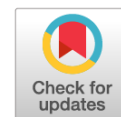


УДК 620.187.3:[614.2+57.086.13]

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar631875>



Метод электронной микроскопии в оценке качества криоконсервации клеток

В.В. Криштоп¹, М.И. Лобанова², Д.В. Овчинников¹, А.А. Семенов¹, Р.И. Глушаков¹

¹ Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия;

² Главное военно-медицинское управление МО РФ, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

За время своего существования электронная микроскопия стала одним из эталонных методов оценки структурно-функционального состояния клеток, тканей и органов, также была сформирована обширная доказательная база, позволяющая использовать ее в создании и формировании биобанка. Отбор источников для литературного обзора осуществлялся по ключевым словам на основе публикаций за последние 20 лет. Публикации, представленные в обзоре, были отобраны при помощи поиска в базах данных eLIBRARY.RU, PubMed и Scopus. Опираясь на зарубежный и отечественный опыт работы биобанков, можно выделить четыре направления, определяющих эффективность применения электронно-микроскопических исследований как компонента его работы. Во-первых, это контроль микробиологической обсемененности биологического образца. Эффективность электронной микроскопии по отношению к выявлению загрязненности биообразца бактериями, грибами и вирусами сравнима с эффективностью классических микробиологических методик. Во-вторых, это инструмент диагностики, позволяющий выявить или подтвердить наличие в образце патогенетического процесса, представляющего интерес для биобанкирования: опухолевый рост, атеросклеротическое поражение сосуда и др. В-третьих, это контроль качества криоконсервации образцов. Широкий спектр морфологических характеристик ультрамикроскопической структуры клеток и микроанатомических образований позволяет охарактеризовать качество криоконсервации, количественно оценить степень повреждений, что способствует унификации и стандартизации биобанкинга. Наибольшей информативностью в этом вопросе обладает трансмиссионная электронная микроскопия. В-четвертых, это основа для цифровизации полученных результатов и формирования междисциплинарного репозитория биобанка, что позволяет использовать технологии «big data» для фундаментальных исследований. Большое значение приобретает соответствие профиля биобанка экономическим, научным и отраслевым особенностям инфраструктуры отрасли или региона. Данные электронной микроскопии удачно комбинируются с результатами молекулярных исследований, что позволяет сформировать междисциплинарные базы метаданных, подходящие для межрегиональных и межотраслевых научных интеграций. Последнее позволяет использовать данные электронной микроскопии для решения широкого круга прикладных и междисциплинарных задач. Вышеперечисленное позволяет рассматривать методы сканирующей и трансмиссионной микроскопии в качестве одних из ключевых при развитии биобанкирования в регионе.

Ключевые слова: биобанкинг; загрязненность; инфраструктура; криоконсервация; патогены; повреждение клеток; электронная микроскопия.

Как цитировать

Криштоп В.В., Лобанова М.И., Овчинников Д.В., Семенов А.А., Глушаков Р.И. Метод электронной микроскопии в оценке качества криоконсервации клеток // Известия Российской военно-медицинской академии. 2024. Т. 43. № 3. С. 361–371. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar631875>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar631875>

Electron microscopy method in assessing the quality of cell cryopreservation

Vladimir V. Chrishtop¹, Maya I. Lobanova², Dmitriy V. Ovchinnikov¹,
Aleksey A. Semenov¹, Ruslan I. Glushakov¹

¹ Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;

² Main Military-Medical Department, Moscow, Russia

ABSTRACT

During its existence, electron microscopy has become one of the reference methods for assessing the structural and functional state of cells, tissues and organs, and an extensive evidence base has been formed that allows its use in the creation and formation of a biobank. The selection of sources for the literature review was carried out using keywords based on publications over the past 20 years. The publications presented in the review were selected by searching the eLIBRARY.RU, PubMed and Scopus databases. Based on foreign and domestic experience in the work of biobanks, we can distinguish four areas that determine the effectiveness of the use of electron microscopy studies as a component of its work. Firstly, it is control of microbiological contamination of a biological sample. The effectiveness of electron microscopy in detecting contamination of a biological sample with bacteria, fungi and viruses is comparable to the effectiveness of classical microbiological techniques. Secondly, it is a diagnostic tool that allows you to identify or confirm the presence in a sample of a pathogenetic process that is of interest for biobanking: tumor growth, atherosclerotic vessel damage, etc. Thirdly, it is quality control for cryopreservation of samples. A wide range of morphological characteristics of the ultramicroscopic structure of cells and microanatomical formations makes it possible to characterize the quality of cryopreservation and quantify the degree of damage, which contributes to the unification and standardization of biobanking. Transmission electron microscopy is the most informative in this matter. Fourthly, this is the basis for digitalization of the results obtained and the formation of an interdisciplinary biobank repository, which allows the use of “big data” technologies for fundamental research. The compliance of the biobank profile with the economic, scientific and industrial characteristics of the infrastructure of the industry or region is of great importance. Electron microscopy data are successfully combined with the results of molecular studies, which allows the formation of interdisciplinary metadata databases suitable for interregional and interdisciplinary scientific integrations. The latter makes it possible to use electron microscopy data to solve a wide range of applied and interdisciplinary problems. The above allows us to consider scanning and transmission microscopy methods as one of the key methods in the development of biobanking in the region.

Keywords: biobanking; cell damage; contamination; cryopreservation; electron infrastructure; microscopy; pathogen.

To cite this article

Chrishtop VV, Lobanova MI, Ovchinnikov DV, Semenov AA, Glushakov RI. Electron microscopy method in assessing the quality of cell cryopreservation. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2024;43(3):361–371. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar631875>

Received: 12.05.2024

Accepted: 16.07.2024

Published: 30.09.2024

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar631875>

评估细胞冷冻质量的电子显微镜方法

Vladimir V. Chrishtop¹, Maya I. Lobanova², Dmitriy V. Ovchinnikov¹,
Aleksey A. Semenov¹, Ruslan I. Glushakov¹

¹ Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;

² Main Military-Medical Department, Moscow, Russia

摘要

电子显微镜问世以来，已成为评估细胞、组织和器官结构和功能状态的参考方法之一，并建立了广泛的证据基础，可用于构建和发展生物样本库。文献综述的资料来源是根据过去 20 年的出版物按关键词进行选择。通过在 eLIBRARY.RU、PubMed 和 Scopus 数据库中进行搜索，选择了本综述中介绍的出版物。根据国外和国内生物库的经验，可以确定四个方面决定了电子显微镜研究在生物样本库工作中的应用有效性。首先是对生物样本微生物污染的控制。电子显微镜检测生物样本中细菌、真菌和病毒污染的效率与传统微生物技术的效率相当。其次，它是一种诊断工具，用于检测或确认样本中是否存在生物样本库所关注的病理过程：肿瘤生长、血管粥样硬化病变等。第三，它是样本冷冻保存的质量控制。细胞和微解剖结构的超显微形态特征范围广泛，可以对冷冻保存的质量进行定性，对损伤程度进行量化，这有助于生物样本库的统一和标准化。透射电子显微镜在这方面的信息量最大。第四，它是所获成果数字化和建立跨学科生物库的基础，支持将“大数据”技术用于基础研究。非常重要的一点是，生物样本库的配置需要符合相关行业或地区基础设施的经济、科学和部门特征。电子显微镜数据可与分子研究成果相结合，形成了跨学科元数据基础，适用于跨地区和跨学科的科学整合。后者可使电子显微镜数据用于解决广泛的应用和跨学科问题。综上所述，我们可以认为扫描和透射显微镜方法是该地区发展生物库的关键方法之一。

关键词：生物库；污染；基础设施；低温保存；病原体；细胞损伤；电子显微镜。

To cite this article

Chrishtop VV, Lobanova MI, Ovchinnikov DV, Semenov AA, Glushakov RI. 评估细胞冷冻质量的电子显微镜方法. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2024;43(3):361–371. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar631875>

Received: 12.05.2024

Accepted: 16.07.2024

Published: 30.09.2024

АКТУАЛЬНОСТЬ

Одной из распространенных ошибок в толковании термина «биобанк» является представление его в качестве произвольного сбора большей или меньшей коллекции биологических образцов. В то же время понятие «биобанк» включает в себя медицинскую и юридическую информацию о донорах биологического материала, а также результаты исследований доноров и биологических образцов при помощи комплекса биомедицинских технологий [1]. Однако федерального закона по биобанкированию, который мог бы на законодательном уровне собрать воедино и утвердить стандарты биобанкирования в России, пока нет [2]. Это определяет актуальность научного поиска оптимального набора технологий, способных обеспечить эффективное функционирование биобанков РФ. В настоящий момент российские биобанки находятся в процессе формирования собственных коллекций и проведения их клинического аннотирования [3].

Одной из технологий с широким спектром применения, входящей в студенческие образовательные программы, посвященные биобанкингу тканей и органов, и вместе с тем ставшей «золотым стандартом» для оценки структурно-функциональных изменений клетки и внутриклеточных структур, является электронно-микроскопическое исследование [4, 5].

Однако как в России, так и за рубежом широкого внедрения в алгоритмы биобанкирования методы электронной микроскопии не получили. Использование ее носит несистемный характер и часто связано с отдельными процессами, которые находятся в компетенции того или иного специалиста. Часто метод выполняет уточняющие функции, например при анализе опухолей и микробиологических исследованиях.

Цель — систематизировать литературные данные о роли методов электронной микроскопии в биобанкинге биологических объектов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор литературных источников осуществлялся по ключевым словам на основе публикаций за последние 20 лет. Публикации, представленные в обзоре, были отобраны при помощи поиска в базах данных eLIBRARY.RU, PubMed и Scopus следующих слов в комбинации или одиночно: биобанкинг, электронная микроскопия, сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), просвечивающая электронная микроскопия или трансмиссионная электронная микроскопия (ТЭМ). Критериями включения в обзор со стороны экспериментальных работ было соответствие этическим нормам, правилу трех R, использованию методов статистического анализа с применением критериев достоверности; со стороны клинических работ — наличие рандомизированных клинических исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В нашей стране сформировался ряд биобанков, первый из которых Биобанк ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России — исследовательский популяционно-нозологический биобанк, который основан в 2014 г. С 2017 г. член ISBER, с 2018 г. — член российской Национальной ассоциации биобанков и специалистов по биобанкированию. На базе ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России регулярно проходят научные заседания ассоциации, успешно проведен полноценный курс обучения «Основы биобанкирования» для врачей и научных сотрудников [6]. Это позволяет использовать его в качестве эталона при оценке роли электронно-микроскопических исследований в сложившемся институте биобанкирования. Одним из важных объектов биобанка являются образцы цельной крови, сыворотки и плазмы крови [7]. Для характеристики функционирования ряда метаболических систем образцов сыворотки крови в биобанке ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России используются биохимические исследования, также применяются полимеразная цепная реакция и иммуноферментный анализ (ПЦР- и ИФА-диагностика) [8, 9]. Создано специальное «Программное обеспечение для обмена данными между медицинской информационной системой и биобанком», объединяющее базу данных медицинской информационной системы «Медиалог» с лабораторной информационной системой и биобанком. Благодаря этому в рамках сплошного биобанкирования формируется масштабная коллекция подробно аннотированных биобразцов, интегрированная с электронной историей болезни, включающая широкий набор данных о пациенте (клинических, инструментальных, лабораторных, социально-демографических) [7]. Среди них данные об основном и сопутствующих диагнозах (для 100 % пациентов), данные лабораторных анализов (100 %), инструментальных методов обследования, в частности электрокардиограммы (100 %), эхокардиографии (76,8 %), суточного мониторирования электрокардиограммы по Холтеру (59,8 %), эзофагогастродуоденоскопии (27,3 %) и др. [10]. При биобанкировании опухолевого материала, участка, вырезанного патологоанатомом, в базу данных дополнительно вносятся результаты гистологического анализа [11]. Анализ результатов литературного поиска позволил выделить четыре основных направления использования электронной микроскопии в биобанкинге, согласно которым структурирована наша работа (см. рисунок).

Первое направление — это исключение микробиологической обсемененности биологического образца патогенными микроорганизмами. Загрязнение или контаминация образца — это процесс попадания (иногда случайный) в среды, ткани или материалы биологических, физических или химических загрязнителей или рост вредоносных инфекционных агентов, таких как бактерии, грибы, вирусы, прионы, простейшие [12]. Также часть

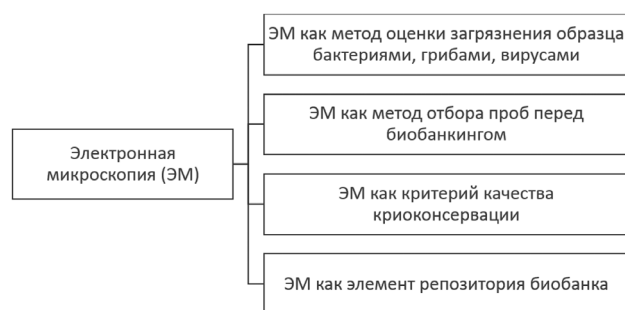


Рисунок. Основные направления применения электронной микроскопии в биобанкинге

Figure. Main areas of application of electron microscopy in biobanking

биопроб, структур, в норме контактирующих с внешней средой (с поверхностью тела, полостей, каналов и отверстий организма), может содержать сапрофитную микрофлору.

В сравнительном исследовании эмбрионов кроликов, где загрязненность биологических образцов микроорганизмами и нитчатыми грибами определялась, с одной стороны, стандартными методами культивирования в селективных средах в комплексе с API-тестом, а с другой — с помощью сканирующей электронной микроскопии различий в чувствительности выявлено не было. Среди загрязнителей присутствовали *Salmonella enterica Typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Aspergillus brasiliensis*. В исследовании бактериальной обсемененности донорских зубов методами СЭМ удалось выявить разные варианты биопленки: единичные кокки; биопленку, состоящую из спирохет; плотную и однородную биопленку, состоящую преимущественно из бацилл; биопленку, содержащую спирохеты и бациллы вместе, что позволяет предположить присутствие *Treponema spp.* и *Lactobacillus spp.*, встроенных в матрицу внеклеточных полимерных веществ биопленки; биопленку, организованную в виде сотовых структур. Данные, полученные с помощью СЭМ, совпали с результатами микробиологического анализа [13].

Риск вирусного заражения представляет опасность для всех видов биоматериалов, поступающих в биобанк, как человеческого, так и животного происхождения. Источники заражения могут быть либо эндогенными, либо экзогенными. Вирусы могут попасть в биообразцы при процедурах биобанкирования. Учитывая роль биобанкинга в фундаментальных исследованиях и практической медицине, это может представлять опасность как для пациентов, так и для результатов фундаментальных исследований, поэтому набор тестов для обнаружения вирусов должен включать в себя электронно-микроскопическое исследование.

Второе направление рассматривает электронную микроскопию в качестве инструментария, позволяющего получить интересующий нас биообразец. Это становится востребованным при заборе образцов при онкологических заболеваниях, атеросклеротическом поражении сосудов

и сердца и биобанкинге экзосом и др., когда патоморфологический субстрат распределен по ткани неравномерно и визуально подтвердить его наличие не всегда представляется возможным [14].

Третье направление применения электронной микроскопии. При использовании методов электронной микроскопии с целью контроля качества криоконсервации оптимально использовать незамороженные биообразцы, которые будут выступать в качестве эталона для исключения влияния пробоподготовки на выявленные качественные морфологические характеристики или на данные количественной морфометрии (см таблицу).

Также вышеперечисленные изменения могут быть оценены не только качественно, но и количество — как процент клеток, имеющих те или иные повреждения [17].

Базальная мембрана представляет собой важную структуру, от сохранности которой зависят жизнеспособность и функциональное состояние эпителиальных клеток. Равномерный ход указывает на сохранность базальной мембраны при ТЭМ после криоконсервации [27]. Нарушение сохранности эндотелиальной выстилки, разволокнение базальной мембраны при СЭМ являются признаками повреждения сосудистого русла после криоконсервации [31]. На это также указывают локальные микротрещины между коллагеновыми волокнами или разволокнение пучков коллагена при СЭМ [32].

Для сердечного клапана существует специальная классификация выраженности повреждения после криоконсервации на основе данных СЭМ [33]:

Категория I. Практически отсутствует как эндотелий, так и базальная мембрана, обнажены коллагеновые волокна.

Категория II. Базальная мембрана преимущественно покрывает каркас клапана, а эндотелий в значительной степени отсутствует.

Категория III. Эндотелий практически не поврежден.

Четвертое направление использования электронной микроскопии в биобанкинге самое широкое. С позиции исследователей-микроскопистов, очевидным преимуществом тесного сотрудничества с биобанком является возможность получить доступ к максимально широкому спектру биоматериалов человека и редких клинических случаев. Это снимает одну из ключевых проблем медико-биологических исследований, а именно проблему релевантности знаний, полученных на лабораторных моделях животных. Среди принципиально новых результатов, полученных благодаря работе с биобанком: обнаружение миелиносомоподобных везикул в сустентоцитах (клетки Сертоли) (Germetheque Biobank, Rennes) в семенной жидкости человека; разработка электронно-микроскопической методики выделения аденокарциномы из других случаев немелкоклеточного рака легких (PSMAR-Biobank, Barcelona, Spain), когда данные иммуногистохимии сомнительны; благодаря обнаружению микроворсинок на поверхностях опухолевых клеток было выявлено уменьшение диаметра липопротеинов низкой плотности (UC Davis

Таблица. Критерии структурно-функционального повреждения биологического материала после разморозки
Table. Criteria for structural and functional damage to biological material after defrosting

Клетка	Структура и ее изменения при повреждении
Фибробласты	Изменение формы тела клетки, повреждение клеточной оболочки при СЭМ [15]
	Частичные разрывы мембран и выраженная вакуолизация митохондрий [16]
	Значительное снижение количества вакуолей и гранул секрета при ТЭМ [15]
	«Набухание», деформация клеточной оболочки в форме бугорчатых выпячиваний, потеря аксонемных дублетов при ТЭМ [17]
Сперматозоиды	Разрывы, сколы клеточной оболочки, сколы жгутика, изогнутость или свернутые жгутики [18]
	Маргинальная конденсация хроматина. Апоптотическое ядро [19]
	Митохондрии с электронно-просветленным матриксом и отсутствием крист при ТЭМ [20]
	Разрывы и отслоение акросомальной части клеточной оболочки при СЭМ [21]
Сперматогонии	Утрата части клеточной оболочки или полная утрата акросомы [22]
	Разрушение мембран акросом при ТЭМ [23]
	Потеря межклеточных контактов, гиперконденсация ядерного хроматина, фрагментация хроматина, сморщивание ядер. Расширение крист, разрушение наружной мембраны митохондрий, неоднородность электронной плотности матрикса, наличие более темных и более светлых участков. Вакуолизация цитоплазмы при ТЭМ [24]
Гепатоциты	Шероховатая, бугристая поверхность при СЭМ указывает на гибель или старение клетки [25]
Тироциты	Снижение числа митохондрий и фрагментация их крист.
	Просветление митохондриального матрикса [26]
Эндотелиоциты	Разрушение липидных структур фенестр при ТЭМ [27]
Мегакариоциты	Изменение формы тела клетки, количества и длины отростков при СЭМ [28]
Опухолевые клетки	Низкий контраст десмосом с цитоплазмой, размытость их границ, частичное или полное размытие межклеточных границ свидетельствуют о повреждении клеточных мембран при ТЭМ [29]

Примечание. Вышеописанные характеристики могут быть выражены только в центральных или только в периферических зонах биологического образца, поэтому их следует исследовать отдельно [30].

Alzheimer’s Disease Research Center biobank) у пациентов с болезнью Альцгеймера; обнаружены механизмы дегенерации барабанной струны (Swedish biobank legislature) при хроническом среднем отите и повреждения ооцитов при замораживании [34–37].

Образцы, хранящиеся в биобанке в комплексе с ультраструктурным электронно-микроскопическим анализом, должны быть охарактеризованы при помощи других морфологических методов, таких как классическая гистология, иммуногистохимия, гибридизация *in situ*, а также клинико-лабораторных методов и молекулярного анализа ДНК, РНК, белков и метаболитов [38]. Чтобы обеспечить возможность цифровизации широкого спектра различных количественных морфологических параметров, таких как количество, объемы, длины или площади поверхности различных клеточных и тканевых структур, при помощи методик стереологического анализа необходимо рандомизировать плоскости срезов гистологических образцов органов и тканей [39, 40]. В ряде биобанков России коллекции биообразцов не являются статичными и часть образцов изымается из коллекций и включается в научно-исследовательские программы [41]. В случае если полноценная цифровизация не проведена, полная утрата

образца снижает потенциал междисциплинарных и межрегиональных коллабораций биобанка.

Биобанк представляет собой многоаспектное явление, включающее в себя медико-технологические, информационные и организационные аспекты [42]. Основой для возникновения биобанков могут быть патологоанатомические базы данных, как это было в Южной Альберте (Канада), когда архив биопсий почек с результатами гистологического и электронно-микроскопического исследований, сформировавшийся еще в конце 1970-х гг., стал основой для создания Биобанка молекулярной классификации заболеваний почек в Университете Альберта (Калгари, Канада) [43]. Фундаментальной целью биобанков является предоставление научному сообществу доступа к биоматериалам для научного исследования и уже полученным на его основе данным коллег, любого возможного научного профиля. Последнее формирует дополнительную ценность биобанков как центров научной инфраструктуры, базиса мультидисциплинарных научных исследований и межрегиональных коллабораций. С этих позиций важным компонентом успешности является интеграция биобанка не только в научную, но и в экономическую инфраструктуру региона [44]. Например, создание биобанка

возле центральной точки социально-экономической деятельности Танзании, ориентированной на международный уровень, — спортивной инфраструктуры, расположенной вокруг горы Килиманджаро, самой высокой горы Африки (5895 м). Коллекция биоптатов четырехглавой мышцы бедра и образцы венозной крови у альпинистов, гидов и носильщиков до и после восхождения на Килиманджаро и у участников Килиманджарского марафона до и после забега формирует представления о последовательности событий в процессах физиологической акклиматизации и адаптации, ранних изменений в структуре и функции основных детерминант транспорта кислорода через миоглобин, а также утилизации кислорода митохондриями скелетных мышц на основе таких показателей, как субклеточная локализация, распределение, размер и объемная доля митохондрий, полученных при помощи электронной микроскопии [45].

Очевидным преимуществом биобанка, является возможность проведения научных исследований «широким фронтом», используя мультидисциплинарный подход [46]. Эффективное исследование межорганных корреляций при сахарном диабете стало возможным благодаря работе Munich MIDY Pig Biobank, который обеспечил симметричность морфологических и молекулярных исследований. Благодаря этому удалось объединить исследования классической гистологии, иммуногистохимической, электронной микроскопии, количественный морфологический анализ с исследованиями РНК-, протео- и метаболомного профиля относительно максимально широкого списка органов и анатомических образований. В его состав входят: миокард правого и левого желудочков, предсердий; клапаны сердца; грудная и брюшная аорты; сонные артерии; яремные вены; коронарные сосуды; перегородка носа; гортань; трахея (проксимальная, медиальная и дистальная части); главные бронхи; желчный пузырь; паренхимы легких, печени, поджелудочной железы, языка, нижнечелюстной и околоушной слюнных желез, проксимального и дистального отделов пищевода, кардиальной части, дна и пилорической части желудка, тощей, двенадцатиперстной, подвздошной, слепой, ободочной кишок; илеоцекальный клапан; брыжеечные и подвздошно-ободочные лимфатические узлы; кора и внутренняя зона мозгового вещества почек; проксимальный, медиальный и дистальный отделы мочеточника; тело и треугольник мочевого пузыря; уретра; яичник; матка; влагалище; селезенка; тимус; красный костный мозг грудины; глоточная миндалина; паховые и подмышечные лимфатические узлы; щитовидная железа; гипофиз надпочечник; неокортекс; кора мозжечка; хвостатое ядро; таламус гиппокамп; гипоталамус; мост; стандартные гистологические срезы лобной доли головного мозга; тройничные ганглии; блуждающий, седалищный, общий малоберцовый, лучевой, локтевой, большеберцовый нервы; симпатический ствол; все отделы спинного мозга; кожа живота, спины, внутренней и наружной поверхности передних и задних конечностей;

молочная железа; подкожная жировая клетчатка живота и спины; висцеральная жировая ткань; мезентериальная и околопочечная жировая ткани; трехглавая мышца плеча; ягодичная мышца; самая длинная мышца поясницы; диафрагма; бедренная, лучевая, локтевая, большеберцовая кости; локтевой отросток; синовиальная оболочка коленного сустава; стекловидное тело глаза, хрусталик, сетчатка, глазное дно [47]. Проведенные исследования сформировали обширнейшую базу метаданных, для анализа которой требуются и принципиально новые подходы, использующие технологии «big data», что органично связано с необходимостью цифровизации, каталогизации и количественной оценки результатов микроскопии биобразцов биобанка [48].

Эти огромные объемы оцифрованных морфологических данных очень подходят для беспристрастного (автоматического) анализа изображений [49]. Они становятся основой для разработки скриптов для автоматической идентификации островков Лангерганса [50]. Кроме того, появляются алгоритмы машинного обучения на основе изображений для характеристики состава измененной поджелудочной железы при сахарном диабете 1 типа [51].

Полученные данные благодаря коммуникациям в сети Интернет, как это реализовано Network for Pancreatic Organ donors with Diabetes (nPOD; www.nanotomey.org), предоставляет широкому кругу специалистов доступ к обширной базе электронограмм, стимулирует разработку программного обеспечения для их количественного анализа, обеспечивает коллаборацию исследователей, работающих в области протеомики, визуализационной масс-цитометрии и др. [52].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За время своего существования электронная микроскопия стала одним из эталонных методов оценки структурно-функционального состояния клеток. Опираясь на зарубежный опыт работы биобанков, можно выделить четыре направления, определяющих успешность ее применения. Во-первых, это исключение микробиологической обсемененности биологического образца. Эффективность электронной микроскопии по отношению к выявлению в биобразцах бактерий, грибов и вирусов сравнима с эффективностью классических микробиологических методик. Во-вторых, это инструмент диагностики, позволяющий выявить наличие в образце патогенетического процесса, представляющего интерес для биобанкирования. В-третьих, это контроль качества криоконсервации образцов. Широкий спектр морфологических характеристик позволяет охарактеризовать его качество, что способствует унификации и стандартизации биобанкинга. В-четвертых, это основа для цифровизации полученных результатов и формирования междисциплинарного репозитория биобанка как элемента научной и медицинской инфраструктуры. По мнению авторов, вышеперечисленное позволяет

рассматривать методы сканирующей и трансмиссионной микроскопии в качестве одних из ключевых при развитии биобанкирования в регионе, несмотря на их вспомогательный характер в мировом биобанкировании и весьма скромную представленность в отечественном.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Annaratone L., De Palma G., Bonizzi G., et al. Alleanza Contro il Cancro (ACC) Pathology and Biobanking Working Group. Basic principles of biobanking: from biological samples to precision medicine for patients // *Virchows Arch.* 2021. Vol. 479, N 2. P. 233–246. doi: 10.1007/s00428-021-03151-0
2. Долудин Ю.В., Борисова А.Л., Покровская М.С., и др. Современные передовые практики и рекомендации по биобанкированию // *Клиническая лабораторная диагностика.* 2019. Т. 64, № 12. С. 769–776. EDN: UPJHRW doi: 10.18821/0869-2084-2019-64-12-769-776
3. Мешков А.Н., Ярцева О.Ю., Борисова А.Л., и др. Концепция национальной информационной платформы биобанков Российской Федерации // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2022. Т. 21, № 11. С. 6–12. EDN: ODHEXV doi: 10.15829/1728-8800-2022-3417
4. Seidler D., Karliková M., Topolčan O., et al. Establishing Biobanking in Medical Curricula—The Education Program «Precision Medicine International» (eduBRoTHER) // *Biopreserv Biobank.* 2023. Vol. 21, N 2. P. 200–207. doi: 10.1089/bio.2022.0088
5. Голышев С.А., Казаков Е.П., Киреев И.И., и др. Микроскопия мягкого рентгеновского диапазона в клеточной биологии: современное состояние, вклад и перспективы // *Acta Naturae (русскоязычная версия).* 2023. Т. 15, № 4. С. 32–43. EDN: YFZJPP doi: 10.32607/actanaturae.26551
6. Драпкина О.М. Российская «Национальная ассоциация биобанков и специалистов по биобанкированию» — инструмент интеграции российских биобанков и повышения эффективности биомедицинских исследований // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020. Т. 19, № 6. С. 131–133. EDN: ULGKHX doi: 10.15829/1728-8800-2020-2757
7. Борисова А.Л., Копылова О.В., Покровская М.С., и др. Биобанкирование в стационаре многопрофильного научного медицинского центра как потенциал для широкого спектра научных исследований. Часть I. Организационно-методические аспекты // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2023. Т. 22, № 11. С. 57–63. EDN: BGDIYT doi: 10.15829/1728-8800-2023-3749
8. Козлова В.А., Метельская В.А., Покровская М.С., и др. Изучение стабильности биохимических маркеров при непрерывном длительном хранении сыворотки крови и при однократном размораживании // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020. Т. 19, № 6. С. 149–157. EDN: CTRLRI doi: 10.15829/1728-8800-2020-2736
9. Покровская М.С., Борисова А.Л., Кондрацкая В.А., и др. Подходы к автоматизации преаналитического этапа круп-

Этическая экспертиза. Этическая экспертиза не проводилась, так как статья носит обзорный характер.

Вклад авторов. В.В. Криштоп — написание текста; М.И. Лобанова — сбор и обработка данных; Д.В. Овчинников — концепция и дизайн исследования; А.А. Семенов — обработка материала; Р.И. Глушаков — работа с иностранными источниками. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось

- номасштабных научных исследований в биобанке ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава России // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2022. Т. 21, № 11. С. 71–78. EDN: NZXXFL doi: 10.15829/1728-8800-2022-3404
10. Копылова О.В., Ершова А.И., Покровская М.С., и др. Биобанкирование в стационаре многопрофильного научного медицинского центра как потенциал для широкого спектра научных исследований. Часть II. Особенности и первые результаты формирования аннотированной коллекции биоматериала // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2023. Т. 22, № 11. С. 64–73. EDN: VFFYDN doi: 10.15829/1728-8800-2023-3799
11. Самохина И.В., Сагалянц А.Б. Работа в условиях пандемии COVID-19 — опыт биобанка ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020. Т. 19, № 6. С. 184–190. EDN: ZFFBJX doi: 10.15829/1728-8800-2020-2741
12. Михайлова А.А., Насыхова Ю.А., Муравьев А.И., и др. На пути к созданию общего глоссария биобанков Российской Федерации // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020. Т. 19, № 6. С. 134–148. EDN: JLZTWL doi: 10.15829/1728-8800-2020-2710
13. Curylofo-Zotti F.A., Lorencetti-Silva F., de Almeida Coelho J., et al. Human teeth biobank: Microbiological analysis of the teeth storage solution // *Microsc. Res. Tech.* 2018. Т. 81, N 3. P. 332–337. doi: 10.1002/jemt.22984
14. Mora E.M., Álvarez-Cubela S., Oltra E. Biobanking of Exosomes in the Era of Precision Medicine: Are We There Yet? // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. Vol. 17, N 1. P. 13. doi: 10.3390/ijms17010013
15. Arantes L.G., Tonelli G.S.S.S., Martins C.F., Bão S.N. Cellular Characterization and Effects of Cryoprotectant Solutions on the Viability of Fibroblasts from Three Brazilian Wild Cats // *Biopreserv Biobank.* 2021. Vol. 19, N 1. P. 11–18. doi: 10.1089/bio.2020.0059
16. Sui Y., Fan Q., Wang B., et al. Ice-free cryopreservation of heart valve tissue: The effect of adding MitoQ to a VS83 formulation and its influence on mitochondrial dynamics // *Cryobiology.* 2018. Vol. 81. P. 153–159. doi: 10.1016/j.cryobiol.2018.01.008
17. Keskin N., Erdogan C., Bucak M.N., et al. Cryopreservation Effects on Ram Sperm Ultrastructure // *Biopreserv Biobank.* 2020. Vol. 18, N 5. P. 441–448. doi: 10.1089/bio.2020.0056
18. Bezerra L.G.P., Souza A.L.P., Silva H.V.R., et al. Ultrastructural description of fresh and frozen/thawed sperm derived from collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) // *Microsc. Res. Tech.* 2018. Vol. 81, N 11. P. 1301–1309. doi: 10.1002/jemt.23138
19. Mohammed A.K., Khalil W.A., Youssef H.F., et al. Influence of adding zeolite loaded with different charges to semen extender on

- sperm quality in rabbits after cryopreservation // *Cryobiology*. 2021. Vol. 103. P. 107–115. doi: 10.1016/j.cryobiol.2021.08.005
20. Keros V., Rosenlund B., Hultenby K., et al. Optimizing cryopreservation of human testicular tissue: comparison of protocols with glycerol, propanediol and dimethylsulphoxide as cryoprotectants // *Hum. Reprod.* 2005. Vol. 20, N 6. P. 1676–1687. doi: 10.1093/humrep/deh797
21. Muchlisin Z.A., Siti Azizah M.N. Influence of cryoprotectants on abnormality and motility of baung (*Mystus nemurus*) spermatozoa after long-term cryopreservation // *Cryobiology*. 2009. Vol. 58, N 2. P. 166–169. doi: 10.1016/j.cryobiol.2008.11.010
22. Ismail A.A., Abdel-Khalek A.E., Khalil W.A., El-Hairy M.A. Influence of Adding Green Synthesized Gold Nanoparticles to Tris-Extender on Sperm Characteristics of Cryopreserved Goat Semen // *Journal of Animal and Poultry Production*. 2020. Vol. 11, N 2. P. 39–45. doi: 10.21608/jappmu.2020.78854
23. Abdelnour S.A., Hassan M.A.E., Mohammed A.K., et al. The Effect of Adding Different Levels of Curcumin and Its Nanoparticles to Extender on Post-Thaw Quality of Cryopreserved Rabbit Sperm // *Animals (Basel)*. 2020. Vol. 10, N 9. P. 1508. doi: 10.3390/ani10091508
24. Keros V., Rosenlund B., Hultenby K., et al. Optimizing cryopreservation of human testicular tissue: comparison of protocols with glycerol, propanediol and dimethylsulphoxide as cryoprotectants // *Hum. Reprod.* 2005. Vol. 20, N 6. P. 1676–1687. doi: 10.1093/humrep/deh797
25. Magalhães R., Nugraha B., Pervaiz S., et al. Influence of cell culture configuration on the post-cryopreservation viability of primary rat hepatocytes // *Biomaterials*. 2012. Vol. 33, N 3. P. 829–836. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.015
26. Shiloh H., Iancu T.C., Sheinfeld M., Kraiem Z. The influence of cryopreservation on the ultrastructural morphology of human thyroid cells // *Cryobiology*. 1987. Vol. 24, N 4. P. 303–310. doi: 10.1016/0011-2240(87)90034-4
27. Snijders M.L.H., Zajec M., Walter L.A.J., et al. Cryo-Gel embedding compound for renal biopsy biobanking // *Sci. Rep.* 2019. Vol. 9, N 1. P. 15250. doi: 10.1038/s41598-019-51962-8
28. Pogozhykh D., Eicke D., Gryshkov O., et al. Towards Reduction or Substitution of Cytotoxic DMSO in Biobanking of Functional Bioengineered Megakaryocytes // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. Vol. 21, N 20. P. 7654. doi: 10.3390/ijms21207654
29. Babel M., Mamilos A., Seitz S., et al. Compared DNA and RNA quality of breast cancer biobanking samples after long-term storage protocols in –80 °C and liquid nitrogen // *Sci. Rep.* 2020. Vol. 10, N 1. P. 14404. doi: 10.1038/s41598-020-71441-9
30. Skogseth H., Eikvik T.M., Tvedt K.E., et al. Can Drying Be an Alternative Tissue Preservation Method in Cancer Research Biobanking? // *Drying Technology* 2014. Vol. 32, N 6. P. 713–719. doi: 10.1080/07373937.2013.858262
31. Burkert J., Krs O., Vojáček J., et al. Cryopreserved semilunar heart valve allografts: leaflet surface damage in scanning electron microscopy // *Zentralbl. Chir.* 2008. Vol. 133, N 4. P. 367–373. doi: 10.1055/s-2008-1076872
32. Pfitzner R., Barecka D., Pawlikowski M., et al. Influence of Cryopreservation on Structural, Chemical, and Immunoenzymatic Properties of Aortic Valve Allografts // *Transplant. Proc.* 2018. Vol. 50, N 7. P. 2195–2198. doi: 10.1016/j.transproceed.2018.04.025
33. Smit F.E., Bester D., van den Heever J.J., et al. Does prolonged post-mortem cold ischemic harvesting time influence cryopreserved pulmonary homograft tissue integrity? // *Cell Tissue Bank*. 2015. Vol. 16, N 4. P. 531–544. doi: 10.1007/s10561-015-9500-2
34. Yefimova M., Bere E., Neyroud A.S., et al. Myelinosome-like vesicles in human seminal plasma: A cryo-electron microscopy study // *Cryobiology*. 2020. Vol. 92. P. 15–20. doi: 10.1016/j.cryobiol.2019.09.009
35. Albero-González R., Munné-Collado J., Pijuan L., et al. Complementary value of electron microscopy and immunohistochemistry in the diagnosis of non-small cell lung cancer: A potential role for electron microscopy in the era of targeted therapy // *Ultrastruct. Pathol.* 2019. Vol. 43, N 6. P. 237–247. doi: 10.1080/01913123.2019.1692118
36. Zheng J.J., Hong B.V., Agus J., et al. Alzheimer's Disease Patients, Especially ApoE4 Carriers, Have Significantly Reduced High-density Lipoprotein Particle Size Revealed by Negative-stained Transmission Electron Microscopy // *Alzheimer's Dement.* 2022. Vol. 18. Art. e063375. doi: 10.1002/alz.063375
37. Amstislavsky S., Mokrousova V., Brusentsev E., et al. Influence of Cellular Lipids on Cryopreservation of Mammalian Oocytes and Preimplantation Embryos: A Review // *Biopreserv. Biobank*. 2019. Vol. 17, N 1. P. 76–83. doi: 10.1089/bio.2018.0039
38. Blutke A., Wanke R. Sampling Strategies and Processing of Biobank Tissue Samples from Porcine Biomedical Models // *J. Vis. Exp.* 2018. N 133. Art. e57276. doi: 10.3791/57276
39. Albl B., Haesner S., Braun-Reichhart C., et al. Tissue Sampling Guides for Porcine Biomedical Models // *Toxicol. Pathol.* 2016. Vol. 44, N 3. P. 414–420. doi: 10.1177/0192623316631023
40. Gundersen H.J.G., Mirabile R., Brown D., Boyce R.W. Stereological principles and sampling procedures for toxicologic pathologists. In: Haschek W.M., Rousseaux C.G., Wallig M.A., Bolon B., Ochoa R., eds. *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology*. London: Academic Press, 2013. P. 215–286. ISBN: 9780124157590 doi: 10.1016/B978-0-12-415759-0.00008-X
41. Духова Н.Н., Самборский С.М., Гривцова Л.Ю., и др. Онкологический биобанк НМИЦ радиологии // *Евразийское Научное Объединение*. 2020. № 8–3(66). С. 143–144. EDN: FTDARW
42. Епифанова Е.В. Публично-правовое регулирование системы медицинских биобанков: постановка проблемы // *Юридический вестник Кубанского государственного университета*. 2022. № 2. С. 87–92. EDN: UJLWKS doi: 10.31429/20785836-14-2-87-92
43. Muruve D.A., Mann M.C., Chapman K., et al. The biobank for the molecular classification of kidney disease: research translation and precision medicine in nephrology // *BMC Nephrol.* 2017. Vol. 18, N 1. P. 252. doi: 10.1186/s12882-017-0669-4
44. Ивченко Е.В., Овчинников Д.В. Организация научной работы как залог успешного развития военной медицины. В сб.: 3-й Азиатско-Тихоокеанский конгресс по военной медицине: материалы конгресса. Санкт-Петербург: Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, 2016. С. 24–25. EDN: YGCAGL
45. Stienen G.J.M. Early adjustments in mitochondrial structure and function in skeletal muscle to high altitude: design and rationale of the first study from the Kilimanjaro Biobank // *Biophys. Rev.* 2020. Vol. 12, N 4. P. 793–798. doi: 10.1007/s12551-020-00710-8
46. Копылова О.В., Ершова А.И., Покровская М.С., и др. Популяционно-нозологический исследовательский биобанк «НМИЦ ТПМ»: анализ коллекций биообразцов, принципы сбора и хранения информации // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021. Т. 20, № 8. С. 176–190. EDN: ULBPDV doi: 10.15829/1728-8800-2021-3119
47. Blutke A., Renner S., Flenkenthaler F., et al. The Munich MIDY Pig Biobank — A unique resource for studying organ cross-

talk in diabetes // *Mol. Metab.* 2017. Vol. 6, N 8. P. 931–940. doi: 10.1016/j.molmet.2017.06.004

48. Александров В.Н., Болехан В.Н., Бунтовская А.С., и др. Развитие клеточных технологий, молекулярно-генетических исследований и тканевой инженерии в Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова и Военном инновационном технополисе «ЭРА» // *Вестник Российской военно-медицинской академии.* 2019. Т. 3, № 67. С. 243–248. EDN: XXCZGO

49. de Boer P., Giepmans B.N. State-of-the-art microscopy to understand islets of Langerhans: what to expect next? // *Immunol. Cell Biol.* 2021. Vol. 99, N 5. P. 509–520. doi: 10.1111/imcb.12450

REFERENCES

1. Annaratone L, De Palma G, Bonizzi G, et al. Pathology and Biobanking Working Group. Basic principles of biobanking: from biological samples to precision medicine for patients. *Virchows Arch.* 2021;479(2):233–246. doi: 10.1007/s00428-021-03151-0
2. Doludin YuV, Borisova AL, Pokrovskaya MS, et al. Modern best practices and recommendations for biobanking. *Clinical laboratory diagnostics.* 2019;64(12):769–776. (In Russ.) EDN: UPJHRW doi: 10.18821/0869-2084-2019-64-12-769-776
3. Meshkov AN, Yartseva OYu, Borisova AL, et al. The concept of the national information platform of biobanks of the Russian Federation. *Cardiovascular therapy and prevention.* 2022;21(11):6–12. (In Russ.) EDN: ODHEXV doi: 10.15829/1728-8800-2022-3417
4. Seidler D, Karlíková M, Topolčan O, et al. Establishing Biobanking in Medical Curricula-The Education Program “Precision Medicine International” (eduBRoTHER). *Biopreserv Biobank.* 2023;21(2):200–207. doi: 10.1089/bio.2022.0088
5. Golyshov SA, Kazakov EP, Kireev II, et al. Soft X-ray microscopy in cell biology: current state, contribution and prospects. *Acta Naturae (Russian version).* 2023;15(4):32–43. (In Russ.) EDN: YFZJPP doi: 10.32607/actanaturae.26551
6. Drapkina OM. Russian National Association of Biobanks and Biobanking Specialists — a tool for integrating Russian biobanks and increasing the efficiency of biomedical research. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2020;19(6):131–133. (In Russ.) EDN: ULGKHX doi: 10.15829/1728-8800-2020-2757
7. Borisova AL, Kopylova OV, Pokrovskaya MS, et al. Biobanking in the hospital of a multidisciplinary research medical center as a potential for a wide research range. Part I. Organizational and methodological aspects. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2023;22(11): 57–63. (In Russ.) EDN: BGDYIT doi: 10.15829/1728-8800-2023-3749
8. Kozlova VA, Metelskaya VA, Pokrovskaya MS, et al. Stability of serum biochemical markers during standard long-term storage and with a single thawing. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2020;19(6):149–157. (In Russ.) EDN: CTRLRI doi: 10.15829/1728-8800-2020-2736
9. Pokrovskaya MS, Borisova AL, Kondratskaya VA, et al. Approaches to automation of the preanalytical phase of large-scale research in the biobank of the National Medical Research Center for Therapy and Preventive Medicine of the Ministry of Health of Russia. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2022;21(11):71–78. (In Russ.) EDN: NZXXFL doi: 10.15829/1728-8800-2022-3404

50. Bonnet-Serrano F., Diedisheim M., Mallone R., Larger E. Decreased a-cell mass and early structural alterations of the exocrine pancreas in patients with type 1 diabetes: An analysis based on the nPOD repository // *PLoS One.* 2018. Vol. 13, N 1. Art. e0191528. doi: 10.1371/journal.pone.0191528

51. Tang X., Kusmartseva I., Kulkarni S., et al. Image-Based Machine Learning Algorithms for Disease Characterization in the Human Type 1 Diabetes Pancreas // *Am. J. Pathol.* 2021. Vol. 191, N 3. P. 454–462. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.11.010

52. de Boer P., Pirozzi N.M., Wolters A.H.G., et al. Large-scale electron microscopy database for human type 1 diabetes // *Nat. Commun.* 2020. Vol. 11, N 1. P. 2475. doi: 10.1038/s41467-020-16287-5

10. Kopylova OV, Ershova AI, Pokrovskaya MS, et al. Biobanking in the hospital of a multidisciplinary research medical center as a potential for a wide research range. Part II. Specifics and first results of developing a described collection of biomaterial. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2023;22(11):64–73. (In Russ.) EDN: VFFYDN doi: 10.15829/1728-8800-2023-3799

11. Samokhina IV, Sagakyants AB. Work within the COVID-19 pandemic — the experience of the biobank of the National Medical Research Center of Oncology. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2020;19(6):184–190. (In Russ.) EDN: ZFFBJX doi: 10.15829/1728-8800-2020-2741

12. Mikhailova AA, Nasykhova YuA, Muravyov AI, et al. On the way to creating a general glossary of biobanks of the Russian Federation. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2020;19(6):134–148. (In Russ.) EDN: JLZTWL doi: 10.15829/1728-8800-2020-2710

13. Curylofo-Zotti FA, Lorencetti-Silva F, de Almeida Coelho J, et al. Human teeth biobank: Microbiological analysis of the teeth storage solution. *Microsc Res Tech.* 2018;81(3):332–337. doi: 10.1002/jemt.22984

14. Mora EM, Álvarez-Cubela S, Oltra E. Biobanking of Exosomes in the Era of Precision Medicine: Are We There Yet? *Int J Mol Sci.* 2015;17(1):13. doi: 10.3390/ijms17010013

15. Arantes LG, Tonelli GSSS, Martins CF, Báo SN. Cellular Characterization and Effects of Cryoprotectant Solutions on the Viability of Fibroblasts from Three Brazilian Wild Cats. *Biopreserv Biobank.* 2021;19(1):11–18. doi: 10.1089/bio.2020.0059

16. Sui Y, Fan Q, Wang B, et al. Ice-free cryopreservation of heart valve tissue: The effect of adding MitoQ to a VS83 formulation and its influence on mitochondrial dynamics. *Cryobiology.* 2018;81:153–159. doi: 10.1016/j.cryobiol.2018.01.008

17. Keskin N, Erdogan C, Bucak MN, et al. Cryopreservation Effects on Ram Sperm Ultrastructure. *Biopreserv Biobank.* 2020;18(5): 441–448. doi: 10.1089/bio.2020.0056

18. Bezerra LGP, Souza ALP, Silva HVR, et al. Ultrastructural description of fresh and frozen/thawed sperm derived from collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). *Microsc Res Tech.* 2018;81(11):1301–1309. doi: 10.1002/jemt.23138

19. Mohammed AK, Khalil WA, Youssef HF, et al. Influence of adding zeolite loaded with different charges to semen extender on sperm quality in rabbits after cryopreservation. *Cryobiology.* 2021;103: 107–115. doi: 10.1016/j.cryobiol.2021.08.005

20. Keros V, Rosenlund B, Hultenby K, et al. Optimizing cryopreservation of human testicular tissue: comparison of protocols with

- glycerol, propanediol and dimethylsulphoxide as cryoprotectants. *Hum Reprod.* 2005;20(6):1676–1687. doi: 10.1093/humrep/deh797
21. Muchlisin ZA, Azizah MN. Influence of cryoprotectants on abnormality and motility of baung (*Mystus nemurus*) spermatozoa after long-term cryopreservation. *Cryobiology.* 2009;58(2):166–169. doi: 10.1016/j.cryobiol.2008.11.010
 22. Ismail AA, Abdel-Khalek AE, Khalil WA, El-Hairiry MA. Influence of Adding Green Synthesized Gold Nanoparticles to Tris-Extender on Sperm Characteristics of Cryopreserved Goat Semen. *Journal of Animal and Poultry Production.* 2020;11(2):39–45. doi: 10.21608/jappmu.2020.78854
 23. Abdelnour SA, Hassan MAE, Mohammed AK, et al. The Effect of Adding Different Levels of Curcumin and Its Nanoparticles to Extender on Post-Thaw Quality of Cryopreserved Rabbit Sperm. *Animals (Basel).* 2020;10(9):1508. doi: 10.3390/ani10091508
 24. Keros V, Rosenlund B, Hultenby K, et al. Optimizing cryopreservation of human testicular tissue: comparison of protocols with glycerol, propanediol and dimethylsulphoxide as cryoprotectants. *Hum Reprod.* 2005;20(6):1676–1687. doi: 10.1093/humrep/deh797
 25. Magalhães R, Nugraha B, Pervaiz S, et al. Influence of cell culture configuration on the post-cryopreservation viability of primary rat hepatocytes. *Biomaterials.* 2012;33(3):829–836. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.015
 26. Shiloh H, Iancu TC, Sheinfeld M, Kraiem Z. The influence of cryopreservation on the ultrastructural morphology of human thyroid cells. *Cryobiology.* 1987;24(4):303–310. doi: 10.1016/0011-2240(87)90034-4
 27. Snijders MLH, Zajec M, Walter LAJ, et al. Cryo-Gel embedding compound for renal biopsy biobanking. *Sci Rep.* 2019;9(1):15250. doi: 10.1038/s41598-019-51962-8
 28. Pogozhykh D, Eicke D, Gryshkov O, et al. Towards Reduction or Substitution of Cytotoxic DMSO in Biobanking of Functional Bioengineered Megakaryocytes. *Int J Mol Sci.* 2020;21(20):7654. doi: 10.3390/ijms21207654
 29. Babel M, Mamilos A, Seitz S, et al. Compared DNA and RNA quality of breast cancer biobanking samples after long-term storage protocols in –80 °C and liquid nitrogen. *Sci Rep.* 2020;10(1):14404. doi: 10.1038/s41598-020-71441-9
 30. Skogseth H, Eikvik TM, Tvedt KE, et al. Can Drying Be an Alternative Tissue Preservation Method in Cancer Research Biobanking? *Drying Technology.* 2014;32(6):713–719. doi: 10.1080/07373937.2013.858262
 31. Burkert J, Krs O, Vojáček J, et al. Cryopreserved semilunar heart valve allografts: leaflet surface damage in scanning electron microscopy. *Zentralbl Chir.* 2008;133(4):367–373. doi: 10.1055/s-2008-1076872
 32. Pfitzner R, Barecka D, Pawlikowski M, et al. Influence of Cryopreservation on Structural, Chemical, and Immunoenzymatic Properties of Aortic Valve Allografts. *Transplant Proc.* 2018;50(7):2195–2198. doi: 10.1016/j.transproceed.2018.04.025
 33. Smit FE, Bester D, van den Heever JJ, et al. Does prolonged post-mortem cold ischemic harvesting time influence cryopreserved pulmonary homograft tissue integrity? *Cell Tissue Bank.* 2015;16(4):531–544. doi: 10.1007/s10561-015-9500-2
 34. Yefimova M, Bere E, Neyroud AS, et al. Myelinosome-like vesicles in human seminal plasma: A cryo-electron microscopy study. *Cryobiology.* 2020;92:15–20. doi: 10.1016/j.cryobiol.2019.09.009
 35. Albero-González R, Munné-Collado J, Pijuan L, et al. Complementary value of electron microscopy and immunohistochemistry in the diagnosis of non-small cell lung cancer: A potential role for electron microscopy in the era of targeted therapy. *Ultrastruct Pathol.* 2019;43(6):237–247. doi: 10.1080/01913123.2019.1692118
 36. Zheng JJ, Hong BV, Agus J, et al. Alzheimer's Disease Patients, Especially ApoE4 Carriers, Have Significantly Reduced High-density Lipoprotein Particle Size Revealed by Negative-stained Transmission Electron Microscopy. *Alzheimer's Dement.* 2022;18:e063375. doi: 10.1002/alz.063375
 37. Amstislavsky S, Mokrousova V, Brusentsev E, et al. Influence of Cellular Lipids on Cryopreservation of Mammalian Oocytes and Preimplantation Embryos: A Review. *Biopreserv Biobank.* 2019;17(1):76–83. doi: 10.1089/bio.2018.0039
 38. Blutke A, Wanke R. Sampling Strategies and Processing of Biobank Tissue Samples from Porcine Biomedical Models. *J Vis Exp.* 2018;(133):57276. doi: 10.3791/57276
 39. Albl B, Haesner S, Braun-Reichhart C, et al. Tissue Sampling Guides for Porcine Biomedical Models. *Toxicol Pathol.* 2016;44(3):414–420. doi: 10.1177/0192623316631023
 40. Gundersen HJG, Mirabile R, Brown D, Boyce RW. Stereological principles and sampling procedures for toxicologic pathologists. In: Haschek W.M., Rousseaux C.G., Wallig M.A., Bolon B., Ochoa R., eds. *Haschek and Rousseaux's Handbook of Toxicologic Pathology.* London: Academic Press; 2013:215–286. ISBN: 9780124157590 doi: 10.1016/B978-0-12-415759-0.00008-X
 41. Dukhova NN, Samborsky SM, Gritsova LYU, et al. Oncological biobank of the National Medical Research Center of Radiology. *Eurasian Scientific Association.* 2020;(8–3(66)):143–144. (In Russ.) EDN: FTDARW
 42. Epifanova EV. Public law regulation of the system of medical biobanks: problem statement. *Legal Bulletin of the Kuban State University.* 2022;(2):87–92. (In Russ.) EDN: UJLWKS doi: 10.31429/20785836-14-2-87-92
 43. Muruve DA, Mann MC, Chapman K, et al. The biobank for the molecular classification of kidney disease: research translation and precision medicine in nephrology. *BMC Nephrol.* 2017;18(1):252. doi: 10.1186/s12882-017-0669-4
 44. Ivchenko EV, Ovchinnikov DV. Organization of scientific work as the key to the successful development of military medicine. In: *3rd Asian-Pacific Congress on Military Medicine: materials of the congress.* St. Petersburg: S.M. Kirov Military Medical Academy Publ. House; 2016:24–25. (In Russ.) EDN: YGCAGL
 45. Stienen GJM. Early adjustments in mitochondrial structure and function in skeletal muscle to high altitude: design and rationale of the first study from the Kilimanjaro Biobank. *Biophys Rev.* 2020;12(4):793–798. doi: 10.1007/s12551-020-00710-8
 46. Kopylova OV, Ershova AI, Pokrovskaya MS, et al. Population-nosological research biobank “NMITs TPM”: analysis of collections of biospecimens, principles of collecting and storing information. *Cardiovascular Therapy and Prevention.* 2021;20(8):176–190. (In Russ.) EDN: ULBPDV doi: 10.15829/1728-8800-2021-3119
 47. Blutke A, Renner S, Flenkenthaler F, et al. The Munich MIDY Pig Biobank — A unique resource for studying organ crosstalk in diabetes. *Mol Metab.* 2017;6(8):931–940. doi: 10.1016/j.molmet.2017.06.004
 48. Aleksandrov VN, Bolekhan VN, Buntovskaya AS, et al. Development of cell technology, molecular genetics and tissue engineering in S.M. Kirov military medical academy and military innovation technopolis “ERA”. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2019;3(67):243–248. (In Russ.) EDN: XXCZGO

49. de Boer P, Giepmans BN. State-of-the-art microscopy to understand islets of Langerhans: what to expect next? *Immunol Cell Biol.* 2021;99(5):509–520. doi: 10.1111/imcb.12450

50. Bonnet-Serrano F, Diedisheim M, Mallone R, Larger E. Decreased α -cell mass and early structural alterations of the exocrine pancreas in patients with type 1 diabetes: An analysis based on the nPOD repository. *PLoS One.* 2018;13(1):e0191528. doi: 10.1371/journal.pone.0191528

51. Tang X, Kusmartseva I, Kulkarni S, et al. Image-Based Machine Learning Algorithms for Disease Characterization in the Human Type 1 Diabetes Pancreas. *Am J Pathol.* 2021;191(3):454–462. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.11.010

52. de Boer P, Pirozzi NM, Wolters AHG, et al. Large-scale electron microscopy database for human type 1 diabetes. *Nat Commun.* 2020;11(1):2475. doi: 10.1038/s41467-020-16287-5

ОБ АВТОРАХ

Владимир Владимирович Криштоп, канд. мед. наук;
ORCID: 0000-0002-9267-5800; eLibrary SPIN: 3734-5479;
ResearcherID: J-3456-201

Майя Ивановна Лобанова, eLibrary SPIN: 1229-7589;
ResearcherID: IAP-1352-2024

Дмитрий Валерьевич Овчинников, канд. мед. наук; доцент;
ORCID: 0000-0001-8408-5301; eLibrary SPIN: 5437-3457;
ResearcherID: AGK-7796-2022

***Алексей Анатольевич Семенов**, канд. мед. наук; адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6;
ORCID: 0000-0002-1977-7536; eLibrary SPIN: 1147-3072;
ResearcherID: IAP-1241-2023; e-mail: vmeda-nio@mil.ru

Руслан Иванович Глушаков, докт. мед. наук;
ORCID: 0000-0002-0161-5977; eLibrary SPIN: 6860-8990;
ResearcherID: AGK-5791-2022

AUTHORS' INFO

Vladimir V. Chrishtop, MD, Cand. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-9267-5800; eLibrary SPIN: 3734-5479;
ResearcherID: J-3456-201

Maya I. Lobanova, eLibrary SPIN: 1229-7589;
ResearcherID: IAP-1352-2024

Dmitriy V. Ovchinnikov, MD, Cand. Sci. (Medicine), Associate Professor; ORCID: 0000-0001-8408-5301; eLibrary SPIN: 5437-3457;
ResearcherID: AGK-7796-2022

***Alexey A. Semenov**, MD, Cand. Sci. (Medicine); address: 6, Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, 194044, Russia;
ORCID: 0000-0002-1977-7536; eLibrary SPIN: 1147-3072;
ResearcherID: IAP-1241-2023; e-mail: vmeda-nio@mil.ru

Ruslan I. Glushakov, MD, Dr. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-0161-5977; eLibrary SPIN: 6860-8990;
ResearcherID: AGK-5791-2022

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author