ХЦ с МСК и МСК с макрофагоподобными клетками для получения стабильных сфероидов, которые не разрушаются при реакторном культивировании. Увеличение количества макрофагов в сфероиде делает его нестабильным, с гистологически рыхлой структурой. Анализ транскриптомов хондросфер из ХЦ пациентов с артритами показал, что при культивировании сохраняется воспалительный профиль, что накладывает ограничения на применение в терапии. В случае композиции ХЦ с МСК и модельными макрофагами увеличивается экспрессия противовоспалительных цитокинов, что позволяет предполагать расширение показаний на воспалительные патологии суставов.

По результатам наноиндентирования по параметрам Hardness и Elastic Modulus (GPa) наиболее механически прочным, помимо нативного хряща были сфероиды из ХЦ и МСК, МСК и макрофагов, а также эмбриональные тельца. Подобные результаты были получены при использовании атомно-силовой микроскопии. Исследование скорости адгезии и миграции показало, что сфероиды на основе ХЦ и МСК быстро прикрепляются, в первую очередь за счет МСК, затем уже за счет ХЦ, которые практически не покидают зону адгезии, в отличии от МСК, мигрирующих за пределы зоны наблюдения. Исследование пролиферативной активности клеток в сфероидах показало снижение экспрессии Ki67, что свидетельствует в пользу безопасности применения, нивелируя риск онкогенности и гипертрофии.

# **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ СЕЛЕКТИВНОГО УВЕЛИЧЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК К ПОВРЕЖДЕНИЮ ДНК ПУТЁМ ИНГИБИРОВАНИЯ СПЛАЙСИНГА ПРЕ-МРНК**

Свирина Е.А., Лукина М.М., Ануфриева К.С., Стекольникова П.А., Шнайдер П.В.,  
Иванова О.М., Гончаров А.О., Захаржевская Н.Б., Смирнов И.П., Лагарькова М.А.,  
Говорун В.М., Арапиди Г.П., Шендер В.О.

Лаборатория молекулярной онкологии

Снижение эффективности противоопухолевой терапии остается одной из главных проблем в онкологии. В этом контексте перспективным подходом представляется стратегия селективного повышения чувствительности опухолевых клеток к химиотерапии. Ранее мы показали, что малые дозы модуляторов сплайсинга могут повышать чувствительность опухолевых клеток к ДНК-повреждающим агентам. Однако молекулярные механизмы, лежащие в основе цитотоксического действия пладиенолида В (Pl-B), остаются не до конца выясненными.

Примечательно, что малые дозы Pl-B не угнетают пролиферацию и не увеличивают чувствительность неопухолевых эпителиальных клеток фаллопиевых труб FT282 и первичных дермальных фибробластов человека к ДНК-повреждающим агентам. Транскриптомный анализ опухолевых и неопухолевых клеток показал, что низкая доза ингибитора сплайсинга вызывает в опухолевых клетках нарушения экспрессии и сплайсинга генов, функционально ассоциированных с репарацией и репликацией ДНК, тогда как в нормальных клетках аналогичные изменения появляются лишь при высокой дозе препарата. Комплексный анализ, включающий оценку клеточного цикла, репликативного стресса и маркеров репарации ДНК, показал, что неопухолевые клетки обладают большей способностью адаптироваться к нарушениям системы репарации ДНК, вызванным модуляцией сплайсинга, по сравнению с опухолевыми клетками, что предотвращает повышение чувствительности к повреждению ДНК.

Для изучения механизма цитотоксического действия Pl-B на опухолевые клетки нами была получена резистентная линия SKOV3, сохранившая повышенную чувствительность к ДНК-повреждающим препаратам. С целью выявления компенсаторных путей, устанавливающихся в резистентных клетках в ответ на постоянное ингибирование сплайсинга, были проведены транскриптомный, протеомный и метаболомный анализы чувствительных и устойчивых к Pl-B клеток SKOV3. По сравнению с чувствительными резистентные клетки характеризуются снижением представленности ферментов катаболизма глюкозы и увеличением представленности ферментов цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), обеспечивающих протекание части реакций ЦТК в обратном направлении. Данный механизм может компенсировать угнетение гликолиза, восполняя пул интермедиатов ЦТК через аминокислоты, поддерживая энергетический баланс. Полученные данные подкрепляются результатами метаболомного анализа: наблюдается повышенное содержание ряда аминокислот и снижение уровня глюкозы в резистентных клетках относительно чувствительных клеток. Метаболическая перестройка резистентных к Pl-B клеток SKOV3 отражает компенсаторные механизмы, активируемые в ответ на постоянное ингибирование сплайсинга, и раскрывает молекулярные основы цитотоксичности ингибиторов сплайсинга в опухолевых клетках.

Полученные данные подчеркивают селективный потенциал ингибиторов сплайсинга в лечении злокачественных опухолей. Работа поддержана грантом РНФ 25-15-00520.

# **ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ВИРУСНЫХ БИОКОНДЕНСАТОВ *IN CELL* С ПОМОЩЬЮ МЕТОК КАК НА ФРАГМЕНТЕ РНК ВИРУСА, ТАК И НА ЕГО НУКЛЕОКАПСИДНОМ БЕЛКЕ**

**Светлова Ю. И., Ведехина Т. С., Северов В. В., Широков Д. А., Богомякова М. Е., Аラлов  
А. А., Варижук А. М.**

Лаборатория структуры и функций биополимеров

Разработка новых лекарственных препаратов, направленных на борьбу с вирусными инфекциями, является современной и актуальной задачей. Среди патогенных вирусов человека выделяются РНК-содержащие вирусы, репликация и сборка которых проходит через формирование РНК-белковых биоконденсатов. Эти же биоконденсаты являются перспективной мишенью для лекарственных препаратов. Разработка и тестирование препаратов требуют создания системы визуализации биоконденсатов *in cell*, например, с помощью флуоресцентной микроскопии. Для большей точности оптимально мечение обоих компонентов: и белка, и РНК.

Для отслеживания белкового компонента используют его гибрид с флуоресцирующим белком. Для РНК ранее использовались флуоресцентные аналоги нуклеиновых оснований. Такой тип мечения (классический) не предусматривает генетического кодирования, что неудобно. В данной работе тестировался альтернативный вариант - действующая по принципу “light-up” система аптамер-флуороген [1]. Была получена плазмида, кодирующая двумодульную РНК. Первый модуль – целевой – представляет собой значимую для сборки биоконденсатов шпилечную структуру из нетранслируемой области генома SARS-CoV-2 [2]. Второй модуль – аптамер MangoII – это РНК-квадруплекс, при взаимодействии с которым низкомолекулярный флуороген увеличивает квантовый выход флуоресценции на порядки. Данная система уже была опробована на бактериальных РНК [3]. Однако её применимость для визуализации вирусных биоконденсатов была неочевидна. Нами была проверена способность вирусной двумодульной РНК взаимодействовать с флуорогеном, а также образовывать вместе с белком-партнёром биоконденсаты в эукариотических клетках. Подтверждена селективность этих взаимодействий. Кроме того, было показано, что мечение РНК с помощью аптамера позволяет точнее определить чувствительность биоконденсатов к известному ингибитору, чем классическое мечение. С помощью системы аптамер-флуороген также удалось подтвердить активность нового ингибитора, ранее охарактеризованного нами только в бесклеточной системе.

Систему аптамер-флуороген тестировали в модельной клеточной линии HEK293T. В качестве белка-парнёра использовали нуклеокапсидный белок SARS-CoV-2, слитый с GFP (N-GFP). Проводили сотрансфекцию плазмидами, кодирующими двумодульную РНК и N-GFP. Методом флуоресцентной микроскопии в каналах флуорогена и GFP регистрировали сборку биоконденсатов. Для подтверждения селективности проверяли включение вирусной двумодульной РНК в конденсаты клетки хозяина и включение микросаттелитной РНК клетки хозяина в вирусные биоконденсаты.

В итоге нами было показано, что система аптамер-флуороген подходит для визуализации РНК компонента внутриклеточных биоконденсатов SARS-CoV-2. Были продемонстрированы преимущества данной системы при визуализации как сборки биоконденсатов, так и их разрушение в присутствии соединений-ингибиторов.

[1] Ryckelynck M. Development and Applications of Fluorogen/Light-Up RNA Aptamer Pairs for RNA Detection and More // Methods in molecular biology 2020, 2166, 73–102.

[2] Iserman C. et al. Genomic RNA elements drive phase separation of the SARS-CoV-2 nucleocapsid // Molecular cell. – 2020. – Т. 80. – №. 6. – С. 1078-1091. e6.

[3] Bychenko O.S. et al. Red light-emitting short Mango-based system enables tracking a mycobacterial small noncoding RNA in infected macrophages // Nucleic Acids Res. 2023. Vol. 51, № 6. P. 2586–2601

## **КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ ЭОЗИНОФИЛЬНОГО ЭЗОФАГИТА: ОТ ДИАГНОСТИКИ К ЛЕЧЕНИЮ**

Данильченко А.В., Калачнюк Т.Н.

Отделение гастроэнтерологии ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина  
ФМБА России № 123

Эозинофильный эзофагит (ЭоЭ) - хроническое иммуноопосредованное заболевание пищевода, обусловленное Th2-иммунным ответом с гиперпродукцией ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13. Эти цитокины стимулируют миграцию и активацию эозинофилов; диагностический критерий — инфильтрация  $\geq 15$  эозинофилов в поле зрения при увеличении  $\times 400$  (или  $\geq 60$  клеток на 1  $\text{мм}^2$ ). Характерные эндоскопические признаки (кольца, борозды, экссудат, стриктуры) отражают прогрессирующее повреждение слизистой и нарушение функции органа.

В основе патогенеза — три взаимосвязанных компонента: внешние триггеры (пищевые и воздушные аллергены), генетическая предрасположенность (полиморфизмы TGF $\beta$ 1 и CAPN14) и иммунологические механизмы (Th2-ответ).

Эпидемиологически ЭоЭ встречается с частотой 1–4 случая на 1000 населения; пик дебюта — 20–40 лет, преобладают мужчины (75–82 %). Заболевание тесно связано с атопией: до 86 % взрослых и 93 % детей имеют сопутствующие аллергические состояния (астма, ринит, пищевая аллергия), у половины пациентов такие заболевания отмечены в анамнезе. Клиническая картина зависит от возраста. У взрослых доминируют дисфагия (особенно на твёрдую пищу), эпизоды вклинения пищевого комка, загрудинная боль, изжога, регургитация. У детей — отказ от еды, рвота, боль в животе, задержка роста, симптомы, напоминающие ГЭРБ. Диагностика базируется на сочетании клиники, эндоскопической картины (шкала EREFS: кольца, борозды, экссудат, стриктуры, отёк) и гистологического подтверждения эозинофилии. Обязательно исключают ГЭРБ, инфекции, гиперэозинофильный синдром и др. Для оценки тяжести используют индекс I-SEE (максимум 30 баллов). Дополнительные методы: аллерготесты (кожные пробы, специфические IgE), рН-импедансометрия, манометрия высокого разрешения.

Цели терапии — клиническая и гистологическая ремиссия, профилактика осложнений (стриктуры, перфорации). Эффективность оценивают через 6–12 недель по динамике симптомов, эндоскопии и гистологии. Долгосрочный мониторинг (ЭГДС + биопсия каждые 6–12 месяцев) и диета критичны для поддержания ремиссии.

Клинический пример: пациент Н., 24 года, с ЭоЭ (I-SEE 22 балла, E1R1E2F1S1) и стриктурой верхней трети пищевода. Дебют в 8 лет — дисфагия при употреблении вишни. В 2015 и 2022 годах — эпизоды вклинения пищи; в 2022 году — три сеанса бужирования пищевода. Гистологически в слизистой пищевода 90–100 эозинофилов в поле зрения. Сопутствующая патология: аллергический ринит (J30.3), поливалентная пищевая аллергия (вишня, персики, яблоки, горох, фундук). ИМТ — 16,9 кг/м<sup>2</sup> (недостаточность питания тела).

До октября 2025 года терапия (глюокортикоиды, ингибиторы протонной помпы) была нерегулярной, давала кратковременный эффект (рецидив через 6–8 месяцев). Со 02.10.2025 — генно-инженерная биологическая терапия (ГИБТ) дупилумабом (300 мг п/к раз в неделю) + элиминационная диета. Через 8 недель уменьшение дисфагии и снижение боли на 70 %, исчезновение ощущения «бульканья», восстановление аппетита, прибавил в весе 3,5 кг с нормализацией ИМТ (достаточное питание). Через 12 недель лечения по данным гастроскопии — уменьшение рубцов и стенозирования, просвет 14–15 мм.

Таким образом, ЭоЭ требует своевременной диагностики, адекватной терапии и регулярного мониторинга. В приведённом случае ГИБТ дупилумабом показала высокую эффективность при тяжёлом течении со стриктурой, обеспечив клинико-эндоскопическое и гистологическое улучшение за короткий срок терапии.

## **ФОРМИРОВАНИЕ ДНОАП ШАРКО ПОСЛЕ МАЛЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ НА СТОПЕ: ВАЖНОСТЬ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ**

Галкина Н.В., Хорошилова Я.Б., Русакова Т.А.

Отделение эндокринологии с центром диабетической стопы ФМБА России.

Диабетическая нейростеоартропатия Шарко является одной из сложных форм синдрома диабетической стопы в плане диагностики, лечения, а так же прогноза сохранения опорной функции стопы и выживаемости пациента в целом. Так, по данным количественного метаанализа, включающего в себя 16 исследований общей выборкой - 2250 пациентов с 2275 стопами Шарко, частота смертности в течение года составила 4% (95% ДИ = 0,018–0,065), частота пятилетней смертности - 24,5 % (95 % ДИ = 0,172–0,326, I<sup>2</sup> = 88,5 %), а частота ампутаций составила 15% (95% ДИ = 0,067-0,258, I<sup>2</sup> = 93,6%), при этом 9% из них были высокими (95% ДИ = 0,062-0,127, I<sup>2</sup> = 60%) и 5% - малыми (95% ДИ = 0,004-0,126, I<sup>2</sup> = 94,7%). Известно, что основной причиной развития ДНОАП Шарко является сочетание диабетической нейропатии и травматизации, включая и оперативное вмешательство в пределах стопы. Внешняя травма запускает цитокиновый шок. Активируются провоспалительные цитокины TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , стимулируя систему RANK-L (мембранный белок цитокин, семейства факторов некроза опухоли, продукт гена человека TNFSF 11, который активирует остеокласты), NF-K $\beta$ , происходит осеокластогенез и резорбция кости, происходит несовершенная работа остеобластов с образованием косых «глыб». Клинически на ранних стадиях нижняя конечность имеет дистальный отек, гиперемию и гипертермию.

Своевременная диагностика и лечение (изготовление индивидуальной разгрузочной повязки) уменьшает отечность конечности и позволит предотвратить изменение ее формы. При отсутствии соответствующего лечения происходит стадийная деформации стопы, нарушение биомеханики ходьбы, перераспределение привычных зон нагрузки, развитие трансферных язв, формирование глубоких гнойных процессов, что может привести к потере конечности. В этой связи актуальным становится вопрос ранней диагностики ДНОАП, в том числе после недавно проведенных оперативных вмешательств. Целью настоящего исследования было оценить, как часто операции, выполняемые в пределах стопы, могут явиться пусковым фактором формирования активной стадии ДНОАП Шарко. Материалы и методы: проведен анализ 70 историй болезней пациентов с диагнозом «сахарный диабет 1 или 2 типа, с синдромом диабетической стопы, нейропатической формы, ДНОАП Шарко», проходивших стационарное лечение в отделении эндокринологии с центром диабетической стопы ФМБА России за период с января 2023 г по август 2025 г. В разделе «anamnes morbi» проанализирован фактор, после которого началась деформация стопы по типу Шарко. Результаты: в процессе анализа 70 историй болезни было выявлено, что деформация стопы по типу Шарко развивалась после оперативных вмешательств на стопе в течение от 1.5 до 6 месяцев у 42 пациентов, что составил о 60% случаев.

**Выводы:** Оперативны вмешательства на стопе при гнойно-некротических процессах при сахарном диабете выполняются часто и часто необосновано, минуя этап полноценного консервативного лечения. Прежде, чем провести оперативное лечение, необходимо помнить, что в послеоперационном периоде есть вероятность развития ДНОАП Шарко. Если операция на стопе состоялась, показано наблюдение пациента в кабинете «диабетическая стопа» и при развитии отека, гиперемии и гипертермии, необходимо провести дифференциальный диагноз между воспалительным процессом и ДНОАП Шарко. При подтверждении ДНОАП необходимо изготовление и ношение индивидуальной разгрузочной повязки по технологии Total Contact Cast.

## **CRISPR/CAS9-НОКАУТ RBM18 В ИПСК КАК ЭТАП РАЗРАБОТКИ МОДЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НАРУШЕНИЙ НЕЙРОГЕНЕЗА**

Цыганова А.С., Еремеев А.В., Богомазова А.Н.

Умственная отсталость в ряде случаев является следствием нарушений впренатальном развитии нервной системы, которые в своё очередь, могут быть обусловлены генетическими факторами. На данный момент известны примеры моногенных врождённых патологий, связанных с нарушенными процессами нейрогенеза (1), но этот список пополняется новыми генами-кандидатами. В открытой базе данных полноэкзомного исследования семейных случаев с ранее не идентифицированными патологиями нервного развития мутации в гене белка с РНК-связывающим мотивом RBM18 (RNA-binding motif 18) рассматриваются как потенциальный генетический фактор. На сегодняшний день отсутствуют функциональные исследования данного белка, в том числе в контексте нейрогенеза, однако известна связь некоторых других белков семейства RBM с различными нейропатологиями, например RBM45 (2), RBM3 (3). В этой работе мы получили индуцированные плюрипотентные клетки (ИПСК) с CRISPR-Cas9-опосредованным нокаутом RBM18 для создания изогенной клеточной системы в целях исследования функции этого гена в нейрогенезе человека *in vitro*.

Мы подобрали 3 варианта последовательности направляющей РНК для CRISPR-Cas9-нокаута, произвели их вставку в плазмидный вектор pX-458 и исследовали эффективность полученных векторов в трансфенированных клетках линии HEK293 с помощью количественного анализа инсерций и делеций методом разложения (TIDE). Вектор с наибольшим процентным показателем использовали для трансфекции ИПСК линии FF1S методом электропорации, затем получали колонии одиночных трансфенированных клеток. Мы получили 41 клон, среди которых в результате исследования последовательности фрагмента интереса RBM18 обнаружили 4 гомозиготных. Для последующих этапов работы мы создали биобанк одного из гомозиготных клонов. В ближайшее время мы проведём исследование кариотипа и характеристику линии, включающую выявление экспрессии генов плюрипотентности и способности к спонтанной дифференцировке в производные трёх зародышевых листков.

После получения линии ИПСК с нокаутом RBM18 мы также планируем создать линию с оверэкспрессией этого гена, а затем провести направленную дифференцировку в нейрональном направлении. Такие производные ИПСК послужат ценным ресурсом для исследования функции RBM18 в молекулярных и клеточных процессах нейрогенеза, в том числе в трёхмерных условиях кортикальных органоидов.

1. Voicu, V., Tataru, C. P., Toader, C., Covache-Busuioac, R.-A., Glavan, L. A., Bratu, B.-G., Costin, H. P., Corlatescu, A. D., & Ciurea, A. V. (2023). Decoding Neurodegeneration: A Comprehensive Review of Molecular Mechanisms, Genetic Influences, and Therapeutic Innovations. International Journal of Molecular Sciences, 24(16), 13006. <https://doi.org/10.3390/ijms241613006>
2. van der Zee, J., Dillen, L., Baradaran-Heravi, Y., Gossye, H., Koçoğlu, C., Cuyt, I., Dermaut, B., Sieben, A., Baets, J., De Jonghe, P., Vandenberghe, R., De Deyn, P., Cras, P., Engelborghs, S., Van Broeckhoven, C., & BELNEU Consortium (2021). Family-based exome sequencing identifies RBM45 as a possible candidate gene for frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. Neurobiology of disease, 156, 105421. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2021.105421>
3. Ding, Y., Lin, M., Wang, J., & Shang, X. (2024). RBM3 enhances the stability of MEF2C mRNA and modulates blood-brain barrier permeability in AD microenvironment. Biochimica et biophysica acta. Molecular cell research, 1871(5), 119738. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2024.119738>

## **ДНК-ГИСТОНОВЫЕ КОМПЛЕКСЫ КАК ОСНОВА МОДЕЛЕЙ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК**

Шмелева Е.В., Басырева Л.Ю., Вахрушева Т.В., Соколов А.В., Гусев С.А., Панасенко О.М.

Лаборатория физико-химических методов исследования и анализа

Внеклеточные ловушки (ВЛ), образующиеся в результате ЭТоза разных клеток крови, не только участвуют в защите организма от патогенных микроорганизмов, но и играют существенную роль в развитии большого числа патологических процессов. Следует отметить, что для ВЛ характерна гетерогенность структуры, поэтому для изучения их патофизиологических эффектов чрезвычайно важным является создание модельных ВЛ, состав и структуру которых можно точно контролировать. В настоящей работе предложен подход, позволяющий получать модельные сетчатые структуры на основе ДНК и гистонов (ДНК-гистоновые сети – ДГС), которые можно рассматривать как модельные ВЛ. Показано, что структура ДГС зависит от весового соотношения ДНК и гистонов. Продемонстрирована возможность включения в состав ДГС миелопероксидазы, которая может присутствовать в нативных ВЛ. Можно предположить, что создание ДГС с контролируемым составом и структурой позволит оценить особенность работы ферментных систем, участвующих в деградации нативных ВЛ. Кроме того, можно использовать эти гетерогенные ДГС для изучения связи структуры ВЛ с тромбозом, вызываемым ими, а также с эффективностью ВЛ в борьбе с патогенами.

## **КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИПЕРТРОФИИ МИНДАЛИН В ВОЗРАСТНОМ АСПЕКТЕ**

Баранов К.К.<sup>1,2</sup>, Котова Е.Н.<sup>1,2</sup>, Вязьменов Э.О.<sup>1,2</sup>, Павлова Е.В.<sup>1</sup>, Беспятых Ю.А.<sup>2</sup>,  
Иванов В.А.<sup>2</sup>, Худжадзе Р.Т.<sup>2</sup>, Есиев С.С.<sup>2</sup>, Шанский Я.Д.<sup>2</sup>

1. ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия
2. ФГБУ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. академика Ю.М. Лопухина ФМБА России, Москва, Россия

Патологии лимфоэпителиального глоточного кольца Пирогова-Вальдейера продолжают сохранять высокую медико-социальную значимость, составляя 20-50% случаев обращения в лечебные учреждения. В педиатрической практике, особенно у часто болеющих детей, ключевое место в структуре данной патологии занимают хронические и гиперпластические процессы (хронический аденоидит, хронический тонзиллит, гипертрофия небных миндалин), доля которых достигает 70%. Согласно данным исследований, распространенность данной патологии во взрослоей популяции достигает 2,5%.

Этиологическая структура гипертрофии аденоидов и аденоидитов имеет возрастные особенности: в младшем возрасте ведущую роль играют вирусы, в частности герпесвирусы, а у детей старше 5 лет возрастает этиологическая значимость бактериальных патогенов, прежде всего *Streptococcus pyogenes*, у взрослых данный вопрос до конца не изучен. Однако спектр потенциально значимых возбудителей шире и включает *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* и другие агенты, участвующие в поддержании хронического воспаления.

**Цель исследования.** Оценка влияния инфекционных агентов на особенности клинико-морфологических изменений в лимфоэпителиальном глоточном кольце в возрастном аспекте при гипертрофии лимфоидной ткани.

**Материалы и методы.** Всего было проанализировано 100 образцов операционного материала, полученных в ходе планового оперативного вмешательства. В исследование включали пациентов в возрасте от 2 до 14 лет с признаками гипертрофии глоточной миндалины, хронического аденоидита и/или хронического аденотонзилита. В предоперационном периоде всем пациентам проводили стандартное серологическое и культурально-бактериологическое исследование мазков с поверхности миндалины.

**Результаты.** Экспериментально установлена персистенция бактериальных и вирусных патогенов в лимфоидной ткани при отрицательных результатах предоперационного серологического и культурального исследований. В частности, выявлено несколько случаев ложноотрицательного определения SARS-CoV-2 на догоспитальном этапе. По предварительным данным установлена разница в морфологической структуре и особенностях кровоснабжения лимфоидной ткани в возрастном аспекте.

**Заключение:** Мазок с поверхности ротоглотки не всегда является адекватным методом забора биоматериала для ПЦР-диагностики. Наибольшей информативностью обладает анализ нуклеиновых кислот, выделенных из ткани миндалин, полученной при биопсии. Гистологической особенностью лимфоидной ткани у взрослых пациентов является склероз и выраженная кавернозная трансформация сосудов микроциркулярного русла. Отсутствие универсального метода для выявления персистирующих в криптах миндалин возбудителей, включая SARS-CoV-2, показывает необходимость пересмотра диагностического алгоритма.

## **СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИЮ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ; ОЦЕНКА МЕТОДОВ ЭНДОСКОПИЧЕСКИХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ**

Е.А. Пронкин<sup>1</sup>, И.Э. Мусаев<sup>1</sup>, В.А. Новиков<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>. ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России.

**Введение.** Рак мочевого пузыря (РМП) характеризуется высокой частотой рецидивов при немышечно-инвазивных формах (НМИРМП) и существенным риском прогрессии при мышечно-инвазивном течении. Ключевыми детерминантами исходов являются своевременная диагностика, корректное стадирование и качество первичного эндоскопического вмешательства (TURPenbloc/TURMP) с последующей терапией. TUR en bloc позволяет удалить опухоль единым блоком с основанием, тогда как при классической TURMP её обычно резецируют фрагментами.

**Цель.** Систематизировать современные подходы к диагностике и лечению РМП с учетом различных вариантов эндоскопических вмешательств TURBT/TURMP.

**Материалы и методы.** Ретроспективный анализ регистра TURPenbloc /TURMP за 2022–2025 гг. (n=157). Оценивались демографические данные, размер и локализация опухоли, наличие диллятации чашечно-лоханочной системы (ЧЛС), техника резекции (en bloc), periоперационная внутрипузырная тактика, осложнения и структурированность морфологического заключения (pT/grade/наличие мышечного слоя).

**Результаты.** Распределение вмешательств по годам: 2022 — 37, 2023 — 35, 2024 — 40, 2025 — 45. Всего 157 пациентов. Возраст: медиана 66 лет (IQR 57–72), диапазон 30–89. Размер опухоли: медиана 11 мм (IQR 3–18), диапазон 0,5–70 мм. Диллятация ЧЛС — 11,5%. En bloc резекция выполнена в 66,1%. Периоперационная внутрипузырная тактика: доксорубицин — 50,0%, орошение мочевого пузыря — 14,2%, митомицин — 1,9%, гемцитабин — 1,9%. Осложнения зарегистрированы в 17/157 (10,8%): наиболее часто гематурия — 5/157 (3,2%) и ОЗМ/ретенция — 3/157 (1,9%); перфорация и гемотампонада — по 1/157 (0,6%). Отмечена тенденция к меньшей частоте осложнений при en bloc (4,9% vs 9,5%). Мышечный слой представлен у 100% пациентов при en bloc резекции, в то время как при классической резекции — 84,2%.

**Заключение.** Современный алгоритм ведения РМП опирается на стандартизированную цистоскопическую оценку, адекватное лучевое стадирование и TURPenbloc/TURMP как центральный этап с обязательной оценкой морфологии (pT, grade, наличие мышечного слоя, CIS/LVI/варианты). Полученные данные свидетельствуют в пользу применения резекции en bloc как техники, потенциально улучшающей показатели качества при РМП; для оценки её влияния на рецидив и прогрессию требуется дальнейшая стандартизация морфологических и онкологических исходов.

# **ОПЕРАЦИЯ БРИКЕРА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ.**

С.П. Даренков<sup>1</sup>, И.С. Пинчук<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России.

## **ВВЕДЕНИЕ/ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Несмотря на впечатляющие достижения химиотерапии, радикальная цистэктомия (РЦ) остается методом выбора в лечении мышечно-инвазивного рака мочевого пузыря и в ряде случаев не мышечно-инвазивного рака. Бесчисленные ретроспективные исследования, несомненно, подтверждают отличные онкологические результаты РЦ и удовлетворительное послеоперационное качество жизни при долгосрочном наблюдении.

За последние 40 лет подвздошно-кишечный кондукт (операция Брикера) во всем мире является "стандартом" деривации мочи для большинства пациентов после РЦ. Эта операция признана наиболее клинически адекватным, надежным и экономически эффективным решением.

*Цель исследования:* оценить ранние послеоперационные и отдалённые результаты радикальной цистэктомии с гетеротопической деривацией мочи по методу Брикера. Определить место данного оперативного пособия, в выборе метода деривации мочи после РЦ.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В данное исследование, с января 2015 по ноябрь 2025, включили 167 пациентов (74% мужчин и 26% женщин) в возрасте от 39 до 88 лет, которым выполнили цистэктомию с гетеротопической кишечной пластикой с формированием влажной стомы по методу Брикера. Всем больным до РЦ проводили комплекс клинических, лабораторных и инструментальных методов обследования для определения объема и тактики оперативного лечения.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ**

Радикальная цистэктомия с гетеротопической кишечной деривацией мочи по Брикеру сопровождается развитием послеоперационных осложнений у 31,3% наших пациентов. Структура наиболее часто встречаемых послеоперационных осложнений представлена следующим образом: развитие острого пиелонефрита в раннем послеоперационном периоде (32,8%), парез кишечника (17,6%), тромбоз вен нижних конечностей (16,6%), спаечная кишечная непроходимость (9,8%), необходимость в гемотрансфузии (8,6%), структура уретероileoанастомоза (3%). Летальность в раннем послеоперационном периоде составила менее 1%.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

По данным литературы, осложнения в послеоперационном периоде наблюдаются у 20–50% больных. В нашем исследовании послеоперационные осложнения отмечены в 31,3% наблюдений. Таким образом РЦ с гетеротопической деривацией по методике Брикера является технически сложным оперативным вмешательством. Однако, этот метод деривации мочи является наименее травматичным, с меньшим количеством послеоперационных осложнений способом, что позволяет использовать его у пожилых и коморбидных пациентов. Так же его можно рекомендовать пациентам с местно-распространенным раком мочевого пузыря, для скорейшей реабилитации и проведения адьюvantной химиотерапии в ранние сроки после операции. Учитывая все вышеизложенные факторы, данный метод деривации мочи заслуженно используется в более 70% случаев как метод отведения мочи после выполнения цистэктомии во всем мире.

# **РАЗРАБОТКА МЕТАБОЛОМНОГО И ТРАНСКРИПТОМНОГО ПОДХОДА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ АДЕНОМИОЗА**

**Шанский Я.Д., Показанникова У.В., Кудрявцева Ю.В., Чурсина Л.А., Беспятых Ю.А.**  
**Лаборатория молекулярной медицины**

**Актуальность.** Аденомиоз – одна из наиболее распространенных форм эндометриоза, хронического заболевания женской репродуктивной системы. Существует необходимость поиска наиболее информативных, высокоспецифичных и неинвазивных маркеров аденомиоза. Патогенез аденомиоза связан с хроническим воспалением и аномальной пролиферацией, медиаторы которых образуются из полиненасыщенных жирных кислоты (ПНЖК). Также описана предположительная роль микроРНК, которые циркулируют как в крови, так и в слюне. В связи с этим, данные молекулы могут быть рассмотрены как малоинвазивные маркеры аденомиоза и показатели проводимой терапии.

**Цель исследования.** Оценить возможность использования малоинвазивных биомаркеров аденомиоза путем сочетания подходов метаболического и транскриптомного профилирования ПНЖК и микроРНК в слюне и сыворотке крови пациентов.

**Материалы и методы.** В исследование включено 3 группы добровольцев: контрольная – условно здоровые добровольцы,  $n=24$ ; экспериментальная – пациенты с аденомиозом,  $n=26$ ; дополнительная группа сравнения - пациенты с онкологическими заболеваниями (рак молочной железы, шейки матки, эндометрия яичников),  $n=25$ . Уровень микроРНК hsa-miR-125b-5р и hsa-miR-451a-5р определяли в сыворотке крови и слюне методом количественной ПЦР-РВ с использованием коммерческих наборов реагентов (Algimed Techno, Белоруссия). ПНЖК экстрагировали из сыворотки хлороформ-метанольной смесью по методу Фольча и определяли целевые соединения (*all-cis*-5,8,11,14-эйкозатетраеновая кислота, AA; *all-cis*-4,7,10,13,16,19-докозагексаеновая, DHA; *all-cis*-5,8,11,14,17-эйкозапентаеновая, EPA; *cis,cis*-11,14-эйкозадиеновая кислоты, EDA) в виде летучих эфиров методом газовой хроматомасс-спектрометрии.

**Результаты.** Уровень hsa-miR-451a-5р в слюне выше при аденомиозе и онкологических заболеваниях ( $p < 0.021$ ); для сыворотки крови наблюдается противоположная картина, причем уровень hsa-miR-451a-5р снижается лишь в группе онкологических пациентов ( $p < 0.001$ ) и не отличим для групп контроля и аденомиоза ( $p = 0.220$ ). Уровень hsa-miR-125b-5р в слюне различается лишь для групп аденомиоза и онкологических заболеваний; в сыворотке крови он значимо ниже как при аденомиозе, так и у онкологических пациентов, в сравнении с контролем ( $p = 0.036$  и  $< 0.001$ ), причем различия значимы и между двумя группами патологий ( $p < 0.001$ ). Содержание EDA при аденомиозе, а также при AA при аденомиозе и онкологической патологии значимо повышается ( $p < 0.001$ ,  $< 0.001$ ,  $0.022$ , в сравнении с контролем). Различий в содержании DHA и EPA не обнаружено ( $p = 0.370$ ). Дискриминантный анализ показывает высокую описательную и предсказательную способность модели для аденомиоза ( $R^2Y = 0.739$ ,  $Q^2Y = 0.672$ ), однако малую мощность в отношении онкологических патологий в сравнении с нормой ( $R^2Y = 0.435$ ,  $Q^2Y \sim 0.000$ ).

**Выводы.** Анализ содержания ПНЖК в сыворотке крови и микроРНК в слюне выявил значимые различия в их содержании между группами пациентов. Дискриминационные уровни hsa-miR-451a-5р и hsa-miR-125b-5р в слюне вместе с данными уровня микроРНК, а также ПНЖК – AA и EDA в сыворотке крови могут быть использованы в малоинвазивной диагностике аденомиоза, в частности, для дифференциальной диагностики последнего от онкогинекологических заболеваний, и контроле динамики заболевания и эффективности лечения.