

# ГЕНЕТИКА

УДК 577.113.083

## ИЗУЧЕНИЕ КАЧЕСТВА И КОЛИЧЕСТВА ДНК В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ХРАНЕНИИ ПАРАФИНОВЫХ БЛОКОВ

Бараник Дарья Николаевна<sup>1</sup>, Сазонов Сергей Владимирович<sup>1,2</sup>, Дерябина Светлана Степановна<sup>1-4</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

<sup>2</sup>ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

<sup>3</sup>ГАУЗ СО «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка»

<sup>4</sup>ФГАОУ ВО «УрФУ имени первого Президента России Б. Н. Ельцина»

Екатеринбург, Россия

### Аннотация

**Введение.** Ткани, фиксированные в формалине, и сохраненные в виде парафиновых блоков (ФФПБ) широко используются в молекулярно-генетических и диагностических лабораториях для ретроспективных исследований. **Цель исследования** - оценка качества и количества выделенной ДНК из образцов тканей рака молочной железы, фиксированных в формалине парафинизированных образцов, выявление зависимости между сроком хранения образцов и качеством и количеством ДНК. **Материалы и методы.** ФФПБ ткани люминального А подтипа рака молочной железы 2019 и 2023 г. были предоставлены патологоанатомическим отделением «Института медицинских клеточных технологий» (г. Екатеринбург). ДНК было выделено при помощи набора QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Затем был произведен контроль качества выделенной ДНК спектрофотометром NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, США). **Результаты.** В исследование были включены 18 образцов (9 образцов 2019 года и 7 образцов 2023 года). При анализе количества выделенной ДНК были установлены средние значения за 2019 г. – 46,94 нг/мл, и за 2023 г. соответственно 65,66 нг/мл. Среднее значение оптического поглощения образца A260/280 за 2019 г. – 2,05, а за 2023 г. – 2,04. **Выводы.** Несмотря на весьма неоднозначные и спорные результаты в различных исследованиях, нам удалось выявить, что возраст ФФПБ образца не повлиял на качество выделенной ДНК, но количество выделенной нуклеиновой кислоты из образцов 2019 года было меньше почти на треть.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, фиксированные в формалине парафинизированные блоки (ФФПБ), ДНК.

## STUDYING THE QUALITY AND QUANTITY OF DNA IN FORMALIN-FIXED PARAFFIN-EMBEDDED (FFPE) TUMOR TISSUES OVER THE TIME

Baranik Darya Nikolaevna<sup>4</sup>, Sazonov Sergey Vladimirovich<sup>1,2</sup>, Deryabina Svetlana Stepanovna<sup>2-4</sup>

<sup>1</sup>Ural State Medical University

<sup>2</sup>Institute of Medical Cell Technologies

<sup>3</sup>Medical Center «Health Care of Mother and Child»

<sup>4</sup>Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Eltsin

Yekaterinburg, Russia

### Abstract

**Introduction.** Formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissues are widely used in molecular genetics and diagnostic analyses for retrospective research. **The aim of this study** is to assess the quality and quantity of isolated DNA from FFPE breast cancer tissue samples, to identify the dependence between the storage period of samples and the quality and quantity of DNA. **Material and methods.** FFPE tissues of the luminal A subtype in breast cancer of 2019 and 2023 were provided by the department of pathology of the Institute of medical cell technologies (Ekaterinburg). DNA was isolated using the QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Germany) according to the manufacturer's instructions. Then the quality control of the isolated DNA was performed by the NanoDrop 2000c spectrophotometer (Thermo Scientific, USA). **Results.** The study included 18 samples (9 samples of 2019 and 7 of 2023). During analysis of the amount of isolated DNA, the average values for 2019 were 46.94 ng/ml, and for 2023, respectively, 65.66 ng/ml. The average optical absorption value of the sample A260/280 for 2019 was 2.05, and for 2023 it was 2.04. **Conclusion.** Despite the ambiguous and controversial results in various studies, we were able to identify that the age of the FFPE sample didn't affect the quality of the isolated DNA but the amount of isolated nucleic acid from the 2019 samples was almost a third less.

**Keywords:** breast cancer, Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE), DNA

### ВВЕДЕНИЕ

Ткани, фиксированные в формалине, и сохраненные в виде парафиновых блоков (ФФПБ) широко используются в молекулярно-генетических и диагностических лабораториях

для ретроспективных исследований [1]. ФФПБ образцы также используются для изучения взаимосвязи между генетическими особенностями пациентов и их реакцией на лекарственные препараты. Это помогает в персонализированном подходе к лечению. Однако, качество и количество выделенной из них ДНК варьирует, в зависимости от различных условий, включая возраст образца.

В многочисленных исследованиях показано, что хранение ФФПБ длительное количество времени вызывает деградацию и снижение концентрации нуклеиновых кислот. Имеются сведения о том, что концентрация ДНК и РНК, выделенных из ФФПБ, которые хранились дольше, была значительно ниже, чем из тех, которые хранились меньшее количество времени. Деградирующая ДНК может быть менее стабильной и более склонной к фрагментации, что в конечном счете может снизить ее концентрацию.

Например, ДНК, выделенная из ФФПБ, после 30 лет хранения может быть использована в судебно-медицинских исследованиях [2]. В данном исследовании качество ДНК в значительной степени зависело от используемого метода экстракции. Несмотря на это, существуют и другие работы, доказывающие отсутствие какой-либо корреляции между данными факторами.

Противоречивость данных натолкнула нас на проведение данной работы. Существует ли та самая зависимость между качеством и количеством ДНК и возрастом ФФПБ?

**Цель исследования** - оценка качества и количества выделенной ДНК из образцов тканей рака молочной железы, фиксированных в формалине парафинизированных образцов, выявление зависимости между сроком хранения образцов и качеством и количеством ДНК.

#### **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ**

ФФПБ ткани люминального А подтипа рака молочной железы 2019 и 2023 г. были предоставлены патологоанатомическим отделением «Института медицинских клеточных технологий» (г. Екатеринбург). ДНК было выделено при помощи набора QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Затем был произведен контроль качества выделенной ДНК спектрофотометром NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, США).

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ**

В исследование были включены 14 образцов (7 образцов 2019 года и 7 - 2023). При анализе количества выделенной ДНК были установлены средние значения за 2019 г. –  $48,47 \pm 16,46$  нг/мл, и за 2023 г. - соответственно  $69,13 \pm 26,34$  нг/мл. Среднее значение показателя чистоты ДНК-образцов  $A_{260}/A_{280}$   $2,06 \pm 0,03$  (2019 г) и  $2,02 \pm 0,02$  (2023 г). Отношения поглощения при длинах волн  $A_{260}/A_{280}$  часто используют для оценки чистоты препарата, чистота ДНК имеет соотношение порядка 1,8 и больше.

Таблица 1.

Результаты за 2019 год

№	Количество (нг/мл)	Степень очистки ( $A_{260}/A_{280}$ )
1	11,9	2,16
2	16,8	2,03
3	17,6	1,94
4	34,4	2,04
5	72,1	2,07
6	52,5	2,12
7	134	2,06

## Результаты за 2023 год

№	Количество (нг/мл)	Степень очистки (A260/280)
1	13,4	1,92
2	14,3	2,00
3	30,7	1,99
4	44,2	2,00
5	74,3	2,03
6	95,8	2,11
7	211,2	2,08

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Полученные данные позволяют сделать предположение о том, что некая зависимость между сроком хранения ФФПБ образцов и качеством полученных нуклеиновых кислот существует. Можно предположить, что время хранения ФФПБ образцов действительно может увеличить риск вероятности деградации ДНК [3]. На данном этапе не предоставлялось возможным проанализировать все факторы, влияющие на результат. Очевидно, что количество выделенной ДНК зависит от определенных условий и продолжительности хранения образцов тканей, но в данном исследовании подобной связи выявлено не было. Длительное хранение ФФПБ образцов при неправильных условиях (высокая температура, влажность, длительное время) может привести к деградации нуклеиновых кислот, что в свою очередь может снизить качество выделенной ДНК.

Из этого следует, что необходимо строгое осуществление всех условий хранения образцов тканей, особенно в тех случаях, когда планируется их использование через определенное количество времени [4]. Тем не менее, полученная в нашей работе ДНК была высокого качества и пригодна для дальнейшего использования в молекулярно-генетических исследованиях.

**ВЫВОДЫ**

Несмотря на весьма неоднозначные и спорные результаты в различных исследованиях, нам удалось выявить, что возраст ФФПБ образца не повлиял на качество выделенной ДНК, но количество выделенной нуклеиновой кислоты из образцов 2019 года было меньше почти на треть.

Можно предположить, что время хранения ФФПБ образцов действительно увеличило риск вероятности деградации ДНК [3]. Очевидно, что количество выделенной ДНК зависит от определенных условий и продолжительности хранения образцов тканей [4]. Длительное хранение ФФПБ образцов при неправильных условиях (высокая температура, влажность, длительное время) может привести к деградации нуклеиновых кислот, что в свою очередь может снизить качество выделенной ДНК.

Из этого следует, что необходимо строгое осуществление всех условий хранения образцов тканей, особенно в тех случаях, когда планируется их использование через определенное количество времени [5]. Полученный материал в данном исследовании может быть успешно использован в дальнейших генетически-молекулярных экспериментах.

**СПИСОК ИСТОЧНИКОВ**

1. Anine Larsen Ottestad. Fragmentation assessment of FFPE DNA helps in evaluating NGS library complexity and interpretation of NGS results/ E. F. Emdal, B. H. Grønberg, T. O. Halvorsen, H. Y. Dai // *Experimental and Molecular Pathology*. - 2022 - Volume 126.
2. Vitošević, K. DNA isolated from formalin-fixed paraffin-embedded healthy tissue after 30 years of storage can be used for forensic studies/ K. Vitošević, M. Todorović, Ž. Slović, // *Forensic Sci Med Pathol*. - 2021. - P/ 47–57
3. Вязовская Н. С. Оценка возможности использования ДНК архивных тканей, хранившихся в виде фиксированных в формалине и залитых в парафиновые блоки, в молекулярно-генетических исследованиях / Н. С. Вязовская, Г. Г. Русинова, Т. В. Азизова // *Уральский медицинский журнал*. - 2016. - № 3(136). - С. 108–112.
4. Formalin-fixed paraffin-embedded sample conditions for deep next generation sequencing / M. Nagahashi, Y. Shimada, H. Ichikawa, [et al.] // *The Journal of surgical research*. - 2017.- p. 125–132.
5. Ramalingam N. Begum. Storage, Retention, and Use of Leftover Pathology Specimens: The Underestimated Treasures. / N. Ramalingam, P. Ramani, -2024. Vol.1, №16.

## Сведения об авторах

Д. Н. Бараник\* – студент направления медицинская биофизика, лаборант-исследователь молекулярно-генетической лаборатории Института медицинских клеточных технологий

С. В. Сазонов – доктор медицинских наук, профессор

С. С. Дерябина – кандидат биологических наук, заведующая лабораторией молекулярной диагностики, доцент кафедры медицинской биохимии и биофизики

## Information about the authors

D.N. Baranik\* – Medical Biophysics student

S.V. Sazonov – Doctor of Sciences (Medicine), Professor

S.S. Deryabina – PhD in Biological Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Diagnostics, Associate Professor of the medical biochemistry and medical biophysics department

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

dashabaranik3-5@mail.ru

УДК 576

## ИНФОРМИРОВАННОСТЬ УЧАЩИХСЯ СТУДЕНТОВ ФГБОУ ВО «УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНЗДРАВА РФ О ГЕНЕТИЧЕСКИХ АНОМАЛИЯХ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ

Загреддинова Эльвира Нажмутдиновна, Ярмолук Ольга Михайловна, Кудрявцева Елена Владимировна

Кафедра медицинской биологии и генетики

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ

Екатеринбург, Россия

### Аннотация

**Введение.** Одной из важнейших социально-демографических проблем являются бесплодие и невынашивание беременности. На сегодняшний день данная патология изучается с различных позиций, при этом все большее внимание уделяется именно генетическим факторам, среди которых особое место занимают генетические аномалии половых хромосом. **Цель исследования** – оценить информированность о синдромах, ассоциированных с числовыми аномалиями половых хромосом среди студентов медицинского университета. **Материал и методы.** Был проведен опрос среди студентов ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ. Анкетирование прошли 116 человек. 1-2 курс мы объединили в группу № 1 (93 человека), а 3-5 в группу № 2 (23 человека). **Результаты.** Группа 2 показала свою большую информированность в вопросе генетического бесплодия. Учащиеся на 4 и 5 курсах, составляющие эту группу, оказались больше заинтересованы в походе к врачу-генетику при проблемах генетического бесплодия. Можно сделать вывод, что группа 2 более информирована, относительно группы 1, так как студенты старших курсов уже изучили клинические дисциплины, знают маршрутизацию пациентов и причины бесплодия. **Выводы.** Статистика информированности показывает, что большей информацией о бесплодии при аномалиях половых хромосом владеют студенты, прошедшие обучение по дисциплине “Медицинская генетика”.

**Ключевые слова:** числовые аномалии, половые хромосомы, генетическое бесплодие, синдром, причины.

## AWARENNESS OF STUDENTS OF THE URAL STATE MEDICAL UNIVERSITY ABOUT GENETIC ANOMALIES OF SEX CHROMOSOMES.

Zagretdinova Elvira Najmutdinovna, Yarmolyuk Olga Mikhailovna, Kudryavtseva Elena Vladimirovna

Department of Medical Biology and Genetics

Ural State Medical University

Yekaterinburg, Russia

### Abstract

**Introduction.** Infertility and pregnancy are one of the most important socio-demographic problems. To date, this pathology has been studied from various angles, with increasing attention being paid to genetic factors, among which genetic abnormalities of sex chromosomes are particularly prominent. **The aim of the study** is to assess awareness of syndromes associated with numerical abnormalities of sex chromosomes among medical university students. **Material and methods.** A survey was conducted among students of Ural State Medical University. The survey was completed by 116 people. 1-2 course we have united into group 1 (93 people), and 3-5 into group 2 (23 people). **Results.** Group 2 has shown great awareness of the issue of genetic infertility. The fourth and fifth-year students in this group were more interested in seeing a geneticist for genetic infertility problems. It can be concluded that group 2 is more informed about group 1, as undergraduate students have already studied clinical disciplines, know patient routing and the causes of