

МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Самойлова М.В.¹, Воропаева Е.А.², Затевалов А.М.², Косырева Т.Ф.¹, Жиленкова О.Г.², Тутуров Н.С.¹, Гришаева К.А.¹, Мамасаидова З.Р.¹, Климоская В.А.¹, Виргинская О.В.¹, Геворкян А.А.³

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ РАСШИРЕНИЯ НЕИНВАЗИВНЫХ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ДЛЯ СКРИНИНГОВОЙ ДИАГНОСТИКИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

¹ФГАОУ ВО "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы", 117198, Москва, Россия;

²ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Роспотребнадзора», 125212, Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, Москва, Россия;

Значительные достижения в области молекулярно-генетических и биохимических методов исследования биосубстратов, а так же с развитием биоинформатических методов обработки больших данных динамично меняются подходы к диагностике и лечению пациентов. Ключевую роль в этом играют ОМИК-технологии и системный подход к оценке здоровья человека. Сдвигается время начала диагностики с инициативного обращения пациента при беспокойствах по поводу клинических проявлений к времени диспансеризации или других скрининговых исследований. В этой связи становится важным доступность и неинвазивность методов исследований на этапе скринингового исследования, а также широта охвата количества диагнозов, выполняемых из одного инструментального исследования.

Наиболее оптимальным биосубстратом для скринингового исследования можно считать слюну. Слюна человека выделяется из множества слюнных желез, включая околоушную, подчелюстную, подъязычную и малые слюнные железы, расположенные под слизистой оболочкой полости рта. Слюна содержит значительное количество белков, часть из которых имеет большое диагностическое значение для выявления заболеваний у человека.

В данном обзоре описываются некоторые недавние достижения в области эпигеномики, протеомики и метаэкспосомики в которых в качестве биосубстрата используется слюна.

Ключевые слова: эпигеномика; протеомика; метаэкспосомика; слюна; газовая хроматография масс-спектрометрия; метогеномное секвенирование

Для цитирования: Самойлова М.В., Воропаева Е.А., Затевалов А.М., Косырева Т.Ф., Жиленкова О.Г., Тутуров Н.С., Гришаева К.А., Мамасаидова З.Р., Климоская В.А., Виргинская О.В., Геворкян А.А. Перспективность расширения неинвазивных методов анализа для скрининговой диагностики (Обзор литературы). *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29(3): 170-176. DOI:https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-3-170-176

Для корреспонденции: Затевалов Александр Михайлович, д.б.н., гл.н.с Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, e-mail: zatevalov@gabrich.ru.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело финансовой поддержки.

Поступила 12.08.2024

Принята к печати 24.08.2024

Опубликовано 01.10.2024

Samoylova M.V.¹, Voropaeva E.A.², Zatevalov A.M.², Kosyрева T.F.¹, Zhilenkova O.G.², Tuturov N.S.¹, Grishaeva K.A.¹, Mamasaidova Z.R.¹, Klimoskaya V.A.¹, Virginskia O.V.¹, Gevorkyan A.A.³

PROSPECTS FOR EXPANDING NON-INVASIVE METHODS OF ANALYSIS FOR SCREENING DIAGNOSTICS (LITERATURE REVIEW)

¹Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Russian Peoples' Friendship University named after Patrice Lumumba", 117198, Moscow, Russia;

²G. N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, 125212, Moscow, Russia;

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), 119991, Moscow, Russia

Significant advances in molecular genetic and biochemical methods for studying biosubstrates, as well as with the development of bioinformatics methods for processing big data, approaches to diagnosing and treating patients are changing dynamically. OMICS technologies and a systems approach to assessing human health play a key role in this. The time of diagnosis is shifting from the patient's proactive appeal in case of concerns about clinical manifestations to the time of medical examination or other screening studies. In this regard, the availability and non-invasiveness of research methods at the stage of screening research, as well as the breadth of coverage of the number of diagnoses performed from one instrumental study, become important. Saliva can be considered the most optimal biosubstrate for screening research. Human saliva is secreted from many salivary glands,

including the parotid, submandibular, sublingual and minor salivary glands located under the mucous membrane of the oral cavity. Saliva contains a significant amount of proteins, some of which are of great diagnostic value for identifying diseases in humans. This review describes some recent advances in epigenomics, proteomics and metaexposomics using saliva as a biosubstrate.

Key words: epigenomics; proteomics; metaexposomics; saliva; gas chromatography mass spectrometry; metagenomic sequencing

For citation: Samoilova M.V., Voropaeva E.A., Zatevalov A.M., Kosyreva T.F., Zhilenkova O.G., Tuturov N.S., Grishaeva K.A., Virginskia O.V., Gevorkyan A.A. Prospects for expanding non-invasive methods of analysis for screening diagnostics (Literature review). *Epidemiologiya I Infektsionnye bolezni (Epidemiology and Infectious Diseases)*. 2024; 29(3): 170-176. DOI:https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-3-170-176

For correspondence: Alexander M. Zatevalov, Doctor of Biological Sciences. Chief Researcher at MNIEM named after. G.N. Gabrichevsky, e-mail: zatevalov@gabrigh.ru.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no financial support.

Information about authors:

Samoylova M.V.,	https://orcid.org/0000-0001-6771-919X;
Voropaeva E.A.,	https://orcid.org/0000-0002-0463-0136;
Zatevalov A.M.,	https://orcid.org/0000-0002-1460-4361;
Kosyreva T.F.,	https://orcid.org/0000-0003-4333-5735;
Zhilenkova O.G.,	https://orcid.org/0000-0003-3206-6648;
Tuturov N.S.,	https://orcid.org/0000-0001-8048-5703;
Grishaeva K.A.,	https://orcid.org/0000-0002-6932-9088;
Mamasaidova Z.R.,	https://orcid.org/0009-0004-5288-8678;
Klimovskaya V.A.,	https://orcid.org/0009-0008-2441-9910;
Virginskia O.V.,	https://orcid.org/0000-0003-2935-8965;
Gevorkyan A.A.,	https://orcid.org/0000-0003-1820-7862.

Received 12.08.2024

Accepted 24.08.2024

Published 01.10.2024

Введение. Возможность системного подхода к диагностике заболеваний существенно расширяет эффективность диагностики и лечения за счет раннего выявления заболеваний [1,2]. Диспансеризация как и скрининговые исследования позволяют диагностировать заболевания при отсутствии клинических проявлений или при стертой симптоматике [3-5]. Поиск сигнатуры заболевания проводится по реакции организма или микробиоты на эндогенные или экзогенные факторы влияния [6-8]. Регистрация макроорганизма и микробиоты на изменение факторов влияния проводится по изменению концентраций биомаркеров в биологических жидкостях организма [9-13]. Так как причиной скринингового исследования не всегда является инициативное обращение пациента, то возрастает роль неинвазивности исследования [14,15].

Протеомные исследования. Считается, что слюна может быть эффективным инструментом для выявления заболеваний, поскольку анализ слюны обладает рядом преимуществ, таких как низкая стоимость, неинвазивность и легкость сбора и обработки образцов [16]. Белки в слюне могут иметь диагностическое значение при заболеваниях полости рта и системных заболеваниях человека. Например, обнаружено, что растворимые фрагменты онкогена c-ErbB-2 и СА 15-3 существенно повышены у пациентов с раком молочной железы по сравнению с здоровыми и пациентами с доброкачественными опухолями [17]. Повышенные уровни СЕА в слюне, дефензина-1, TNF-альфа, IL-1, 6 и 8 и CD44 были обнаружены у пациентов с раком полости рта [18]. Предполагается, что использование протеомных биомаркеров будет повышать точность и чувствительность обнаружения рака у человека. Мар-

керы белка в слюне успешно применяются для диагностики СС, аутоиммунного заболевания с проявлениями ксеростомии и склеродермии. Аутоантитела к слюне, такие как анти-Ro/ SS-A, анти-La/ SS-B и анти-альфа-фодрин, применялись для выявления SS в клинических условиях [19].

Недавние исследования с использованием новых методов выявления белков SELDI-TOF-MS и 2-D-DIGE показали наличие маркеров SS в околоушной слюнной железе. Сравнение продемонстрировало значительно повышенные уровни нескольких белков у пациентов с СС (околоушного B2MG, лактоферрина, легкой цепи IgG каппа, полимерного рецептора Ig, лизоцима С и цистатина С), а также значительно уменьшенные уровни других белков (амилазы и карбоангидразы VI) по сравнению с здоровыми пациентами [20].

Эти маркеры требуют дальнейшего подтверждения, однако их использование может помочь различить SS от других аутоиммунных заболеваний.

Использование иммуноанализов часто применяется для проверки протеомных биомаркеров. Однако, разработка этих анализов затруднена необходимостью наличия специфических антител или антигенов.

Использование количественного МС-анализа с мониторингом множественных реакций (MRM) показало точные результаты при определении целевого белка и может быть эффективным инструментом для проверки [21]. Несмотря на то, что MRM был продемонстрирован для количественного определения сывороточных белков с низким содержанием, например, таких, как простатический антиген (PSA) [22], существуют опасения относительно чувствительности данного анализа в сравнении с другими существующими иммунологи-

ческими анализами. Для определения белков с низким содержанием введен метод стандартов стабильных изотопов и захвата антипептидными антителами (SISCAPA) с использованием антипептидных антител, иммобилизованных на наноаффинных колонках, для обогащения специфическими пептидами наряду с внутренними стандартами, мечеными стабильными изотопами. Этот метод является эффективным для количественного определения белков с низким содержанием и может быть применен для проверки диагностических панелей белков.

Эпигеномные исследования. Технологии секвенирования ДНК, включая секвенирование следующего поколения и третьего поколения, считаются экономически эффективными для последовательности генов и живых организмов [23]. РНК-секвенирование (RNA-seq) позволяет обнаруживать и количественно оценивать экспрессию различных типов РНК. RNA-seq стал значительным шагом вперед в биомедицинских исследованиях, расширяя возможности исследователей для анализа биологических данных [24].

Для анализа данных RNA-seq и получения биологических выводов, исследователи должны осознавать этапы, связанные с обработкой информации RNA-SEQ, и выбирать соответствующие инструменты для решения исследовательского вопроса [25].

Методы секвенирования высокой производительности позволяют получать огромное количество нуклеотидных последовательностей из одиночного транскриптома, что обеспечивает обширное покрытие всего транскриптома. RNA-seq высокого качества позволяет узнать, какие гены активно транскрибируются в образце, и точно определить уровни транскрипции альтернативных транскриптов гена. Считывания, полученные различными технологиями секвенирования, варьируют в длине от сотен до тысяч пар оснований. Illumina, Nanopore и PacBio являются наиболее часто используемыми платформами для секвенирования. Секвенирование Illumina, следующее поколение секвенирования, основано на химическом синтезе и было впервые введено в 2006 году.

Для Illumina RNA-seq, выделенная РНК преобразуется в одноцепочечную кДНК, после чего иммобилизуется на твердой поверхности и усиливается методом ПЦР. Добавляется реакционная смесь с праймерами, ДНК-полимеразой и модифицированными нуклеотидами [26]. Модифицированные нуклеотиды содержат флуоресцентную метку, которая служит индикатором основания нуклеотида. Считывая каждое основание, камера устройства с зарядовой связью (CCD) идентифицирует его по цвету метки. После считывания, метка удаляется и добавляется следующий нуклеотид. Этот процесс повторяется до тех пор, пока все основания кДНК не будут определены. Платформа Illumina может определить более 10 миллионов фрагментов кДНК параллельно, обеспечивая более высокую скорость.

Метод секвенирования PacBio, также известный как SMRT (одномолекулярное секвенирование в реальном времени), был впервые представлен в 2010 году. Он порождает полноразмерные последовательности кДНК (длинные чтения), которые описывают транскрипты транскриптомов. Длинные чтения от PacBio точны на уровне одной молекулы, так как проходят через про-

цесс циклического консенсусного секвенирования, при котором один и тот же участок кДНК обрабатывается несколько раз [27]. Высокая точность PacBio может быть ограничена внешними факторами. Каждая секвенировочная технология имеет свои преимущества и ограничения, поэтому не существует универсального метода для анализа RNA-seq с коротким чтением обычно имеют меньшую частоту ошибок и более высокую производительность по сравнению с технологиями длинного чтения, но затрудняют реконструкцию и количественную оценку транскриптома из-за своей длины [28]. Длинное считывание способствует точности сборки или даже обходу необходимости в сборке каждого транскрипта. Оно также может предоставить информацию об альтернативном сплайсинге, структуре генов, регуляторных элементах и кодирующих областях. Но сейчас длинное считывание имеет большую частоту ошибок и меньшую производительность по сравнению с коротким считыванием. Гибридные методы, объединяющие длинное и короткое чтение, могут преодолеть ограничения каждого метода и использоваться для точной количественной оценки и сборки транскриптов [29-31]. Данные, полученные из секвенирования Illumina, Nanopore и PacBio, широко используются в различных областях исследований, включая транскриптомный анализ, популяционное и клиническое исследования [32].

RNA-Seq представляет собой многосторонний метод, который может быть использован для выявления и пояснения новых концепций, как, например, о нерегулируемом гене или дефектном белке, что приводит к последующему воздействию и вызывает заболевание [32]. Вычислительный анализ данных RNA-Seq играет ключевую роль в расшифровке биологической сложности транскриптомов живых организмов, включая человека [33].

С развитием технологий секвенирования одноклеточной РНК (scRNA-Seq) развиваются и методы анализа. Множество методов были протестированы, разработаны и валидированы с использованием смоделированных наборов данных. Современные модели часто плохо задокументированы, не продемонстрированы на подлинных данных или не доступны код для их воспроизведения. В данном контексте мы представляем пакет Splatter Bioconductor для простого, воспроизводимого и хорошо задокументированного моделирования данных scRNA-Seq. Splatter предоставляет интерфейс для различных методов моделирования, включая Splat, которая является нашим собственным моделированием, основанным на гамма-пуассоновском распределении. Splat может моделировать отдельные популяции клеток, популяции с различными типами клеток или пути дифференциации [34]. Профилирование экспрессии белков – это изучение ключевых функциональных молекул - белков, присутствующих в биологической системе. Это включает в себя определение идентичности, количества и посттрансляционных состояний множества белков, которые присутствуют в определенных моменты времени в жизненном цикле организма. Поскольку клетки реагируют на физиологические сигналы и окружающую среду, протеом становится уникальным и информативным "индикатором" фенотипического состояния. Предоставляя обзор всех биохимических путей, профилирование экспрессии дополняет и рас-

ширяет традиционные анализы отдельных молекул, создавая проверяемые гипотезы о биологической роли белков в здоровье и болезнях [35]. Множество успехов в терапевтическом вмешательстве были достигнуты благодаря улучшению возможности диагностики, определению стадий и стратификации пациентов, которые могут по-разному реагировать на различные стратегии лечения. Однако, несмотря на эти достижения, лечение многих заболеваний, таких как рак, остается неэффективным, а сердечно-сосудистые заболевания по-прежнему страдают от факта, что многие пациенты обнаруживаются на поздних стадиях заболевания. Раннее выявление аномалий оказывается весьма полезным для результатов лечения пациентов, однако имеется недостаточное количество эффективных инструментов для детекции заболевания на ранней стадии или для определения лиц с повышенным риском фатального исхода или неприемлемостью к терапии. Также отсутствие информативных биологических тестов затрудняет разработку достойных терапевтических средств. Поэтому необходимо немедленное внедрение биологических маркеров для повышения эффективности клинических исследований.

Метаэкспосомика. Еще одним популярным в настоящее время методом диагностики является метаэкспосомика [15]. Оценка реакции микробиоты по специфическому соотношению малых молекул микробного происхождения позволяет диагностировать заболевания, проводить мониторинг лечения заболеваний и состояния пациента [8]. За счет универсальности микробных маркеров открываются возможности скрининга большого количества заболеваний из совершенно различных областей медицины [36-47]. Источником малых молекул микробного происхождения является структурная часть липополисахарида липид А. у большинства грамотрицательных бактерий липид А состоит из жирных кислот, глюкозамина и остатков фосфата [48]. Газовой-хроматографией масс-спектрометрией определяются жирные кислоты, альдегиды, гидроксикислоты и стеролы, образующиеся после кислого метанолиза биосубстрата [11]. Эта методика пробоподготовки аналогична той, что применяется для идентификации микроорганизмов в микробиологическом анализаторе Sherlock [49]. Маркеры микроорганизмов обладают видоспецифичностью при идентификации чистой культуры, а также могут идентифицировать состояние системы макроорганизм-микробиота специфичное для определенного заболевания [8]. Для выявления биомаркеров, характеризующих тяжесть исследуемого заболевания используют методы многомерной статистики [7]. Дискриминантным анализом определяется сигнатура интересующего нас заболевания, а также рассчитывается регрессионный компонент – коэффициент уникальности [15]. Благодаря тому, что дискриминантный анализ относится к проекционным методам многомерной статистики, то по результатам одного исследования можно диагностировать самые различные заболевания, рассчитывая, различные диагностические коэффициенты. При использовании слюны, в качестве биосубстрата широкий спектр скрининга сочетается с неинвазивностью исследования, что позволяет более широко использовать данный вид обследования.

Заключение. Молекулярно-генетические исследо-

вания показывают высокую эффективность диагностики и мониторинга здоровья пациента, а способы секвенирования становятся более доступными как по цене, так и по доступности расходных материалов и аппаратно-программного обеспечения [50]. Тем не менее анализ публикаций показывает, что появляются альтернативные исследования, обладающие высокой эффективностью диагностики, использующие в качестве объекта исследования молекулы клеточной стенки микроорганизмов – фрагменты липида А [51,52]. Биоинформационный анализ концентраций компонентов клеточной стенки дает информацию как об особенностях состава микробиоты, так и о ее функциональной активности. Разработки в этой области находятся на стадии пилотных проектов, но являются перспективными за счет более простого оборудования, программного обеспечения и более универсальных молекул – объектов исследования [37].

Таким образом, ОМИК-технологии с использованием слюны играют важную роль в диагностике и мониторинге состояния устной полости, а также могут быть ключевым элементом комплексного подхода к поддержанию здоровья пациента [53]. Проведение анализов позволяет получить подробную информацию о микробиоте в полости рта, что важно для выявления различных инфекционных процессов, таких как кариес, пародонтит, гингивит и других заболеваний. В дополнение, проведение скринингового анализа заболеваний с использованием слюны как биосубстрата может быть эффективным средством для стоматологов при оценке состояния зубов и десен, помогая выявлять и предотвращать различные проблемы в области устного здоровья [54]. Этот метод также может быть использован для определения других заболеваний за счет использования проекционных методов многомерной статистики и использования диагностических коэффициентов, рассчитанных на основании больших объемов данных «Big data», что существенно расширяет область скрининга и может быть эффективным методом для выбора оптимальной схемы лечения и мониторинга здоровья пациента [55]. Изучение взаимосвязи между составом микробиоты полости рта и общим здоровьем пациента является важным аспектом. Исследования показывают, что изменения в составе устной микрофлоры могут быть связаны с различными системными заболеваниями, включая сердечно-сосудистые заболевания и диабет [56]. Таким образом, скрининговый анализ слюны предоставляет информацию не только о состоянии здоровья полости рта, но и о его влиянии на общее благополучие человека.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 3-4, 18-34, 49, 51, 53-54 с.м. REFERENCES)

2. Кондракова О.А., Грубова Е.А., Затевалов А.М. Новые подходы к диагностике дисбактериоза кишечника. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2002; 47(9): 29.
5. Федоров Д.С., Калюжин О.В., Афанасьев С.С., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г. Скрининговая диагностика рака кишечника по результатам метаэкспосомного исследования. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29(1): 58-64.
6. Мануйлова Е.Б., Садеков Т.Ш., Мехтиев Э.Р.О., Затевалов А.М., Самойлова М.В., Миронов А.Ю. Микробиом-ассоциированная ме-

- таболоника в клинической лабораторной диагностике тонзиллита. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68(9): 553-558.
7. Высочанская С.О., Садеков Т.Ш., Затевалов А.М., Мехтиев Э.Р. Валидация математических моделей скрининговой диагностики рака кишечника по показателям биохимического анализа крови. *Известия ГТТУ. Медицина, фармация*. 2023; 1: 10-19.
 8. Садеков Т.Ш., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г., Омарова М.А., Роговский В.С., Федоров Д.С., Безродный С.Л. Структура микробиом-ассоциированного экспосомы при рассеянном склерозе, раке кишечника и сахарном диабете 2 типа и дислипидемиях. *Известия ГТТУ. Медицина, фармация*. 2022; 3: 20-28.
 9. Мехтиев Э.Р., Радугина Н.В., Жиленкова О.Г., Затевалов А.М., Селькова Е.П. Математическое моделирование функционального состояния микробиоценоза влагалища по концентрациям малых молекул микробного происхождения в вагинальном секрете. *Известия ГТТУ. Медицина, фармация*. 2022; 4: 6-17.
 10. Безродный С.Л., Марданлы С.Г., Затевалов А.М., Терешина Е.В., Миронов А.Ю., Помазанов В.В. Оценка состояния кишечного микробиоценоза на основе бактериального эндотоксина и плазмалогена у лиц старшего возраста с патологией сахарного диабета 2 типа. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(9): 565-570.
 11. Самойлова М.В., Косырева Т.Ф., Анурова А.Е., Абрамович Р.А., Миронов А.Ю., Жиленкова О.Г., Затевалов А.М., Воронаева Е.А. Оценка микробиоценоза полости рта на основе ГХ-МС-определения плазмалогена и бактериального эндотоксина в ротовой жидкости. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64(3): 186-192.
 12. Миронов А.Ю., Зур Н.В., Затевалов А.М. Методы математического моделирования фагоцитоза для интегральной оценки микробиоценозов и эффективности лечения при урогенитальном хламидиозе. *Известия ГТТУ. Медицина, фармация*. 2020; 2: 26-29.
 13. Затевалов А.М., Петухова Н.А., Степанова М.М. Исследование феномена хронического тонзиллита с позиций большей доказательности диагностических критериев. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29(1): 28-34.
 14. Бельская Л.В. Возможности применения слюны для диагностики онкологических заболеваний. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2019; 64 (6): 333-336.
 15. Затевалов А.М., Безродный С.Л., Марданлы С.Г., Помазанов В.В. Микробиом-ассоциированная экспосомика - новое перспективное направление предиктивной диагностики. В сборнике: Перспективы внедрения инновационных технологий в медицине и фармации. Сборник материалов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной Году науки и технологий. Под общей редакцией С.Г. Марданлы, В.В. Помазанова, В.А. Киселевой. Орехово-Зуево, 2021.
 16. Ахременко Я.А. Микробиология полости рта: Учебное пособие для студентов стоматологических факультетов. – Якутск: Изд-во Якутского госуниверситета, 2008.
 17. Зеленова Е.Г., Заславская М.И., Салина Е.В., Рассанов С.П. Микрофлора полости рта: норма и патология: Учебное пособие. Нижний Новгород: Издательство НГМА, 2004.
 35. Ванеева Е.В., Росин В.А., Дьяконов Д.А., Самарина С.В., Парамонов И.В. Значение экспрессии активационных белков rakt1, rzyk при диффузной в-крупноклеточной лимфоме. *Клиническая онкогематология. Фундаментальные исследования и клиническая практика*, 2022; 15 (2): 140-147.
 36. Федоров Д.С., Затевалов А.М., Митрохин С.Д., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Жиленкова О.Г. МЕТАЭКСПОСОМ ОНКОСКРИН. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2024617289, 01.04.2024. Заявка от 25.03.2024.
 37. Затевалов А.М., Жиленкова О.Г., Леонтьева Н.И., Федоров Д.С. Скрининговая диагностика заболеваний желудочно-кишечного тракта методом метаэкспосомики. *Вопросы питания*. 2024; 93(3): 77.
 38. Федоров Д.С., Калужин О.В., Афанасьев С.С., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г. Скрининговая диагностика рака кишечника по результатам метаэкспосомного исследования. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29(1): 58-64.
 39. Мехтиев Э.Р.О., Садеков Т.Ш., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г., Радугина Н.В. Предиктивная диагностика вагиноза. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2023616183, 23.03.2023. Заявка № 2023614625 от 13.03.2023.
 40. Мехтиев Э.Р.О., Садеков Т.Ш., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г., Ра-
дугина Н.В. Предиктивная диагностика первичита. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2023616577, 29.03.2023. Заявка № 2023614641 от 13.03.2023.
 41. Садеков Т.Ш., Высочанская С.О., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г., Басов А.А. Хронический гастрит. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2023667945, 22.08.2023. Заявка № 2023666527 от 07.08.2023.
 42. Садеков Т.Ш., Высочанская С.О., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г., Басов А.А. Диагностика герпесвирусной инфекции. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2023667946, 22.08.2023. Заявка № 2023666528 от 07.08.2023.
 43. Марданлы С.Г.О., Безродный С.Л., Садеков Т.Ш., Затевалов А.М., Терешина Е.В., Помазанов В.В. ДИАБЕТ-СКРИН. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2022612120, 08.02.2022. Заявка № 2022611262 от 01.02.2022.
 44. Марданлы С.Г.О., Безродный С.Л., Садеков Т.Ш., Затевалов А.М., Терешина Е.В., Помазанов В.В. ДИСЛИПИДЕМИЯ – СКРИН. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2022612817, 28.02.2022. Заявка № 2022611747 от 09.02.2022.
 45. Жиленкова О.Г., Леонтьева Н.И., Затевалов А.М., Лиханская Е.И., Воронаев А.Д. Способ диагностики криптоспоридиоза по концентрациям молекулярных маркеров микроорганизмов в крови. Патент на изобретение RU 2766796 С1, 15.03.2022. Заявка № 2021115815 от 02.06.2021.
 46. Радугина Н.В., Мехтиев Э.Р.О., Жиленкова О.Г., Селькова Е.П., Афанасьев М.С., Затевалов А.М. Способ диагностики вируса папилломы человека по концентрации молекулярных маркеров. Патент на изобретение RU 2768491 С1, 24.03.2022. Заявка № 2021117460 от 16.06.2021.
 47. Садеков Т.Ш., Высочанская С.О., Жиленкова О.Г., Затевалов А.М. Предиктивная диагностика пневмоцистоза. Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ RU 2022681004, 09.11.2022. Заявка № 20226669920 от 25.10.2022
 48. Гайсина Ю.Р., Ахмадуллина Ю.А., Гильманов А.Ж., Мавзютов А.Р. Эндотоксинемия и влияние микробных липополисахаридов на систему гемостаза у женщин с бактериальным вагинозом. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2011; 6(3): 155-9.
 50. Смирнов А.М., Зайцева М.А., Павлов А.Е. Перспективы применения метода секвенирования следующего поколения (NGS) в клинической практике скрининга новорожденных. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2013; 58(2): 37-40.
 52. Садеков Т.Ш., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г., Мехтиев Э.Р.О. Оценка микробиома человека в группе риска повторных респираторных инфекций. В книге: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ. Сборник научно-практических работ IX Всероссийской научно-практической онлайн-конференции. Ростов-на-Дону, 2021; 48-53.
 55. Хрипач Л.В., Князева Т.Д., Железняк Е.В., Маковецкая А.К., Коганова З.И., Бударина О.В., Сабирова З.Ф., Ингель Ф.И., Демина Н.Н., Лебедева Н.В.. Скрининг и пост-скрининг маркеров загрязнения атмосферного воздуха в пробах слюны детей дошкольного возраста. *Гигиена и санитария*. 2020; 99 (6): 610-617.
 56. Фотина, И. А. Информативность изменений биохимических параметров ротовой жидкости и сыворотки крови при сахарном диабете 2 типа. *Вестник новых медицинских технологий*. 2011; XVII (4): 184-185.

REFERENCES

1. Xu X, Li J, Zhu Z, Zhao L, Wang H, Song C, Chen Y, Zhao Q, Yang J, Pei Y. A Comprehensive Review on Synergy of Multi-Modal Data and AI Technologies in Medical Diagnosis. *Bioengineering (Basel)*. 2024 Feb 25;11(3):219.
2. Kondrakova O.A, Grubova Ye.A., Zatevalov A.M. New approaches to diagnostics of intestinal dysbacteriosis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2002; 47(9): 29. (in Russ.)
3. Yan L, Huang Z. Application value and feasibility analysis of humanistic health management for cancer screening in physical examination. *Am J Transl Res*. 2021 Dec 15;13(12):14229-14237.
4. Qiao L, Li R. Influence of Personalized Health Management Model Based on Internet Mode on Self-Management Ability and Life Quality of Patients with Chronic Diseases Undergoing Physical Examination

- tion. *Comput Math Methods Med.* 2022 Aug 9;2022:4434436.
5. Fedorov D.S., Kalyuzhin O.V., Afanas'yev S.S., Zatevalov A.M., Zhilenkova O.G. Screening diagnostics of bowel cancer based on the results of metaexposomal study. *Epidemiologiya i infeksionnyye bolezni.* 2024; 29(1): 58-64. (in Russ.)
 6. Manuylova Ye.B., Sadekov T.SH., Mekhtiyev E.R.O., Zatevalov A.M., Samoylova M.V., Mironov A.YU. Microbiome-associated metabolomics in clinical laboratory diagnostics of tonsillitis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2023; 68(9): 553-558. (in Russ.)
 7. Vysochanskaya S.O., Sadekov T.SH., Zatevalov A.M., Mekhtiyev E.R. Validation of mathematical models of screening diagnostics of bowel cancer based on biochemical blood test parameters. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya.* 2023; 1: 10-19. (in Russ.)
 8. Sadekov T.SH., Zatevalov A.M., Zhilenkova O.G., Omarova M.A., Rogovskiy V.S., Fedorov D.S., Bezrodny S.L. Structure of microbiome-associated exposome in multiple sclerosis, bowel cancer and type 2 diabetes mellitus and dyslipidemia. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya.* 2022; 3: 20-28. (in Russ.)
 9. Mekhtiyev E.R., Radugina N.V., Zhilenkova O.G., Zatevalov A.M., Sel'kova Ye.P. Mathematical modeling of the functional state of the vaginal microbiocenosis based on the concentrations of small molecules of microbial origin in vaginal secretions. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya.* 2022; 4: 6-17. (in Russ.)
 10. Bezrodny S.L., Mardanly S.G., Zatevalov A.M., Tereshina Ye.V., Mironov A.YU., Pomazanov V.V. Assessment of the state of intestinal microbiocenosis based on bacterial endotoxin and plasmalogen in elderly individuals with type 2 diabetes mellitus pathology. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2021; 66(9): 565-570. (in Russ.)
 11. Samoylova M.V., Kosyreva T.F., Anurova A.Ye., Abramovich R.A., Mironov A.YU., Zhilenkova O.G., Zatevalov A.M., Voropayeva Ye.A. Evaluation of oral microbiocenosis based on GC-MS determination of plasmalogen and bacterial endotoxin in oral fluid. Clinical laboratory diagnostics. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2019; 64(3): 186-192. (in Russ.)
 12. Mironov A.YU., Zur N.V., Zatevalov A.M. Methods of mathematical modeling of phagocytosis for integrated assessment of microbiocenoses and treatment effectiveness in urogenital chlamydia. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya.* 2020; 2: 26-29. (in Russ.)
 13. Zatevalov A.M., Petukhova N.A., Stepanova M.M. Study of the phenomenon of chronic tonsillitis from the standpoint of greater evidence of diagnostic criteria. *Epidemiologiya i infeksionnyye bolezni.* 2024; 29(1): 28-34. (in Russ.)
 14. Bel'skaya L.V. Possibilities of using saliva for diagnostics of oncological diseases. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika.* 2019; 64(6): 333-336. (in Russ.)
 15. Zatevalov A.M., Bezrodny S.L., Mardanly S.G., Pomazanov V.V. Microbiome-associated exposomics - a new promising direction in predictive diagnostics. In the collection: Prospects for the implementation of innovative technologies in medicine and pharmacy. Collection of materials of the VIII All-Russian scientific and practical conference with international participation, dedicated to the Year of Science and Technology. Under the general editorship of S.G. Mardanly, V.V. Pomazanov, V.A. Kiseleva. Orekhovo-Zuyevo, 2021; 106-109. (in Russ.)
 16. Akhremenko YA.A. Microbiology of the oral cavity: A textbook for students of dental faculties. – Yakutsk: Izd-vo Yakutskogo gosuniversiteta, 2008. (in Russ.)
 17. Zelenova Ye.G., Zaslavskaya M.I., Salina Ye.V., Rasanov SP. Microflora of the oral cavity: norm and pathology: Textbook. Nizhniy Novgorod: Izdatel'stvo NGMA, 2004. (in Russ.)
 18. Alser, M., Rotman, J., Deshpande, D., Taraszka, K., Shi, H., Baykal, P. I., et al. Technology dictates algorithms: Recent developments in read alignment. *Genome Biol.* 2020; 22: 249.
 19. Amarasinghe, S. L., Su, S., Dong, X., Zappia, L., Ritchie, M. E., and Gouil, Q. Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. *Genome Biol.* 2020; 21: 30.
 20. De Maio, N., Shaw, L. P., Hubbard, A., George, S., Sanderson, N. D., Swann, J., et al. Comparison of long-read sequencing technologies in the hybrid assembly of complex bacterial genomes. *Microb. Genomics* 2019; 5: e000294.
 21. Kristensen, L. S., Andersen, M. S., Stagsted, L. V. W., Ebbesen, K. K., Hansen, T. B., and Kjems, J. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs. *Nat. Rev. Genet.* 2019; 20: 675–691.
 22. Gao, Y., Wang, J., Zheng, Y., Zhang, J., Chen, S., and Zhao, F. Comprehensive identification of internal structure and alternative splicing events in circular RNAs. *Nat. Commun.* 2016; 7: 12060
 23. Shendure J, Ji H. Next-generation DNA sequencing. *Nat Biotechnol.* 2008 Oct; 26(10):1135-45.
 24. Kukurba KR, Montgomery SB. RNA Sequencing and Analysis. *Cold Spring Harb Protoc.* 2015 Apr 13; 2015(11): 951-69.
 25. Mahmoud, M., Gobet, N., Cruz-Davalos, D. I., Mounier, N., Dessimoz, C., and Sedlazeck, F. J. Structural variant calling: The long and the short of it. *Genome Biol.* 2019; 20: 246
 26. Zheng, Y., and Zhao, F. Visualization of circular RNAs and their internal splicing events from transcriptomic data. *Bioinforma. Oxf. Engl.* 2020; 36: 2934–2935.
 27. Hoffmann, S., Otto, C., Doose, G., Tanzer, A., Langenberger, D., Christ, S., et al. A multi-split mapping algorithm for circular RNA, splicing, trans-splicing and fusion detection. *Genome Biol.* 2014; 15: R34.
 28. Hu, Y. J., Sun, W., Tzeng, J. Y., and Perou, C. M. Proper use of allele-specific expression improves statistical power for cis-eQTL mapping with RNA-seq data. *J. Am. Stat. Assoc.* 2015; 110: 962–974.
 29. De Maio N, Shaw LP, Hubbard A, George S, Sanderson ND, Swann J, Wick R, AbuOun M, Stubberfield E, Hoosdally SJ, Crook DW, Peto TEA, Sheppard AE, Bailey MJ, Read DS, Anjum MF, Walker AS, Stoesser N, On Behalf Of The Rehab Consortium. Comparison of long-read sequencing technologies in the hybrid assembly of complex bacterial genomes. *Microb Genom.* 2019 Sep; 5(9): e000294.
 30. Amarasinghe SL, Su S, Dong X, Zappia L, Ritchie ME, Gouil Q. Opportunities and challenges in long-read sequencing data analysis. *Genome Biol.* 2020 Feb 7; 21(1): 30.
 31. Berbers G, Mollema L, van der Klis F, den Hartog G, Schepp R. Antibody Responses to Respiratory Syncytial Virus: A Cross-Sectional Serosurveillance Study in the Dutch Population Focusing on Infants Younger Than 2 Years. *J Infect Dis.* 2021 Jul 15; 224(2): 269-278.
 32. Ji, P., Wu, W., Chen, S., Zheng, Y., Zhou, L., Zhang, J. Expanded expression landscape and prioritization of circular RNAs in mammals. *Cell. Rep.* 2019; 26: 3444–3460.
 33. Costa J, Lunet N, Santos C, Santos J, Vaz-Carneiro A. Caffeine exposure and the risk of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *J Alzheimers Dis.* 2010; 20 Suppl 1: 221-38.
 34. Sedlazeck FJ, Lee H, Darby CA, Schatz MC. Piercing the dark matter: bioinformatics of long-range sequencing and mapping. *Nat Rev Genet.* 2018 Jun; 19(6): 329-346.
 35. Vaneyeva Ye.V., Rosin V.A., D'yakonov D.A., Samarina S.V., Paramonov I.V. The significance of expression of activation proteins pakt1, psyk in diffuse large B-cell lymphoma. *Klinicheskaya onkologematologiya. Fundamental'nyye issledovaniya i klinicheskaya praktika,* 2022; 15 (2): 140-147. (in Russ.)
 36. Fedorov D.S., Zatevalov A.M., Mitrokhin S.D., Afanas'yev S.S., Aleshkin V.A., Zhilenkova O.G. METAEXPOSOM ONKO-SKRIN. Certificate of registration of a computer program RU 2024617289, 01.04.2024. Zayavka ot 25.03.2024. (in Russ.)
 37. Zatevalov A.M., Zhilenkova O.G., Leont'yeva N.I., Fedorov D.S. Screening diagnostics of gastrointestinal diseases by the metaexposomics method. *Voprosy pitaniya.* 2024; 93(3): 77. (in Russ.)
 38. Fedorov D.S., Kalyuzhin O.V., Afanas'yev S.S., Zatevalov A.M., Zhilenkova O.G. Screening diagnostics of colorectal cancer based on the results of metaexposomal analysis. *Epidemiologiya i infeksionnyye bolezni.* 2024; 29(1): 58-64. (in Russ.)
 39. Mekhtiyev E.R.O., Sadekov T.SH., Zatevalov A.M., Zhilenkova O.G., Radugina N.V. Predictive diagnostics of vaginosis. Certificate of registration of a computer program RU 2023616183, 23.03.2023. Bid № 2023614625 ot 13.03.2023. (in Russ.)
 40. Mekhtiyev E.R.O., Sadekov T.SH., Zatevalov A.M., Zhilenkova O.G., Radugina N.V. Predictive diagnostics of cervicitis. Certificate of registration of a computer program RU 2023616577, 29.03.2023. Bid № 2023614641 ot 13.03.2023. (in Russ.)
 41. Sadekov T.SH., Vysochanskaya S.O., Zatevalov A.M., Zhilenkova O.G., Basov A.A. Chronic gastritis. Certificate of registration of a computer program RU 2023667945, 22.08.2023. Bid № 2023666527 ot 07.08.2023. (in Russ.)
 42. Sadekov T.SH., Vysochanskaya S.O., Zatevalov A.M., Zhilenkova O.G., Basov A.A. Diagnostics of herpesvirus infection. Certificate of registration of a computer program RU 2023667946, 22.08.2023. Bid № 2023666528 ot 07.08.2023. (in Russ.)

43. Mardanly S.G.O., Bezrodnny S.L., Sadekov T.SH., Zatevalov A.M., Tereshina Ye.V., Pomazanov V.V. DIABETES-SCREEN. Certificate of registration of a computer program RU 2022612120, 08.02.2022. Bid № 2022611262 ot 01.02.2022. (in Russ.)
44. Mardanly S.G.O., Bezrodnny S.L., Sadekov T.SH., Zatevalov A.M., Tereshina Ye.V., Pomazanov V.V. DYSLIPIDEMIA – SCREEN. Certificate of registration of a computer program RU 2022612817, 28.02.2022. Bid № 2022611747 ot 09.02.2022 (in Russ.)
45. Zhilenkova O.G., Leont'yeva N.I., Zatevalov A.M., Likhanskaya Ye.I., Voropayev A.D. Method for diagnosing cryptosporidiosis by concentrations of molecular markers of microorganisms in the blood. Patent for invention RU 2766796 C1, 15.03.2022. Bid № 2021115815 ot 02.06.2021. (in Russ.)
46. Radugina N.V., Mekhtiyev E.R.O., Zhilenkova O.G., Sel'kova Ye.P., Afanas'yev M.S., Zatevalov A.M. Method for diagnosing human papillomavirus by the concentration of molecular markers. Patent for invention RU 2768491 C1, 24.03.2022. Bid № 2021117460 ot 16.06.2021. (in Russ.)
47. Sadekov T.SH., Vysochanskaya S.O., Zhilenkova O.G., Zatevalov A.M. Predictive diagnostics of pneumocystosis. Certificate of registration of a computer program RU 2022681004, 09.11.2022. Bid № 2022669920 ot 25.10.2022 (in Russian)
48. Gajsina Yu.R., Axmadullina Yu.A., Gil'manov A.Zh., Mavzyutov A.R.. Endotoxemia and the effect of microbial lipopolysaccharides on the hemostasis system in women with bacterial vaginosis. *Meditsinskij vestnik Bashkortostana*. 2011; 6(3); 155-9. (in Russ.)
49. Fykse EM, Tjærnhage T, Humppi T, Eggen VS, Ingebretsen A, Skogan G, Olofsson G, Wästerby P, Gradmark PÅ, Larsson A, Dybwad M, Blatny JM. Identification of airborne bacteria by 16S rDNA sequencing, MALDI-TOF MS and the MIDI microbial identification system. *Aerobiologia (Bologna)*. 2015; 31(3): 271-281.
50. Smirnov A.M., Zaytseva M.A., Pavlov A.Ye. Prospects for the application of the next-generation sequencing (NGS) method in clinical practice of newborn screening. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2013; 58(2); 37-40. (in Russ.)
51. Wang YZ, Shen HB. Multi-omics approaches for revealing the etiology of cancer: from genomics, exposomics, metabolomics to system epidemiology. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2023 Apr 10; 44(4): 521-528.
52. Sadekov T.SH., Zatevalov A.M., Zhilenkova O.G., Mekhtiyev E.R.O. Assessment of the human microbiome in the risk group for recurrent respiratory infections. In the book: MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF DIAGNOSTICS OF INFECTIOUS DISEASES. Collection of scientific and practical works of the IX All-Russian scientific and practical online conference. Rostov-na-Donu, 2021. (in Russ.)
53. Carlier J.-P., Sellier N. Gas chromatographic - mass spectral studies after methylation of methabolites, produced by some anaerobic bacteria in spent media. *J.Chromatogr. Biomed.Appl.* 1989; 493: 257-273.
54. Kim et al., Omic Paradigms Enhance Interface between Periodontitis Pathogenesis and Human Health. *J Nutr Food Sci* 2016; 6:3
55. Khripach L.V., Knyazeva T.D., Zheleznyak Ye.V., Makovetskaya A.K., Koganova Z.I., Budarina O.V., Sabirova Z.F., Ingel' F.I., Demina N.N., Lebedeva N.V.. Screening and post-screening of air pollution markers in saliva samples of preschool children. *Gigiyena i sanitariya*. 2020; 99 (6), 610-617. (in Russ.)
56. Fotina, I. A. Information content of changes in biochemical parameters of oral fluid and blood serum in type 2 diabetes mellitus. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2011; XVIII (4), 184-185. (in Russ.)