

СОДЕРЖАНИЕ

Том 142, номер 2, 2022

Хемокин CCL2 и его рецептор CCR2 в регуляции когнитивных функций и развитии возрастных болезней <i>Б. И. Кузник, Н. И. Чалисова, Е. С. Гусева</i>	107
Генетические модели заболеваний мозга человека (краткий обзор) <i>И. И. Полетаева</i>	120
Энтерогематический барьер при критических состояниях организма <i>Т. В. Шефер, О. А. Вакуненкова, Ю. Ю. Ивницкий, А. И. Головки</i>	138
COVID-19 и его вакцины (обзор) <i>Н. Реман, А. Пандей</i>	153
Роль Р-селектина в развитии нарушений гемостаза при COVID-19 <i>М. Г. Голубева</i>	175
Болезни иммунной системы <i>В. М. Земсков, А. М. Земсков, В. В. Нейманн, А. А. Барсуков, В. А. Земскова, М. Н. Козлова, Н. С. Шишкина, В. С. Демидова</i>	184
Роль аквапорина-5 в формировании отека легких различного генеза <i>П. Г. Толкач, Д. Т. Сизова, В. А. Башарин, С. В. Ченур, Н. Г. Венгерович, О. И. Алешина, И. М. Иванов, М. А. Чайкина</i>	193
Оценка метаболома человека как метод молекулярной диагностики колоректального рака. Профилактика и терапия <i>Г. А. Шиловский, Е. В. Сорокина, Т. С. Пуяткина</i>	199
Правила для авторов	206

Contents

Vol. 142, No. 2, 2022

Chemokine CCL2 and Its Receptor CCR2 in Regulation of Cognitive Functions and in Development of Aging Diseases <i>B. I. Kuznik, N. I. Chalisova, E. S. Guseva</i>	107
Genetic Models of Human Brain Diseases (a Brief Overview) <i>I. I. Poletaeva</i>	120
Gut Barrier in Critical States of the Body <i>T. V. Schäfer, O. A. Vakunenkova, Ju. Ju. Ivnitky, A. I. Golovko</i>	138
An Overview of COVID-19 and Its Vaccines <i>N. Rehman, A. Pandey</i>	153
Role of P-selectin in the Development of Hemostasis Disorders in COVID-19 <i>M. G. Golubeva</i>	175
Diseases of the Immune System <i>V. M. Zemskov, A. M. Zemskov, V. V. Neymann, A. A. Barsukov, V. A. Zemskova, M. N. Kozlova, N. S. Shishkina, V. S. Demidova</i>	184
The Role of Aquaporin-5 in the Formation of Pulmonary Edema of Different Genesis <i>P. G. Tolkach, D. T. Sizova, V. A. Basharin, S. V. Chepur, N. G. Vengerovich, O. I. Aleshina, I. M. Ivanov, M. A. Chaykina</i>	193
Assessment of Human Metabolom as a Method for Molecular Diagnostics of Colorectal Cancer. Prevention and Therapy <i>G. A. Shilovsky, E. V. Sorokina, T. S. Putyatina</i>	199
Rules for authors	206

УДК 577.24

ХЕМОКИН CCL2 И ЕГО РЕЦЕПТОР CCR2 В РЕГУЛЯЦИИ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ И РАЗВИТИИ ВОЗРАСТНЫХ БОЛЕЗНЕЙ

© 2022 г. Б. И. Кузник^{1, 2}, Н. И. Чалисова^{3, 4, *}, Е. С. Гусева²¹Читинская государственная медицинская академия, Чита, Россия²Инновационная клиника “Академия здоровья”, Чита, Россия³Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия⁴Санкт-Петербургский институт биорегуляции и геронтологии, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: ni_chalisova@mail.ru

Поступила в редакцию 30.10.2021 г.

После доработки 10.11.2021 г.

Принята к публикации 10.11.2021 г.

Представлены данные об особой группе белков-цитокинов, получивших наименование хемокинов, основной и важнейшей функцией которых является стимуляция миграции лейкоцитов и других клеток, благодаря чему они участвуют во всех защитных, а также деструктивных иммунных и воспалительных реакциях. Хемокины осуществляют гаптотаксис, хемокинез, гаптокинез, адгезию, гематопоез и ангиогенез. Одновременно хемокины высвобождают факторы роста и цитокины и облегчают процессы регенерации поврежденных тканей. Один из важнейших представителей этой группы – хемокин CCL2, способный регулировать инфильтрацию и миграцию различных клеток, играющих существенную роль в неспецифическом и адаптивном иммунитете, в процессах воспаления и регенерации тканей, а также в деятельности ЦНС. Основной рецептор для CCL2 – CCR2, широко экспрессируемый различными клетками и тканями. По мере старения человека содержание CCL2 повышается, что коррелирует с развитием тяжелых когнитивных нарушений и с тяжестью болезней, возникающих наиболее часто в пожилом и старческом возрасте. Установлено, что суперэкспрессия CCL2 в ЦНС способствует увеличению патогенных видов тау-белка и связана с глиальными нейровоспалительными изменениями. CCL2 и CCR2 участвуют в изменении метаболизма бета-амилоида (A β), лежащем в основе болезни Альцгеймера. Повышенная экспрессия CCL2 в различных зонах ЦНС выявлена при болезни Паркинсона, депрессии, инсультах и травматических повреждениях головного мозга, что коррелирует с проявлениями когнитивных нарушений. Значительную роль играет ось CCL2/CCR2 в патогенезе поражений сердечно-сосудистой системы, сахарного диабета 1-го и 2-го типов, в онкогенезе, в осложнениях, сопутствующих атеросклерозу, включая ишемический инсульт, инфаркт миокарда, острый коронарный синдром, тяжелую сердечную недостаточность. Значимое увеличение уровня CCL2 и экспрессии CCR2 непосредственно в опухолевых клетках обнаружено при раке различных органов. Таким образом, CCL2 и CCR2 играют существенную роль в развитии возрастных болезней.

Ключевые слова: хемокины, CCL2, CCR2, когнитивные функции, сердечно-сосудистая система, диабет 1-го и 2-го типов, онкологические заболевания

DOI: 10.31857/S0042132422020041

ВВЕДЕНИЕ

Прошло уже десять лет с тех пор, как в журнале “Nature” была опубликована статья (Villeda et al., 2011), выполненная сотрудниками Школы медицины Стэнфордского университета (Stanford University School of Medicine), в которой сообщалось, что в крови старых мышей находится комплекс биологически активных соединений, индуцирующих у молодых животных апоптоз нейронов головного мозга. Применяв метод гетерохронического парабиоза и таким образом создав общее кровообращение у старых и молодых мышей, ав-

торы работы обнаружили в зубчатой извилине головного мозга молодых животных значительное снижение числа пролиферирующих нейронов. Введение молодым мышам плазмы старых животных привело к таким же негативным изменениям в зубчатой извилине, как и при гетерохроническом парабиозе. Молодые мыши, получившие инъекции плазмы от старых, хуже решали пространственно-навигационные задачи, что является признаком нарушения функций гиппокампа. У них также существенно были повреждены когнитивные функции.

Для выявления в крови специфических факторов, связанных со старением и клеточной гибелью нейронов, авторы проанализировали 66 различных сигнальных белков иммунной системы, обнаруженных в крови спаренных мышей. Уровень шести из них (CCL2, CCL11, CCL12, CCL19, гаптоглобина и β 2-микроглобулина) был повышен как у старых, так и у молодых мышей, имевших общее кровообращение (Villeda et al., 2011).

Обращает на себя внимание, что из шести «старящих» белков четыре принадлежат к хемокинам. Наиболее изученным из них оказался белок CCL11, так как его концентрация у мышей парабионтов была наиболее высокой. В исследованиях на людях установлено, что по мере старения концентрация CCL11 в крови и спинномозговой жидкости (СМЖ) повышается (Villeda et al., 2011; Bitto, Kaeberlein, 2014; Castellano et al., 2015). Многочисленными исследованиями показано, что у людей и животных существуют тесные взаимосвязи между содержанием в крови CCL11, нарушением когнитивных функций и дегенеративными расстройствами ЦНС (Кузник и др., 2017; Khavinson et al., 2014; Guerreiro, Bras, 2015; Czeplewski et al., 2017; Hong et al., 2017), поражениями сердечно-сосудистой системы (Смоляков и др., 2016; Хавинсон и др., 2016; Кузник и др., 2018а,б,в; Schwartz et al., 2014), онкологическими заболеваниями (Jöhner et al., 2005; Levina et al., 2009; Blank et al., 2017) и другой патологией. Более того, увеличение концентрации CCL11 служит фактором риска развития болезни Альцгеймера, а блокада рецептора CCR3 должна способствовать терапии этого патологического процесса. Повышение уровня CCL11 наблюдается также при шизофрении. Лечение, направленное на нормализацию концентрации CCL11, может улучшить психическое и физическое здоровье среди пациентов с шизофренией по мере их старения (Hong et al., 2017). Однако, если роль хемокина CCL11 в процессе старения описана подробно, то о других хемокинах – CCL2, CCL12 и CCL19 сведений имеется недостаточно.

В связи с этим цель данного обзора состоит в выяснении, играет ли хемокин CCL2 существенную роль в механизме старения, в когнитивных расстройствах и в так называемых болезнях старости, сопровождаемых поражением ЦНС и сердечно-сосудистой системы, при сахарном диабете 1-го и 2-го типов, при онкологических заболеваниях и другой патологии.

ХЕМОКИНЫ

Семейство хемокинов (или хемотаксических цитокинов) подразделяют на четыре группы: две основные (большие) – СХС и СС; две малые – СХЗС и С. Эта классификация основана на присутствии цистеиновых аминокислот рядом с N-кон-

цом (Réaux-Le Goazigo et al., 2013). Хемокины представляют собой крупное семейство небольших секретлируемых белков (70–100 аминокислот), которые передают сигнал через гептагелевые хемокиновые рецепторы, связанные с G-белком клеточной поверхности. Все хемокины имеют высококонсервативную трехцепочечную третичную структурную складку β -листа/ α -спирали, их четвертичные структуры в зависимости от подсемейства значительно различаются. Более того, консервативные третичные структуры хемокинов позволяют обмениваться субъединицами между членами подсемейства, тем самым подтверждая концепцию хемокинового взаимодействия (Miller, Mayo, 2017). При этом в осуществлении функций хемокинов задействованы несколько их фрагментов, но доминирующую роль играет N-концевой участок. Хемокины наиболее известны своей способностью стимулировать миграцию клеток, в первую очередь лейкоцитов. Следовательно, хемокины играют центральную роль в развитии и гомеостазе иммунной системы и участвуют во всех защитных или деструктивных иммунных и воспалительных реакциях. Классически рассматриваемые как индукторы направленной хемотаксической миграции хемокины могут стимулировать множество других типов направленного и ненаправленного миграционного поведения: гаптотаксис, хемокинез, гаптокинез, адгезию (Hughes, Nibbs, 2018), гематопоз и ангиогенез (Miller, Mayo, 2017). В то же время хемокиновые рецепторы на лейкоцитах не только могут напрямую мигрировать в зону повреждения, но также способны экспрессироваться и регулировать биологию многих нелейкоцитарных типов клеток. Вместе с тем, на хемокины оказывает сильное влияние посттрансляционная модификация, в том числе взаимодействие с внеклеточным матриксом и гептахелическими атипичными рецепторами, регулирующими локализацию и содержание хемокинов (Hughes, Nibbs, 2018).

Следует особо подчеркнуть, что хемокины, будучи хемотаксическими цитокинами, играют существенную роль при выполнении функций врожденной иммунной системы. Именно под их контролем осуществляется высвобождение клеток врожденного иммунитета из костного мозга и в состоянии гомеостаза, и в ответ на инфекцию и воспаление. Более того, они привлекают эффекторы врожденного иммунитета из системы кровообращения в ткань, где совместно с другими хемоаттрактантами направляют эти клетки к зонам повреждения. Хемокинам придают решающее значение в позиционировании сторожевых клеток в периферической ткани, а затем, после активации, в дренирующем лимфатическом узле с целью инициировать и запечатлеть адаптивный иммунный ответ (Sokol, Luster, 2015).

Хемокины являются ключевыми регуляторами процесса заживления ран. Они участвуют в стимулировании и ингибировании ангиогенеза и в рекрутировании воспалительных клеток, высвобождающих факторы роста и цитокины для облегчения процесса регенерации (Ridiandries et al., 2018).

CCL2

Белок СС-хемокин-лиганд (CCL2), известный также как моноцитарный хемоаттрактантный белок 1 – MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1), принадлежит к семейству СС и продуцируется жировой тканью, микроглией, нейронами, активированными астроцитами, опухолевыми, миелоидными, гладкомышечными, эндотелиальными и эпителиальными клетками, фибробластами и мононуклеарными фагоцитами (Glabinski et al., 1996; Hughes, Nibbs, 2018). CCL2 в высокой концентрации обнаружен в сенильных бляшках и микрососудах (Sokolova et al., 2009). Этот хемокин представляет из себя белок массой 13 кДа, состоящий из 76 аминокислот, а его кодирующий ген картирован на 17 хромосоме человека (chr.17, q11.2) (Zlotnik, Yoshie, 2000). Остатки цистеина связаны дисульфидными мостиками между первым и третьим, а также между вторым и четвертым цистеином. CCL2 способен регулировать инфильтрацию и миграцию различных клеток: моноцитов, Т-лимфоцитов памяти и естественных киллеров, играющих критическую роль в иммунном ответе (Deshmane et al., 2009).

CCL2 в основном связывается с рецептором CCR2. Следует отметить, что на конце CCL2 расположен структурно N-концевой хвост, являющийся важным детерминантом CCR2, обеспечивающим аффинность и эффективность связывания (Huma et al., 2017). Функционально связывание CCL2 и его родственного рецептора CCR2 необходимо для инициации путей передачи сигнала и стимуляции миграции клеток. После взаимодействия CCL2 с CCR2 конформация рецептора изменяется, что заставляет G-белки вступать во взаимодействие с эпитопами внутриклеточных петель и карбоксиконцевым хвостом рецептора. Хемокинактивация CCR2 вызывает серию внутриклеточных сигналов, в результате чего изменяется подвижность клеток и возникают различные биологические эффекты в клетке-мишени (Hughes, Nibbs, 2018). В соответствии с разницей в концевых карбоксильных хвостах CCR2 подразделяют на CCR2A и CCR2B – они могут осуществлять свою деятельность через различные сигнальные пути. CCR2B как преобладающая изоформа поверхностных рецепторов может хорошо передавать сигналы на поверхности клетки, тогда как CCR2A обнаруживается преимущественно в цитоплазме. CCR2 функционирует путем связыва-

ния с различными лигандами, включая CCL2, CCL7, CCL8, CCL12, CCL13 и CCL16, что приводит к избыточности и беспорядочности связей в семействе хемокинов. Между тем, среди различных лигандов, которые связываются с CCR2, CCL2 обладает значительно более высокой активностью (White et al., 2013).

Мутация в остатках цистеина N-концевого домена приводит к потере аффинности связывания CCL2 со своим рецептором. Сайт-направленный мутационный анализ CCL2 показал важность двух областей первичной структуры для проявления биологической активности. Один участок – аминокислота 10–13, в которой мутация снижает биологическую активность; другой – аминокислота 34–35, где мутация вызывает полную потерю активности CCL2 (Singh et al., 2021).

Как и CCL2, CCR2 широко экспрессируется различными типами клеток, включая дендритные, эндотелиальные клетки, моноциты, различные раковые образования. Кроме того, в относительно низких концентрациях он обнаруживается на нейтрофилах и лимфоцитах (Yumimoto et al., 2019). Как только CCR2 связывается с CCL2, проявляются различные сигналы внутри клетки, опосредованные G-белком: PI3K/AKT, MAPK/p38 и JAK/STAT3, что чрезвычайно важно для противодействия апоптозу, осуществления ангиогенеза и миграции клеток (Yasui et al., 2020). Ось CCL2/CCR2 также участвует в развитии многочисленных патологических процессов у человека: боли при воспалении, атеросклероза, нейровоспалительных заболеваний, ревматоидного артрита, диабета и нефропатии (Xu et al., 2021). В мозге взрослого человека ось CCL2/CCR2 контролирует эффекты нейротрансмиссии и нейромодуляции (Réaux-Le Goazigo et al., 2013).

CCL2/CCR2 И КОГНИТИВНЫЕ ФУНКЦИИ

Еще в начале XX в. было установлено, что бета-хемокины CCL2 и CCL7 и их рецепторы CCR1 и CCR2 экспрессируются и регулируются в процессе развития в вентральном среднем мозге. Более того, доказано, что экспрессия CCL7 подавлялась у мышей с нокаутом *Nurr1*, что связывает этот хемокин с развитием дофаминовых (ДА) нейронов. Оказалось, что CCL2 и CCL7 избирательно усиливают дифференцировку предшественников *Nurr1*⁺ в нейроны ДА, но не их выживание и пролиферацию в культуре первичных предшественников. Более того, CCL2 и CCL7 способствовали нейритогенезу в культуре ДА-нейронов среднего мозга. Таким образом, бета-хемокины играют существенную роль в развивающемся головном мозге. Их можно рассматривать как новый класс пролиферирующих факторов для ДА-нейронов среднего мозга (Edman et al., 2008).

Изучено (Chen et al., 2020), какую роль играет CCL2 в нарушении пространственной памяти и когнитивных функций, а также тонких механизмов, сосредоточенных на воспалительной, метаболической, глутаматной и апоптотической экспрессии мРНК. Для выполнения поставленной задачи авторы воспользовались хирургическим методом создания модели перечисленных нарушений у крыс с помощью двусторонней внутригиппокампальной инъекции CCL2. Оказалось, что уже через шесть дней после инъекции CCL2 обнаружены очевидные изменения экспрессии мРНК: 1) увеличение числа нейровоспалительных цитокинов IL-1 β , CXCL10, IL-6; 2) уменьшение количества переносчиков глутамата GLT-1 и GLAST и увеличение количества PAG; 3) увеличение числа апоптотических генов каспазы-8, каспазы-3 и Bax; 4) уменьшение количества антиапоптотического гена *Bcl-2*; 5) окрашивание методом Ниссля и TUNEL-метод указывали на повреждение структуры зон CA1 гиппокампа и на апоптоз его нейронов. У таких крыс нарушалась пространственная память и познавательные способности. Выявленные изменения могут быть связаны с повышающей регуляцией экспрессии мРНК трех основных патологических процессов: воспаления, эксайтотоксичности и апоптоза нейронов, вовлеченных в нейрокогнитивные расстройства. Установлено, что нейровоспаление, вызванное периферической травмой, играет ключевую роль в развитии послеоперационных когнитивных нарушений. При этом CCL2, происходящий из астроцитов, вызывает активацию микроглии. В свою очередь, переломы костей, обширные травмы и последующие хирургические вмешательства способствуют активации CCL2 в стимулированных астроцитах, а также усиливают экспрессию CCR2 в активированной микроглии. Все это способствует затруднению обучения и нарушению памяти. Предварительная перед переломом и перед последующим оперативным вмешательством инъекция RS504393, антагониста CCR2, подавляла указанные эффекты за счет ослабления активации микроглии, снижения уровня провоспалительных цитокинов, а также предупреждала повреждение и гибель нейронов, что сопровождалось улучшением когнитивных функций. Представленные данные указывают на участие передачи сигналов CCL2/CCR2 в опосредованной астроцитами активации микроглии при воспалении ЦНС и предполагают, что вмешательство в передачу сигналов CCL2 может составлять еще одну потенциальную терапевтическую мишень для ликвидации когнитивных нарушений (Xu et al., 2017).

Известно, что нейродегенеративные заболевания, в частности болезнь Альцгеймера (БА), болезнь Паркинсона (БП), рассеянный склероз, ВИЧ-ассоциированная энцефалопатия и ин-

сульт, индуцируют активацию глиальных клеток и высвобождение медиаторов воспаления, что приводит к гибели нейронов. При этих нейродегенеративных процессах в ЦНС активируется фактор созревания глии GMF (Kempuraj et al., 2019), а также усиливается экспрессия CXCL12, CCL2 и CX3CL1 и их соответствующих рецепторов CXCR4, CCR2 и CX3CR1 (Réaux-Le Goazigo et al., 2013).

Доказано, что трансгенная сверхэкспрессия CCL2 усиливает микроглиоз и индуцирует диффузное отложение амилоидных бляшек у мышей Tg2576. Эта модель БА на грызунах позволяет экспериментировать шведский мутант белка-предшественника бета-амилоида (A β). Экспрессия трансгена CCL2 ускоряет дефицит пространственной и рабочей памяти и синаптическую передачу в гиппокампе β -амилоидного белка-предшественника (APP) у мышей уже в возрасте 2–3 мес., что сопровождается увеличением микроглии, окружающей олигомеры A β . В то же время CCL2 не подавляет деградацию A β . Напротив, CCL2 и TNF- α непосредственно способствуют поглощению A β с помощью внутриклеточной олигомеризации A β и последующей секреции белка (Kiyota et al., 2013).

Известно, что активация врожденного иммунитета является основным фактором патогенеза БА. При этом CCL2, продуцируемый нейронами и глиальными клетками, при БА активируется в головном мозге (Glabinski et al., 1996). Более того, экспрессия трансгена CCL2 на мышинных моделях амилоидоза вызывает индуцированную микроглией β -олигомеризацию амилоида, что убедительно свидетельствует о роли этого механизма активации в развитии амилоидоза при БА (Neneka et al., 2015). Выяснено, что у мышей с мутантом APP/PS1/CCL2 отмечается повышение уровня олигомеров A β , накопление микроглии вокруг бляшек, нарушение нейрогенеза и наблюдается когнитивная дисфункция (Kiyota et al., 2009). Для изучения экспрессии CCL2 в коре и гиппокампе мышей с тау-патологией (rTg4510) действовали через рекомбинантный аденоассоциированный вирус серотипа 9, доставляемый в указанные отделы ЦНС (Joly-Amado et al., 2020). При этом оказалось, что сверхэкспрессия CCL2 усугубила тау-патологию у таких мышей, о чем свидетельствовало увеличение количества нейрофибриллярных клубков, а также фосфорилированных тау-положительных включений. При этом биохимический анализ показал снижение уровня растворимых в детергентах тау-видов с последующим увеличением нерастворимой фракции, что указывает на сдвиг в сторону более крупных тау-агрегатов. У мышей, которым вводили CCL2, было обнаружено повышение содержания высокомолекулярных видов фосфорилированного тау-белка, что сопровождалось ухудшением состояния мышей и

отчетливым воспалительным ответом. При этом в мозге мышей rTg4510 усиливалась экспрессия и CD68, и лейкоцитарного общего антигена CD45, а также увеличивались концентрации IL-6 и CCL3. Следовательно, избыточная экспрессия CCL2 способствует увеличению количества патогенных видов тау-белка и связана с губительными глиальными нейровоспалительными изменениями. Высказано предположение, что обнаруженные факты могут способствовать патогенезу БА и других тау-патий (Joly-Amado, 2020).

Эксперименты, проделанные на животных, имели подтверждения в наблюдениях за людьми. Показано, что в когорте взрослых бессимптомно стареющих людей продольное увеличение уровня CCL2 было связано с продольным снижением памяти (Bettcher et al., 2019). Эти результаты показывают, что здоровое старение типично для раннего ремоделирования иммунной системы и что хемокин CCL2 может быть связан с негативными последствиями для памяти.

Значительная часть исследований посвящена роли CCL2 в патогенезе психических расстройств в процессе старения, в том числе в патогенезе БА. В обзоре (Stuart, Vaune, 2014) приводятся сведения, подтверждающие связь многих хемокинов с психическими расстройствами: депрессией, биполярным нарушением, шизофренией, когнитивными изменениями и БА. Неспецифическая ассоциация хемокинов, включая CXCL8, CCL2, CCL3 и CCL5, с этими расстройствами по диагностическим категориям подразумевает общее участие многих системных хемокинов в патогенезе психических заболеваний. Возможность использования этих белков в качестве патологически значимых биомаркеров или терапевтических мишеней может быть рассмотрена в будущих клинических и трансляционных исследованиях.

Показано (Westin et al., 2012), что хемокиновая CCR2-сигнализация может опосредовать накопление микроглии на участках, затронутых нейровоспалением. CCR2 и его основной лиганд CCL2 также участвуют в изменениях метаболизма A β , лежащих, как известно, в основе патогенеза БА. Авторами была исследована концентрация CCL2 и других лигандов CCR2: CCL11 (эотаксин), CCL13 (MCP-4) и CCL26 (эотаксин-3) – в СМЖ и плазме 30 контрольных участников и 119 пациентов с легкими когнитивными нарушениями MCI (mild cognitive impairment) на исходном уровне. Во время наблюдения 52 пациента с MCI были клинически стабильными в течение пяти лет, у 47 – развилась БА (случаи с продромальной БА на исходном уровне) и у 20 – возникла деменция иного происхождения. Только CCL26 в ликворе был статистически значимо повышен у пациентов с продромальной БА, по сравнению с контролем ($p = 0.002$). Наряду с этим у пациентов с

продромальной БА исходный уровень CCL2 в СМЖ во время последующего наблюдения коррелировал с более быстрыми когнитивными расстройствами ($r(s) = 0.42, p = 0.004$). Кроме того, пациенты с продромальной БА в высшем тертиле СМЖ при увеличении уровня CCL2 демонстрировали значительно более быстрое снижение когнитивных функций ($p < 0.001$). В этой когорте больных БА развитие деменции наступало в течение более короткого периода времени ($p < 0.003$), по сравнению с пациентами из низшего тертиля. Наконец, CSF и CCL2 могут быть объединены во всей когорте MCI для прогнозирования как развития БА в будущем, так и скорости когнитивных нарушений. Следовательно, наличие CCL2 в СМЖ может быть кандидатом в биомаркеры для прогнозирования скорости прогрессирования заболевания при продромальной БА. Более того, сигнальные пути, связанные с CCR2, могут быть новыми мишенями для терапии, направленной на замедление скорости прогрессирования БА.

Аналогичные данные были получены и другими исследователями. Установлено, что падение уровня CCL2 в СМЖ и плазме положительно коррелирует с более быстрым снижением когнитивных функций как у относительно здоровых людей (Bettcher et al., 2019; Lopes et al., 2020), так и у пациентов с БА (Bettcher et al., 2019). Вместе с тем при умеренной физической нагрузке у пожилых людей и под воздействием IL-6 концентрация этого хемокина снижается (Lopes et al., 2020). После 24 недель комбинированных тренировок (силовые и аэробные упражнения) у взрослых отмечается снижение жировых отложений, и одновременно уменьшается в крови содержание воспалительных биомаркеров CCL2 и лептина (Ihalainen et al., 2018). Особенно сильно концентрация CCL2 в крови падает у лиц с ожирением после упражнений высокой интенсивности (Leggate et al., 2012).

Имеются сравнительно немногочисленные исследования, касающиеся роли CCL2 и CCR2 в патогенезе БП. Известно, что нарушение экспрессии и функции Nurr1 – белка 1, связанного с ядерным рецептором, может способствовать нейродегенерации дофаминовых нейронов и возникновению БП. Выявлено, что Nurr1 подавлялся, а CCL2 повышался как у мышей, так и у пациентов с БП. CCL2 способствовал апоптозу и усиливал секрецию TNF- α и IL-1 β , тогда как нокдаун CCL2 вызывал противоположные эффекты. Сверхэкспрессия Nurr1 препятствовала апоптозу и высвобождению TNF- α и IL-1 β и усиливала жизнеспособность клеток SH-SY5Y, обработанных α -Syn, что заметно стимулировалось антителами к CCL2, тогда как это действие отменялось введением CCL2. Кроме того, сверхэкспрессия Nurr1 заметно облегчала вызванные MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) двигательные

расстройства и дефицит пространственной памяти. Наконец, сверхэкспрессия *Nurr1* оказывала нейропротекторное и противовоспалительное действие у мышей с МРТР-индуцированной БП, что связано с подавлением хемокина *CCL2*. Следовательно, сверхэкспрессия *Nurr1* выполняет нейропротекторную и противовоспалительную функции посредством подавления деятельности *CCL2*.

В МРТР-модели мышей с БП в полосатом теле и вентральной части среднего мозга активировались хемокины *CCL2* и *CCL3*. При этом астроциты были преобладающим источником *CCL2* и *CCL3* в полосатом теле и черной субстанции, а дофаминовые нейроны – только в черной субстанции. Обработка МРТР приводила к снижению экспрессии *CCL2* и увеличению *CCL3* в выживших дофаминовых нейронах. В то же время *CCL2* индуцировал в микроглиальных клетках продукцию *TNF- α* , играющего пагубную роль при БП. Вызванное МРТР истощение дофамина в полосатом теле было приблизительно одинаковым, как у мышей дикого типа, так и с двойным нокаутом. Полученные данные свидетельствуют о том, что *CCL2* после лечения МРТР экспрессируется при БП в полосатом теле и черной субстанции. Однако его отсутствие, как и *CCR2*, не защищает от потери дофамина в перечисленных образованиях ЦНС (Kalkonde et al., 2007).

Но существует и иной аспект данной проблемы. Доказано, что дефицит белка DJ-1 ослабляет инфильтрацию моноцитов в поврежденный мозг из-за снижения экспрессии *CCL2* в астроцитах. Как у DJ-1-нокаутных мышей, у животных с рецептором *CCL2* *CCR2*-КО наблюдался дефект инфильтрации моноцитов и замедленное восстановление репаративных процессов после травмы головного мозга. Примечательно, что при этом анализ транскриптома показал, что гены, связанные с регенерацией и образованием синапсов, подавлялись в поврежденном мозге мышей DJ-1-КО и *CCR2*-КО, по сравнению с поврежденным мозгом мышей дикого типа. Эти сведения показывают, что дефектный астроглиоз у мышей DJ-1-КО связан со сниженной экспрессией *CCL2* и ослабленной инфильтрацией поврежденных зон моноцитами, приводящей к замедленному восстановлению деятельности мозга. В результате отсроченное восстановление черепно-мозговой травмы может способствовать развитию БП и осложнениям при этой патологии (Choi et al., 2020). Известно, что при БП часто развиваются депрессия, усталость, нарушение памяти и другие когнитивные расстройства. Исследование маркеров воспаления в СМЖ у больных БП, сопровождаемой деменцией и депрессией, привело к заключению, что повышенное содержание *CCL2* значимо связано с более тяжелыми симптомами выявленных нарушений в ЦНС ($p = 0.032$). Обнаруженные факты по-

казывают, что немоторные проявления БП, такие как депрессия, усталость и когнитивные нарушения, обусловлены более высоким содержанием маркеров воспаления в СМЖ.

Все представленные данные несомненно свидетельствуют о том, что усиленная экспрессия *CCL2* и *CCR2* в ЦНС оказывает значительное воздействие на расстройства когнитивных функций, а также играет существенную роль в патогенезе БА и БП и в развитии депрессивных состояний.

CCL2 И ЗАБОЛЕВАНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

В настоящее время установлено, что *CCL2* тесно связан с воспалительными реакциями, происходящими в сосудистой стенке, и с развитием атеросклероза (Tsukahara et al., 2018). Оценивалось наличие трех субпопуляций моноцитов, тесно связанных с *CCR2*, у людей с ЗПА (заболеваниями периферических артерий) (Wildgruber et al., 2016). При этом на разных стадиях ЗПА не было обнаружено изменений в количестве классических моноцитов ($CD14^{++}$, $CD16^{-}$, $CCR2^{+}$). При прогрессирующем ЗПА наблюдалось снижение числа неклассических моноцитов ($CD14^{+}$, $CD16^{++}$, $CCR2^{-}$), что свидетельствует о нарушении процесса заживления. С другой стороны, количество промежуточных моноцитов ($CD14^{++}$, $CD16^{+}$, $CCR2^{+}$) увеличивалось с прогрессированием ЗПА, что указывает на их провоспалительную функцию. Из приведенных данных вытекает, что рецептор *CCR2* к лиганду *CCL2* играет большую роль в прогрессировании ЗПА.

В исследованиях, проведенных на грызунах, приматах и людях обнаружено, что содержание *CCL2*, *IL-6* и *OPN* (osteopontin) в сосудах при старении увеличивается. Так, при атеросклерозе у мышей линии *Ldlr(-/-)* по мере старения в периферической крови повышалось содержание моноцитов, а в аорте – макрофагов. При атерогенезе сосудистая сеть, находясь в состоянии возрастного воспалительного ответа, усиленно продуцирует *CCL2*, *OPN* и *IL-6*. При этом мыши, пораженные атеросклеротическим процессом, обладают более выраженной хемотаксической активностью по отношению к моноцитам, что обусловлено более высокой продукцией хемокинов, в том числе *CCL2*. Чем старше животные и чем сильнее выражен атеросклероз, тем сильнее в аорте осуществляется синтез *CCL2* (Du et al., 2016). Аналогичные данные получены и другими исследователями. Опыты, проведенные на мышах, свидетельствуют о том, что высокая экспрессия *CCL2/CCR2* связана с прогрессированием атеросклероза и повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний (Schober et al., 2004). Исследовано влияние дефицита *CCR2* на формирование неоинтимы и

на рекрутирование моноцитов при гиперлипидемии у мышей, подвергшихся повреждению сонной артерии. Через 28 дней после травмы у животных CCR2^{-/-}/apoE^{-/-} обнаружено уменьшение площади неоинтимальной области на 47%, по сравнению с мышами CCR2^{+/+}/apoE^{-/-}. Кроме того, у животных с дефицитом CCR2 оказался более стабильный фенотип, что подчеркивает важность этого рецептора в развитии атеросклероза.

Сверхэкспрессия miR-145 в опытах *in vivo* и *in vitro* усиливала в сосудистой стенке мышей с вызванным атеросклерозом экспрессию IL-1 β , TNF- α , CCL2, CCL4 и CCL7 посредством стимулирования NF- κ B, p-I κ B α , p-STAT3 и ac-p65. Подавление экспрессии miR-145 облегчало поражение синуса аорты, увеличивало количество VSMC (vascular smooth muscle cells) и уменьшало число макрофагов. На основании полученных данных сделано заключение, что miRNAs играют решающую роль в развитии атеросклероза, ускоряя воспалительную реакцию за счет активации передачи сигналов NF- κ B в сосудах (Li et al., 2018). Изучены сдвиги в трех субпопуляциях моноцитов от острой фазы до фазы восстановления после инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST ЭКГ (ИМпСТ) (Tapp et al., 2012). Уже на первый день после ИМпСТ отмечено высокое содержание классических и в большей степени промежуточных моноцитов (CD14⁺⁺, CD16⁺, CCR2⁺). Одновременно в классических и преимущественно промежуточных моноцитах при ИМпСТ наблюдалось усиление экспрессии CCR2. Кроме того, после ИМпСТ отмечено изменение промежуточного фенотипа моноцитов, включая повышение уровня экспрессии CD14 и CCR2 и снижение — CD16. К седьмому дню после инфаркта миокарда произошло значительное снижение экспрессии CD14 и CCR2. Представленные факты позволяют предположить, что подгруппа моноцитов CD14 и CCR2 наиболее функционально активна в первые несколько дней после инфаркта миокарда.

Популяционные исследования выявили высокую корреляционную зависимость между циркулирующим CCL2 и традиционными факторами риска атеросклероза: уровнями сывороточного высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ) и фибриногена и комбинированной толщиной слоя интима-медиа сонной артерии (Piemonti et al., 2009). Обнаружено, что повышенный уровень CCL2 коррелирует с осложнениями, связанными с атеросклерозом, включая ишемический инсульт, инфаркт миокарда, острый коронарный синдром, тяжелую сердечную недостаточность, и также со смертностью от сердечно-сосудистых заболеваний. Следовательно, наличие CCL2 в плазме может рассматриваться как прогностический маркер исхода при заболевани-

ях сердечно-сосудистой системы (Hohensinner et al., 2010; Panee, 2012).

Установлено, что у большинства мышей поражения сетчатки появляются в возрасте от 6 до 24 мес. (в зависимости от модели), в то время как у мышей линии CCL2(-/-)cx3cr1 это заболевание развивается к 4–6 нед. (Ramkumar et al., 2010).

Алкилэфирный аналог лизофосфатидной кислоты — AGP (alkyl glycerophosphate) — накапливается в атеросклеротических бляшках человека и является мощным агонистом гамма-рецептора, активируемого пролифератором пероксисом, PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptors). С другой стороны, циклическая фосфатидная кислота cPA (cyclic phosphatidic acid), сходная по структуре с AGP, может отрицательно регулировать PPAR γ . Однако в исследованиях cPA не влияла на экспрессию и секрецию CCL2 в эндотелиальных клетках пупочной вены человека, тогда как AGP дозозависимо увеличивал экспрессию и секрецию мРНК CCL2 (Tsukahara et al., 2018). Выяснено, что лечение полифенолом яблока мышей с искусственно вызванным атеросклерозом оказывает благоприятное действие. В частности, применение полифенола или аторвастатина вызывало заметное уменьшение атеросклеротических поражений и уменьшение выраженности стеатоза печени и снижало уровень липопротеинов низкой плотности, триглицеридов, CCL2 и VCAM1 в плазме.

Полученные данные свидетельствуют о том, что усиленная экспрессия CCL2 и CCR2 является постоянным спутником атеросклероза и его осложнений: сердечной недостаточности, острого коронарного синдрома, инфаркта миокарда, инсульта и других поражений сердечно-сосудистой системы.

CCL2/CCR2 И САХАРНЫЙ ДИАБЕТ

Установлено, что у мышей с индуцированным стрептозотоцином диабетом после эксцизионного повреждения кожи наблюдалось, по сравнению с контрольными животными, нарушение заживления ран, снижение неоваскуляризации, сопровождаемое уменьшением экспрессии CCL2 и инфильтрации места повреждения макрофагами. Нарушение заживления кожных ран у мышей с диабетом было отменено местным введением CCL2 сразу после травмы, о чем свидетельствовала нормализация скорости заживления, усиленная неоваскуляризация, накопление коллагена и инфильтрация макрофагами, экспрессирующими фактор роста эндотелия сосудов VEGF (vascular endothelium growth factor), мощные ангиогенные факторы и трансформирующий фактор роста бета TGF- β (transforming growth factor beta). Обра-

ботка CCL2 дополнительно увеличивала скопление эндотелиальных клеток-предшественников в местах ран у мышей с диабетом и, в конечном итоге, ускоряла неоваскуляризацию (Ishida et al., 2019). Представленные данные свидетельствуют о положительном влиянии CCL2 на заживление ран при экспериментальном диабете у мышей.

Вместе с тем, как было установлено (Martin et al., 2008), экспрессия CCL2 бета-клетками поджелудочной железы трансгенных мышей положительно коррелировала с увеличением числа моноцитов в циркуляции и накоплением макрофагов в островках, состоящих из бета-клеток. Эти изменения были вызваны комбинированным действием CCL2 на костный мозг и на островки бета-клеток и не наблюдались у животных, у которых рецептор CCL2 (CCR2) был инактивирован. У мышей, экспрессирующих высокий уровень CCL2 в островках, спонтанно развивался диабет. Возникновение диабета коррелировало с накоплением большого количества моноцитов в островках и не зависело от Т- и В-клеток. Диабет также мог быть вызван у нормогликемических мышей, экспрессирующих низкое содержание CCL2, увеличением числа циркулирующих миелоидных клеток.

Следует отметить, что у пациентов с сахарным диабетом 1-го типа (СД 1) концентрация CCL2, CCL5 и CCL1 в крови была повышенной. Чем старше были пациенты СД 1, тем сильнее у них увеличивалось содержание исследуемых хемокинов (Jamali et al., 2013). Согласно полученным данным (Degirmenci et al., 2019), концентрация TNF- α , IL-6, CCL2 и IL-1 β при сахарном диабете 2-го типа (СД 2) была увеличена и находилась в прямой связи с инсулинорезистентностью. При этом в опытах на животных обнаружено, что OPN, IL-6 и CCL2 способствуют усилению инсулинорезистентности. Установлено, что наличие CCL2 у больных диабетом связано с повреждением почечных канальцев, сопровождаемым тяжелой протеинурией, что способствует прогрессированию нефропатии (Morii et al., 2003). На модели грызунов с диабетической ретинопатией обнаружено, что CCL2 активируется на ранней стадии заболевания и его количество увеличивается с прогрессированием патологического процесса. Предполагается, что у пациентов с диабетической ретинопатией резидентные клетки сетчатки (эндотелиальные клетки, клетки Мюллера, клетки микроглии) посредством продукции CCL2 участвуют в воспалительных реакциях стекловидного тела и водянистой влаги (Taghavi et al., 2019). При диабетической ретинопатии концентрация CCL2 в образцах стекловидного тела пациентов была значительно выше, чем в контроле (Matsumoto et al., 2001). Представленные данные свидетельствуют о несомненной роли CCL2 в патогенезе

развития дегенеративных изменений в сетчатке при диабетической ретинопатии (Panee, 2012).

При обследовании 104 взрослых с СД 1 установлено, что у больных с сердечно-сосудистой вегетативной нейропатией (ССВН), по сравнению с пациентами без ССВН, была повышена концентрация IL-1 α , IL-4, CCL2 и E-селектина, что свидетельствует о роли нарушений в работе нейроиммунной регуляторной системы в патогенезе нейропатии при СД 1 (Wegeberg et al., 2020). Таким образом, большинство исследователей полагает, что CCL2, наряду с другими хемокинами и медиаторами воспаления, может способствовать развитию СД 1 и СД 2 и их осложнений.

CCL2 И ОНКОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

В настоящее время установлено, что хемокины, в том числе CCL2, участвуют в развитии злокачественных опухолей. Более того, хемокины могут взаимодействовать с опухолевыми клетками и микросредой опухоли, способствуя возникновению и прогрессированию онкологического процесса. Хемокиновый лиганд CCL2 и его рецептор CCR2 участвуют в инициации и прогрессировании различных видов рака. CCL2 может активировать рост и пролиферацию опухолевых клеток с помощью множества механизмов. Взаимодействуя с CCR2, CCL2 вызывает миграцию раковых клеток и рекрутирует иммуносупрессивные клетки в микроокружение опухоли, способствуя развитию рака. Установлено, что ось передачи сигналов CCL2/CCR2 участвует в разных стадиях туморогенеза. Она поддерживает рост и пролиферацию опухолевых клеток в месте первичной опухоли. Когда отрываются злокачественные клетки из исходного местоположения для метастазирования, ось CCL2/CCR2 может стимулировать онкогенез и способствовать проникновению раковых клеток в окружающие ткани и кровеносное русло, а затем распространяться по хемотаксическому градиенту до метастатических участков (Lim et al., 2016). После достижения определенного вторичного органа и/или ткани выжившие циркулирующие опухолевые клетки могут успешно колонизировать и продолжают расти, взаимодействуя с микроокружением опухоли (Xu et al., 2021). Следует отметить, что CCL2, являясь ключевым медиатором остеокластогенеза, регулирует катаболические эффекты непрерывного воздействия паратиреоидного гормона РТН (parathyroid hormone) на кости, включая рекрутирование моноцитов и макрофагов, образование остеокластов и резорбцию кости. Вместе с белком РТНгР, связанным с РТН, CCL2 опосредует взаимодействие между факторами, производными от опухоли, и хемокинами, полученными от хозяина. При этом остеолитический каскад запускается производным из опухолевых клеток РТНгР, активи-

вирующим CCL2 в остеобластических клетках. Эта взаимосвязь между РТНгР и остеобластической экспрессией CCL2 может стимулировать колонизацию диссеминированных клеток рака молочной железы в кости (Mulholland et al., 2019). Установлено, что провоспалительные цитокины и хемокин CCL2 привлекают в микроокружение опухоли естественные иммуносупрессивные лейкоциты, включая Treg, миелоидные супрессорные клетки MDSC (myeloid-derived suppressor cells) и макрофаги M2. Эти лейкоциты дополнительно усугубляют высвобождение факторов аберрантной цепи связи с нейрогенными эффектами, препятствующими развитию опухолевого процесса. Благодаря указанному механизму, нервные и иммунные клетки вместе с фибробластами, эндотелиоцитами и клетками костного мозга способствуют росту опухоли и усиливают метастатические свойства раковых клеток (Tsukahara et al., 2018). Ряд авторов приходит к выводу, что CCL2 напрямую стимулирует пролиферацию и миграцию клеток рака простаты посредством активации сигнальных путей фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)/протеинкиназы В (АКТ) и Rac GTPase. CCL2 индуцирует миграцию раковых клеток и способствует ранним стадиям метастазирования, взаимодействуя с CCR2, который экспрессируется на раковых клетках (Iwamoto et al., 2020). При этом раковые клетки приобретают мигрирующий и инвазивный характер, благодаря чему проникают в соседние ткани, разрушая внеклеточный матрикс и мигрируя в кровеносные и лимфатические сосуды уже на ранней стадии метастазов, что приводит к активации CCL2-зависимых сигнальных преобразователей, в том числе активатора транскрипции 3 – STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3). Более того, CCL2 модулирует экспрессию белков, связанных с эпителиально-мезенхимальным переходом EMT (epithelial-mesenchymal transition), а также матриксными металлопротеиназами MMP2 и MMP9. Нарушение оси CCL2/CCR2 может подавлять EMT, миграцию и инвазию клеток рака простаты, обеспечивая критический механизм, связывающий CCL2 и метастазирование опухолевых клеток. Наконец, CCL2 может быть отправной точкой для последующих каскадов хемокинов, индуцирующих активацию клеток рака простаты.

Доказано, что активация АКТ с помощью фосфатидилинозитол-фосфаткиназы гамма PIPK1 γ (type I gamma phosphatidylinositol phosphate kinase), опосредованная фосфорилированием STAT3, индуцирует экспрессию CCL2 в клетках колоректального рака, а подавление PIPK1 γ значительно снижает экспрессию этого хемокина на уровне как мРНК, так и образуемого белка, что приводит к уменьшению хемотаксиса раковых клеток макрофагами (Xue et al., 2019). У модельных мышей с метастатическим колоректальным раком введе-

ние ингибитора CCR2 улучшало ответ на химиотерапию и повышало общую выживаемость мышей (Grossman et al., 2018).

У пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК) содержание CCL2 в сыворотке было значительно выше, по сравнению с бессимптомными носителями вируса гепатита В и С. При исследовании резецированных образцов опухоли у 57 пациентов с ГЦК ген CCL2 был одним из прогностических маркеров выживаемости пациентов, особенно на ранних стадиях заболевания (Wang et al., 2013).

Концентрация CCL2 в сыворотке у пациентов с раком молочной железы была значительно увеличена и коррелировала со стадией и метастазами в лимфатические узлы (Monti et al., 2003). Стромальный CCL2 тесно связан с уменьшением безрецидивной выживаемости у пациентов с базальным раком молочной железы и может быть предиктором прогноза его протекания. В то же время высокая экспрессия CCL2 и фактора роста эндотелия сосудов VEGF – значимый показатель раннего рецидива рака молочной железы (Yao et al., 2016).

Наконец, сверхэкспрессия CCL2 вызывает клеточную инвазию и метастазирование, что приводит к прогрессированию заболевания при раке молочной железы (Dutta et al., 2018).

Содержание CCL2 в сыворотке у пациентов с раком поджелудочной железы было значительно выше, чем у здоровых людей, и чем больше была его концентрация, тем хуже становился прогноз заболевания (Monti et al., 2003; Feng et al., 2020). Более того, CCL2 оказалась повсеместно экспрессируемым геном, включая жировую ткань, скелетные мышцы и раковые клетки поджелудочной железы, и был тесно связан с кахексией у данной категории пациентов (Talbert et al., 2018).

На основании проанализированных данных литературы, касающейся роли CCL2 в патогенезе злокачественных новообразований, можно сделать заключение, что хемокин CCL2 и его рецептор CCR2 играют существенную роль в онкогенезе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Начало XXI в. характеризуется открытием новых свойств целого ряда белков, способствующих и препятствующих старению организма и получивших условное наименование “белки молодости и старости”. Среди “белков старости” особое внимание привлек хемокин CCL11, концентрация которого с возрастом увеличивается. Более того, чем выше содержание CCL11, тем сильнее нарушаются когнитивные функции и ухудшается прогноз исхода заболеваний сердечно-сосудистой системы, в том числе инфаркта миокарда и инсульта, а также сахарного диабета, онкологиче-

ских заболеваний и др. В ряде исследований показано, что хемокин CCL11 играет большую роль в патогенезе заболеваний ЦНС, сопровождаемых существенными нарушениями когнитивных функций: БА, БП, шизофрении и др. Роль хемокина CCL11 в процессе старения довольно подробно освещена в отечественной литературе (Хавинсон и др., 2016; Кузник и др., 2017, 2018а, б, в). В то же время к “белкам старости” можно отнести и другие хемокины, в частности CCL2, CCL12 и CCL19, которые вовлекаются в патогенез так называемых возрастных болезней (Villieda et al., 2011). Одной из важнейших функций хемокинов является стимуляция миграции лейкоцитов, благодаря чему они участвуют во всех защитных, а также деструктивных иммунных и воспалительных реакциях, осуществляя гаптотаксис, хемокинез, гаптокинез, адгезию, гематопоез и ангиогенез. Кроме того, хемокины, являясь ключевыми регуляторами процесса заживления ран, принимают непосредственное участие в процессе рекрутирования воспалительных клеток, высвобождающих факторы роста и цитокины, тем самым облегчая процессы регенерации поврежденных тканей. Хемокин CCL2, или MCP-1, продуцируется многими клетками и тканями организма человека и животных и выполняет в условиях нормы и патологии множество разнообразных функций. CCL2 способен регулировать инфильтрацию и миграцию различных иммунных и неиммунных клеток, играющих существенную роль в неспецифическом и адаптивном иммунитете, в процессах воспаления и регенерации тканей, а также в функционировании ЦНС. CCL2 в основном связывается с рецептором CCR2, широко экспрессируемым различными клетками и тканями, и участвует в осуществлении многочисленных физиологических и патологических реакций у человека. По мере старения человека содержание CCL2 повышается, что коррелирует с развитием и тяжестью болезней, возникающих наиболее часто в пожилом и старческом возрасте. CCL2 совместно с хемокином CCL7 избирательно усиливают дифференцировку предшественников Nurr1^+ в дофаминовые нейроны в развивающемся головном мозге. Более того, CCL2 и CCL7 можно рассматривать как новый класс пролиферирующих факторов для дофаминовых нейронов в ЦНС при развитии когнитивных функций. Установлено, что чем выше в крови и в ЦНС содержание CCL2, тем сильнее нарушаются пространственная память и познавательные способности. Выявленные изменения могут быть связаны с развитием воспаления, эксайтотоксичности, с нарушением синаптической передачи и с аптозом нейронов, вовлеченных в нейрокогнитивные расстройства. Большую роль играет ось CCL2/CCR2 также в патогенезе поражений сердечно-сосудистой системы. Обнаружено, что по-

вышенный уровень CCL2 коррелирует с осложнениями, связанными с атеросклерозом, включая ишемический инсульт, инфаркт миокарда, острый коронарный синдром, тяжелую сердечную недостаточность, а также со смертностью. При сахарном диабете 1-го и 2-го типов, диабетической ретинопатии и нейропатии наблюдается резкое увеличение концентрации CCL2 в крови, а при ретинопатии – и в стекловидном теле. Значительное увеличение уровня CCL2 и экспрессии CCR2 обнаружено при раке различных тканей непосредственно в опухолевых клетках.

CCL2 и его рецептор CCR2 могут являться терапевтической мишенью при многих расстройствах когнитивных функций: старческой деменции, болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, при шизофрении, депрессивных состояниях, а также при многих заболеваниях сердечно-сосудистой системы, диабете, раке различной локализации.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Давыдов С.О., Степанов А.В. Белки молодости и старости. Белки – маркеры клеточного старения и предсказатели продолжительности жизни. Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 2017. 285 с.
- Кузник Б.И., Давыдов С.О., Гусева Е.С. и др. Влияние “белка старости” хемокина CCL11 на состояние системы гемостаза и кардиогемодинамические функции у женщин с эссенциальной гипертензией // Тромбоз, гемостаз и реология. 2018а. Т. 31. № 3. С. 3–10.
- Кузник Б.И., Давыдов С.О., Смоляков Ю.Н. и др. Роль “белков молодости и старости” в патогенезе гипертонической болезни // Успехи геронтол. 2018б. Т. 31. № 3. С. 362–367.
- Кузник Б.И., Давыдов С.О., Степанов А.В. и др. Значение “белка молодости” – GDF11 и “белков старости” – GDF15, CCL11, JAM-A в регуляции кровяного давления у здоровых и страдающих гипертонической болезнью женщин // Патол. физиол. экспер. терап. 2018в. Т. 62. № 2. С. 46–52.
- Смоляков Ю.Н., Кузник Б.И., Давыдов С.О. и др. Взаимосвязь сдвиговых скоростей кровотока с белками “молодости” и “старости” и системой гемостаза // Тромбоз, гемостаз и реология. 2016. Т. 67. № S3. С. 396–397.
- Хавинсон В.Х., Кузник Б.И., Рыжак Г.А. и др. “Белок старости” CCL11, “белок молодости” GDF11 и их

- роль в возрастной патологии // Успехи геронтол. 2016. № 5. С. 722–731.
- Bettcher B.M., Neuhaus J., Wynn M.J. et al.* Increases in a pro-inflammatory chemokine, MCP-1, are related to decreases in memory over time // *Front. Aging Neurosci.* 2019. V. 11. P. 25–29.
- Bitto A., Kaeberlein M.* Rejuvenation: it's in our blood // *Cell Metab.* 2014. V. 20. P. 2–4.
- Blank S., Nienhüser H., Dreikhausen L. et al.* Inflammatory cytokines are associated with response and prognosis in patients with esophageal cancer // *Oncotarget.* 2017. V. 8. № 29. P. 47518–47532.
- Castellano J.M., Kirby E.D., Wyss-Coray T.* Blood-borne re-vascularization of the aged brain // *JAMA Neurol.* 2015. V. 72. P. 1191–1194.
- Chen J., Tan L., Liao Y. et al.* Chemokine CCL2 impairs spatial memory and cognition in rats *via* influencing inflammation, glutamate metabolism and apoptosis-associated genes expression – a potential mechanism for HIV-associated neurocognitive disorder // *Life Sci.* 2020. V. 255. P. 117828.
- Choi D.J., Yang H., Gaire S. et al.* Critical roles of astrocytic-CCL2-dependent monocyte infiltration in a DJ-1 knockout mouse model of delayed brain repair // *Glia.* 2020. V. 68. № 10. P. 2086–2101.
- Czepielewski L.S., Massuda R., Panizzutti B. et al.* Telomere length and CCL11 levels are associated with gray matter volume and episodic memory performance in schizophrenia: evidence of pathological accelerated aging // *Schizophr. Bull.* 2018. V. 44. № 1. P. 158–167.
- Degirmenci I., Ozbayer C., Kebapci M.N. et al.* Common variants of genes encoding TLR4 and TLR4 pathway members TIRAP and IRAK1 are effective on MCP1, IL6, IL1 β , and TNF α levels in type 2 diabetes and insulin resistance // *Inflamm. Res.* 2019. V. 68. № 9. P. 801–814.
- Deshmane S.L., Kremlev S., Amini S., Sawaya B.E.* Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview // *J. Interferon Cyt. Res.* 2009. V. 29. № 6. P. 313–326.
- Du W., Wong C., Song Y. et al.* Age-associated vascular inflammation promotes monocytosis during atherogenesis // *Aging Cell.* 2016. V. 15. № 4. P. 766–777.
- Dutta P., Sarkissyan M., Paico K. et al.* MCP-1 is overexpressed in triple-negative breast cancers and drives cancer invasiveness and metastasis // *Breast Cancer Res. Treat.* 2018. V. 170. № 3. P. 477–486.
- Edman L.C., Mira H., Arenas E.* The beta-chemokines CCL2 and CCL7 are two novel differentiation factors for midbrain dopaminergic precursors and neurons // *Exp. Cell Res.* 2008. V. 314. № 10. P. 2123–2130.
- Feng L., Qi Q., Wang P. et al.* Serum level of CCL2 predicts outcome of patients with pancreatic cancer // *Acta Gastroenterol. Belg.* 2020. V. 83. P. 295–299.
- Glabinski A.R., Balasingam V., Tani M. et al.* Chemokine monocyte chemoattractant protein-1 is expressed by astrocytes after mechanical injury to the brain // *J. Immunol.* 1996. V. 156. P. 4363–4368.
- Grossman J.G., Nywening T.M., Belt B.A. et al.* Recruitment of CCR2⁺ tumor associated macrophage to sites of liver metastasis confers a poor prognosis in human colorectal cancer // *Oncoimmunology.* 2018. V. 7. P. e1470729.
- Guerreiro R., Bras J.* The age factor in Alzheimer's disease // *Genome Med.* 2015. V. 7. № 1. P. 106–112.
- Heneka M.T., Carson M.J., Khoury J. et al.* Neuroinflammation in Alzheimer's disease // *Lancet. Neurol.* 2015. V. 14. P. 388–405.
- Hohensinner P.J., Rychli K., Zorn G. et al.* Macrophage-modulating cytokines predict adverse outcome in heart failure // *Thromb. Haemost.* 2010. V. 103. P. 435–441.
- Hong S., Lee E.E., Martin A.S. et al.* Abnormalities in chemokine levels in schizophrenia and their clinical correlates // *Schizophr. Res.* 2017. V. 181. P. 63–69.
- Hughes C.E., Nibbs R.J.B.* A guide to chemokines and their receptors // *FEBS J.* 2018. V. 285. № 16. P. 2944–2971.
- Huma Z.E., Sanchez J., Lim H.D. et al.* Key determinants of selective binding and activation by the monocyte chemoattractant proteins at the chemokine receptor CCR2 // *Sci. Signal.* 2017. V. 10. № 480. P. 13–17.
- Ihalainen J.K., Schumann M., Eklund D. et al.* Combined aerobic and resistance training decreases inflammation markers in healthy men // *Scand. J. Med. Sci. Sports.* 2018. V. 28. № 1. P. 40–47.
- Ishida Y., Kuninaka Y., Nosaka M. et al.* CCL2-mediated reversal of impaired skin wound healing in diabetic mice by normalization of neovascularization and collagen accumulation // *J. Invest. Dermatol.* 2019. V. 139. № 12. P. 2517–2527.
- Iwamoto H., Izumi K., Mizokami A.* Is the C-C motif ligand 2-C-C chemokine receptor 2 axis a promising target for cancer therapy and diagnosis? // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 23. P. 9328.
- Jamali Z., Nazari M., Khoramdelaad H. et al.* Expression of CC chemokines CCL2, CCL5, and CCL11 is associated with duration of disease and complications in type-1 diabetes: a study on Iranian diabetic patients // *Clin. Lab.* 2013. V. 59. № 9–10. P. 993–1001.
- Jöhner K., Zelle-Rieser C., Perathoner A. et al.* Up-regulation of functional chemokine receptor CCR3 in human renal cell carcinoma // *Clin. Cancer Res.* 2005. V. 11. P. 2459–2465.
- Joly-Amado A., Hunter J., Quadri Z. et al.* CCL2 overexpression in the brain promotes glial activation and accelerates tau pathology in a mouse model of tauopathy // *Front. Immunol.* 2020. V. 11. P. 997.
- Kalkonde Y.V., Morgan W.W., Sigala J. et al.* Chemokines in the MPTP model of Parkinson's disease: absence of CCL2 and its receptor CCR2 does not protect against striatal neurodegeneration // *Brain Res.* 2007. V. 1128. № 1. P. 1–11.
- Kempuraj D., Thangavel R., Selvakumar G.P. et al.* Mast cell proteases activate astrocytes and glia-neurons and release interleukin-33 by activating p38 and ERK1/2 MAPKs and NF- κ B // *Mol. Neurobiol.* 2019. V. 56. № 3. P. 1681–1693.
- Khavinson V.Kh., Kuznik B.I., Tarnovskaia S.I., Lin'kova N.S.* Peptides and CCL11 and HMGB1 as molecular markers of aging: literature review and own data // *Adv. Gerontol.* 2014. V. 27. № 3. P. 399–406.
- Kiyota T., Yamamoto M., Xiong H. et al.* CCL2 accelerates microglia-mediated Abeta oligomer formation and progression of neurocognitive dysfunction // *PLoS One.* 2009. V. 4. № 7. P. e6197.

- Kiyota T., Gendelman H.E., Weir R.A. et al. CCL2 affects β -amyloidosis and progressive neurocognitive dysfunction in a mouse model of Alzheimer's disease // *Neurobiol. Aging*. 2013. V. 34. № 4. P. 1060–1068.
- Leggate M., Carter W.G., Evans M.J.C. et al. Determination of inflammatory and prominent proteomic changes in plasma and adipose tissue after high-intensity intermittent training in overweight and obese males // *J. Appl. Physiol.* 2012. V. 112. № 8. P. 1353–1360.
- Levina V., Nolen B.M., Marrangoni A.M. et al. Role of eotaxin-1 signaling in ovarian cancer // *Clin. Cancer Res.* 2009. V. 15. P. 2647–2656.
- Li S., Sun W., Zheng H., Tian F. microRNA-145 accelerates the inflammatory reaction through activation of NF- κ B signaling in atherosclerosis cells and mice // *Biomed. Pharmacother.* 2018. V. 103. P. 851–857.
- Lim S.Y., Yuzhalin A.E., Gordon-Weeks A.N., Muschel R.J. Targeting the CCL2-CCR2 signaling axis in cancer metastasis // *Oncotarget*. 2016. V. 7. № 19. P. 28697–28710.
- Lopes L.M.P., De Oliveira E.C., Becker L.K. et al. Resistance training associated with dietetic advice reduces inflammatory biomarkers in the elderly // *BioMed Res. Int.* 2020. V. 1. P. 7351716.
- Martin A.P., Rankin S., Pitchford S. et al. Increased expression of CCL2 in insulin-producing cells of transgenic mice promotes mobilization of myeloid cells from the bone marrow, marked insulinitis, and diabetes // *Diabetes*. 2008. V. 57. № 11. P. 3025–3033.
- Matsumoto Y., Takahashi M., Ogata M. Relationship between glycoxidation and cytokines in the vitreous of eyes with diabetic retinopathy // *Nippon Ganka Gakkaï Zasshi*. 2001. V. 105. P. 435–441.
- Miller M.C., Mayo K.H. Chemokines from a structural perspective // *Int. J. Mol. Sci.* 2017. V. 18. № 10. P. 2088.
- Monti P., Leone B.E., Marchesi F. et al. The CC chemokine MCP-1/CCL2 in pancreatic cancer progression: regulation of expression and potential mechanisms of antimalignant activity // *Cancer Res.* 2003. V. 63. P. 7451–7461.
- Morii T., Fujita H., Narita T. et al. Association of monocyte chemoattractant protein-1 with renal tubular damage in diabetic nephropathy // *J. Diabet. Comp.* 2003. V. 17. № 1. P. 11–15.
- Mulholland B.S., Forwood M.R., Morrison N.A. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) drives activation of bone remodelling and skeletal metastasis // *Curr. Osteopor. Rep.* 2019. V. 17. № 6. P. 538–547.
- Panee J. Monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) in obesity and diabetes // *Cytokine*. 2012. V. 60. № 1. P. 1–12.
- Piemonti L., Calori G., Lattuada G. et al. Association between plasma monocyte chemoattractant protein-1 concentration and cardiovascular disease mortality in middle-aged diabetic and nondiabetic individuals // *Diabetes Care*. 2009. V. 32. P. 2105–2110.
- Ramkumar H.L., Zhang J., Chan C.C. Retinal ultrastructure of murine models of dry age-related macular degeneration (AMD) // *Prog. Retin. Eye Res.* 2010. V. 29. № 3. P. 169–190.
- Réaux-Le Goazigo A., van Steenwinckel J., Rostène W., Parsadaniantz S.M. Current status of chemokines in the adult CNS // *Prog. Neurobiol.* 2013. V. 104. P. 67–92.
- Ridiandries A., Tan J.T.M., Bursill C.A. The role of chemokines in wound healing // *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 19. № 10. P. 3217.
- Schober A., Zerneck A., Liehn E.A. et al. Crucial role of the CCL2/CCR2 axis in neointimal hyperplasia after arterial injury in hyperlipidemic mice involves early monocyte recruitment and CCL2 presentation on platelets // *Circ. Res.* 2004. V. 95. P. 1125–1133.
- Schwartz T., Sjaastad I., Flatø B. et al. In active juvenile dermatomyositis, elevated eotaxin and MCP-1 and cholesterol levels in the upper normal range are associated with cardiac dysfunction // *Rheumatology (Oxford)*. 2014. V. 53. № 12. P. 2214–2222.
- Singh S., Anshita D., Ravichandiran V. MCP-1: function, regulation, and involvement in disease // *Int. Immunopharmacol.* 2021. V. 20. P. 107598.
- Sokol C.L., Luster A.D. The chemokine system in innate immunity // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2015. V. 7. № 5. P. a016303.
- Sokolova A., Hill M.D., Rahimi F. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 plays a dominant role in the chronic inflammation observed in Alzheimer's disease // *Brain Pathol.* 2009. V. 19. P. 392–398.
- Tapp L.D., Shantsila E., Wrigley B.J. et al. The CD14⁺CD16⁺ monocyte subset and monocyte-platelet interactions in patients with ST-elevation myocardial // *J. Thromb. Haemost.* 2012. V. 10. P. 1231–1241.
- Stuart M.J., Baune B.T. Chemokines and chemokine receptors in mood disorders, schizophrenia, and cognitive impairment: a systematic review of biomarker studies // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2014. V. 42. P. 93–115.
- Taghavi Y., Hassanshahi G., Kounis N.G. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1/CCL2) in diabetic retinopathy: latest evidence and clinical considerations // *J. Cell Commun. Signal.* 2019. V. 13. № 4. P. 451–462.
- Talbert E.E., Lewis H.L., Farren M.R. et al. Circulating monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) is associated with cachexia in treatment-naïve pancreatic cancer patients // *J. Cach. Sarc. Muscle*. 2018. V. 9. P. 358–368.
- Tsukahara T., Yamagishi S., Matsuda Y., Haniu H. Alkylglycerophosphate-mediated C-C motif chemokine 2 secretion induces oxidative stress via increased PPAR γ activation in human umbilical vein endothelial cells // *Biomed. Pharmacother.* 2018. V. 106. P. 686–691.
- Villeda S.A., Luo J., Mosher K.I. et al. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function // *Nature*. 2011. V. 477. P. 90–94.
- Wang W.W., Ang S.F., Kumar R. et al. Identification of serum monocyte chemoattractant protein-1 and prolactin as potential tumor markers in hepatocellular carcinoma // *PLoS One*. 2013. V. 8. P. e68904.
- Wegeberg A.L., Okdahl T., Fløyet T. et al. Circulating inflammatory markers are inversely associated with heart rate variability measures in type 1 diabetes // *Mediators Inflamm.* 2020. V. 2020. P. 3590389.
- Westin K., Buchhave P., Nielsen H. et al. CCL2 is associated with a faster rate of cognitive decline during early stages

- of Alzheimer's disease // *PLoS One*. 2012. V. 7. № 1. P. e30525.
- White G.E., Iqbal A.J., Greaves D.R. CC chemokine receptors and chronic inflammation—therapeutic opportunities and pharmacological challenges // *Pharmacol. Rev.* 2013. V. 65. № 1. P. 47–89.
- Wildgruber M., Aschenbrenner T., Wendorff H. et al. The “intermediate” CD14⁺⁺CD16⁺ monocyte subset increases in severe peripheral artery disease in humans // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 39483.
- Xu J., Dong H., Qian Q. et al. Astrocyte-derived CCL2 participates in surgery-induced cognitive dysfunction and neuroinflammation via evoking microglia activation // *Behav. Brain Res.* 2017. V. 332. P. 145–153.
- Xu M., Wang Y., Xia R. et al. Role of the CCL2–CCR2 signalling axis in cancer: mechanisms and therapeutic targeting // *Cell Prolif.* 2021. V. 54. № 10. P. e13115.
- Xue J., Ge X., Zhao W. et al. PIPKI γ regulates CCL2 expression in colorectal cancer by activating AKT–STAT3 signaling // *J. Immunol. Res.* 2019. V. 2019. P. 3690561.
- Yao M., Yu E., Staggs V. et al. Elevated expression of chemokine C–C ligand 2 in stroma is associated with recurrent basal-like breast cancers // *Mod. Pathol.* 2016. V. 29. P. 810–823.
- Yasui H., Kajiyama H., Tamauchi S. et al. CCL2 secreted from cancer-associated mesothelial cells promotes peritoneal metastasis of ovarian cancer cells through the P38–MAPK pathway // *Clin. Exp. Metastasis.* 2020. V. 37. № 1. P. 145–158.
- Yumimoto K., Sugiyama S., Mimori K., Nakayama K.I. Potentials of C–C motif chemokine 2–C–C chemokine receptor type 2 blockers including propagermanium as anticancer agents // *Cancer Sci.* 2019. V. 110. № 9. P. 2090–2099.
- Zlotnik A., Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity // *Immunity.* 2000. V. 12. № 2. P. 121–127.

Chemokine CCL2 and Its Receptor CCR2 in Regulation of Cognitive Functions and in Development of Aging Diseases

B. I. Kuznik^{a, b}, N. I. Chalisova^{c, d, *}, and E. S. Guseva^b

^aChita State Medical Academy, Chita, Russia

^bAcademy of Health Innovation Clinic, Chita, Russia

^cPavlov Institute of Physiology RAS, St. Petersburg, Russia

^dSt. Petersburg Institute of Bioregulation and Gerontology, St. Petersburg, Russia

*e-mail: ni_chalisova@mail.ru

Data are presented on a special group of proteins-cytokines, called chemokines, whose main and most important function is to stimulate the migration of leukocytes and other cells, due to which they participate in all protective, as well as destructive immune and inflammatory reactions. The chemokines perform haptotaxis, chemokinesis, adhesion, hematopoiesis and angiogenesis. The cytokines release synchronously the growth factors and performed the regeneration processes of damaged tissues. The chemokine CCL2 is one of important exponent of this group, it can regulate infiltration and migration of different cells. Which play a great role in the processes of non-specific and adaptive immunity, in tissue processes of inflammation and regeneration and in CNS function. The receptor CCR2, expressed by the different tissues, is the basic for CCL2. The CCL2 content is increased by the human aging, correlating to the growth cognitive disturbances developing by aging. It is established that CCL2 superexpression in CNS provides an increasing of pathogenic tau-protein and is correlated to the glial inflammatory processes. CCL2 and CCR2 participate in the variable metabolism of beta-amyloid (A β), underlying of Alzheimer disease. CCL2 great expression is detected in the different parts of CNS by Parkinson disease, depression, insult and the brain injury, correlating with the cognitive disturbances. CCL2/CCR2 axis plays a great role in the pathogenesis of cardiovascular system diseases, of diabetes mellitus of 1 and 2 types, in the oncogenesis, in the atherosclerosis accidents, including ischemic insult, myocardium infarct, acute coronary syndrome, cardiac distress and lethality. A great increase of CCL2 and CCR2 levels is detected in cancer cells by cancer of different tissues. So, CCL2 and its receptor CCR2 play a great role by the aging diseases development.

Keywords: chemokines, CCL2, CCR2, cognitive functions, cardiovascular system, diabetes mellitus of 1 and 2 types, oncological diseases

УДК 57.02.591.1.575.32

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА (КРАТКИЙ ОБЗОР)

© 2022 г. И. И. Полетаева*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

*e-mail: ingapoletaeva@mail.ru

Поступила в редакцию 31.07.2021 г.

После доработки 20.09.2021 г.

Принята к публикации 20.09.2021 г.

Рассматриваются основные принципиальные вопросы создания линий лабораторных животных, моделирующих заболевания мозга человека. Большое число данных по экспрессии патологических признаков у лабораторных животных, воспроизводящих то или иное заболевание мозга человека, нуждается в интегральной оценке, основные подходы к которой изложены в обзоре. Рассматриваются основные требования, предъявляемые к лабораторной модели в целом, а также общие данные о подходах к формированию лабораторных моделей заболеваний ЦНС. Отдельно анализируется соотношение требований стандартизации условий проведения тестов на животных и необходимости учета уникальности каждой из соответствующих моделей. Дискуссионным, в определенной степени, оказывается и проблема благополучия экспериментальных животных при подобных экспериментах. Важным аспектом данной проблемы является также понимание общих биологических закономерностей формирования поведения животного, необходимое для адекватной интерпретации “модельных” экспериментов. Рассматривается также такой аспект создания лабораторных моделей, как оценка отдаленных последствий ранних воздействий. Кратко перечисляются генетические модели некоторых заболеваний ЦНС. В домене наших знаний о механизмах синдрома Дауна и болезни Альцгеймера имеются быстро накапливающиеся знания о возможности исправления таких дефектов ЦНС. Кратко приведены основные положения концепции эндофенотипов и концепции LEARN.

Ключевые слова: лабораторные животные, унификация тестов, требования к модели, нейрогенетика, эндофенотип, LEARN

DOI: 10.31857/S0042132422010069

“Animal models represent experimental preparations developed in one species for the purpose of studying phenomena occurring in another species. In the case of animal models of human psychopathology one seeks to develop syndromes in animals which resemble those in humans in certain ways in order to study selected aspects of human psychopathology”
(McKinney, 1984, p. 77–96).¹

ВВЕДЕНИЕ

Трансляционная медицина – это быстро развивающийся междисциплинарный подход к диагностике и к биомедицинским исследованиям сложных заболеваний человека. Его цель – ускорить разработку новых диагностических подходов и методов лечения с помощью, в частности, использования лабораторных моделей. Генетическая основа многих заболеваний мозга человека

известна достаточно давно. Описаны четкие хромосомные аномалии (например, синдром Дауна), мутации конкретных локусов хромосом (синдром Ретта, “ломкая X-хромосома”, синдромы Ангельмана и Прадера–Вилли и др.). Известны также семейные заболевания, установить генетическое определение которых не всегда просто (например, шизофрения). Четко моногенных психических заболеваний описано мало (Jacobson, Cryan, 2010).

¹ “Модели на животных представляют собой экспериментальные препараты, которые разрабатываются для одного вида с целью изучения явлений у другого вида. В случае моделирования на животных психопатологии человека обычно пытаются воспроизвести у животного такие синдромы, которые по ряду признаков были бы похожи на таковые у человека, с целью изучения определенных аспектов психопатологии человека” (McKinney, 1984, p. 77–96).

Теоретической основой создания генетических моделей заболеваний человека на лабораторных мышах является установленная гомология между геномами мыши и человека (Buchberg et al., 1989; Searle et al., 1994). Генетическая детерминированность многих патологических признаков, которые можно обнаружить у животных (например, неврологические мутации мыши, аудиогенная эпилепсия, спонтанные судороги), является важным логическим обоснованием для попыток создания адекватных генетических моделей болезней человека. Однако известно, что многие отклонения в поведении животного (нарушения эмоциональности, аномальная тревожность, стереотипии) имеют (как и у человека) сложную, не всегда идентичную генетическую детерминацию, и в связи с этим создаваемые в лабораториях модели могут сильно различаться.

На основе экспериментальных исследований последних десятилетий постепенно формируются представления о пригодности той или иной лабораторной модели для разработки путей коррекции заболевания мозга человека, в особенности в случаях, когда для моделируемого заболевания установлено генетическое определение (Schughart et al., 2013; Nadeau, Auwerx, 2019; Liu et al., 2020). Получены реальные указания на возможность коррекции неврологических отклонений и нарушений поведения у животных с генетическими отклонениями, гомологичными таковым человека. При этом можно видеть перспективы клинического использования таких разработок (De Filipis et al., 2011; Sakurai et al., 2011; Colas et al., 2013; Martínez-Cué et al., 2014; Deidda et al., 2015; Zhang, Li, 2015; El-Bakly et al., 2019 и др.).

При анализе наследования психических заболеваний, когда нет указаний на существование конкретной мутации, оценки величины наследуемости бывают очень высокими (для шизофрении – более 80%). Иными словами, в таких случаях дефект определяется действием большого числа генов с небольшими эффектами, которые суммируются с воздействием средовых факторов (Lahiri et al., 2009). Поскольку у человека невозможно контролировать эффект средовых факторов, перспективным подходом такого направления оказывается разработка лабораторных моделей на животных.

Очевидным источником скептицизма в перспективности использования животных для создания таких моделей является невозможность анализировать у них сложные нарушения психики человека. Однако важны и основные постулаты подобного моделирования: консервативность функции гена (в разных организмах), наличие функционального полиморфизма такого гена у модели и у человека, в также обоснованность выбора организма для создания модели. Важная

проблема разработки моделей болезней человека на лабораторных животных – это выявление адекватных биомаркеров.

Рассмотреть, даже кратко, все данные по этой теме практически невозможно из-за очень большого объема сведений, а также в силу быстрого развития этой области нейробиологии и разнообразия подобных моделей. Это можно проиллюстрировать заведомо неполным перечислением моделей некоторых генетических заболеваний мозга человека: болезнь Альцгеймера, синдром Дауна, синдром Ретта, алкоголизм, ADHD (attention deficit hyperactivity syndrome, синдром дефицита внимания и гиперактивности), расстройства аутистического спектра, микроцефалия, мегенцефалия, болезнь Хантингтона, болезнь Паркинсона, болезнь Шарко–Мари–Тута, биполярное расстройство, шизофрения, депрессия, наркомания, дислексия, синдром ломкой X-хромосомы, эпилепсия, нарколепсия, синдром Вильямса–Берена, синдромы Ангельмана и Прадера–Вилли, анемия Фанкони, синдром Коффин–Лоури, синдром Дравета, мышечная дистрофия Дюшена и др.

ЛАБОРАТОРНАЯ МОДЕЛЬ И ТРЕБОВАНИЯ, К НЕЙ ПРЕДЪЯВЛЯЕМЫЕ

Универсальное определение понятия “модель” (от латинского *modulus* – мера, аналог, образец) – упрощенное воспроизведение реального объекта и процессов, в нем происходящих.

Создаваемые лабораторные модели заболеваний мозга человека (как частный случай биологических моделей) должны отвечать следующим трем главным критериям (Belzung, Lemoine, 2011). Это, во-первых, внешнее сходство (*face validity*). И условия проведения тестов, и получаемые результаты должны быть похожими на моделируемый признак человека. Во-вторых, это сходство механизмов возникновения изучаемой патологии у человека и у животного, представляющего собой модель данного заболевания (*construct validity*), то есть сходство путей развития исследуемых отклонений (Maximino et al., 2010). В-третьих, модель должна обладать предсказательной силой (*predictive validity*). Исследование предполагаемой модели не только должно показать сходство симптома заболевания человека и данных некоего единичного теста на животных. Оно также должно давать адекватные результаты и при использовании иных, чем рассматриваемый метод анализа, тестов (которые также адресованы оценке исследуемого признака).

В настоящее время считаются важными еще два требования. Это дискриминантность данной модели (*discriminant validity*), то есть модель должна быть точной, воспроизводящей именно моделируемый признак, в отличие от других,

близких к нему (например, требуется оценка у животного именно тревожности, но не страха). Это также и конвергентность модели (convergent validity), то есть проявление в данной модели сходных по биологическому содержанию показателей разных тестов. Например, особенности показателей теста приподнятого крестообразного лабиринта и теста открытого поля должны быть сходными по “рисунку” (McOmish et al., 2014) (что, конечно, совпадает и с требованиями predictive validity).

Важным положением общих представлений о биологических моделях является возможность (и даже необходимость) создания именно генетических моделей сложных заболеваний ЦНС человека. Создание таких моделей базируется не только на знаниях, касающихся данного моделируемого заболевания, но и на понимании основных механизмов поведения животных (см. ниже). Однако очевидно, что в случае большинства заболеваний мозга человека (и в особенности психических болезней) выявить конкретные гены не всегда возможно. Для многих случаев знания об общих закономерностях формирования конкретных элементов поведения и их прогрессивное развитие в условиях патологии могут быть достаточно важны.

ОБЩИЕ ДАННЫЕ О ЛАБОРАТОРНЫХ МОДЕЛЯХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

Важность использования биологических моделей (и генетических моделей в частности) для исследования заболеваний мозга человека сомнений не вызывает (Kas et al., 2011; Mitchell et al., 2011; McOmish et al., 2014; Geschwind, Flint, 2015; Lloyd et al., 2016; Nadeau, Auwerx, 2019). На больших выборках больных с психическими отклонениями показано, что можно обнаружить группы генов, общих для разных заболеваний, то есть “перекрытие” (overlap) таких списков. Это показано, например, для шизофрении и биполярного расстройства, а также для случаев расстройства внимания при разных психических заболеваниях (O’Donovan, Owen, 2016; Witt et al., 2017; Hamerschlag et al., 2020; Yamada et al., 2020). Высказывается предположение, что в основе такой универсальности участия одних и тех же генетических элементов в формировании патологии лежит достаточно большая эволюционная древность нейробиологических основ поведения (Swarup et al., 2019). Сведения об эволюционных корнях многих проявлений поведения имеют большую фундаментальную ценность, но они пока мало продвигают наши знания о нейрофизиологических отклонениях, лежащих в основе аномалий мозга человека, индуцирующих психические заболевания (Wahlsten, 2012). Для изучения механизмов развития таких отклонений психики человека, и для

апробации новых терапевтических подходов требуются данные, полученные на соответствующих биологических моделях. Сложность в исследовании функций ЦНС заключается в том, что для оценки соответствия модели изучаемому признаку (см. выше) нужно рассматривать процессы в системах разных уровней (внутригеномного, эпигенетического, нейрофизиологического). Следует также учитывать особенности строения нервной системы животных разного уровня развития (Wolf, Linden, 2012; Soden et al., 2014; Witte et al., 2014), поскольку ряд ценных данных получают и на достаточно простых организмах (круглые черви, насекомые, рыба *Danio rerio*).

В соответствии с развивающимся представлением о сигнальных путях в реализации функции клетки, то есть о последовательной активации внутриклеточных каскадов, участие таких каскадов продемонстрировано и на лабораторных моделях заболеваний мозга человека. Такие данные получены преимущественно для моделей заболеваний аутистического спектра и болезни Альцгеймера. Оказывается, что нарушения разных звеньев такой цепи (касающиеся функции разных генов и, соответственно, разных структурных белков или регуляторных факторов) могут нередко закончиться практически идентичным или очень сходным нарушением поведения (Cattaneo, Calissano, 2012; Guan et al., 2013 и др.), а иногда и неожиданным эффектом (Dere et al., 2008). В таких случаях, по аналогии с основополагающим положением Ч. Шеррингтона, можно сказать, что нарушение поведения — это реализация “общего конечного пути” некоего процесса (или группы связанных между собой процессов), при котором могут быть изменены разные этапы последовательной цепи событий.

В реакциях лабораторных животных на психофармакологические препараты описана индивидуальная изменчивость реакций, иногда весьма значительная (Lathe, 2004; Dietz et al., 2008; Chadman, 2011; Hager et al., 2014; Näslund et al., 2016 и др.). Такая изменчивость была одной из причин выведения многочисленных инбредных линий лабораторных грызунов (то есть особей с генотипом, сходным почти на 100%). Были проведены исследования, выявившие генетические элементы, связанные с реакцией на фармакологические препараты (Hoffman et al., 2001; Novatta et al., 2007; Reed et al., 2021). Выявление индивидуальных различий в поведении было основой и для создания путем селекции линий, различающихся по конкретным признакам поведения (Garlan, Kelly, 2006; Giorgi et al., 2007 и др.).

Следует также упомянуть о сложностях такого подхода. В работе (Careau et al., 2012) показано, что в разных сериях опытов характер корреляции идентичных признаков поведения оказался раз-

ным у мышей нескольких инбредных линий и у мышей, селективированных на разный уровень активности при беге в колесах. Иными словами, существуют какие-то, пока мало изученные, особенности организации поведения, определяющие его общий рисунок, тогда как конкретное исполнение отдельных признаков поведения может сильно различаться. Это лишний раз иллюстрирует сложность изучаемых феноменов.

В настоящее время эффекты фармакологических препаратов часто оценивают у животных с контрастными реакциями на вещества определенных химических групп (Crawley, Davis, 1982; Phillips et al., 1998; Crabbe et al., 2010; Phillips, Shabani, 2015), как правило, на линиях, выведенных путем селекции. Широко используются также линии с искусственно измененной экспрессией определенных генов (Castilla-Ortega et al., 2010; Merve Fred et al., 2019; Palmer et al., 2021 и др.). Подобные модельные группы не всегда воспроизводят всю сложную феноменологию заболевания человека, однако в ряде случаев подобный подход оказывается успешным. Например, оказалось, что мутантные мыши *VTBR T+tf/J* – удачная модель аутизма (Crawley, Davis, 1982; Ramos et al., 2008; Ellegood, Crawley, 2015; McFarlane et al., 2016 и др.).

Следует, однако, отметить важный для исследования моделей заболеваний мозга человека феномен. Эффекты фармакологических препаратов в условиях нормы, то есть у животных, не имеющих каких-либо особенностей (или дефектов) функции ЦНС, могут отличаться от таковых, полученных на лабораторных моделях патологии (Würbel, 2002; Cryan, Slattery, 2007; Bouwknecht, Paylor, 2008; van der Staay et al., 2009; Jacobson, Cryan, 2010). Это подчеркивает важность моделирования именно дисфункций ЦНС. В случае лабораторных моделей тревожности это проявляется особенно четко (Bouwknecht, Paylor, 2008).

Проект “Геном человека” и разработка новых генетических и молекулярно-биологических методов позволили выявить особенности генетического определения ряда сложных признаков, лежащих в основе дисфункции мозга человека (Kas et al., 2007; Rogaev, 2012; Geschwind, Flint, 2015; Liu et al., 2020 и др.). Многие авторы отмечают, что данные, которые можно получить на человеке, недостаточны для получения полной картины влияния генотипа на развитие болезни (Phillips et al., 2002; Schughart et al., 2013; Liu et al., 2020 и др.).

Исследования на модельных организмах, преимущественно на мышах, необходимы не только для установления генетической основы заболеваний, но и для поиска возможных путей их коррекции (Cornel et al., 2019). Они проводятся в рамках подходов “прямой” и “обратной” генетики (Palmer, Phillips, 2002; Schughart et al., 2013; Na-

deau, Auwerx, 2019). Это важный источник принципиально новых данных по целому ряду болезней ЦНС человека (Anagnostopoulos et al., 2001; Crawley, 2008; Winston, Koshland, 2016 и др.).

Еще один существенный аспект проблемы создания лабораторных моделей – это взаимодействие генотипа и среды, предполагающее участие эпигенетических механизмов в детерминации признаков поведения, как у лабораторных животных, так и у человека (Crabbe et al., 1999; Lahiri et al., 2009; Lahiri, Maloney, 2012). Современный метод GWAS (Genome Wide Association Study, полногеномное исследование ассоциации), позволяющий проводить количественную оценку экспрессии генов в разных отделах мозга у животных разных генотипов, также чрезвычайно важен для данной проблемы (Mohajeri, Giese, 2012).

Существует мнение, что оценку валидности конкретной модели заболевания человека следует рассматривать не только на уровнях генотипа и фенотипа, но и учитывать “энвайротип” (envirotypе), то есть оценивать экспрессию признака в разных условиях среды. Это относится и к описанию фенотипа моделируемого заболевания человека *per se* (McOmish et al., 2014). В то же время некоторые авторы полагают, что исследований популяций человека и культур клеток в соединении с компьютерным моделированием достаточно для прогресса в этой области, и привлечения данных по лабораторным моделям не требуется (FitzGerald et al., 2018). Однако сложность феноменологии даже простых элементов поведения может говорить в пользу важности анализа патологических признаков на моделях.

В настоящее время существуют лабораторные модели, воспроизводящие нарушения в выполнении животными условно простых реакций. Это могут быть, например, особенности моторики, судорожные состояния (Kelly et al., 2010; Löscher, 2016), аномалии эмоциональной сферы (депрессия и патологическая тревожность) (Kalueff et al., 2007; Ramos et al., 2008; Slattery, Cryan, 2014), а также различия в общей возбудимости (Cerbone et al., 1993a,b; Viggiano et al., 2002). Наиболее трудными для воспроизведения в моделях на животных и для интерпретации результатов оказываются сложные проявления поведения, связанные с его полигенной генетической основой (Belknap et al., 2001; Phillips et al., 2002; Flint, Munafo, 2013; Huckans et al., 2017; Harrison et al., 2020; Palmer et al., 2021). Именно к этой категории относятся социальное поведение животных (Oddi et al., 2013) и способность к научению и решению логических задач, то есть когнитивная деятельность мозга (Brennan, 2004; Kalueff, Murphy, 2007; Jacobson et al., 2007; Gubner et al., 2010; Stewart, Kalueff, 2012; Blum et al., 2015).

Таким образом, важная часть методологии генетического подхода – это использование линий мышей и крыс с контрастными показателями признаков поведения как в “фоне”, так и при ана-

лизе реакций на фармакологические препараты (Anagnostopoulos et al., 2001; Crawley, 2008; Toledo et al., 2019 и др.). Как говорилось выше, использование GWAS позволяет сравнивать наборы генов, экспрессирующихся в разных отделах мозга, у животных разных генотипов (в частности, у потомков гибридов нескольких инбредных линий) (Letwin et al., 2006; Solberg et al., 2019). Естественно, что при этом проводится и сопоставление таких особенностей с выявляемыми различиями в поведении.

Хромосомное картирование локусов, участвующих в определении признаков поведения (quantitative trait loci, QTL), – также неотъемлемая часть современного генетического подхода в выяснении дифференциального участия некоторых генов в определении количественных признаков, в частности, признаков поведения у животных (Littrell et al., 2018).

Очевидно, что многие из достаточно популярных моделей слишком просты, чтобы быть перспективными объектами исследований в качестве полноценных моделей заболеваний ЦНС человека, но молекулярно-генетические основы некоторых признаков на таких моделях успешно анализируются. Примерами таких упрощенных моделей могут быть нематода *Caenorhabditis elegans* и рыбка *Danio rerio* (моделирование болезни Альцгеймера, процесса старения и др.) (Кротова и др., 2019; Stewart, Kalueff, 2012; Griffin et al., 2017; Nigon, Félix, 2017). Эта информация позволяет подойти к анализу молекулярно-генетических нарушений в подобных моделях (Ramos et al., 2008).

Интерпретация нейробиологических данных, полученных на лабораторных моделях заболеваний мозга человека, встречает, разумеется, и большие трудности, связанные с межвидовыми различиями модельных животных и со сложностью моделируемых феноменов, например, при оценке уровня тревожности животных (Jacobson, Cryan, 2010). Важна и стандартизация проведения лабораторных тестов на предполагаемых моделях.

СТАНДАРТИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОВЕДЕНИЯ НА ЖИВОТНЫХ – МОДЕЛЯХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА²

Преκлинические испытания новых фармакологических препаратов для неврологии и психиатрии представляют собой важное звено в оценке эффективности таких веществ. Подобные исследования, а также описание особенностей поведения тех животных, которые используются как модели заболеваний мозга человека, – это повседневная практика современной неврологии. Для получения значимых результатов таких исследо-

ваний требуется их соответствие ряду достаточно строгих правил, касающихся качества лабораторных тестов и лабораторных животных. В частности поднимается вопрос о соотношении необходимой стандартизации условий эксперимента, о размахе биологической вариабельности изучаемых признаков и о биоэтических требованиях (Würbel, 2002; van der Staay, 2006; Voelkl et al., 2020; Eggel, Würbel, 2021; Voelkl, Würbel, 2021).

Для формирования полной и биологически обоснованной базы данных по различным моделям заболеваний мозга человека важна унификация процедур тестирования (Harrison et al., 2020). Исследования поведения требуют использования тщательно выверенных экспериментальных методик. Интерпретация результатов тестирования поведения животного в лаборатории – это сложная проблема, в которой немалую роль играют не всегда очевидные детали. В важной обзорной статье (Bouwknicht, Paylor, 2008) этот вопрос рассмотрен подробно с анализом данных по тревожности, с учетом процедуры тестирования (разные процедуры могут оценивать признак по-разному) и молекулярно-генетического исследования тревожности животных. Как известно, тест “приподнятый крестообразный лабиринт” был достаточно давно предложен для измерения изменений тревожности в ответ на введение производных бензодиазепина. В серии специальных исследований такое снижение тревожности наблюдали как у мышей C57BL дикого типа, так и у этой линии при “точечных” мутациях в генах $\alpha 1$ и $\alpha 3$ подтипов ГАМК-А-рецептора. Однако выключение рецепторов $\alpha 2$ -подтипа такого эффекта не вызывало (Fiorelli et al., 2008). В то же время при анализе вызванной испугом реакции вздрагивания (startle-response) и при условно-рефлекторной реакции страха выявился иной характер участия рецепторов этих подтипов в формировании поведения. Это лишь один из большого числа примеров того, что признак “тревожность” не един, а представляет собой комплекс феноменов. Иными словами, состояние тревожности, отмечаемое у грызунов в лабораторных тестах, определить значительно сложнее, чем это представлялось ранее. Совокупность подобных свидетельств послужила основанием для разработки новых тестов для оценки этого состояния (Zorumski et al., 2019), эффективность которых еще предстоит установить. Это очевидным образом указывает и на важность стандартизации процедур, и на необходимость учета конкретных деталей эксперимента.

Следует также отметить, что помимо межвидовых различий (и их достаточно четкого воспроизведения в разных лабораториях), обнаруживаются и различия в поведении животных одной линии, содержащихся в разных питомниках (возможное влияние факторов питания, микро-

² Автор считает важным отметить лингвистическую недопустимость выражения “животные модели” при описании лабораторных моделей на животных.

климата и др.), что показано достаточно давно в ставшей “классической” статье (Crabbe et al., 1999).

Интерпретация данных, полученных в экспериментах на животных, это всегда компромисс между максимально обоснованным моделированием реальной картины патологии и формированием выводов, которые должны иметь общий характер. Очевидно, что данные экспериментов на животных следует стандартизировать (для возможности их воспроизведения в других исследованиях). В то же время известно, что данные, полученные в определенных условиях, соответствуют констелляции именно этих условий. Иными словами, “стандартизация” в определенной степени несовместима с обобщенным подходом к оценке таких результатов (Würbel, 2002; van der Staay, Steckler, 2002). Важно также знать, что искусственная мутация (нокаут или нок-ин) может обнаруживать разные эффекты в зависимости от генетического фона линии, на котором она экспрессируется (Würbel, 2002; Jacobson, Cryan, 2007, 2010; Savignac et al., 2011; Nardo et al., 2016). Это относится и к патологическим признакам, полученным на селектированных линиях (Sarkisova et al., 2017).

Еще одним существенным аспектом общего взгляда на проблему моделей является необходимость исследования роли эпигенетических процессов в формировании патологии как при анализе экспрессии определенных генов, так и при выявлении того или иного аномального признака поведения (Lahiri et al., 2009; Wolf, Linden, 2012).

БЛАГОПОЛУЧИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ И МОДЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

Особенности экспериментов по формированию модели заболевания мозга человека на животных и последовательные стадии такой работы систематично практически не описаны, несмотря на достаточно долгое время их использования (van der Staay et al., 2009). Процесс создания модели включает в себя целый ряд последовательных этапов. Это многократное повторение экспериментов, которому предшествует описание нейрофизиологических предпосылок, позволяющих сформулировать цель создания модели. И создание модели (с выполнением соответствующих требований), и ее последующее тестирование требуют, очевидным образом, мультидисциплинарного подхода, а также четкого понимания биоэтического аспекта такой работы (Jegstrup et al., 2003; Bailoo et al., 2014). Существует мнение, что понятие “благополучие животного” — не достаточно четкое (Holden, 2000; Mertens, Rülcke, 2007). Это затрудняет адекватную оценку соответствующих исследований, хотя не снимает важности контроля уровня испытываемой животным

боли и общего дискомфорта применительно к работам по созданию таких моделей.

ФОРМИРОВАНИЕ ЛАБОРАТОРНОЙ МОДЕЛИ И БИОЛОГИЯ ПОВЕДЕНИЯ

Упомянутая выше важность формирования адекватных моделей заболеваний мозга человека — это определение “места” анализируемого признака (или группы признаков) в общем континуме феноменов поведения животного. При таком анализе делаются попытки выявления конкретных последовательностей двигательных актов с последующим созданием автоматической системы их выявления в общем потоке зарегистрированных движений особи (Braun et al., 2010). Это может относиться и к повторяющимся движениям насекомых (Braun et al., 2010), и к стереотипным движениям чистки шерсти (груминга) у грызунов (Kalueff et al., 2016). Однако в целом для формирования и перспективного использования лабораторных моделей заболеваний мозга человека важно иметь четкое представление и о структуре поведенческого акта, и о закономерностях проявлений поведения. В этом плане важны знания основ этологической концепции ввиду ее универсальности и четкой связи с основными понятиями современной нейрофизиологии мозга.

Физиологические реакции, такие как, например, проявление судорог разного генеза или нарушения моторики у животных и человека достаточно просто сопоставлять между собой для определения валидности той или иной модели. В то же время в случаях более сложных проявлений поведения задача оказывается значительно более трудной. В целом, для понимания сложности сопоставления поведения животного и человека (в частности при проявлении неврологической и/или психической патологии) необходимо, с нашей точки зрения, сопоставлять феномены поведения со структурой акта поведения в свете классической этологической концепции.

В соответствии с ее положениями при развитии в организме состояния той или иной мотивации животное стремится его удовлетворить. Это поиск пищи при голоде, поиск полового партнера при половом возбуждении, это стремление избежать угрожающей или опасной ситуации. Для этого животное отыскивает ключевые раздражители, реакция на которые позволяет осуществить завершающий акт, который снижает сформировавшуюся мотивацию. Это отыскание пищи (например, по запаху или по внешнему виду добычи), отыскание полового партнера (по вторичным половым признакам — внешнему виду, запаху,

и/или специфическим звукам) или отыскание безопасного места (например, избегание ярко освещенного пространства и уход в темную часть данного местообитания). Фазе поиска ключевого раздражителя (в русскоязычной литературе ее называют “поисковое поведение”, в англоязычной – appetitive behavior), то есть поведению, которое реализуется перед совершением инстинктивного завершающего акта, свойственна высокая пластичность и изменчивость под влиянием внешних условий. Именно к этой фазе относится формирование индивидуального опыта, то есть обучение, и решение элементарных логических задач, и привыкание к ряду стимулов окружающей среды и т.д. Разумеется, тут дается предельно упрощенное изложение данной концепции, но она может служить канвой для построения соответствия поведенческих элементов в реакциях животного и в поведении человека. Этот подход существенно важен и для определения степени соответствия элементов поведения животного, которые предполагается использовать как модель, тому или иному патологическому состоянию ЦНС человека.

ПРИМЕРЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

Синдром Дауна (аномалии развития при трисомии по 21-й хромосоме) и болезнь Альцгеймера (нарастающие симптомы нарушения когнитивной сферы и адаптивного поведения) наиболее полно изучены генетически как у человека, так и на генетических моделях. Этим объясняется и значительное число работ по этим проблемам, и достаточно многочисленные исследования попыток терапии, проведенные на генетических моделях с перспективой их внедрения в клинику.

Рамки настоящего обзора не позволяют привести описание известных сегодня (и перспективных) моделей генетических заболеваний мозга человека, можно лишь упомянуть о ряде таких моделей болезни Альцгеймера (БА) и синдрома Дауна (СД). Отметим, что кластер генов, мутации которых являются одной из причин развития БА, расположен на 21-й хромосоме человека, и, следовательно, не удивительно, что у больных СД (при “трисомическом” дисбалансе экспрессии генов) в возрасте после 30 лет воспроизводится симптоматика БА. Анализ нарушений поведения мышей – моделей СД – выявил особенности их поведения, характерные и для моделей БА (Hamlett et al., 2016; Antonarakis, 2017). Иными словами, генетические модели как для СД (трисомия 21-й хромосомы), так и для БА четко указывают на

важность этой части кариотипа для нормальной функции ЦНС.

Раннее начало БА человека связано с мутациями трех генов с полной пенетрантностью. Это ген APP (белок-предшественник бета-амилоида) и гены пресенилинов (*PS1* и *PS2*), в которых происходит дисбаланс процессинга APP вследствие мутантных изменений. Показана также патогенетическая роль гиперфосфорилирования тау-белка (образование межклеточных отложений, neurofibrillary tangles), а также участие в формировании патологии при БА одного из аллелей ($\epsilon 4$) гена аполипопротеина E (*APOE*) (Lee, Han, 2014; Esquerda-Canals et al., 2017; Steubler et al., 2021). Генетические модели БА на мышах формируют путем введения в геном упомянутых выше мутантных форм генов человека, поскольку у грызунов не описано естественного развития БА. Естественно развивающиеся симптомы, характерные для БА, описаны только у мышиного лемура *Microcebus murinus* (Bons et al., 2006).

Создано несколько генетических моделей СД, но ни одна из них не воспроизводит полной картины заболевания человека, поскольку, помимо аномалий в функции ЦНС, при трисомии-21 обнаруживается патологическое состояние многих органов. Создание генетической модели СД базировалось на синтении хромосом человека и мыши: в 16-й хромосоме мыши имеется большой участок, синтенированный хромосоме 21 человека. Однако мыши “трисомики-16” нежизнеспособны. Выходом из этой ситуации оказалась возможность получения мышей с частичной трисомией по 16-й хромосоме, у которых имеется 3 копии того участка, который гомологичен части хромосомы 21 человека. Мыши-химеры (то есть животные, у которых часть клеток несет трисомию-16, а часть – нормальна) также использовались в качестве модели СД. У таких генетических моделей СД описаны многочисленные аномалии поведения, в том числе снижение памяти и способности к обучению (Gupta et al., 2016; Antonarakis, 2017; Herault et al., 2017; Tayebati et al., 2020). При использовании одной из таких моделей, а именно, наиболее популярной – Ts65Dn, была обнаружена частичная компенсация дефектов ЦНС при фармакологических воздействиях. Такими воздействиями оказались: блокада ГАМК-А-рецепторов, раннее введение флуоксетина, модуляция функции *locus coeruleus* (стволовая структура, содержащая основной массив норадренергических нейронов мозга), стимуляция нейрогенеза и действие ряда других фармакологических агентов (Chakrabarti et al., 2011; Gardiner, 2014; Martínez-

Cué et al., 2014; Fortress et al., 2015; Rueda et al., 2020; Tayebati et al., 2020).

Поиск путей коррекции еще двух заболеваний человека – бокового амиотрофического склероза (БАС) и эпилепсии – также зависит от успехов в разработке соответствующих лабораторных моделей. БАС – это неоднородная группа заболеваний, общим элементом которых является дегенерация мотонейронов разных отделов головного и спинного мозга. Примерно 10% случаев БАС относят к “семейным” формам, то есть связанным с наследуемым генетическим отклонением, но большинство случаев БАС относят к “спорадическим” и имеющим различное происхождение (Riancho et al., 2019). Отмечается, что триггерами заболевания у разных больных могут быть различающиеся элементы сложных каскадов. Однако, несмотря на несхожие пути развития болезни, конечным исходом БАС является дегенерация мотонейронов, для выяснения механизма которой и используются различные модели. С их помощью (Galán, 2007; Nardo et al., 2016; Riancho et al., 2019; Bonfanti et al., 2020) анализируют относительную роль особенностей экспрессии генов разных групп в генезе БАС: белкового обмена, оксидантного стресса, нарушений аксонального транспорта, роли глиальных клеток разных групп и связи течения болезни с микроокружением нейронов.

Моделирование судорожных состояний, наиболее известными из которых являются эпилепсия и эпилептиформные припадки, имеет давнюю историю (Kandratavicius et al., 2014; Grone, Varaban, 2015). Эти модели позволяют оценивать перспективность исследования и механизмов развития судорог (например, роль дисфункции ряда ионных каналов), и эффектов про- и противосудорожных средств на лабораторных животных. Как генерализованные, так и парциальные судороги можно успешно воспроизводить в эксперименте с помощью разнообразных хемоконвульсантов, при этом наиболее часто проводят исследование моделей височной формы эпилепсии человека, анализируя так называемый феномен раскачки или киндлинга (kindling) (McIntyre et al., 2002). В то же время существует ряд линий грызунов с созданной путем селекции генетической предрасположенностью к судорогам (например, мыши линии el, см. Suzuki, 2013), и в частности линий крыс KM, GEPR и WAR с предрасположенностью к судорожным припадкам в ответ на звук (Garcia-Cairasco et al., 2017; Poletaeva et al., 2017). Важность исследований эпилептогенеза с использованием таких моделей очевидна, поскольку и у человека описана генетическая предрасположенность к этому заболеванию

(Picard, 2003; Nabbout, Scheffer, 2013; Demarest, 2018).

ОБЩИЕ КОНЦЕПЦИИ ГЕНЕЗА ПАТОЛОГИИ МОЗГА (ЭНДОФЕНОТИП И LEARn)

В создании моделей заболеваний мозга человека существует ряд эмпирических подходов – от копирования отдельных симптомов заболевания до попыток воспроизвести в модели очень сложные состояния. Вместе с тем, в стремлении создать теоретическую канву формирования таких моделей важную роль играет представление об эндофенотипах, то есть о ключевых признаках фенотипа, интересующего исследователя – создателя будущей модели. Это понятие было введено с целью заполнения пробела между сложными симптомами болезни и выявляемыми генетическими особенностями, и это иногда называют “промежуточным фенотипом”. Авторами представления об эндофенотипе были Готтесман и Гоулд (Gottesman, Gould, 2003; Gould, Gottesman, 2006). Можно сказать, что эта концепция была предложена для формирования четких программ с целью изучения генетических основ аномалий функции ЦНС человека и лабораторных моделей.

Основные положения концепции эндофенотипов:

- эндофенотип – это доступный измерению отрезок пути от гена к признаку;
- эндофенотип – это группа признаков (но не симптомов);
- эндофенотипами могут быть оцениваемые количественно комплексы нейрофизиологических, биохимических, эндокринных, нейроанатомических, когнитивных и нейропсихологических признаков;
- эндофенотипы наследуются, они стабильны и независимы от состояния;
- при создании моделей заболеваний человека на животных следует ориентироваться не на имитацию симптомов, а на выявление отчетливых групп внутренних признаков (то есть именно эндофенотипов);
- в популяции эндофенотип ассоциирован с исследуемым заболеванием;
- в семьях с исследуемым заболеванием эндофенотип и заболевание оказываются сцепленными.

Концепция эндофенотипов удобна и перспективна при исследовании генетических и общепатологических основ происхождения ряда психических заболеваний. Предполагается, что

эндофенотипы могут быть указанием на вклад продуктов определенных генов в изучаемый фенотип, то есть это частные фенотипы с четкой генетической основой. Это означает, что эндофенотип ближе к генам, чем симптом, который характерен для исследуемого заболевания (Kas et al., 2011).

Известно, что проявления заболеваний мозга человека и разнообразны, и многолики. Некоторые из них (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и ряд других) относятся к группе дегенеративных расстройств. Они проявляются преимущественно в позднем возрасте с постепенной потерей клеточных элементов мозга, сопровождающейся деменцией и др. В то же время существуют заболевания очень молодого возраста (например, аутизм), тогда как биполярное расстройство и шизофрения проявляются у взрослых молодых людей. Установлено, что у многих таких болезней имеются генетические факторы риска. Однако известно, что можно нести “аллель риска”, но не заболеть (это так называемая неполная пенетрантность, связанная с полигенным определением заболевания и влиянием внешних факторов). Интегральный подход к этой сложной проблеме намечен в концепции LEARN (Latent Early-life Associated Regulation) (Lahiri et al., 2009; Lahiri, Maloney, 2012), в соответствии с которой можно выделить 4 типа течения заболеваний, в зависимости от реакций данного генотипа на внешние воздействия, а также от момента экспозиции организма действию этих факторов. Предлагаемая схема основана на многочисленных экспериментальных данных о важной роли эпигенетических процессов, которые определяют конкретный результат взаимодействия генотипа и внешних факторов в развитии определенной болезни.

На предлагаемой авторами (рис. 1) схеме (Lahiri et al., 2009) представлены 4 варианта возможного формирования патологического состояния. Первый вариант – острое заболевание (как результат “одного удара”, single hit). Вредоносное воздействие или аномальное состояние (включая мутации) вызывает немедленный или почти немедленный эффект, провоцирующий снижение исследуемой функции, которое перерастает в симптомы заболевания. Второй вариант – хроническое заболевание (один “удар”) развивается в ответ на острое воздействие. Результат такого вредоносного воздействия и возникшего аномального состояния – немедленный или почти немедленный эффект, вызывающий снижение исследуемой функции, которое перерастает в симптомы заболевания, длящиеся всю жизнь или в течение значительного периода времени. Тре-

тий вариант – заболевание с одним “ударом” и отсроченным началом. Вредоносное воздействие и аномальное состояние вызывают немедленные или почти немедленные изменения, но проявления остаются на субклиническом уровне в течение протяженного периода. Со временем снижение функции усиливается до патологического уровня (в условиях отсутствия второго “удара”). Четвертый вариант – заболевание с двумя “ударами” и отсроченным началом. Вредоносное воздействие или аномальное состояние воздействует на организм, но болезненное состояние не развивается. Эффект такого воздействия поддерживается на протяжении жизни без видимых проявлений, если не происходит второго “удара”. Последствия второго “удара” реализуются на фоне уже измененного состояния (в результате первого “удара”), и происходит развитие заболевания.

Несмотря на формальность предлагаемой классификации, она может оказаться полезной для оценки относительной роли генотипа и особенностей (интенсивности и времени) средовых воздействий. Такая (но, может быть, и более подробная) классификация важна для выяснения сложного характера эффектов взаимодействия генотипа и среды. Решение этого вопроса в случае каждой конкретной модели заболевания мозга человека может быть важным для разработки методов коррекции генетического дефекта с учетом, в том числе, и общих нарушений метаболизма (Lahiri, Maloney, 2012). Накопленные к настоящему времени данные по этой проблеме требуют подробного и разностороннего описания (Soden et al., 2014; Liu et al., 2020). Предлагаемая схема может быть полезной для оценки и развития генетических заболеваний, и для анализа динамики формирования патологии на генетических моделях заболеваний ЦНС человека (в том числе и заболеваний с полигенным определением).

ЛАБОРАТОРНЫЕ МОДЕЛИ И ИССЛЕДОВАНИЕ ОТДАЛЕННЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ РАННИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

В современной медицине достаточно давно существует еще одна очень серьезная проблема. Речь идет об изменениях физического состояния и психики человека после сильного отрицательно-го воздействия на организм в период раннего развития (в пре- и в постнатальном онтогенезе) (Koehl et al., 2001). К таким воздействиям относят неблагоприятные средовые факторы (например, инфекция и/или состояние стресса матери) и воздействия, связанные с психическими заболеваниями родителей, влияющими на формирование

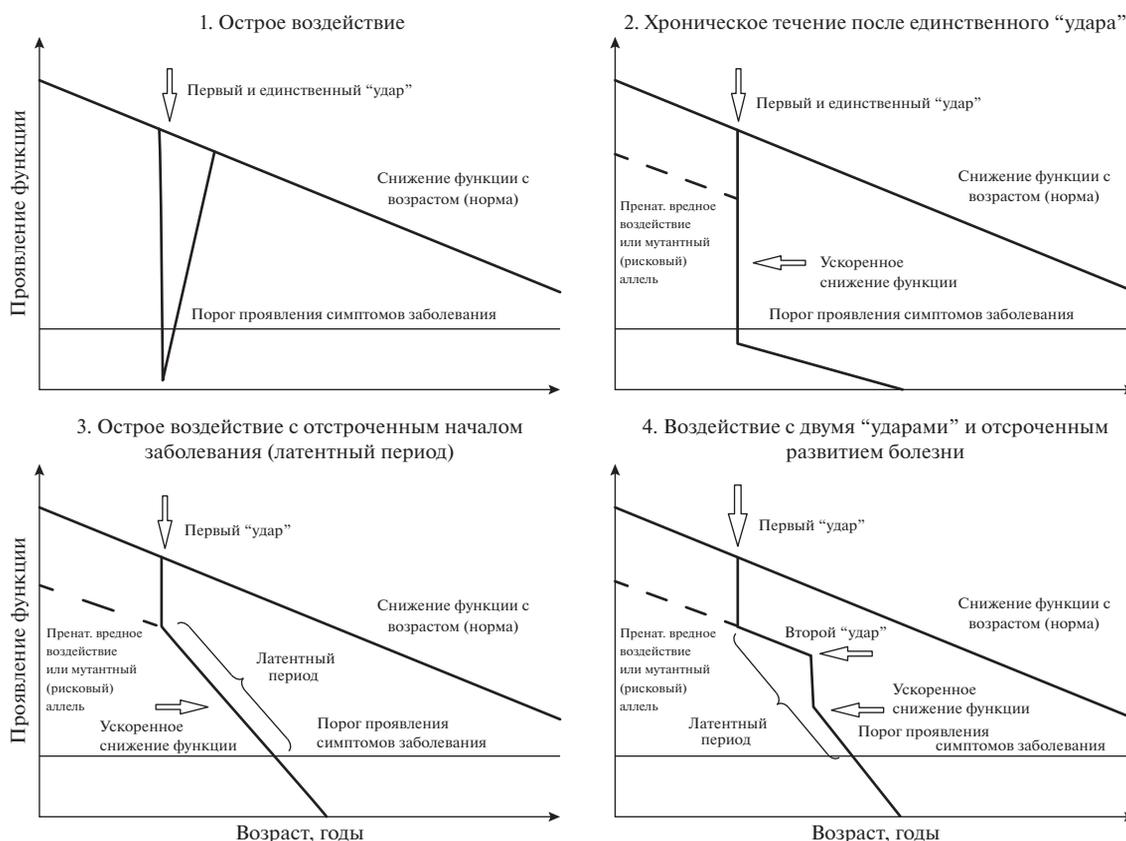


Рис. 1. Схема возможных вариантов развития заболевания во времени в условиях одного или двух “ударов” (см. текст), а также эпигенетических и/или мутационных событий (по Lahiri et al., 2009, с изменениями). Ось ординат – степень проявления некоей функции организма, ось абсцисс – возраст (годы).

психики ребенка (Heim et al., 2002). Основная информация по этому вопросу в экспериментах на животных получена при оценке отдаленных эффектов воздействия химических или физических факторов (например, гипоксия, стресс матери, введение некоторых фармакологических препаратов и т.д.) (Полетаева и др., 2012; Branchi et al., 2006; Pryce et al., 2011; Rodrigues et al., 2011; Vorhees, Makris, 2015; Houwing et al., 2019). Даже такое воздействие, как раннее прекращение материнского вскармливания вызывало у мышей во взрослом возрасте усиление агрессивности и тревожности (Kanari et al., 2005). Пример важности учета ранних средовых воздействий – это исправление неврологического дефекта у мышей с мутантным геном (модель болезни Хантингтона). Оказалось, что обогащение условий среды и тренировка локомоции у молодых животных вызвали ослабление неврологического дефекта у взрослых мышей (Mo et al., 2016).

Эпигенетическим механизмам реализации отдаленных эффектов ранних воздействий также

уделяется большое внимание, причем показано, что последствия воздействий на развивающийся организм можно увидеть не только у взрослого животного, но и у особей последующих поколений (Zucchi et al., 2012; Daskalakis et al., 2013; Gapp et al., 2014; Karen, Rajan, 2019). И экспериментальные, и клинические данные показывают важную роль индивидуальных различий и генотипа в реализации отдаленных эффектов ранних воздействий на развивающийся организм (Полетаева и др., 2012; Savignac et al., 2011; Guan et al., 2013; Boersma, Tamashiro, 2015; Umemori et al., 2015).

Очевидно, что это направление нейробиологии важно для понимания особенностей психического развития и неврологического статуса детей и подростков (Sharbaugh et al., 2003), хотя, по данным целого ряда работ, такие отдаленные эффекты могут обнаруживаться у человека и в более поздние возрастные периоды (Gilmer et al., 2003; Birn et al., 2017; Lovallo et al., 2017; Tomassi, Tosato, 2017).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Взаимодействия систем, управляющих даже относительно простыми признаками поведения, достаточно сложны, и при решении этой проблемы применяют классические экспериментальные подходы, используемые в генетике поведения. Примером этого могут быть результаты селекции мышей на разный уровень активности при “беге в колесах”, позволившие увидеть сложность генетического определения этого признака (Garlan, Kelly, 2006; Nehrenberg et al., 2010 и др.). Другой пример – выявление корреляции ряда признаков поведения с площадью проекций мшистых волокон на базальные дендриты пирамидных клеток поля CA3 гиппокампа (Lipp et al., 1989; Crusio, Schwegler, 2005). Развитие новых методов определения участия количественных признаков в поведении (рекомбинантные инбредные линии, РИЛ, Quantitative Trait Loci, QTL, Genome Wide Association Study, GWAS и др.), а также генно-инженерных технологий по усилению или ослаблению экспрессии конкретных генетических элементов значительно увеличили наши знания о роли многих генов в определении признаков поведения. Их использование позволяет выявить роль тех или иных сигнальных каскадов, определяющих проявление ряда аспектов поведения, в том числе и когнитивного (Hahn, 2016). Продукты генов-звеньев сигнальных каскадов (в активированной форме или, наоборот, их отсутствие вследствие инактивации генов) определяют работу сложных систем. При формировании генетических моделей заболеваний мозга человека функциональная роль таких систем постепенно начинает учитываться. Это четко видно при анализе реакции организма при активации стресс-системы мозга (Amin et al., 2015). Данные таких исследований дают ценный материал для понимания нейробиологических механизмов поведения животного, что важно для понимания закономерностей и механизмов развития патологических состояний мозга человека (Garlan, Kelly, 2006; Lahiri, Maloney, 2012; Eyolfson et al., 2021).

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032500080-8 и при поддержке Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета “Мозг, когнитивные системы, искусственный интеллект”.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Кротова Н.А., Лакстыгал А.М., Таранов А.С. и др.* Зебраданию (zebrafish) как новая перспективная модель в трансляционной нейробиологии // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2019. Т. 105. № 11. С. 1417–1435.
<https://doi.org/10.1134/S0869813919110062>
- Полетаева И.И., Перепелкина О.В., Бояришинова О.С. и др.* Неонатальные инъекции фармакологических препаратов и их генотип-зависимые отдаленные эффекты у мышей и крыс // Онтогенез. 2012. Т. 43. № 6. С. 387–400.
- Anagnostopoulos A.V., Mobraaten L.E., Sharp J.J., Davisson M.T.* Transgenic and knockout databases: behavioral profiles of mouse mutants // *Physiol. Behav.* 2001. V. 73. № 5. P. 675–689.
[https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(01\)00525-x](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(01)00525-x)
- Antonarakis S.E.* Down syndrome and the complexity of genome dosage imbalance // *Nat. Rev. Genet.* 2017. V. 18. № 3. P. 147–163.
<https://doi.org/10.1038/nrg.2016.154>
- Bailoo J.D., Reichlin T.S., Würbel H.* Refinement of experimental design and conduct in laboratory animal research // *ILAR J.* 2014. V. 55. № 3. P. 383–391.
<https://doi.org/10.1093/ilar/ilu037>
- Belknap J.K., Hitzemann R., Crabbe J.C. et al.* QTL analysis and genomewide mutagenesis in mice: complementary genetic approaches to the dissection of complex traits // *Behav. Genet.* 2001. V. 31. № 1. P. 5–15.
<https://doi.org/10.1023/a:1010249607128>
- Belzung C., Lemoine M.* Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression // *Biol. Mood Anx. Disord.* 2011. V. 1. № 1. P. 1–14.
<https://doi.org/10.1186/2045-5380-1-9>
- Birn R.M., Roeber B.J., Pollak S.D.* Early childhood stress exposure, reward pathways, and adult decision making // *PNAS USA.* 2017. V. 114. № 51. P. 13549–13554.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1708791114>
- Blum K., Thanos P.K., Oscar-Berman M. et al.* Dopamine in the brain: hypothesizing surfeit or deficit links to reward and addiction // *J. Reward Defic. Syndr.* 2015. V. 1. № 3. P. 95–104.
<https://doi.org/10.17756/jrds.2015-016>
- Bonfanti E., Bonifacino T., Raffaele S. et al.* Abnormal up-regulation of GPR17 receptor contributes to oligodendrocyte dysfunction in SOD1 G93A mice // *Int. J. Mol.*

- Sci. 2020. V. 21. №7. P. 2395.
<https://doi.org/10.3390/ijms21072395>
- Bons N., Rieger F., Prudhomme D. et al.* *Microcebus murinus*: a useful primate model for human cerebral aging and Alzheimer's disease // *Gen. Brain Behav.* 2006. V. 5. № 2. P. 120–130.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2005.00149.x>
- Boersma G.J., Tamashiro K.L.* Individual differences in the effects of prenatal stress exposure in rodents // *Neurobiol. Stress.* 2015. V. 1. P. 100–108.
- Bouwknacht J.A., Paylor R.* Pitfalls in the interpretation of genetic and pharmacological effects on anxiety-like behaviour in rodents // *Behav. Pharmacol.* 2008. V. 19. № 5–6. P. 385–402.
<https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e32830c3658>
- Branchi I., D'Andrea I., Sietzema J. et al.* Early social enrichment augments adult hippocampal BDNF levels and survival of BRDU-positive cells while increasing anxiety- and “depression”-like behavior // *J. Neurosci. Res.* 2006. V. 83. № 6. P. 965–973.
<https://doi.org/10.1002/jnr.20789>
- Brennan F.X.* Genetic differences in leverpress escape/avoidance conditioning in seven mouse strains // *Gen. Brain Behav.* 2004. V. 3. P. 110–114.
- Braun E., Geurten B., Egelhaaf M.* Identifying prototypical components in behaviour using clustering algorithms // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 2. P. e9361.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009361>
- Buchberg A.M., Brownell E., Nagata S. et al.* A comprehensive genetic map of murine chromosome 11 reveals extensive linkage conservation between mouse and human // *Genetics.* 1989. V. 122. P. 153–161.
- Careau V., Bininda-Emonds O.R.P., Ordonez G., Garland T. Jr.* Are voluntary wheelrunning and open-field behavior correlated in mice? Different answers from comparative and artificial selection approaches // *Behav. Genet.* 2012. V. 42. P. 830–844.
<https://doi.org/10.1007/s10519-012-9543-0>
- Castilla-Ortega E., Sánchez-López J., Hoyo-Becerra C. et al.* Exploratory, anxiety and spatial memory impairments are dissociated in mice lacking the LPA1 receptor // *Neurobiol. Learn. Mem.* 2010. V. 94. P. 73–82.
- Cattaneo A., Calissano P.* Nerve growth factor and Alzheimer's disease: new facts for an old hypothesis // *Mol. Neurobiol.* 2012. V. 46. № 3. P. 588–604.
<https://doi.org/10.1007/s12035-012-8310-9>
- Cerbone A., Pellicano M.P., Sadile A.G.* Evidence for and against the Naples high- and low-excitability rats as genetic model to study hippocampal functions // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1993a. V. 17. № 3. P. 295–303.
[https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(05\)80013-2](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(05)80013-2)
- Cerbone A., Patacchioli F.R., Sadile A.G.* A neurogenetic and morphogenetic approach to hippocampal functions based on individual differences and neurobehavioral covariations // *Behav. Brain Res.* 1993b. V. 55. № 1. P. 1–16.
[https://doi.org/10.1016/0166-4328\(93\)90002-8](https://doi.org/10.1016/0166-4328(93)90002-8)
- Chakrabarti L., Scafidi J., Gallo V., Haydar T.F.* Environmental enrichment rescues postnatal neurogenesis defect in the male and female Ts65Dn mouse model of Down syndrome // *Dev. Neurosci.* 2011. V. 33. № 5. P. 428–441.
<https://doi.org/10.1159/000329423>
- Chadman K.K.* Fluoxetine but not risperidone increases sociability in the BTBR mouse model // *Pharm. Biochem. Behav.* 2011. V. 97. P. 586–594.
- Colas D., Chuluun B., Warriar D. et al.* Short-term treatment with the GABA_A receptor antagonist pentyletetrozole produces a sustained pro-cognitive benefit in a mouse model of Down's syndrome // *Br. J. Pharmacol.* 2013. V. 169. № 5. P. 963–973.
<https://doi.org/10.1111/bph.12169>
- Cornel M.C., Howard H.C., Lim D. et al.* Moving towards a cure in genetics: what is needed to bring somatic gene therapy to the clinic? // *Eur. J. Hum. Genet.* 2019. V. 27. P. 484–487.
<https://doi.org/10.1038/s41431-018-0309-x>
- Crabbe J.C., Wahlsten D., Dudek B.C.* Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment // *Science.* 1999. V. 284. № 5420. P. 1670–1672.
<https://doi.org/10.1126/science.284.5420.1670>
- Crabbe J.C., Phillips T.J., Belknap J.K.* The complexity of alcohol drinking: studies in rodent genetic models // *Behav. Genet.* 2010. V. 40. № 6. P. 737–750.
<https://doi.org/10.1007/s10519-010-9371-z>
- Crawley J.N.* Behavioral phenotyping strategies for mutant mice // *Neuron.* 2008. V. 57. № 6. P. 809–818.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.03.001>
- Crawley J.N., Davis L.G.* Baseline exploratory activity predicts anxiolytic responsiveness to diazepam in five mouse strains // *Brain Res. Bull.* 1982. V. 8. № 6. P. 609–612.
[https://doi.org/10.1016/0361-9230\(82\)90087-9](https://doi.org/10.1016/0361-9230(82)90087-9)
- Crusio W.E., Schwegler H.* Learning spatial orientation tasks in the radial-maze and structural variation in the hippocampus in inbred mice // *Behav. Brain Funct.* 2005. V. 22. № 1. P. 3.
<https://doi.org/10.1186/1744-9081-1-3>
- Cryan J.F., Slattery D.A.* Animal models of mood disorders: Recent developments // *Curr. Opin. Psych.* 2007. V. 20. № 1. P. 1–7.
<https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e3280117733>
- Daskalakis N.P., Bagot R.C., Parker K.J. et al.* The three-hit concept of vulnerability and resilience: toward understanding adaptation to early-life adversity outcome // *Psychoneuroendocr.* 2013. V. 38. № 9. P. 1858–1873.
- De Filippis B., Fabbri A., Simone D. et al.* Modulation of RhoGTPases improves the behavioral phenotype and reverses astrocytic deficits in a mouse model of Rett syndrome // *Neuropsychopharm.* 2011. V. 37. № 5. P. 1152–1163.
<https://doi.org/10.1038/npp.2011.301>
- Deidda G., Parrini M., Naskar S. et al.* Reversing excitatory GABAAR signaling restores synaptic plasticity and

- memory in a mouse model of Down syndrome // *Nat. Med.* 2015. V. 21. № 4. P. 318–326.
<https://doi.org/10.1038/nm.3827>
- Demarest S.T., Brooks-Kayal A.* From molecules to medicines: the dawn of targeted therapies for genetic epilepsies // *Nat. Rev. Neurol.* 2018. V. 14. № 12. P. 735–745.
<https://doi.org/10.1038/s41582-018-0099-3>
- Dere E., Zlomuzica A., Viggiano D. et al.* Episodic-like and procedural memory impairments in histamine H1 receptor knockout mice coincide with changes in acetylcholine esterase activity in the hippocampus and dopamine turnover in the cerebellum // *Neurosci.* 2008. V. 157. № 3. P. 532–541.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.09.025>
- Dietz D.M., Dietz K.C., Moore S. et al.* Repeated social defeat stress-induced sensitization to the locomotor activating effects of d-amphetamine: role of individual differences // *Psychopharmacology. (Berl.)* 2008. V. 198. № 1. P. 51–62.
<https://doi.org/10.1007/s00213-008-1078-y>
- Eggel M., Würbel H.* Internal consistency and compatibility of the 3Rs and 3Vs principles for project evaluation of animal research // *Lab. Anim.* 2021. V. 55. № 3. P. 233–243.
<https://doi.org/10.1177/0023677220968583>
- Ellegood J., Crawley J.N.* Behavioral and neuroanatomical phenotypes in mouse models of autism // *Neurotherapeutics.* 2015. V. 12. P. 521–533.
<https://doi.org/10.1007/s13311-015-0360-z>
- Esquerda-Canals G., Montoliu-Gaya L., Güell-Bosch J., Villegas S.* Mouse models of Alzheimer's disease // *J. Alzheim. Dis.* 2017. V. 57. № 4. P. 1171–1183.
<https://doi.org/10.3233/JAD-170045>
- Eyolfson E., Bhatt D., Wang M. et al.* Paternal exposure to exercise and/or caffeine and alcohol modify offspring behavioral and pathophysiological recovery from repetitive mild traumatic brain injury in adolescence // *Gen. Brain Behav.* 2021. V. 20. P. e12736.
- Fiorelli R., Rudolph U., Straub C.J. et al.* Affective and cognitive effects of global deletion of alpha3-containing gamma-aminobutyric acid-A receptors // *Behav. Pharmacol.* 2008. V. 19. № 5–6. P. 582–596.
<https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e32830dc0c7>
- FitzGerald G., Botstein D., Califf R. et al.* The future of humans as model organisms // *Science.* 2018. V. 361. P. 552–555.
- Flint J., Munafò M.R.* Candidate and non-candidate genes in behavior genetics // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2013. V. 23. № 1. P. 57–61.
<https://doi.org/10.1016/j.conb.2012.07.005>
- Fortress A.M., Hamlett E.D., Vazey E.M. et al.* Designer receptors enhance memory in a mouse model of Down syndrome // *J. Neurosci.* 2015. V. 35. № 4. P. 1343–1353.
- Galán L., Vela A., Guerrero A. et al.* Experimental models of amyotrophic lateral sclerosis // *Neurologia.* 2007. V. 22. № 6. P. 381–388.
- Gapp K., von Ziegler L., Tweedie-Cullen R.Y., Mansuy I.M.* Early life epigenetic programming and transmission of stress-induced traits in mammals. How and when can environmental factors influence traits and their transgenerational inheritance? // *Bioessays.* 2014. V. 36. № 5. P. 491–502.
<https://doi.org/10.1002/bies.201300116>
- Gardiner K.J.* Pharmacological approaches to improving cognitive function in Down syndrome: current status and considerations // *Drug Des. Dev. Ther.* 2014. V. 9. P. 103–125.
<https://doi.org/10.2147/DDDT.S51476>
- Garland T.Jr., Kelly S.A.* Phenotypic plasticity and experimental evolution // *Exp. Biol.* 2006. V. 209. Pt 12. P. 2344–2361.
<https://doi.org/10.1242/jeb.02244>
- Garcia-Cairasco N., Umeoka E.H.L., Cortes de Oliveira J.A.* The wistar audiogenic rat (WAR) strain and its contributions to epileptology and related comorbidities: history and perspectives // *Epilep. Behav.* 2017. V. 71. Pt B. P. 250–273.
<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2017.04.001>
- Geschwind D.H., Flint J.* Genetics and genomics of psychiatric disease // *Science.* 2015. V. 349. № 6255. P. 1489–1494.
<https://doi.org/10.1126/science.aaa8954smith278>
- Gilmer W.S., McKinney W.T.* Early experience and depressive disorders: human and non-human primate studies // *J. Affect. Disord.* 2003. V. 75. № 2. P. 97–113.
[https://doi.org/10.1016/s0165-0327\(03\)00046-6](https://doi.org/10.1016/s0165-0327(03)00046-6)
- Giorgi O., Piras G., Corda M.G.* The psychogenetically selected Roman high- and low-avoidance rat lines: a model to study the individual vulnerability to drug addiction // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2007. V. 31. № 1. P. 148–163.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.07.008>
- Gottesman I.I., Gould T.D.* The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions // *Am. J. Psychiat.* 2003. V. 160. P. 636–645.
- Gould T.D., Gottesman I.I.* Psychiatric endophenotypes and the development of valid animal models // *Gen. Brain Behav.* 2006. V. 5. P. 113–119.
- Griffin E.F., Caldwell K.A., Caldwell G.A.* Genetic and pharmacological discovery for Alzheimer's disease using *Caenorhabditis elegans* // *ACS Chem. Neurosci.* 2017. V. 8. № 12. P. 2596–2606.
<https://doi.org/10.1021/acchemneuro.7b00361>
- Grone B.P., Baraban S.C.* Animal models in epilepsy research: legacies and new direction // *Nat. Neurosci.* 2015. V. 18. № 3. P. 339–343.
<https://doi.org/10.1038/nn.3934>
- Guan L., Jia N., Zhao X. et al.* The involvement of ERK/CREB/Bcl-2 in depression-like behavior in prenatally stressed offspring rats // *Brain Res. Bull.* 2013. V. 99. P. 1–8.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2013.08.003>
- Gubner N.R., Wilhelm C.J., Phillips T.J., Mitchell S.H.* Strain differences in behavioral inhibition in a Go/No-go task demonstrated using 15 inbred mouse strains //

- Alc. Clin. Exp. Res. 2010. V. 34. № 8. P. 1353–1362.
<https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2010.01219.x>
- Gupta M., Dhanasekaran A.R., Gardiner K.J.* Mouse models of Down syndrome: gene content and consequences // *Mamm. Gen.* 2016. V. 27. № 11–12. P. 538–555.
<https://doi.org/10.1007/s00335-016-9661-8>
- Hager T., Jansen R.F., Pieneman A.W. et al.* Display of individuality in avoidance behavior and risk assessment of inbred mice // *Front. Behav. Neurosci.* 2014. V. 8. P. 314.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00314>
- Hahn L.J.* Joint attention and early social developmental cascades in neurogenetic disorders // *Int. Rev. Res. Dev. Disabil.* 2016. V. 51. P. 123–152.
<https://doi.org/10.1016/bs.irrdd.2016.08.002>
- Hamlett E.D., Boger H.A., Ledreux A. et al.* Cognitive impairment, neuroimaging, and Alzheimer neuropathology in mouse models of Down syndrome // *Curr. Alzheimer Res.* 2016. V. 13. № 1. P. 35–52.
<https://doi.org/10.2174/1567205012666150921095505>
- Hammerschlag A.R., de Leeuw C.A., Middeldorp C.M., Polderman T.J.C.* Synaptic and brain-expressed gene sets relate to the shared genetic risk across five psychiatric disorders // *Psychol. Med.* 2020. V. 50. P. 1695–1705.
<https://doi.org/10.1017/S0033291719001776>
- Harrison D.J., Creeth H.D.J., Tyson H.R. et al.* Unified behavioral scoring for preclinical models // *Front. Neurosci.* 2020. V. 14. P. 313.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00313>
- Heim C., Newport D.J., Wagner D. et al.* The role of early adverse experience and adulthood stress in the prediction of neuroendocrine stress reactivity in women: a multiple regression analysis // *Depress. Anxiety.* 2002. V. 15. № 3. P. 117–125.
<https://doi.org/10.1002/da.10015>
- Herault Y., Delabar J.M., Fisher E.M.C. et al.* Rodent models in Down syndrome research: impact and future opportunities // *Dis. Mod. Mech.* 2017. V. 10. № 10. P. 1165–1186.
<https://doi.org/10.1242/dmm.029728>
- Hoffman P.L., Yagi T., Tabakoff B. et al.* Transgenic and gene “knockout” models in alcohol research // *Alc. Clin. Exp. Res.* 2001. V. 25. P. 60S–66S.
<https://doi.org/10.1097/00000374-200105051-00011>
- Holden C.* Laboratory animals. Researchers pained by effort to define distress precisely // *Science.* 2000. V. 290. № 5496. P. 1474–1475.
<https://doi.org/10.1126/science.290.5496.1474>
- Houwing D.J., Heijkoop R., Olivier J.D.A., Snoeren E.M.S.* Perinatal fluoxetine exposure changes social and stress-coping behavior in adult rats housed in a seminatural environment // *Neuropharm.* 2019. V. 151. P. 84–97.
<https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.03.037>
- Hovatta I., Zapala M.A., Broide R.S. et al.* DNA variation and brain region-specific expression profiles exhibit different relationships between inbred mouse strains: implications for eQTL mapping studies // *Gen. Biol.* 2007. V. 8. № 2. P. R25.
<https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-2-r25>
- Huckans M., Wilhelm C.J., Phillips T.J. et al.* Parallel effects of methamphetamine on anxiety and CCL3 in humans and a genetic mouse model of high methamphetamine intake // *Neuropsychobiology.* 2017. V. 75. № 4. P. 169–177.
<https://doi.org/10.1159/000485129>
- Jacobson L.H., Cryan J.F.* Feeling strained? Influence of genetic background on depression-related behavior in mice: a review // *Behav. Genet.* 2007. V. 37. № 1. P. 171–213.
- Jacobson L.H., Cryan J.F.* Genetic approaches to modeling anxiety in animals // *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 2010. V. 2. P. 161–201.
- Jacobson L.H., Kelly P.H., Bettler B. et al.* Specific roles of GABA(B(1)) receptor isoforms in cognition // *Behav. Brain Res.* 2007. V. 181. № 1. P. 158–162.
- Jegstrup I., Thon R., Hansen A.K., Riskes H.M.* Characterization of transgenic mice – a comparison of protocols for welfare evaluation and phenotype characterization of mice with a suggestion on a future certificate of instruction // *Lab. Anim.* 2003. V. 37. P. 1–9.
- Kalueff A.V., Murphy D.L.* The importance of cognitive phenotypes in experimental modeling of animal anxiety and depression // *Neural Plast.* 2007. V. 2007. Art. 52087.
<https://doi.org/10.1155/2007/52087>
- Kalueff A.V., Wheaton M., Murphy D.L.* What’s wrong with my mouse model? Advances and strategies in animal modeling of anxiety and depression // *Behav. Brain Res.* 2007. V. 179. P. 1–18.
- Kalueff A.V., Stewart A.M., Song C. et al.* Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience // *Nat. Rev. Neurosci.* 2016. V. 17. № 1. P. 45–59.
<https://doi.org/10.1038/nrn.2015.8>
- Kandratavicius L., Balista P.A., Lopes-Aguiar C. et al.* Animal models of epilepsy: use and limitations // *Neuropsych. Dis. Treat.* 2014. V. 10. P. 1693–1705.
<https://doi.org/10.2147/NDT.S50371>
- Karen C., Rajan K.E.* Social behaviour and epigenetic status in adolescent and adult rats: the contribution of early-life stressful social experience // *Cell. Mol. Neurobiol.* 2019. V. 39. № 3. P. 371–385.
<https://doi.org/10.1007/s10571-019-00655-x>
- Kas M.J.H., Fernandes C., Schalkwyk L.C., Collier D.A.* Genetics of behavioural domains across the neuropsychiatric spectrum; of mice and men // *Mol. Psychiatry.* 2007. V. 12 (4). P. 324–330.
- Kas M.J.H., Krishnan V., Gould T.D. et al.* Advances in multidisciplinary and cross-species approaches to examine the neurobiology of psychiatric disorders // *Eur. Neuropsychopharm.* 2011. V. 21. № 7. P. 532–544.
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2010.12.001>
- Kelly S.A., Nehrenberg D.L., Peirce J.L. et al.* Genetic architecture of voluntary exercise in an advanced intercross

- line of mice // *Physiol. Genom.* 2010. V. 42. P. 190–200. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00028.2010>
- Koehl M., Lemaire V., Vall M. et al.* Long term neurodevelopmental and behavioral effects of perinatal life events in rats // *Neurotox. Res.* 2001. V. 3. P. 65–83.
- Lahiri D.K., Maloney B.* The “LEARn” (latent early-life associated regulation) model: an epigenetic pathway linking metabolic and cognitive disorders // *J. Alzheim. Dis.* 2012. V. 30. Suppl. 2. P. 15–30. <https://doi.org/10.3233/JAD-2012-120373>
- Lahiri D.K., Maloney B., Zawia N.H.* The LEARN model: an epigenetic explanation for idiopathic neurobiological diseases // *Mol. Psychiatry.* 2009. V. 14. P. 992–1003.
- Lathe R.* The individuality of mice // *Gen. Brain Behav.* 2004. V. 3. № 6. P. 317–327.
- Lee J.E., Han P.L.* An update of animal models of Alzheimer disease with a reevaluation of plaque depositions // *Exp. Neurobiol.* 2013. V. 22. № 2. P. 84–95.
- Letwin N.E., Kafkafi N., Benjamini Y. et al.* Combined application of behavior genetics and microarray analysis to identify regional expression themes and gene-behavior associations // *J. Neurosci.* 2006. V. 26. № 20. P. 5277–5287. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4602-05.2006>
- Liu S., Rao S., Xu Y. et al.* Identifying common genome-wide risk genes for major psychiatric traits // *Hum. Genet.* 2020. V. 139. P. 185–198. <https://doi.org/10.1007/s00439-019-02096-4>
- Littrell J., Tsaih S.-W.T., Baud A. et al.* A high-resolution genetic map for the laboratory rat // *G3 (Bethesda)*. 2018. V. 8. № 7. P. 2241–2248. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200187>
- Lipp H.-P., Schwegler H., Crusio W.E. et al.* Using genetically-defined rodent strains for the identification of hippocampal traits relevant for two-way avoidance behavior: a non-invasive approach // *Experientia.* 1989. V. 45. № 9. P. 845–859. <https://doi.org/10.1007/BF01954059>
- Lloyd K.C., Robinson P.N., MacRae C.A.* Animal-based studies will be essential for precision medicine // *Sci. Transl. Med.* 2016. V. 8. № 352. P. ed12. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf5474.352ed12>
- Löscher W.* Fit for purpose application of currently existing animal models in the discovery of novel epilepsy therapies // *Epilepsy Res.* 2016. V. 126. P. 157–184. <https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2016.05.016>
- Lovallo W.R., Enoch M.-A., Sorocco K.H. et al.* Joint impact of early life adversity and COMT Val158Met (rs4680) genotypes on the adult cortisol response to psychological stress // *Psychosom. Med.* 2017. V. 79. № 6. P. 631–637. <https://doi.org/10.1097/PSY.0000000000000481>
- McFarlane H.G., Kusek G.K., Yang M. et al.* Autism-like behavioral phenotypes in BTBR T+tf/J mice // *Gen. Brain Behav.* 2016. V. 15. № 1. P. 7–26. <https://doi.org/10.1111/gbb.12256>
- McIntyre D.C., Poulter M.O., Gilby K.* Kindling: some old and some new // *Epilepsy Res.* 2002. V. 50. № 1–2. P. 79–92. [https://doi.org/10.1016/s0920-1211\(02\)00071-2](https://doi.org/10.1016/s0920-1211(02)00071-2)
- McKinney W.T.* Animal models of depression: an overview // *Psychiatr. Dev.* 1984. V. 2. № 2. P. 77–96.
- Martínez-Cué C., Delatour B., Potier M.C.* Treating enhanced GABAergic inhibition in Down syndrome: use of GABA α 5-selective inverse agonists // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2014. V. 46. Pt 2. P. 218–227. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.12.008>
- Maximino C., de Brito T.M., da Silva Batista A.W. et al.* Measuring anxiety in zebrafish: a critical review // *Behav. Brain Res.* 2010. V. 214. № 2. P. 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.05.031>
- Mertens C., Rüllicke T.* Welfare assessment and phenotype characterization of transgenic mice // *ALTEX.* 2007. V. 24. Spec. №. P. 46–48.
- Merve F.S., Laukkanen L., Brunello C.A. et al.* Pharmacologically diverse antidepressants facilitate TRKB receptor activation by disrupting its interaction with the endocytic adaptor complex AP // *J. Biol. Chem.* 2019. V. 294. № 48. P. 18150–18161.
- McOmish C.E., Burrows E.L., Hannan A.J.* Identifying novel interventional strategies for psychiatric disorders: integrating genomics, ‘enviromics’ and gene–environment interactions in valid preclinical models // *Brit. J. Pharmacol.* 2014. V. 171. P. 4719–4728.
- Mitchell K.J., Huang Z.J., Moghaddam B., Sawa A.* Following the genes: a framework for animal modeling of psychiatric disorders // *BMC Biol.* 2011. V. 9. P. 76. <http://www.biomedcentral.com/1741-7007/9/76>
- Mo C., Renoir T., Hannan A.J.* What’s wrong with my mouse cage? Methodological considerations for modeling lifestyle factors and gene–environment interactions in mice // *J. Neurosci. Methods.* 2016. V. 265. P. 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.08.008>
- Mohajeri M.H., Giese K.P.* Two selected models of missense mutations in mice for the study of learning behaviour // *Brain Res. Bull.* 2012. V. 88. № 5. P. 429–433. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.12.003>
- Nabbout R., Scheffer I.E.* Genetics of idiopathic epilepsies // *Handb. Clin. Neurol.* 2013. V. 111. P. 567–578. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52891-9.00059-2>
- Nadeau J.H., Auwerx J.* The virtuous cycle of human genetics and mouse models in drug discovery // *Nat. Rev. Drug Dis.* 2019. V. 18. P. 255–272.
- Nardo G., Trolese M.C., Tortarolo M. et al.* New insights on the mechanisms of disease course variability in ALS from mutant SOD1 mouse models // *Brain Pathol.* 2016. V. 26. № 2. P. 237–247. <https://doi.org/10.1111/bpa.12351>
- Näslund J., Studer E., Johansson E., Eriksson E.* Effects of gonadectomy and serotonin depletion on inter-individual differences in anxiety-like behaviour in male Wistar rats // *Behav. Brain Res.* 2016. V. 308. P. 160–165. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.04.015>

- Nehrenberg D.L., Wang S., Hannon R.M. et al.* QTL underlying voluntary exercise in mice: interactions with the “mini muscle” locus and sex // *J. Hered.* 2010. V. 101. № 1. P. 42–53.
<https://doi.org/10.1093/jhered/esp066>
- Nigon V.M., Félix M.A.* History of research on *C. elegans* and other free-living nematodes as model organisms // *WormBook*. 2017. V. 2017. P. 1–84.
<https://doi.org/10.1895/wormbook.1.181.1>
- O'Donovan M.C., Owen M.J.* The implications of the shared genetics of psychiatric disorders dementias // *Nat. Med.* 2016. V. 22. № 11. P. 1214–1219.
<https://doi.org/10.1038/nm.4196>
- Oddi D., Crusio W.E., D'Amato F.R., Pietropaolo S.* Monogenic mouse models of social dysfunction: implications for autism // *Behav. Brain Res.* 2013. V. 251. P. 75–84.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.01.002>
- Palmer A.A., Phillips T.J.* Effect of forward and reverse selection for ethanol-induced locomotor response on other measures of ethanol sensitivity // *Alc. Clin. Exp. Res.* 2002. V. 26. № 9. P. 1322–1329.
<https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000029583.65878.0E>
- Palmer R.H.C., Johnson E.C., Won H. et al.* Integration of evidence across human and model organism studies: a meeting report // *Gen. Brain Behav.* 2021. V. 20. P. e12738.
<https://doi.org/10.1111/gbb.12738>
- Phillips T.J., Shabani S.* An animal model of differential genetic risk for methamphetamine intake // *Front. Neurosci.* 2015. V. 9. P. 327.
<https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00327>
- Phillips T.J., Belknap J.K., Buck K.J., Cunningham C.L.* Genes on mouse chromosomes 2 and 9 determine variation in ethanol consumption // *Mamm. Genome.* 1998. V. 9. № 12. P. 936–941.
<https://doi.org/10.1007/s003359900903>
- Phillips T.J., Belknap J.K., Hitzemann R.J. et al.* Harnessing the mouse to unravel the genetics of human disease // *Gen. Brain Behav.* 2002. V. 1. № 1. P. 14–26.
<https://doi.org/10.1046/j.1601-1848.2001.00011.x>
- Picard F.* Epilepsy and genetics // *Rev. Med. Suisse. Roman.* 2003. V. 123. № 5. P. 317–321.
- Poletaeva I.I., Surina N.M., Kostina Z.A. et al.* The Krushinsky–Molodkina rat strain: the study of audiogenic epilepsy for 65 years // *Epilep. Behav.* 2017. V. 71. Pt B. P. 130–141.
<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2015.04.072>
- Pryce C.R., Aubert Y., Maier C. et al.* The developmental impact of prenatal stress, prenatal dexamethasone and postnatal social stress on physiology, behaviour and neuroanatomy of primate offspring: studies in rhesus macaque and common marmoset // *Psychopharmacology.* 2011. V. 214. P. 33–53.
<https://doi.org/10.1007/s00213-010-1989-2>
- Ramos A., Pereira E., Martins G.C. et al.* Integrating the open field, elevated plus maze and light/dark box to assess different types of emotional behaviors in one single trial // *Behav. Brain Res.* 2008. V. 193. P. 277–288.
- Reed C., Stafford A.M., Mootz J.R.K. et al.* A breeding strategy to identify modifiers of high genetic risk for methamphetamine intake // *Gen. Brain Behav.* 2021. V. 20. № 2. P. e12667.
<https://doi.org/10.1111/gbb.12667>
- Rodrigues A.-J., Leão P., Carvalho M. et al.* Potential programming of dopaminergic circuits 5 by early life stress // *Psychopharmacology.* 2011. V. 214. № 1. P. 107–120.
<https://doi.org/10.1007/s00213-010-2085-3>
- Rogaev E.I.* Genomics of behavioral diseases // *Front. Genet.* 2012. V. 2. № 3. P. 45.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2012.00045>
- Rueda N., Flórez J., Dierssen M., Martínez-Cué C.* Translational validity and implications of pharmacotherapies in preclinical models of Down syndrome // *Prog. Brain Res.* 2020. V. 251. P. 245–268.
<https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2019.10.001>
- Riancho J., Gonzalo I., Ruiz-Soto M. et al.* Why do motor neurons degenerate? Actualization in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis // *Neurologia (Engl. Ed).* 2019. V. 34. № 1. P. 27–37.
<https://doi.org/10.1016/j.nrl.2015.12.001>
- Sakurai T., Dorr N.P., Takahashi N. et al.* Haploinsufficiency of *Gtf2i*, a gene deleted in Williams syndrome, leads to increases in social interactions // *Autism Res.* 2011. V. 4. № 1. P. 28–39.
<https://doi.org/10.1002/aur.169>
- Sarkisova K.Y., Fedotova I.B., Surina N.M. et al.* Genetic background contributes to the co-morbidity of anxiety and depression with audiogenic seizure propensity and responses to fluoxetine treatment // *Epilepsy Behav.* 2017. V. 68. P. 95–102.
<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2016.12.025>
- Savignac H.M., Dinan T.G., Cryan J.F.* Resistance to early-life stress in mice: effects of genetic background and stress duration // *Front. Behav. Neurosci.* 2011. V. 5. Art. 13. www.frontiersin.org.
- Schughart K., Libert C., SYSGENET consortium, Kas M.J.* Controlling complexity: the clinical relevance of mouse complex genetics // *Eur. J. Human Genet.* 2013. V. 21 (11). P. 1191–1196.
<https://doi.org/10.1038/ejhg.2013.79>
- Searle A.G., Edwards J.H., Hall J.G.* Mouse homologues of human hereditary disease // *Med. Genet.* 1994. V. 31. P. 1–19.
- Slattery D.A., Cryan J.F.* The ups and downs of modelling mood disorders in rodents // *ILAR J.* 2014. V. 55. № 2. P. 97–309.
<https://doi.org/10.1093/ilar/ilu026>
- Soden M.E., Gore B.B., Zweifel L.S.* Defining functional gene-circuit interfaces in the mouse nervous system // *Gen. Brain Behav.* 2014. V. 13. P. 2–12.
- Solberg Woods L.C., Palmer A.A.* Using heterogeneous stocks for fine-mapping genetically complex traits //

- Meth. Mol. Biol. 2019. V. 2018. P. 233–247.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9581-3_11
- Staubler V., Erdinger S., Back M.K. et al.* Loss of all three APP family members during development impairs synaptic function and plasticity, disrupts learning, and causes an autism-like phenotype // *EMBO J.* 2021. V. 40. № 12. P. e107471.
<https://doi.org/10.15252/embj.2020107471>
- Stewart A.M., Kalueff A.V.* The developing utility of zebrafish models for cognitive enhancers research // *Curr. Neuropharm.* 2012. V. 10. P. 263–271.
- Suzuki J.* Neuronal mechanism of epileptogenesis in EL mouse // *J. Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2013. V. 89. № 6. P. 270–280.
<https://doi.org/10.2183/pjab.89.270>
- Swarup V., Hinz F.I., Rexach J.E. et al.* Identification of evolutionarily conserved gene networks mediating neurodegenerative dementia // *Nat. Med.* 2019. V. 25. № 1. P. 152–164.
<https://doi.org/10.1038/s41591-018-0223-3>
- Tayebati N., Flórez J., Dierssen M., Martínez-Cué C.* Translational validity and implications of pharmacotherapies in preclinical models of Down syndrome // *Prog. Brain Res.* 2020. V. 251. P. 245–268.
<https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2019.10.001>
- Toledo M.A., Wen T.H., Binder D.K. et al.* Reversal of ultrasonic vocalization deficits in a mouse model of Fragile X Syndrome with minocycline treatment or genetic reduction of MMP-9 // *Behav. Brain Res.* 2019. V. 372. P. 112068.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112068>
- Tomassi S., Tosato S.* Epigenetics and gene expression profile in first-episode psychosis: the role of childhood trauma // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2017. V. 83. P. 226–237.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.10.018>
- Umemori J., Winkel F., Castren E., Karpova N.N.* Distinct effects of perinatal exposure to fluoxetine or methylmercury on parvalbumin and perineuronal nets, the markers of critical periods in brain development // *Int. J. Dev. Neurosci.* 2015. V. 44. P. 55–64.
- van der Staay F.J.* Animal models of behavioral dysfunctions: basic concepts and classifications, and an evaluation strategy // *Brain Res. Rev.* 2006. V. 52. № 1. P. 131–159.
<https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2006.01.006>
- van der Staay F.J., Steckler T.* The fallacy of behavioral phenotyping without standardization // *Gen. Brain Behav.* 2002. V. 1. P. 9–13.
- van der Staay F.J., Arndt S.S., Nordquist R.E.* Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders // *Behav. Brain Func.* 2009. V. 5. P. 11.
<https://doi.org/10.1186/1744-9081-5-11>
- Viggiano D., Grammatikopoulos G., Sadile A.G.* A morphometric evidence for a hyperfunctioning mesolimbic system in an animal model of ADHD // *Behav. Brain Res.* 2002. V. 130. № 1–2. P. 181–189.
[https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00423-5](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00423-5)
- Voelkl B., Würbel H.* A reaction norm perspective on reproducibility // *Theor. Biosci.* 2021. V. 140. P. 169–176.
<https://doi.org/10.1007/s12064-021-00340-y>
- Voelkl B., Altman N.S., Forsman A. et al.* Reproducibility of animal research in light of biological variation // *Nat. Rev. Neurosci.* 2020. V. 21. № 7. P. 384–393.
<https://doi.org/10.1038/s41583-020-0313-3>
- Vorhees C.V., Makris S.L.* Assessment of learning, memory, and attention in developmental neurotoxicity regulatory studies: synthesis, commentary, and recommendations // *Neurotoxicol. Teratol.* 2015. V. 52. Pt A. P. 109–115.
<https://doi.org/10.1016/j.ntt.2015.10.004>
- Wahlsten D.* The hunt for gene effects pertinent to behavioral traits and psychiatric disorders: from mouse to human // *Dev. Psychobiol.* 2012. V. 54. № 5. P. 475–492.
<https://doi.org/10.1002/dev.21043>
- Winston F., Koshland D.* Back to the future: mutant hunts are still the way to go // *Genetics.* 2016. V. 203. P. 1007–1010.
- Witt S.H., Streit F., Jungkunz M. et al.* Genome-wide association study of borderline personality disorder reveals genetic overlap with bipolar disorder, major depression and schizophrenia // *Transl. Psychiatry.* 2017. V. 7. № 6. P. e1155.
<https://doi.org/10.1038/tp.2017.115>
- Witte J.S., Visscher P.M., Wray N.R.* The contribution of genetic variants to disease depends on the ruler // *Nat. Rev. Genet.* 2014. V. 15. № 11. P. 765–776.
<https://doi.org/10.1038/nrg3786>
- Wolf C., Linden D.E.* Biological pathways to adaptability – interactions between genome, epigenome, nervous system and environment for adaptive behavior // *Gen. Brain Behav.* 2012. V. 11. № 1. P. 3–28.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2011.00752.x>
- Würbel H.* Behavioral phenotyping enhanced – beyond (environmental) standardization // *Gen. Brain Behav.* 2002. V. 1. P. 3–8.
- Yamada Y., Matsumoto M., Iijima K., Sumiyoshi T.* Specificity and continuity of schizophrenia and bipolar disorder: relation to biomarkers // *Curr. Pharm. Des.* 2020. V. 26. № 2. P. 191–200.
<https://doi.org/10.2174/1381612825666191216153508>
- Zhang F., Li A.* Dual restoring effects of gastrodin on dopamine in rat models of Tourette's syndrome // *Neurosci. Lett.* 2015. V. 588. P. 62–66.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.12.051>
- Zorumski C.F., Paul S.M., Covey D.F., Mennerick S.* Neurosteroids as novel antidepressants and anxiolytics: GABA-A receptors and beyond // *Neurobiol. Stress.* 2019. V. 11. P. 100196.
<https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2019.100196>
- Zucchi F.C.R., Yao Y., Metz G.A.* The secret language of destiny: stress imprinting and transgenerational origins of disease // *Front. Genet.* 2012. V. 3. Art. 96.

Genetic Models of Human Brain Diseases (a Brief Overview)

I. I. Poletaeva*

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

**e-mail: ingapoletaeva@mail.ru*

The main issues are analyzed, which concern the creation of laboratory animal strains, modelling the human brain diseases. The integral evaluation is needed for the numerous animal data, which reproduce the different types of human brain pathology, and the current approaches for this evaluation are presented. The main requirements are given for laboratory model to be adequate, as well as the general data, concerning the setting up the models of CNS diseases. The problem of experimental design standardization is described acknowledging the necessity of each model to be unique. The problem of animal welfare in experiments with models is also under the discussion as well. It is also important to understand the biological bases of behavior development, which is needed for adequate interpretation of “model” experimental data. The models for the remote effects of early treatments are also analyzed. The short list of several genetic models of CNS diseases is presented. Our data “domain”, concerning the mechanisms of Down syndrome and Alzheimer disease, accumulates new knowledge concerning the possibility of these CNS defects corrections. The endophenotype and LEARN concepts are also given briefly.

Keywords: laboratory animals, the test unification, the model requirements, neurogenetics, endophenotype, LEARN

УДК 616.092.19+616.154

ЭНТЕРОГЕМАТИЧЕСКИЙ БАРЬЕР ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ ОРГАНИЗМА

© 2022 г. Т. В. Шефер¹ *, О. А. Вакуненко² **, Ю. Ю. Ивницкий², А. И. Головко²¹Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины, Санкт-Петербург, Россия²Научно-клинический центр токсикологии им. акад. С.Н. Голикова, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: schafer@yandex.ru

**e-mail: institute@toxicology.ru

Поступила в редакцию 07.12.2021 г.

После доработки 31.12.2021 г.

Принята к публикации 31.12.2021 г.

Энтерогематический барьер (ЭГБ) – система диффузионных препятствий, разделяющих кишечный химус и кровь. Цель обзора – идентификация роли дисфункции ЭГБ в формировании критических состояний организма и обоснование путей профилактики этих состояний. Дана характеристика токсичных веществ, продуцируемых нормальной кишечной микрофлорой. Показана вовлеченность эндотоксина и аммиака в патогенез сепсиса, острых нарушений кровообращения, вторичных острых поражений легких и острой церебральной недостаточности. Предложены подходы к защите ЭГБ при критических состояниях организма.

Ключевые слова: критические состояния организма, энтерогематический барьер, дисфункция, профилактика, лечение

DOI: 10.31857/S0042132422020065

ВВЕДЕНИЕ

Юридический анализ причин смерти пациента предполагает выбор из четырех возможностей: несвоевременное, неправильное, недостаточное оказание медицинской помощи либо отсутствие ее связи с исходом заболевания (Гришин, 2018). Один из источников ошибки при таком выборе – непредсказуемость осложнений острых заболеваний, ярко проявившаяся в ходе эпидемии COVID-19 (Ponti et al., 2020). Непредсказуемость проявляется внезапным развитием критических состояний организма: сепсиса, острых нарушений кровообращения, вторичных острых поражений легких, острой церебральной недостаточности. Они возникают не у всех пациентов и изменчивы в проявлениях. Причины этой изменчивости требуют детализации.

Ранее мы показали (Ивницкий и др., 2020), что при острых отравлениях вероятность летальных осложнений возрастает в соответствии с исходным уровнем дисфункции сосудистого эндотелия. Некоторые из вызывающих ее гуморальных факторов являются продуктами жизнедеятельности нормальной микрофлоры кишечника (Liu et al., 2017). У здорового человека способность этих продуктов преодолевать энтерогематический барьер (ЭГБ) – систему структур, разделяю-

щих кишечный химус и кровь, – незначительна. Утечка в кровь продуктов жизнедеятельности кишечной микрофлоры вовлечена в патогенез ряда хронических заболеваний (Tang et al., 2017). Последствия же массированного однократного поступления в кровь таких веществ на фоне действия экзогенного токсиканта мало изучены.

Можно предположить, что при острых заболеваниях прямое или опосредованное повреждение ЭГБ вызывает его вторичную дисфункцию и создает предпосылки к поступлению в кровь метаболитов и клеточных компонентов бактерий в дозах, влияющих на исход заболеваний. *A priori* состав смеси этих веществ зависит от состава кишечной микрофлоры, который индивидуально изменчив (Role of gut bacteria..., 2005), а по некоторым оценкам даже уникален (Choi et al., 2020). Его изменчивостью может быть обусловлена непредсказуемость осложнений острых заболеваний. Предметом настоящего обзора явились данные, позволяющие проверить эти гипотезы и проследить связь некоторых критических состояний организма с происходящими при них изменениями состояния ЭГБ.

Цель обзора: идентификация роли дисфункции ЭГБ в формировании критических состояний ор-

ганизма и обоснование подходов к их профилактике.

СУЩЕСТВЕННЫЕ СВЕДЕНИЯ О СТРУКТУРЕ И ФУНКЦИИ ЭГБ

Еще 10 лет назад термин ЭГБ употребляли в значении “эпителий слизистой оболочки кишечника” (Rao, Wang, 2011, p. 4). Сегодня в ЭГБ включают также ассоциированных с эпителием симбионтных бактерий, муцин и эндотелий кровеносных и лимфатических капилляров подслизистого слоя (Liu et al., 2021). Вещества, ускользнувшие от абсорбции капиллярной сетью кишечной стенки, на своем пути в кровь преодолевают дополнительные элементы ЭГБ: гладкую мускулатуру кишки, два слоя брюшинного мезотелия (висцеральный, париетальный), слой смачивающей их брюшинной жидкости средней толщиной 0.5 мм и эндотелий гемо- и лимфокапилляров париетальной брюшины.

Слой муцина толщиной 150 мкм, состоящий из гидратированных гликопротеинов, отделяет эпителиальные клетки от агрессивной среды — химуса. Образование муцина нарушено при ишемии слизистой оболочки, что наиболее опасно для толстой кишки с ее высокой плотностью микробной колонизации. В норме симбионтные аэробные бактерии вытесняют патогенную микрофлору с апикальной поверхности энтеро- и колоноцитов, обеспечивают последние необходимыми субстратами (Role of gut bacteria..., 2005). Основная функция монослоя эпителиоцитов толщиной 20 мкм — избирательная абсорбция веществ из химуса.

Ввиду наличия ворсинок в тонкой кишке и крипт — в толстой площадь абсорбирующей поверхности слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) близка к 200 м² (Lopetuso et al., 2015). В норме абсорбция веществ в ЖКТ происходит преимущественно трансцеллюлярным путем. Доля парацеллюлярного транспорта, предположительно, пропорциональна доле площади поверхности слизистой оболочки, которую составляют межклеточные контакты: 0.1% (Toxicology..., 2007). Межклеточные контакты двух типов — плотные и адгезионные — состоят из актина и обеспечивают прочность эпителия, связывая плазматическую мембрану смежных клеток с их цитоскелетом (Lopetuso et al., 2015). Межклеточные контакты — биомишень для ряда ксенобиотиков (Lecuga et al., 2020), на фоне повреждающего действия которых значение парацеллюлярного транспорта возрастает.

ЭГБ здорового человека малопроницаем для бактерий, обитающих в кишечнике. ДНК кишечной микрофлоры (*Escherichia coli*, *Bacteroides*) обнаруживают в плазме крови лишь при повреждении ЭГБ (Shi et al., 2014). Вещества, подлежащие удалению из организма, проникают из желудочно-кишечного химуса в кровь путем пассивной

диффузии. Их абсорбцию приближенно описывают уравнением первого закона диффузии Фика для мембран: $J = D \times (C_i - C_0)$, где J — плотность потока вещества, моль \times м⁻² \times с⁻¹; D — коэффициент проницаемости мембраны, м \times с⁻¹; C_i и C_0 — концентрация вещества с эпителиальной и эндотелиальной сторон мембраны, моль \times м⁻³. Биодоступность токсичных продуктов жизнедеятельности кишечной микрофлоры повышается при увеличении множителей ($C_i - C_0$) или D . Первый из них лимитирован содержанием этих веществ в химусе, а второй — состоянием эпителия и сосудистого эндотелия ЖКТ. Предположительно, абсорбция возрастает при повышении гидростатического давления химуса в результате усиленного газообразования или гладкомышечного спазма (Lin, Pimentel, 2005).

Часть образовавшихся в химусе веществ, преодолевших эпителий, поступает в гемо- и лимфокапиллярную сети подслизистого слоя и далее — в сосуды бассейнов *v. portae* и *ducti thoracici*. В норме этот путь — основной. Другая часть, пройдя сквозь висцеральный и париетальный листки брюшины, поступает в лимфатические сосуды бассейна *ducti thoracici* или в гемокапиллярную сеть бассейна *v. cavae inferioris*. Такому процессу — трансперитонеальной диффузии — в толстой кишке способствует отсутствие сплошного продольного мышечного слоя, который сконцентрирован в узких *taenia coli* и потому не представляет собой диффузионного препятствия (Magnotti et al., 1998). Показана трансперитонеальная диффузия аммиака (Schäfer et al., 2011) и бактериальных липополисахаридов (Manani et al., 2020). Участвующие в трансперитонеальной диффузии вещества на своем пути в общий кровоток избегают пресистемного метаболизма в печени. При портальной гипертензии значение трансперитонеальной диффузии может возрастать, поскольку диффузия веществ из просвета кишечника в бассейн *v. portae* замедляется (Møller et al., 2020). Трансперитонеальную диффузию используют для детоксикации с помощью перитонеального диализа (Комаров и др., 1981).

Таким образом, функции ЭГБ — поддержание градиента концентрации веществ между желудочно-кишечным химусом и кровью, а также селективная абсорбция этих веществ. Движение веществ по такому градиенту схематически показано на рис. 1.

НОРМАЛЬНАЯ МИКРОФЛОРА ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

Микроорганизмы более 400 видов колонизируют ЖКТ здорового человека. Их общая численность превышает число эукариотических клеток, а масса оценивается в 0.3% массы тела хозяина (Sender, Fuchs, 2016). Плотность колонизации бактериями дистальных отделов ЖКТ выше, чем проксимальных (табл. 1).

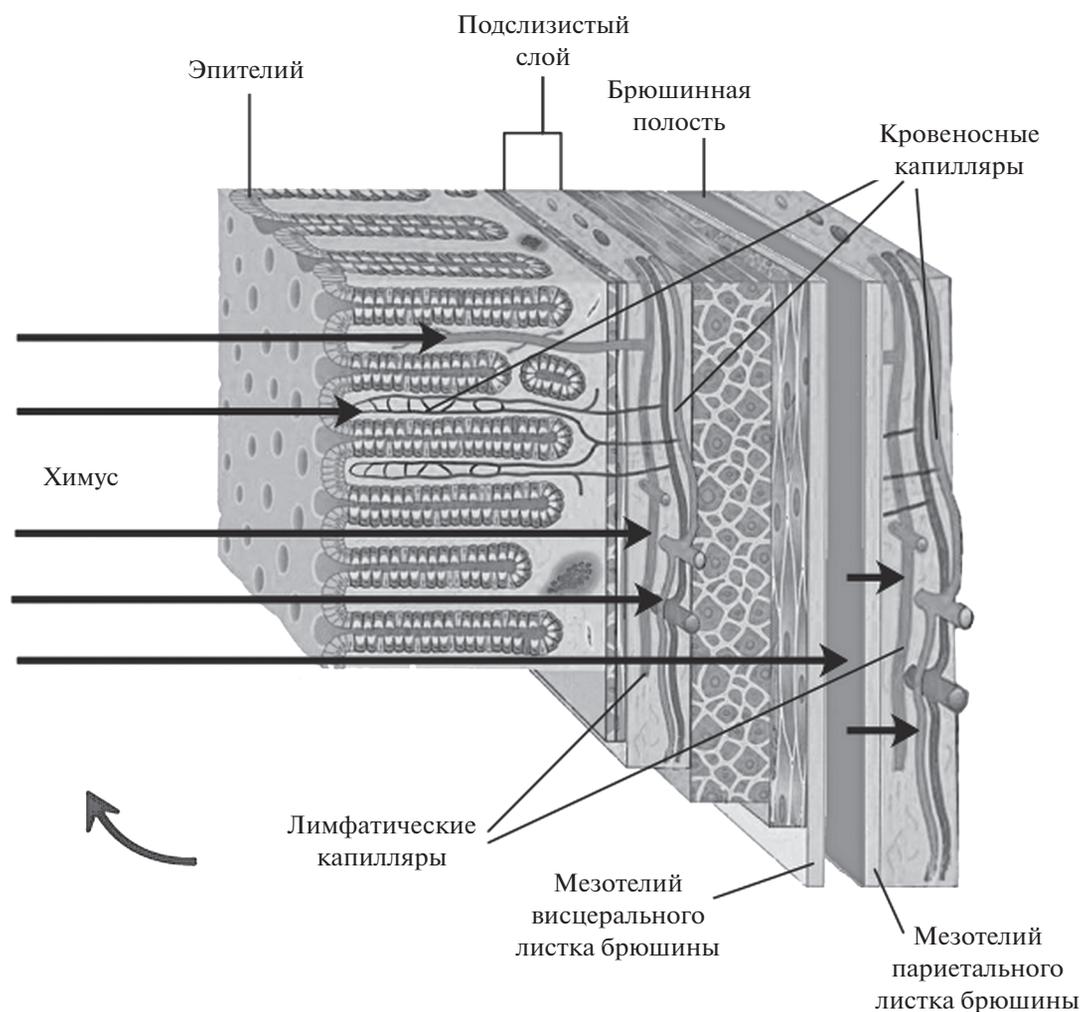


Рис. 1. Диффузия веществ из химуса толстой кишки в кровь и лимфу. Стрелками показаны направления диффузии.

Отобранные натощак пробы содержимого желудка в норме имеют $\text{pH} \leq 3.0$ и практически стерильны. В присутствии пищи или при гипохлоргидрии бактерии в просвете желудка более многочисленны и представлены преимущественно облигатными анаэробами, стрептококками, лактобациллами, нейссериями и стафилококками.

При $\text{pH} > 5.0$ (в старческом возрасте, при пернициозной анемии, атрофическом гастрите) микробный состав желудочного содержимого неотличим от такового в тонкой кишке. На слизистой оболочке желудка многих клинически здоровых людей (до $\frac{2}{3}$ 51–60-летней субпопуляции) в слое муцина выявляется аммиакпродуцирующая

Таблица 1. Нормальное содержание бактерий в химусе ЖКТ человека (по: Role of gut bacteria..., 2005; Sender, Fuchs, 2016)

Отдел ЖКТ	Показатели		
	концентрация, мл^{-1}	объем, мл	число бактерий
Желудок	$\leq 10^3^*$	250–900	$\leq 10^7^*$
Двенадцатиперстная и тощая кишки	10^3-10^4	400	$\sim 10^7$
Подвздошная кишка	10^8	400	$\sim 10^{11}$
Толстая кишка	10^{11}	400	$\sim 10^{14}$

Примечание: * – при $\text{pH} < 3.0$.

грамотрицательная бактерия *Helicobacter pylori*. У длительно инфицированных ею людей на фоне пангастрита значение рН желудочного содержимого повышено, а бактерицидная функция желудка снижена. Как следствие, при хеликобактериозе состав микрофлоры отделов ЖКТ, лежащих дистальнее, имеет неблагоприятные отличия от такового у здоровых лиц (Hunt et al., 2015).

В двенадцатиперстной и тощей кишках вегетация бактерий уравнивается их активным удалением в результате пищеварительной секреции и моторики, а также бактерицидным действием желчи. Преобладают грамположительные кокки (*Streptococci*, *Peptococci*) и палочки (*Lactobacilli*, *Bifidobacteria*).

Бактериальная флора терминального отдела подвздошной кишки вследствие рефлюкса из слепой кишки сходна с микрофлорой последней (Role of gut bacteria..., 2005).

В химусе толстой кишки бактерии составляют в среднем 27% его сухой массы (Sender, Fuchs, 2016). Анаэробных бактерий (с преобладанием *Escherichia coli*, *Bacteroides fragilis*, *Lactobacilli* и *Bifidobacteria*) в толстой кишке в 1000 раз больше, чем аэробных (Role of gut bacteria..., 2005). Анаэробы представлены грамположительными (*Bifidobacteria*, *Eubacteria*, *Propionibacteria*) и грамотрицательными (*Bacteroides*, *Fusobacteria*, *Enterobacteria*) бактериями. Слизистую оболочку толстой кишки колонизируют не только симбионтные, но и условно-патогенные бактерии (преимущественно из семейства *Enterobacteriaceae*), обладающие уреазной активностью (Walker, 2012).

Состав нормальной кишечной микрофлоры зависит от рациона, возраста, приема антибактериальных лекарственных средств и ряда неконтролируемых условий (Role of gut bacteria..., 2005; Choi et al., 2020). Образованию токсичных веществ в кишечнике способствует преобладание представителей типов *Proteobacteria* и *Fusobacteria* над *Bacteroidetes*, препятствуют же *Lactobacilli* и *Bifidobacteria*. Число микроорганизмов в ЖКТ ограничено его пропульсивной активностью. В норме транзитное время для желудка составляет 10–48 мин, для тонкой кишки – 2.5–4 ч (O'Grady et al., 2020) и для толстой кишки – 25–40 ч (Sender, Fuchs, 2016). Длительность пассажа химуса по толстой кишке определяет наибольший вклад ее микробиоты в образование токсичных веществ, особенно при запорах (Мечников, 1987; Role of gut bacteria..., 2005).

ТОКСИЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ НОРМАЛЬНОЙ КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ

Нормальная кишечная микрофлора образует как необходимые, так и токсичные для хозяина

вещества (Rodríguez-Hernández et al., 2020). Справедливость сформулированной более века назад (Мечников, 1987) гипотезы о способности соединений, образуемых из нутриентов нормальной кишечной микрофлорой, при определенных условиях вызывать системные патологические процессы ныне полностью доказана. В течение последних 10 лет число ежегодных публикаций, доступных по ключевым словам: gut-liver axis, gut-brain axis, gut microbiota, gut microbiota and metabolome, gut microflora и human gut microbiome, – росло экспоненциально. На сайте PubMed.gov оно выросло с 2010 г. по 2019 г. в 12, 14, 17, 30, 37 и 61 раз соответственно, при том что в предыдущие десятилетия практически не изменялось. Появился даже неблагозвучный термин “фекальный волатилом”, обозначающий смесь летучих продуктов жизнедеятельности кишечной микрофлоры, содержанию которых в выдыхаемом воздухе придается диагностическое значение при системных заболеваниях (Rodríguez-Hernández et al., 2020). Ниже рассмотрены обладающие системной токсичностью вещества бактериального происхождения: продукты деградации азотсодержащих нутриентов (белков, аминокислот, аминокислот, фосфолипидов) и липополисахариды.

Аммиак. На долю ЖКТ приходится не менее $\frac{2}{3}$ аммиака, продуцируемого в организме. В энтероцитах основным механизмом его образования является глутаминовая реакция, а в толстой кишке – метаболическая активность бактерий: дезаминирование аминокислот и азотистых оснований, гидролиз мочевины, диффундирующей к люминальной поверхности слизистой оболочки из крови (Ивницкий и др., 2012). Уреолитическая активность микроорганизмов, ассоциированных с толстокишечной слизистой оболочкой, – источник половины аммиака, продуцируемого кишечной микрофлорой (Walker, 2012). Содержание аммиака в химусе толстой кишки крысы втрое выше, чем тонкой: 45 и 15 ммоль/кг соответственно (Agostini et al., 1972).

Из кишечного химуса в общий кровоток аммиак поступает как через воротную вену, так и путем трансперитонеальной диффузии (Schäfer et al., 2011). За сутки у здорового человека из кишечника в кровь (преимущественно портальную) поступает около 4 г аммиака (Summerskill, Wolpert, 1970). Его уровень в крови печеночной вены положительно зависит от уровня в портальной крови (Dobson et al., 1990), а последний – от содержания аммиака в химусе (Gips et al., 1973). Благодаря обезвреживанию в печени концентрация аммиака в плазме крови печеночной вены в 2–3 раза ниже, чем в плазме крови воротной вены (Dobson et al., 1990), и на порядок ниже, чем в крови мезентериальных вен, дренирующих ободочную кишку (Role of gut bacteria..., 2005).

В плазме артериальной крови нормальная концентрация аммиака ($[\text{NH}_3] + [\text{NH}_4^+]$) составляет 30 мкМ (Ali, Nagalli, 2021). Ее повышение сопровождается нейротоксичностью, впервые описанной в лаборатории И.П. Павлова (Ганн и др., 1892). При значениях ($[\text{NH}_3] + [\text{NH}_4^+]$) в плазме крови 50–100 мкМ гипераммониемия бессимптомна; при 100–200 мкМ – отмечаются рвота, атаксия, раздражительность и гиперактивность, а при 200 мкМ – кома (Pagana, Pagana, 2014). При среднем значении объема химуса толстой кишки 0.4 л (Мечников, 1987) и содержании аммиака в нем 5.7–39.0 мМ (Agostini et al., 1972) суммарный кишечный пул аммиака составляет 2.3–15.6 ммоль. Одномоментное равномерное распределение этого количества в крови (5 л), лимфе (2 л) и химусе толстой кишки повысило бы содержание аммиака в крови до 311–2108 мкМ, то есть до значений, намного превышающих порог комы.

В клетки аммиак проникает в неионизированной форме – NH_3 . При $\text{pH} = 7.36$, характерном для плазмы крови в норме (с учетом константы основности аммиака $\text{pK}_a = 9.15$ при $t = 37^\circ\text{C}$), доля NH_3 -формы составляет 1.6%. В цитоплазме pH ниже, что обуславливает диффузию аммиака в клетки даже при его нормальном содержании в крови (Ивницкий и др., 2012). При метаболическом ацидозе или газовом алкалозе разность значений pH плазмы крови и цитоплазмы возрастает, что интенсифицирует поступление аммиака в клетки по градиенту концентрации NH_3 (Dobson et al., 1990; Scott et al., 2013). В этих случаях его токсические эффекты возможны и при отсутствии гипераммониемии.

Помимо нейротоксичности аммиак проявляет эндотелиотоксичность, показанную как *in vitro*, так и *in vivo*. В культивируемых эндотелиоцитах мозговых капилляров он вызывал окислительный стресс, накопление NO и продуктов перекисидации арахидоновой кислоты (Skowrońska, Albrecht, 2013), повышал проницаемость плазматической мембраны для флуоресцеин-изотиоцианатного производного декстрана и экспрессию транспортера аргинина – субстрата синтеза NO (Skowrońska et al., 2012). Культивационная среда эндотелиоцитов, обработанных аммиаком, при добавлении к культуре астроцитов вызывала набухание последних, что указывает на возможную вовлеченность сосудистого эндотелия в формирование отека мозга при гипераммониемии (Jayakumar, Norenberg, 2018). Повышение концентрации аммиака в культивационной среде разрушало внеклеточный матрикс и увеличивало парацеллюлярную проницаемость монослоя эндотелиоцитов (Skowrońska et al., 2012).

Аммиак активирует в эндотелиоцитах Толл-подобные рецепторы 4-го типа, отвечающие за

воспалительную реакцию на эндотоксин, что ведет к сверхпродукции свободных радикалов кислорода и азота, набуханию эндотелиоцитов и повышению их проницаемости для веществ, вовлеченных в патогенез печеночной энцефалопатии (Jayakumar, Norenberg, 2018). Гипераммониемия вызывала эндотелий-зависимое NO -опосредованное расширение артериол головного мозга, что могло способствовать повышению внутричерепного давления и отеку мозга при острой печеночной недостаточности (Scott et al., 2013). Внутривенное введение кроликам ацетата аммония увеличивало проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) для полиэтиленгликоля ПЭГ 400 (McClung et al., 1990). По данным позитронно-эмиссионной томографии, проницаемость ГЭБ повышена и у пациентов с хронической печеночной энцефалопатией (Ochoa-Sanchez, Rose, 2018). Таким образом, интенсификация поступления аммиака в клетки эндотелия сосудов головного мозга вызывает в них окислительный стресс, воспалительное повреждение, повышает проницаемость и нарушает локальную регуляцию кровотока.

Триметиламин-N-оксид (ТМАО) – рудиментарный для человека дериват аммиака, полезная функция которого (в качестве осмолита) сохранилась у морских животных. Образуется в печени путем окисления триметиламина – продукта разложения бактериями *Clostridium*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Acinetobacter* и *Proteus* L-карнитина, холина, лецитина или бетаина в просвете толстой кишки (Zhang, Davis, 2016). Концентрация триметиламина в плазме крови в 38 раз ниже, чем ТМАО. Данные о концентрации ТМАО в плазме крови здоровых людей варьируют: от 0.17 до 34.62 мкМ на фоне шестимесячного ежедневного приема 1.5 г L-карнитина (Olek et al., 2019). Она повышается также с увеличением доли *Gammaproteobacteria* в кишечной микробиоте (Бонитенко и др., 2010). Содержание ТМАО в крови мышей возрастает при их переводе на обогащенный холином рацион. В крови гнотобиотических (свободных от бактерий) мышей C57BL/6J ТМАО отсутствует даже при их содержании на богатом холином рационе. Перевод таких мышей на нестерильные условия содержания ведет к появлению в их крови ТМАО (Zhu et al., 2016).

Системная токсичность ТМАО проявляется системным воспалением (MacPherson et al., 2020). При оценке способности повышенного уровня ТМАО в крови вызывать окислительный стресс эндотелия получены противоречивые данные: как наличие (Brunt et al., 2020), так и отсутствие (Olek et al., 2019) признаков такового. *In vitro* показана способность ТМАО вызывать вазоспазм (Restini et al., 2020). Повышенный уровень ТМАО в плазме крови ассоциирован с сердечно-сосудистыми заболеваниями (Марченко, Ларюшина,

2017), стеатозом печени (Tan et al., 2019), фиброзом почек (Zhang, Davis, 2016; Cosola et al., 2018), тромбообразованием (Zhu et al., 2016), повышенным риском тромбоэмболии при фибрилляции предсердий (Gong et al., 2019). В отдельных публикациях прослежена связь нарушений кровообращения с уровнем триметиламина, а не ТМАО (Jaworska et al., 2019).

Роль кишечной микрофлоры в формировании опосредованной ТМАО эндотелиальной дисфункции описывается третьим постулатом Р. Коха для возбудителей заболеваний – возбудитель болезни вызывает ее, будучи введенным в здоровое животное. Трансплантация химуса из слепой кишки не склонных к тромбозу мышей линии NZW/LacJ гнотобиотическим мышам, содержащимся на богатом холином рационе кормления, не изменяла уровень ТМАО в крови и свертываемость крови реципиентов. Пересадка же гнотобиотическим мышам химуса от мышей “про-тромботической” линии C57BL/6J вызывала значительное повышение как содержания ТМАО, так и свертываемости крови (Zhu et al., 2016). Оральный прием антибиотиков блокировал подъем уровня ТМАО в крови после нагрузки лецитином (Tang et al., 2013) или карнитином (Koeth et al., 2013).

Таким образом, высокое содержание ТМАО и (или) триметиламина в крови сопряжено с повышенным риском системного воспаления, вазоспазма, тромбообразования, поражений печени и почек.

Индоксилсульфат, индоксилацетат. Индол – метаболит триптофана, за который в толстой кишке конкурируют *Clostridium sporogenes*, метаболизирующие его до 3-индолпропионовой кислоты, *Lactobacillus*, метаболизирующие триптофан до индол-3-альдегида, и ряд бактерий, экспрессирующих триптофаназу, но не метаболизирующих индол. В последнем случае свободный индол поступает в печень, где ацилируется с образованием индоксилсульфата и индоксилацетата. В отличие от 3-индолпропионата и индол-3-альдегида, проявляющих свойства нейротектора и иммуномодулятора соответственно (Zhang, Davis, 2016), индоксилсульфат и индоксилацетат эндотелиотоксичны. Их накопление в крови ассоциировано с хронической почечной недостаточностью и риском сердечно-сосудистых заболеваний (Zhang, Davis, 2016; Cosola et al., 2018). Содержание индоксилсульфата в плазме крови составляет от 10^{-7} до 2.4×10^{-6} М в норме и от 2.5×10^{-4} до 5.0×10^{-4} М при хронической почечной недостаточности (Matsumoto et al., 2019).

р-Крезилсульфат образуется в клетках эпителия толстой кишки и в гепатоцитах сульфатированием р-крезола – продукта дезаминирования и декарбок্সилирования ароматических аминокис-

лот тирозина и фенилаланина с участием бактериальных семейств Bacteroidaceae, Bifidobacteriaceae, Clostridiaceae, Enterobacteriaceae, Enterococcaceae, Eubacteriaceae, Fusobacteriaceae, Lachnospiraceae, Lactobacillaceae, Porphyromonadaceae, Staphylococcaceae, Ruminococcaceae и Veillonellaceae. Ежедневно в толстой кишке образуется 50–100 мг р-крезола (Role of gut bacteria..., 2005). р-Крезилсульфат эндотелиотоксичен при его содержании в плазме крови, наблюдаемом при хронической почечной недостаточности, 116–568 мкМ при 15–35 мкМ – в норме (Gryp et al., 2017). Содержание р-крезилсульфата в крови пациентов с отеком легких повышено. Введение мышам р-крезилсульфата увеличивало проницаемость легочных капилляров, активировало лейкоциты, повышало продукцию свободнорадикальных форм кислорода и вызывало гибель клеток и интерстициальный отек легких (Chang et al., 2018).

Индоксилсульфат, индоксилацетат и р-крезилсульфат имеют низкий почечный клиренс, поэтому при почечной недостаточности накапливаются в крови (Matsumoto et al., 2019). В норме плазматический пул этих веществ на 95–97% представлен их комплексами с альбумином. При почечной недостаточности увеличивается их содержание в свободной форме, что сопровождается повышением эндотелиотоксичности. Она проявляется воспалением, вазоспазмом, ишемией, тромбообразованием, формированием инсулинорезистентности тканей и мультиорганной недостаточности, повышенным риском сердечно-сосудистых осложнений имеющих заболевания (Cosola et al., 2018).

Моноамины образуются в кишечном химусе из аминокислот под действием индуцибельных декарбоксилаз, некоторые из которых пиридоксальфосфат-зависимы. Наибольшую декарбоксиллазную активность проявляют *Enterobacteria* (Role of gut bacteria..., 2005). В кишечном химусе новорожденных содержание моноаминов незначительно, но возрастает по мере бактериальной колонизации ЖКТ (Suárez et al., 2019). Из L-тирозина микрофлора образует р-тирамин и р-октопамин, из L-триптофана – триптамин и серотонин, из гистидина – гистамин. Количество моноаминов, поступающих в поральную систему, в норме не превышает возможности печени по их обезвреживанию – преимущественно путем конъюгации (Role of gut bacteria..., 2005). При дисфункции ЭГБ, интенсификации синтеза и (или) нарушении конъюгации моноаминов в печени их содержание в крови повышено (Zhang, Davis, 2016).

Тирамин, триптамин, октопамин и серотонин при поступлении в кровь оказывают сосудосуживающее действие. Инфузия октопамина вызывала у свиней гипоксемию на фоне гипервентиляции и

увеличения легочного венозно-артериального шунтирования (Nespoli et al., 1983). Накопление серотонина в крови вызывает серотониновый синдром, симптомами которого являются тахикардия, артериальная гипертензия, гипертермия, повышение свертываемости крови, а в тяжелых случаях — рабдомиолиз и полиорганная недостаточность (Волков, 2014). Гистамин вызывает бронхоспазм, вовлечен в патогенез воспаления, повышает вязкость крови и нарушает микроциркуляцию (Zhang, Davis, 2016).

Таким образом, системная биологическая активность моноаминов, продуцируемых кишечной микрофлорой, характеризуется их влиянием на кровообращение, процессы газообмена в легких, свертывания крови и (или) воспаления. Это определяет возможность вовлечения моноаминов в патогенез осложнений острых отравлений: сердечно-сосудистых нарушений, сепсиса, коагулопатии, вторичных острых поражений легких.

Бактериальный эндотоксин. Содержание смеси липополисахаридов грамотрицательных бактерий (именуемой эндотоксином) в толстокишечном химусе взрослого человека составляет 2.5 г/л (Bested et al., 2013). В плазме крови оно на 9 порядков меньше: 10 нг/л, что является порогом воспалительной активации макрофагов и эндотелиоцитов. Это значение умеренно повышено при периодонтите, сахарном диабете, циррозе печени и болезни Альцгеймера, а при сепсисе оно достигает 500 нг/л (Brown, 2019). Повышенное содержание эндотоксина в плазме крови можно определить как эндотоксинемию, то есть частный случай эндотоксемии. Уровни эндотоксина и ТМАО в плазме крови положительно коррелируют между собой (MacPherson et al., 2020). В плазме крови эндотоксин содержится как в биологически активной свободной форме, так и в форме комплексов с белками крови, не всегда выявляемых при лабораторном исследовании (Комаров и др., 1981).

Эндотоксин обладает выраженной эндотелиотоксичностью, которая проявляется окислительным стрессом, разрушением гликокаликса, адгезией лейкоцитов, вазоспазмом и тромбообразованием (Iba et al., 2018), повышением проницаемости ГЭБ (Minami et al., 2007). Содержание эндотоксина в крови, характерное для сепсиса, ведет к цитокиновому шторму и септическому шоку (Pfalzgraff, Weindl, 2019). Его хроническое воздействие в более низкой концентрации сопровождается хроническим системным воспалением (Morris et al., 2015). Липополисахариды *Escherichia coli* имеют намного большие провоспалительные свойства, чем липополисахариды *Bacteroides dorei* или *Bacteroides vulgatus* (Yoshida et al., 2020).

Эндотоксин вызывает тромбосан-зависимую легочную вазоконстрикцию, а при более высоких концентрациях, характерных для септического

шока, — системную вазодилатацию и легочную гипертензию (Corrêa et al., 2020). Эндотоксинемию повышает проницаемость ГЭБ как для самого эндотоксина, так и для других веществ, повышает проницаемость легочных капилляров, вызывает некардиогенный отек легких (Wang et al., 2019), нарушает функции печени (Solé et al., 2021) и почеч (Nežić et al., 2020).

МЕХАНИЗМЫ ДИСФУНКЦИИ ЭГБ ПРИ ОСТРЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Прямое повреждение ЭГБ. Ксенобиотики, инфекционные агенты, ионизирующее излучение непосредственно повреждают ЭГБ, нарушая его барьерную функцию. Энтеротоксичность присуща не только химически агрессивным веществам, поступающим в организм перорально, но и многим системно действующим токсикантам.

Эпителий тонкой кишки и, в меньшей мере, желудка и толстой кишки — типичная система клеточного обновления с высокой пролиферативной активностью. Это делает его высокочувствительным к цитостатическим лекарственным средствам, вызывающим интерфазную гибель энтероцитов и, как следствие, денудацию эпителия. Различия энтеротоксического действия таких веществ определяются лишь уровнем дифференцированности преимущественно поражаемых клеток. Так, адриамицин вызывает апоптоз энтероцитов главным образом в 4–5 позиции от стволовой клетки, располагающейся в нижней точке межворсиночной крипты. При действии изопропилметан-сульфоната, азотистого иприта или актиномицина D энтероциты интерфазно гибнут в позиции 6–7, фторурацила, милерана, циклофосфамида или циклогексимида — в позиции 7–9, винкристина или гидроксимочевины — в позиции 10–11 (Ijiri, Rotten, 1983). У крыс при острой интоксикации циклофосфаном проницаемость ЭГБ для метиленового синего, маннитола и лактулозы (Шефер и др., 2011) повышена. Энтеротоксичность цитостатиков, применяемых при трансплантации стволовых кроветворных клеток, — один из факторов, лимитирующих выживаемость пациентов (McMillen et al., 2021).

Прямая энтеротоксичность присуща этанолу (Bishehsari et al., 2017), ряду микотоксинов, мышьяку и солям тяжелых металлов (Куценко, 2004). Специфическая токсичность нестероидных противовоспалительных лекарственных средств сделала их средствами экспериментального моделирования острого гастроэнтерита (Karádi et al., 2001), а декстрана сульфата и 2,4,6-тринитробензолсульфоната — средствами экспериментального моделирования острого колита (Ishisono et al., 2019). Некоторые микотоксины вызывают воспалительное повреждение ЭГБ, потенцируя действие на него эндотоксина (Ge et al., 2020). Микотоксины T-2 и

дезоксиниваленол повышают проницаемость ЭГБ для полиэтиленгликоля ПЭГ 4000 (Семенов и др., 2019).

Увеличение проницаемости ЭГБ — результат не только прямого повреждения эпителия и сосудистого эндотелия кишечника ксенобиотиком или продуктами его метаболизма. Такими же могут быть эффекты острой гипоксии, гладкомышечного спазма органов ЖКТ и желудочно-кишечного стаза, часто наблюдаемых при острых отравлениях.

Острая гипоксия кишечника при критических состояниях организма обусловлена нарушениями внешнего дыхания и кровообращения. При острых тяжелых отравлениях к таким состояниям относится экзотоксический шок, а при отсутствии респираторной поддержки — угнетение дыхательного центра, нервно-мышечный блок, бронхообструктивный синдром (Бонитенко и др., 2010). В результате централизации кровообращения при них ЖКТ испытывает более глубокую гипоксию, чем наиболее важные для поддержания жизнедеятельности организма органы: головной мозг, легкие и сердце.

Аэробный тип энергетического обмена энтероцитов предрасполагает их к нарушению окислительного ресинтеза АТФ. Это доказывается повреждениями кишечника при высотной гипоксии, проявляющимися воспалением, изъязвлением, кровотечением, которые являются угрожающими жизни состояниями, осложняющими горную болезнь (Khanna et al., 2019). Газовая гипоксия провоцировала повышение уровня цитокинов в крови и проницаемости ЭГБ у крыс при беге на тредмиле (Hill et al., 2020). Проницаемость ЭГБ повышена при гемолитической анемии (Abuga et al., 2020) и острой кровопотере (Khazoom et al., 2020).

Некоторые цитотоксиканты ингибируют ферменты энергетического обмена либо разобщают окислительное фосфорилирование (Куценко, 2004), что усугубляет энергодефицитное состояние биотканей при острых отравлениях такими веществами. Разобщение окислительного фосфорилирования в клетках эпителия толстой кишки нарушает их барьерную функцию по отношению к *Escherichia coli* (Saxena et al., 2018). Мыши с более активным окислительным фосфорилированием в слизистой оболочке толстой кишки более устойчивы к ее повреждению декстран сульфатом или тринитробензол сульфонатом (Bär et al., 2013).

Подслизистое гемакапиллярное сплетение в тонкой кишке лучше развито, чем в толстой (Magnotti et al., 1998), что объясняет более высокую чувствительность последней к ишемическому повреждению (Звенигородская и др., 2010). При гипоксии в кишечнике снижено образование муцина, что ведет к воспалительным изменениям слизистой оболочки (Звенигородская и др., 2010).

Гладкомышечный спазм органов ЖКТ — один из характерных симптомов отравления ингибиторами холинэстеразы и серотонинергическими лекарственными средствами (Куценко, 2004), но он может быть и реакцией на острую гипоксию, вызванную централизацией кровообращения, или результатом спазмогенного действия на гладкую мускулатуру кишечника серотонина, образуемого *Enterobacteria*. Серотонинергическая стимуляция толстой кишки сопровождается, помимо спазма ее собственной гладкой мускулатуры, также артериальным спазмом микроциркуляторного русла. Высказана гипотеза о триаде мышечный спазм—ишемия—боль как о факторе повышенной проницаемости ЭГБ при синдроме раздраженного кишечника (Uno, 2019). При острых отравлениях реакция ЭГБ на такие изменения может быть аналогичной.

Желудочно-кишечный стаз — потенциально летальное осложнение у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии. Это одно из проявлений токсичности опиоидов, холинергических антагонистов и серотониновых агонистов (Toxicology..., 2007). Он характерен для тяжелых отравлений, сопровождающихся комой (Ivnitsky et al., 2006), а также для острых отравлений веществами алкилирующего действия (Шефер, 2015).

При стазе возникают две предпосылки к интенсификации диффузии веществ, продуцируемых кишечной микрофлорой, сквозь ЭГБ: его повреждение и повышенное газообразование в ЖКТ. Одним из факторов повреждения ЭГБ при стазе является изменение состава кишечной микрофлоры. При снижении пропульсивной активности ЖКТ вегетация бактерий не компенсируется их удалением, в результате чего возрастает люминальная концентрация токсичных веществ, в частности, аммиака. Повреждение колоноцитов обусловлено увеличением не только суммарной концентрации аммиака ($[NH_3] + [NH_4^+]$), но и pH химуса, а значит, и доли аммиака, представленного в высокопенетрантной форме NH_3 (Agostini et al., 1972); его цитотоксическое действие на колоноциты сокращает их жизненный цикл и продукцию муцина (Zhou et al., 2020).

Таким образом, при острых тяжелых заболеваниях развивается вторичная дисфункция ЭГБ — повышение его проницаемости для метаболитов и клеточных компонентов кишечной микрофлоры. Патогенетическими механизмами вторичной дисфункции ЭГБ при острых заболеваниях являются его прямое повреждение, желудочно-кишечный стаз, гипоксия и гладкомышечный спазм тканей ЖКТ. Вторичная дисфункция ЭГБ, повышенные продукция токсичных веществ кишечной микрофлорой и газообразование — предпосылки к интенсификации поступления токсич-

ных веществ из кишечного химуса в общий кровоток с формированием эндотоксемии.

ЭНДОТОКСЕМИЯ И ЭНДОТОКСИКОЗ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ ОРГАНИЗМА

Эндотоксемия — накопление в крови биологически активных веществ, образовавшихся в организме. Эндотоксикоз — совокупность клинических проявлений эндотоксемии. Исходя из представления об организме как об экосистеме, составной частью которой является кишечная микробиота (Role of gut bacteria..., 2005; Tang et al., 2017), к эндогенным веществам относят и соединения, продуцируемые нормальной кишечной микрофлорой. Такие вещества способствуют развитию критических состояний организма, осложняющих острые заболевания. Эти состояния можно рассматривать как эндотоксикоз — совокупность клинических проявлений эндотоксемии.

Острые нарушения кровообращения. Выраженные эндотоксинемия и гипераммониемия характерны для шока. Повышенное содержание эндотоксина в крови наблюдали при септическом (Luna et al., 2021), травматическом и геморрагическом (Hu et al., 2019) шоке. В эксперименте септического шока воспроизводится введением животным эндотоксина (Fujiwara et al., 2020).

Концентрация аммиака в плазме крови пациентов, доставленных в реанимационное отделение в связи с остановкой сердца, в 4.8 раза выше, чем у пациентов со спонтанным кровообращением (Lin et al., 2013). Содержание аммиака в плазме крови и мозговой ткани собак и кроликов многократно повышено при инсулиновом и при тепловом шоке. Основные симптомы как инсулинового, так и теплового шока воспроизводятся введением животным солей аммония (Козлов, 1971).

При геморрагическом шоке источником эндотоксемии является кишечник. Эндотоксемия протекает в три стадии: 1) повышение содержания веществ низкой и средней молекулярной массы в тканях кишечника и крови воротной вены; 2) начало нарастания их содержания в системном кровотоке; 3) достижение одинаково высокой токсичности крови воротной вены и сонной артерии (Храмых, Долгих, 2007).

Сепсис — системная воспалительная реакция на эндотоксинемия и бактериемию, наиболее часто осложняющая острые отравления у лиц, страдающих алкогольной зависимостью (Chaung et al., 2019). При массовом остром отравлении метанолом сепсис развивался у 6.4% пострадавших (Kumar et al., 2019). У 33% пациентов с сепсисом инфекционные агенты в крови не обнаружены (Novosad et al., 2016). Вместе с тем, для сепсиса характерна эндотоксинемия. Ведущим механизмом

ее развития является дисфункция ЭГБ, обусловленная активацией одного из ферментов репарации ДНК — поли-(АДФ-рибоза)-полимеразы-1 — в энтероцитах. Это истощает в них пул НАД⁺, что ведет к нарушению окислительного фосфорилирования, гибели энтероцитов и повышению проницаемости кишечного эпителия (Fink, 2002).

В эксперименте сепсис хорошо воспроизводится введением животным эндотоксина (Chen et al., 2020). Эндотоксин при характерных для сепсиса значениях содержания в крови повреждает почки, сердце и печень, является основным этиологическим фактором мультиорганной недостаточности (Luna et al., 2021). Под влиянием эндотоксина при сепсисе активируется каскад свертывания крови, возникает микрососудистый тромбоз. Периваскулярный отек и коагулопатия при сепсисе затрудняют перфузию тканей, что ведет к их гипоксии, мультиорганной недостаточности, отеку легких и шоку (Pool et al., 2018).

В патогенез мультиорганной недостаточности при сепсисе вовлечен и аммиак. Концентрация аммиака в плазме крови пациентов с диагнозом “сепсис” при поступлении в реанимационное отделение повышена и положительно коррелирует с вероятностью развития у них мультиорганной недостаточности в последующие 28 сут. (Zhao et al., 2020). У пациентов с положительным тестом на бактериемию уровень аммиака в плазме крови вдвое выше, чем при отрицательном тесте (Nutan et al., 2018).

Вторичные острые поражения легких — некардиогенный отек легких, синдромы шокового и влажного легкого (Бонитенко и др., 2010). О вовлеченности эндотоксина в патогенез повышенной проницаемости альвеоларно-капиллярного барьера свидетельствуют эндотоксинемия у пациентов с этим состоянием (Maniatis et al., 2008) и возможность моделировать его воздействием эндотоксина как *in vitro*, так и *in vivo* (Wang et al., 2018). Эндотоксин вызывает и гемодинамические нарушения в легких, ведущие к развитию отека: введение в полость правого предсердия свиней эндотоксина *Escherichia coli* повышало давление крови в легочной артерии (Coggêa et al., 2020). Гипераммониемия предшествует развитию легочной гипертензии и является лучшим лабораторным показателем для ее прогнозирования у пациентов с портокавальным шунтом (Bloom et al., 2020).

Острая церебральная недостаточность (ОЦН) — совокупность синдромов и состояний, возникающих в результате острой дисфункции ЦНС, обусловленной диффузным поражением головного мозга. Возникает при тяжелых отравлениях веществами с различными механизмами действия. Клинически проявляется синдромами нарушения и помрачения сознания, двигательными

расстройствами, ускоренным катаболизмом, острыми нарушениями дыхания и кровообращения центрального генеза. Характеризуется отсутствием специфичности как клинических, так и морфологических признаков. Является критическим состоянием организма, поскольку характеризуется грубым нарушением витальных функций. Патогенез ОЦН малоизучен. Предполагают участие в ней острой гипоксии и, позднее, медиаторного хаоса (Шилов и др., 2010).

Биологическая активность представителей бактериального метаболома позволяет предположить их вовлеченность в патогенез ОЦН в качестве факторов, усугубляющих действие экзогенного токсиканта и гипоксии. Гипераммониемия характерна для острой печеночной недостаточности, осложненной отеком мозга и повышенным внутричерепным давлением (Sheikh et al., 2018). Внутричерепное давление, неврологические расстройства и летальность положительно связаны с уровнем аммиака в сыворотке крови пациентов с непеченочной гипераммониемией (Bested et al., 2013). Содержание аммиака в плазме крови и мозговой ткани было многократно повышено при моделировании на собаках и крысах диабетической комы (Козлов, 1971). У крыс на фоне острой интоксикации циклофосфаном (600 мг/кг) усугубление гипераммониемии внутрижелудочным введением ацетата аммония интенсифицировало накопление в крови и головном мозгу аммиака и глутамина, истощало тканевой пул пирувата (Ивницкий и др., 2019), ускоряло развитие неврологических расстройств, отчетливо сходных по симптоматике с острым отравлением солями аммония, сокращало продолжительность жизни животных (Ivnitsky et al., 2011). Неврологические проявления острого отравления солями аммония соответствуют определению ОЦН (Козлов, 1971).

Эндотоксин сенсibilизировал животных к острой церебральной гипоксии. Введение поросьятам эндотоксина *Escherichia coli* потенцировало убыль нейронов, метаболические расстройства и повышало вероятность гибели мозга при последующей окклюзии сонной артерии (Pang et al., 2020). Введение хорькам эндотоксина отягощало повреждение их головного мозга при окклюзии сонных артерий (Wood et al., 2019). Эндотоксин потенцировал отек мозга при высотной гипоксии (Zhou et al., 2017).

Таким образом, имеющиеся в литературе данные указывают на вовлеченность эндотоксина и аммиака, продуцируемых нормальной кишечной микрофлорой, в патогенез ряда патологических состояний, которые могут осложнять острые отравления, – сепсиса, острых нарушений кровообращения, вторичных острых поражений легких и острой церебральной недостаточности.

ПЕРСПЕКТИВЫ ЗАЩИТЫ ЭГБ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ ОРГАНИЗМА

Средства плановой защиты ЭГБ. Нормальная микрофлора кишечника – основной фактор защиты от его колонизации патогенными микроорганизмами. Она активизирует в тонкой кишке гликозилтрансферазы, ответственные за формирование гликоконъюгатов щеточной каймы. Адгезированные к слизистой оболочке бактерии формируют механический барьер, отделяющий ее от химуса. Симбионтные анаэробные грамположительные бактерии: *Lactobacilli*, *Bifidobacteria*, *Propionobacteria* – подавляют развитие условно патогенной кишечной микрофлоры: *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum* и *Clostridium difficile* (Role of gut bacteria..., 2005). К механизмам защитного действия пробиотиков на ЭГБ относят (Bested et al., 2013) нормализацию состава кишечной микрофлоры, подавление образования ею аммиака, аминов, уремических токсинов, ингибирование продукции воспалительных цитокинов, синтез нейротрофических факторов, улучшение абсорбции углеводов и эссенциальных нутриентов, повышение болевого порога. Для плановой защиты ЭГБ применимы пробиотики, пребиотики и другие низкотоксичные препараты, рассчитанные на длительный прием. Так, экспериментально показана возможность использования сока подорожника для коррекции гипераммониемического и нейротоксического действия циклофосамида (Шефер и др., 2015).

Средства экстренной защиты ЭГБ. Благоприятное влияние пребиотиков на ЭГБ рассмотрено в ряде подробных обзоров (Role of gut bacteria..., 2005; Bested et al., 2013; Liu et al., 2017; Tang et al., 2017). В качестве средств экстренной профилактики его повреждений перспективны те из них, которые способны формировать экранирующую пленку на слизистой оболочке. При назначении пектина внутрь на слизистых оболочках формируется защитная пленка пектинатов кальция (Ishisono et al., 2019). Она препятствует поступлению из химуса в кровь веществ, образуемых микрофлорой. Подобным свойством обладает и желатина таннат (Çağan et al., 2017). Защитный эффект, обусловленный экранирующим действием, ожидается в период транзита энтеросорбента в тонкой кишке, то есть с 10–48 до 160–288 мин после его приема внутрь.

При критических состояниях организма сведений об их этиологическом факторе, как правило, недостаточно, поэтому лечение направлено на коррекцию общих механизмов патогенеза. К ним относится острая гипоксия ЖКТ, поэтому ранняя оксигенотерапия может быть полезной для профилактики эндотоксикоза. Это согласуется с данными о потенцировании токсического дей-

ствия аммиака острой гипоксией (Козлов, 1971) и о противовоспалительном действии гипербарической оксигенации при сепсисе (Rinaldi et al., 2011).

Ценное дополнение к оксигенотерапии гипоксических состояний организма — антигипоксанты (Иванов и др., 2020). К ним можно отнести и газовые смеси, в небольших концентрациях содержащие инертные газы, оксид азота (II), водород, сероводород. У ксенона, оксида азота (II) и водорода выявлены нейропротекторные и кардиотонические свойства, у аргона и сероводорода — только нейропротекторные (Alshami et al., 2020). Важный элемент лечения — устранение воспаления. Гидрокортизон в дозе 2.8 мг/кг предотвращал дисфункцию ЭГБ и эндотоксемию у крыс при моделировании сепсиса лигированием и проколом слепой кишки (Assimakopoulos et al., 2021).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нормальная микрофлора кишечника продуцирует вещества, профиль системной токсичности которых при введении в больших дозах соответствует ряду критических состояний организма: острым нарушениям кровообращения, сепсису, вторичным острым поражениям легких, острой церебральной недостаточности. Количество этих веществ, содержащихся в кишечном химусе здорового человека, при полной или существенной утрате градиентов их концентрации между химусом и кровью обеспечивает возникновение перечисленных патологических состояний. ЭГБ — система диффузионных препятствий, разделяющих кишечный химус и кровь, поддерживающая градиенты концентрации токсичных веществ, достигающие 10^9 . При тяжелых острых заболеваниях возникают предпосылки к повреждению ЭГБ и его вторичной дисфункции, ведущей к развитию эндотоксемии и эндотоксикоза.

Как дисфункция ЭГБ, так и эндотоксемия при ряде критических состояний организма документированы данными экспериментальных и клинических исследований. Показана вовлеченность бактериального эндотоксина и аммиака кишечного происхождения в патогенез сепсиса, острых нарушений кровообращения, вторичных острых поражений легких и острой церебральной недостаточности, осложняющих такие отравления.

Меры плановой защиты ЭГБ от повреждения включают коррекцию состава кишечной микрофлоры, нацеленную на подавление образования ею цитотоксических веществ и подавление продукции воспалительных цитокинов. Экстренная профилактика вторичной дисфункции ЭГБ предусматривает устранение гипоксии и воспаления органов ЖКТ, защиту слизистой оболочки

применением препаратов, экранирующих ее от химуса.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Во всех процитированных статьях при проведении экспериментов были соблюдены все применимые международные, национальные и (или) институциональные принципы ухода и использования животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бонитенко Е.Ю., Бонитенко Ю.Ю., Бушуев Е.С. и др.* Острые отравления лекарственными средствами и наркотическими веществами. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2010. 440 с.
- Волков В.П.* Ятрогенные психонейросоматические синдромы. Тверь: Триада, 2014. 320 с.
- Ганн М., Массен В.М., Ненцкий М., Павлов И.П.* Экковский свищ венъ нижней полой и воротной и его последствия для организма // *Арх. биол. наук.* 1892. Т. 1. № 4. С. 400–444.
- Гришин С.М.* Преступления, совершенные медицинскими работниками вследствие ненадлежащего исполнения своих профессиональных обязанностей (по материалам судебной практики Европейской части России 2015–2017 гг.) // *Медицина.* 2018. № 1. С. 1–14.
- Звенигородская Л.А., Самсонова Н.Г., Топорков А.С.* Хроническая ишемическая болезнь органов пищеварения: алгоритм диагностики и лечения // *Рус. мед. журн.* 2010. № 9. С. 544–548.
- Иванов М.Б., Шустов Е.Б., Литвинцев Б.С. и др.* Эндотелиальная дисфункция как звено патогенеза COVID-19 // *Medline.ru. Рос. биомед. журн.* 2020. Т. 21. С. 884–903.
- Ивницкий Ю.Ю., Шефер Т.В., Рейнюк Т.В.* Эндогенный аммиак в токсическом процессе. Развитие концепции эндотоксикоза. *Palmarium Academic Publishing*, 2012. 176 с.
- Ивницкий Ю.Ю., Шефер Т.В., Тяптин А.А., Рейнюк В.Л.* Изменения химического состава крови и головного мозга крыс при моделировании миелоабляционного режима применения циклофосфана // *Токсикол. вестн.* 2019. Т. 156. № 3. С. 13–18.
- Ивницкий Ю.Ю., Рейнюк В.Л., Иванов М.Б. и др.* Сосудистый эндотелий при острых отравлениях // *Medline.ru. Рос. биомед. журн.* 2020. Т. 21. С. 976–1004.
- Козлов Н.Б.* Аммиак, его обмен и роль в патологии. М.: Медицина, 1971. 127 с.
- Комаров Б.Д., Лужников Е.А., Шиманко И.И.* Хирургические методы лечения острых отравлений. М.: Медицина, 1981. 271 с.
- Куценко С.А.* Основы токсикологии. СПб.: Фолиант, 2004. 715 с.

- Марченко А.Б., Ларюшина Е.М. Роль триметиламин N-оксида в патогенезе, диагностике и прогнозе кардиоваскулярных заболеваний // Мед. экол. 2017. № 1. С. 41–46.
- Мечников И.И. Этюды оптимизма. М.: Наука, 1987. 328 с.
- Семенов Э.И., Мишина Н.Н., Папуниди К.Х. Неучтенная анафилактическая реакция на действие микотоксинов // Medline.ru. Рос. биомед. журн. 2019. Т. 20. С. 36–43.
- Храмых Т.П., Долгих В.Т. К вопросу эндотоксемии при геморрагической гипотензии // Политравма. 2007. № 3. С. 51–59.
- Шефер Т.В. Патогенетические основы медикаментозной коррекции ранних проявлений острого резорбтивного действия ипритов. Развитие концепции эндотоксикоза: Дис. ... док. мед. наук. СПб.: ВМедА, 2015. 306 с.
- Шефер Т.В., Рейнюк В.Л., Краснов К.А., Ивницкий Ю.Ю. Повышение циклофосфаном проницаемости тонкой кишки крыс для содержащихся в ее просвете гидрофильных веществ средней молярной массы // Medline.ru. Рос. биомед. журн. 2011. Т. 12. С. 1437–1449.
- Шефер Т.В., Ивницкий Ю.Ю., Рейнюк В.Л. Влияние сока подорожника на проявления и исход острой интоксикации циклофосфаном у крыс // Биопрепараты. 2015. Т. 55. № 3. С. 61–63.
- Шилов В.В., Александров М.В., Васильев С.А. и др. Острая церебральная недостаточность при тяжелых отравлениях // Medline.ru. Рос. биомед. журн. 2010. Т. 11. Ст. 25. С. 315–321.
- Abuga K., Muriuki J., Williams T., Atkinson S. How severe anaemia might influence the risk of invasive bacterial infections in African children // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. № 18. Art. 6976.
- Agostini L., Down P., Murison J., Wrong O. Faecal ammonia and pH during lactulose administration in man: comparison with other cathartics // Gut. 1972. V. 13. № 11. P. 859–866.
- Ali R., Nagalli S. Hyperammonemia // StatPearls. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2021.
- Alshami A., Einav S., Skrifvars M., Varon J. Administration of inhaled noble and other gases after cardiopulmonary resuscitation: a systematic review // Am. J. Emerg. Med. 2020. V. 38. № 10. P. 2179–2184.
- Assimakopoulos S., Papadopoulou L., Bantouna D. et al. Faecal microbiota transplantation and hydrocortisone ameliorate intestinal barrier dysfunction and improve survival in a rat model of cecal ligation and puncture-induced sepsis // Shock. 2021. V. 55. P. 666–675.
- Bär F., Bochmann W., Widok A. et al. Mitochondrial gene polymorphisms that protect mice from colitis // Gastroenterology. 2013. V. 145. № 5. P. 1055–1063.
- Bested A.C., Logan A.C., Selhub E.M. Intestinal microbiota, probiotics and mental health: from Metchnikoff to modern advances: Part II – contemporary contextual research // Gut Pathog. 2013. № 5. Art. 3.
- Bishehsari F., Magno E., Swanson G. et al. Alcohol and gut-derived inflammation // Alcohol Res. 2017. V. 38. № 2. P. 163–171.
- Bloom P., Rodriguez-Lopez J., Witkin A. et al. Ammonia predicts hepatic involvement and pulmonary hypertension in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia // Clin. Transl. Gastroenterol. 2020. V. 11. № 1. P. e00118.
- Brown G.C. The endotoxin hypothesis of neurodegeneration // J. Neuroinflamm. 2019. V. 16. Art. 180.
- Bruno V., Gioscia-Ryan R., Casso A. et al. Trimethylamine-N-oxide promotes age-related vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in mice and healthy humans // Hypertension. 2020. V. 76. № 1. P. 101–112.
- Çağan E., Ceilan S., Mengi S., Çağan H. Evaluation of gelatin tannate against symptoms of acute diarrhea pediatric patients // Med. Sci. Monit. 2017. V. 23. P. 2029–2034.
- Chang J., Liang S., Thanasekaran P. et al. Translational medicine in pulmonary-renal crosstalk: therapeutic targeting of p-cresyl sulfate triggered nonspecific ROS and chemoattractants in dyspneic patients with uremic lung injury // J. Clin. Med. 2018. V. 7. № 9. Art. 266.
- Chaung W., Brenner M., Yen H. et al. Recombinant human milk fat globule-EGF factor VIII (rhMFG-E8) as a therapy for sepsis after acute exposure to alcohol // Mol. Med. 2019. V. 25. Art. 52.
- Chen S., Xiu G., Zhou J. et al. Role of high mobility group box1 in intestinal mucosal barrier injury in rat with sepsis induced by endotoxin // Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue. 2020. V. 32. № 7. P. 803–807.
- Choi T., Choi Y., Koo J. Mental disorders linked to crosstalk between the gut microbiome and the brain // Exp. Neurobiol. 2020. V. 29. P. 403–416.
- Corrêa T., Pereira A., Takala J., Jakob S. Regional venous-arterial CO₂ to arterial-venous O₂ content difference ratio in experimental circulatory shock and hypoxia // Intens. Care Med. Exp. 2020. V. 8. № 1. Art. 64.
- Cosola C., Rocchetti M.T., Cupisti A., Gesualdo L. Microbiota metabolites: pivotal players of cardiovascular damage in chronic kidney disease // Pharmacol. Res. 2018. V. 130. P. 132–142.
- Dobson G.P., Veech R.L., Passoneau J.V., Huang M.T. In vivo portal-hepatic venous gradients of glycogenic precursors and incorporation of [3-³H]glucose into liver glycogen in the awake rat // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. P. 16350–16357.
- Fink M. Bench-to-bedside review: cytopathic hypoxia // Crit. Care. 2002. V. 6. № 6. P. 491–499.
- Fujivara Y., Ohnishi K., Horlad H. et al. CD163 deficiency facilitates lipopolysaccharide-induced inflammatory responses and endotoxin shock in mice // Clin. Transl. Immunol. 2020. V. 9. № 9. P. e1162.
- Ge L., Lin Z., Le G. et al. Nontoxic-dose deoxynivalenol aggravates lipopolysaccharides-induced inflammation and tight junction disorder in IPEC-J2 cells through activation of NF-κB and LC3B // Food Chem. Toxicol. 2020. V. 145. Art. 111712.
- Gips C.H., Qué G.S., Wibbens-Alberts M. The arterial ammonia curve after oral and intraduodenal loading with ammonium acetate. Absorption in the stomach // Neth. J. Med. 1973. V. 16. P. 14–17.
- Gong D., Zhang L., Zhang Y. et al. Gut microbial metabolite trimethylamine N-oxide is related to thrombus formation in atrial fibrillation patients // Am. J. Med. Sci. 2019. V. 358. № 6. P. 422–428.
- Gryp T., Vanholder R., Vanechoutte M., Glorieux G. p-Cresyl sulfate // Toxins. 2017. V. 9. № 2. Art. 52.

- Hill G., Gillum T., Lee B. et al. Prolonged treadmill running in normobaric hypoxia causes gastrointestinal barrier permeability and elevates circulating levels of pro- and anti-inflammatory cytokines // *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2020. V. 45. № 4. P. 376–386.
- Hu C., Sun J., Du J. et al. The Hippo-YAP pathway regulates the proliferation of alveolar epithelial progenitors after acute lung injury // *Cell Biol. Int.* 2019. V. 43. № 10. P. 1174–1183.
- Hunt R.H., Camilleri M., Crowe S.E. et al. The stomach in health and disease // *Gut.* 2015. V. 64. № 10. P. 1650–1668.
- Iba T., Levy J.H., Hirota T. et al. Protection of the endothelial glycocalyx by antithrombin in endotoxin-induced rat model of sepsis // *Thromb. Res.* 2018. V. 171. P. 1–6.
- Ijiri K., Potten C. Response of intestinal cells of different topographical and hierarchical status to ten cytotoxic drugs and five sources of radiation // *Brit. J. Cancer.* 1983. V. 47. № 2. P. 175–185.
- Ishisono K., Mano T., Yabe T., Kitaguchi K. Dietary fiber pectin ameliorates experimental colitis in a neutral sugar side chain-dependent manner // *Front. Immunol.* 2019. V. 10. Art. 2979.
- Ivniisky J.J., Rejniuk V.R., Schäfer T.V., Malakhovsky V.N. Fulminant hyperammonaemia induced by thiopental coma in rats // *Toxicology.* 2006. V. 224. № 3. P. 184–190.
- Ivniisky J.J., Schäfer T.V., Rejniuk V.L. Promotion of the toxic action of cyclophosphamide by digestive tract luminal ammonia in rats // *ISRN Toxicology.* 2011. V. 2011. Art. 450875.
- Jaworska K., Bielinska K., Gawrys-Kopczynska M., Ufnal M. TMA (trimethylamine), but not its oxide TMAO (trimethylamine-oxide), exerts hemodynamic effects-implications for interpretation of cardiovascular actions of gut microbiome // *Cardiovasc. Res.* 2019. V. 115. P. 1948–1949.
- Jayakumar A., Norenberg M. Hyperammonemia in hepatic encephalopathy // *J. Clin. Exp. Hepatol.* 2018. V. 8. № 3. P. 272–280.
- Karádi O., Nagi Z., Bódis B., Mózsik G. Atropine-induced gastrointestinal cytoprotection dependences to the intact of vagal nerve against indomethacin-induced gastrointestinal mucosal and microvascular damage in rats // *J. Physiol. Paris.* 2001. V. 95. № 1–6. P. 29–33.
- Khanna K., Mishra K., Chanda S. et al. Effects of acute exposure to hypobaric hypoxia on mucosal barrier injury and the gastrointestinal immune axis in rats // *High Alt. Med. Biol.* 2019. V. 20. № 1. P. 35–44.
- Khazoom F., L'Ecuyer S., Gilbert K. et al. Impact of uric acid on liver injury and intestinal permeability following resuscitated hemorrhagic shock in rats // *J. Trauma Acute Care Surg.* 2020. V. 89. № 6. P. 1076–1084.
- Koeth R.A., Wang Z., Levison B.S. et al. Intestinal microbiota metabolism of L-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis // *Nat. Med.* 2013. V. 19. № 5. P. 576–585.
- Kumar M., Kaeley N., Nagasubramanyam V. et al. Single center experience of managing methanol poisoning in the hilly state of Uttarakhand: a cross sectional study // *Int. J. Crit. Illn. Inj. Sci.* 2019. V. 9. № 4. P. 172–176.
- Lechuga S., Naydenov N., Feygin A. et al. Loss of β -cytoplasmic actin in the intestinal epithelium increases gut barrier permeability *in vivo* and exaggerates the severity of experimental colitis // *Front. Cell Dev. Biol.* 2020. V. 8. Art. 588836.
- Lin H., Pimentel M. Bacterial concepts in irritable bowel syndrome // *Rev. Gastroenterol. Dis.* 2005. V. 5. P. S3–S9.
- Lin C., Chi C., Wu S. et al. Prognostic values of blood ammonia and partial pressure of ammonia on hospital arrival in out-of-hospital cardiac arrests // *Am. J. Emerg. Med.* 2013. V. 31. № 1. P. 8–15.
- Liu R., Hong J., Xu X. et al. Gut microbiome and serum metabolome alterations in obesity and after weight-loss intervention // *Nat. Med.* 2017. V. 23. № 7. P. 859–868.
- Liu S., Song P., Sun F. et al. The concept revolution of gut barrier: from epithelium to endothelium // *Int. Rev. Immunol.* 2021. V. 40. № 6. P. 401–408.
- Lopetuso L., Scaldaferrri F., Bruno G. et al. The therapeutic management of gut barrier leaking: the emerging role for mucosal barrier protectors // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2015. V. 19. № 6. P. 1068–1076.
- Luna M., Kamariski M., Principi L. et al. Severely ill pediatric patients with Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome (STEC-HUS) who suffered from multiple organ involvement in the early stage // *Pediatr. Nephrol.* 2021. V. 36. № 6. P. 1499–1509.
- MacPherson M., Hov J., Ueland T. et al. Gut microbiota-dependent trimethylamine N-oxide associates with inflammation in common variable immunodeficiency // *Front. Immunol.* 2020. V. 11. Art. 574500.
- Magnotti L.J., Upperman J.S., Xu D.Z. et al. Gut-derived mesenteric lymph but not portal blood increases endothelial cell permeability and promotes lung injury after hemorrhagic shock // *Ann. Surg.* 1998. V. 228. № 4. P. 518–527.
- Manani S., Virzì G., Guiliani A. et al. Lipopolysaccharide evaluation in peritoneal dialysis patients with peritonitis // *Blood Purif.* 2020. V. 49. № 4. P. 434–439.
- Maniatis N.A., Kotanidou A., Catravas J.D., Orfanos S.E. Endothelial pathomechanisms in acute lung injury // *Vascul. Pharmacol.* 2008. V. 49. P. 119–133.
- Matsumoto T., Takayanagi K., Kojima M. et al. Acute exposure to indoxyl sulfate impairs endothelium-dependent vasorelaxation in rat aorta // *Int. J. Mol. Sci.* 2019. V. 20. Art. 338.
- McClung H., Sloan H., Powers P. et al. Early changes in the permeability of the blood-brain barrier produced by toxins associated with liver failure // *Pediatr. Res.* 1990. V. 28. № 3. P. 227–231.
- McMillen K., Coghlin-Dickson T., Adintori P. Optimization of nutrition support practices early after hematopoietic cell transplantations // *Bone Marrow Transplant.* 2021. V. 56. P. 314–326.
- Minami T., Oda K., Gima N., Yamazaki H. Effects of lipopolysaccharide and chelator on mercury content in the cerebrum of thimerosal-administered mice // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 2007. V. 24. № 3. P. 316–320.
- Møller S., Kimer N., Barløse M., Bendtsen F. Pathophysiological-based treatment of complications of cirrhosis // *Scand. J. Gastroenterol.* 2020. V. 55. № 4. P. 383–394.

- Morris M.C., Gilliam E.A., Li L.* Innate immune programming by endotoxin and its pathological consequences // *Front. Immunol.* 2015. V. 5. Art. 680.
- Nespoli A., Chiara O., Clement M. et al.* The cardiorespiratory impairment in cirrhosis and sepsis. An experimental interpretation using octopamine infusion // *Circ. Shock.* 1983. V. 10. № 1. P. 15–30.
- Nežić L., Škrbić R., Amidžić L. et al.* Protective effects of simvastatin on endotoxin-induced acute kidney injury through activation of tubular epithelial cells' survival and hindering cytochrome C-mediated apoptosis // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. Art. 7236.
- Novosad S., Sapiano M., Grigg C. et al.* Vital signs: epidemiology of sepsis: prevalence of health care factors and opportunities for prevention // *MMWR.* 2016. V. 65. № 33. P. 864–869.
- Numan Y., Jawaid Y., Hirzallah H. et al.* Ammonia vs. lactic acid in predicting positivity of microbial culture in sepsis: the ALPS pilot study // *J. Clin. Med.* 2018. V. 7. № 8. Art. 182.
- Ochoa-Sanchez R., Rose C.* Pathogenesis of hepatic encephalopathy in chronic liver disease // *J. Clin. Exp. Hepatol.* 2018. V. 8. № 3. P. 262–271.
- O'Grady J., Murphy C.L., Burry L. et al.* Defining gastrointestinal transit time using video capsule endoscopy: a study of healthy subjects // *Endosc. Int. Open.* 2020. V. 8. № 3. P. E396–E400.
- Olek R., Samulak J., Sawicka A. et al.* Increased trimethylamine N-oxide is not associated with oxidative stress markers in healthy aged women // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2019. V. 2019. Art. 6247169.
- Pagana K.D., Pagana T.J.* Mosby's manual of diagnostic and laboratory tests. St. Louis: Mosby Elsevier, 2014. 1245 p.
- Pang R., Martinello K., Meehan C. et al.* Proton magnetic resonance spectroscopy lactate/N-acetylaspartate within 48 h predicts cell death following varied neuroprotective interventions in a piglet model of hypoxia-ischemia with and without inflammation-sensitization // *Front. Neurol.* 2020. V. 11. Art. 883.
- Pfalzgraff A., Weindl G.* Intracellular lipopolysaccharide sensing as a potential therapeutic target for sepsis // *Tr. Pharmacol. Sci.* 2019. V. 40. P. 187–197.
- Ponti G., Maccaferri M., Ruini C. et al.* Biomarkers associated with COVID-19 disease progression // *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2020. V. 57. № 6. P. 389–399.
- Pool R., Gomez H., Kellum J.A.* Mechanisms of organ dysfunction in sepsis // *Crit. Care Clin.* 2018. V. 34. P. 63–80.
- Rao J.N., Wang J.Y.* Regulation of gastrointestinal mucosal growth. San Rafael: Morgan and Claypool Life Sciences, 2011. 114 p.
- Restini C., Fink G., Watts S.* Vascular reactivity stimulated by TMA and TMAO: are perivascular adipose tissue and endothelium involved? // *Pharmacol. Res.* 2020. V. 163. Art. 105273.
- Rinaldi B., Cuzzocrea S., Donniacuo M. et al.* Hyperbaric oxygen therapy reduces toll-like receptor signaling pathway in multiple organ failure // *Intens. Care Med.* 2011. V. 37. № 7. P. 1110–1119.
- Rodríguez-Hernandez P., Cardador M.J., Arce L., Rodríguez-Estévez V.* Analytical tools for disease diagnosis in animals via fecal volatilome // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2020. V. 12. P. 1–16.
- Role of gut bacteria in human toxicology and pharmacology / Ed. M.J. Hill. London: Taylor & Francis, 2005. 280 p.
- Saxena A., Lopes F., McKay D.* Reduced intestinal epithelial mitochondrial function enhances *in vitro* interleukin-8 production in response to commensal *Escherichia coli* // *Inflamm. Res.* 2018. V. 67. № 10. P. 829–837.
- Schäfer T.V., Ivniťsky J.J., Rejniuk V.L.* Cyclophosphamide-induced leakage of gastrointestinal ammonia into the common bloodstream in rats // *Drug Chem. Toxicol.* 2011. V. 34. № 1. P. 25–31.
- Scott T., Kronsten T., Hughes R., Shawcross D.* Pathophysiology of cerebral oedema in acute liver failure // *World J. Gastroenterol.* 2013. V. 19. № 48. P. 9240–9255.
- Sender R., Fuchs S.* Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body // *PLoS Biol.* 2016. V. 14. № 8. Art. e1002533.
- Sheikh M., Unni N., Agarwal B.* Neurological monitoring in acute liver failure // *J. Clin. Exp. Hepatol.* 2018. V. 8. № 4. P. 441–447.
- Shi K., Wang F., Jiang H. et al.* Gut bacterial translocation may aggravate microinflammation in hemodialysis patients // *Dig. Dis. Sci.* 2014. V. 59. P. 2109–2117.
- Skowrońska M., Albrecht J.* Oxidative and nitrosative stress in ammonia neurotoxicity // *Neurochem. Int.* 2013. V. 62. № 5. P. 731–737.
- Skowrońska M., Zielińska M., Wójcik-Stanaszek W. et al.* Ammonia increases paracellular permeability of rat brain endothelial cells by a mechanism encompassing oxidative/nitrosative stress and activation of matrix metalloproteinases // *J. Neurochem.* 2012. V. 121. № 1. P. 125–134.
- Solé C., Gully S., Da Silva K. et al.* Alterations in gut microbiome in cirrhosis as assessed by quantitative metagenomics: relationship with acute-on-chronic liver failure and prognosis // *Gastroenterology.* 2021. V. 160. P. 206–218.
- Suárez L., Moreno-Luque M., Martínez-Ardines I. et al.* Amine variations in faecal content in the first weeks of life of newborns in relation to breast-feeding or infant formulas // *Br. J. Nutr.* 2019. V. 122. № 10. P. 1130–1141.
- Summerskill W.H.J., Wolpert E.* Ammonia metabolism in the gut // *Am. J. Clin. Nutr.* 1970. V. 23. № 5. P. 633–639.
- Tan X., Liu Y., Long J. et al.* Trimethylamine N-oxide aggravates liver steatosis through modulation of bile acid metabolism and inhibition of farnesoid X receptor signaling in nonalcoholic fatty liver disease // *Mol. Nutr. Food Res.* 2019. V. 63. № 17. Art. e1900257.
- Tang W.H., Wang Z., Levison B.S. et al.* Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk // *N. Engl. J. Med.* 2013. V. 368. № 17. P. 1575–1584.
- Tang W., Kitai T., Hazen L.* Gut microbiota in cardiovascular health and disease // *Circ. Res.* 2017. V. 120. № 7. P. 1183–1196.
- Toxicology of the gastrointestinal tract / Ed. S. Gad. Boca Raton, N.Y.: Taylor & Francis Group, 2007. 384 p.
- Uno Y.* Hypothesis: mechanism of irritable bowel syndrome in inflammatory bowel disease // *Med. Hypoth.* 2019. V. 132. Art. 109324.

- Walker V.* Severe hyperammonaemia in adults not explained by liver disease // *Ann. Clin. Biochem.* 2012. V. 49. P. 214–228.
- Wang W., Weng J., Yu L. et al.* Role of TLR4-p38 MAPK-Hsp27 signal pathway in LPS-induced pulmonary epithelial hyperpermeability // *BMC Pulm. Med.* 2018. V. 18. № 1. Art. 178.
- Wang L., Cao Y., Gorshcov B. et al.* Ablation of endothelial Pfkfb3 protects mice from acute lung injury in LPS-induced endotoxemia // *Pharmacol. Res.* 2019. V. 146. Art. 104292.
- Wood T., Moralejo D., Corry K. et al.* A ferret model of inflammation-sensitized late preterm hypoxic-ischemic brain injury // *J. Vis. Exp.* 2019. V. 153. Art. e60131.
- Yoshida N., Yamashita T., Kishino S. et al.* A possible beneficial effect of *Bacteroides* on faecal lipopolysaccharide activity and cardiovascular diseases // *Sci. Rep.* 2020. V. 10. № 1. Art. 13009.
- Zhang L.S., Davis S.S.* Microbial metabolism of dietary components to bioactive metabolites: opportunities for new therapeutic interventions // *Genome Med.* 2016. V. 8. № 1. Art. 46.
- Zhao J., He Y., Xu P. et al.* Serum ammonia levels on admission for predicting sepsis patient mortality at D28 in the emergency department: a 2-center retrospective study // *Medicine (Baltimore)*. 2020. V. 99. Art. e19477.
- Zhou Y., Huang X., Zhao T. et al.* Hypoxia augments LPS-induced inflammation and triggers high altitude cerebral edema in mice // *Brain Behav. Immun.* 2017. V. 64. P. 266–275.
- Zhou W., Cheng Y., Zhu P. et al.* Implication of gut microbiota in cardiovascular diseases // *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020. V. 2020. Art. 5394096.
- Zhu W., Gregory J.C., Org E. et al.* Gut microbial metabolite TMAO enhances platelet hyperreactivity and thrombosis risk // *Cell.* 2016. V. 165. P. 111–124.

Gut Barrier in Critical States of the Body

T. V. Schäfer^{a, *}, O. A. Vakunenkova^{b, **}, Ju. Ju. Ivnitsky^b, and A. I. Golovko^b

^a*State Scientific Research Test Institute of the Military Medicine, Saint-Petersburg, Russia*

^b*Golikov Research Center of Toxicology, Saint Petersburg, Russia*

**e-mail: schafer@yandex.ru*

***e-mail: institute@toxicology.ru*

The intestinal barrier (IB) is a set of diffusion barriers separating the intestinal chyme and blood. The purpose of the review is to identify the role of IB dysfunction in the formation of critical states of the body and to substantiate approaches to their prevention. The toxic substances produced by normal intestinal microflora, are characterized. The involvement of endotoxin and ammonia in sepsis, acute circulatory disorders, secondary pulmonary lesions and acute cerebral insufficiency, complicating acute poisoning, have been shown. Approaches to protection of IB in critical states of the body are proposed.

Keywords: critical states of the body, intestinal barrier, dysfunction, prevention, treatment

COVID-19 И ЕГО ВАКЦИНЫ (ОБЗОР)

© 2022 г. Н. Реман¹, А. Пандей¹, *

¹Кафедра биотехнологии Национального технологического института им. Мотилала Неру, Аллахабад, Индия

*e-mail: anjanar@mnnit.ac.in

Поступила в редакцию 30.06.2021 г.

После доработки 17.07.2021 г.

Принята к публикации 04.08.2021 г.

Пандемия коронавируса – это продолжающаяся катастрофа (COVID-19), вызванная коронавирусом 2 тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV-2). Вирус проникает в клетки-мишени, прикрепляясь к рецептору – человеческому ангиотензинпревращающему ферменту 2 (hACE2). Он состоит из спайковых структур, состоящих из гликопротеинов, которые способствуют проникновению вируса в клетки-мишени хозяина. RBD субъединицы S1 на спайковых белках связывается с рецептором hACE2, который в основном находится в легких, особенно в пневмоцитах типа 2, что приводит к снижению активности рецепторов hACE2. Тошнота, рвота и стеснение в груди – необычные симптомы COVID-19, наиболее распространенными причинами смерти и тяжести являются дыхательная недостаточность (69.5%), сепсис или полиорганная недостаточность (28%), сердечная недостаточность (14.6%) и почечная недостаточность (14%). Для диагностики подозреваемых COVID-19 рекомендуется ОТ-ПЦР в реальном времени на основе вирусных антигенов или вирусных нуклеиновых кислот. Вакцинация необходима для противовирусной профилактики. Исследование проводилось на живых или неактивированных вирусах на основе рекомбинантных вирусных векторов, ДНК, VLP и растворимых белков. Вакцина от Pfizer и BioNTech была первой, которая показала многообещающие данные об эффективности. Эффективность вакцины составила 90%. Вакцины BNT162b2 (Pfizer, BioNTech) и мРНК-1273 (Moderna), основанные на мРНК, вакцины AZD-1222 Ad5-nCoV (AstraZeneca, Оксфордский университет) и Ad26.COV2.S (Johnson & Johnson), основанные на вирусных векторах, и другие вакцины получили разрешение на экстренное использование от FDA. Поскольку РНК-вирусы способны легко и быстро мутировать, мутация в существующем штамме может представлять собой варианты, вызывающие озабоченность VOCs (variants of concern), которые могут снизить эффективность вакцины. Последний вариант Дельта (B.1.617.2), быстро распространившийся в Индии, появится в Соединенных Штатах в середине 2021 г. Он оказывается главным, который в 6.8 раза более устойчив к нейтрализации сыворотками выздоравливающих COVID-19 и мРНК-вакцинированных людей.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, человеческий ангиотензинпревращающий фермент 2, вакцинация, вызывающие озабоченность варианты, дельта-вариант (B.1.617.2)

DOI: 10.31857/S0042132422020053

ВВЕДЕНИЕ

Текущая пандемия COVID-19, называемая пандемией коронавируса, представляет собой продолжающуюся катастрофу (COVID-19), вызванную коронавирусом 2 (SARS-CoV-2) тяжелого острого респираторного синдрома. Первоначально он был обнаружен в 2019 г. в одном из городских центров Китая. В январе 2020 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила это событие чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, вызывающей опасения в международном масштабе, а в марте 2020 г. оно было объявлено пандемией. Согласно базам данных, по состоянию на 06.03.2021, подтверждено более 116 млн случаев заболевания,

при этом более 2.58 млн смертей из-за COVID-19, что делает его самой опасной пандемией в истории.

Признаки COVID-19 чрезвычайно трудно определить: от видимого отсутствия симптомов до критического состояния здоровья. Вирус в основном распространяется по воздуху, когда люди вступают в контакт. Он содержится у инфицированного человека на слизистых рта, носа или глаз и может передаваться, когда он дышит, сплевывает, чихает или говорит. Кроме того, он может распространяться через загрязненные поверхности. Вирусноноситель остается заразным до двух недель и может заразить кого-либо вирусом, даже если у самого носителя симптомы отсутствуют.

Рекомендуемые профилактические меры включают: социальное дистанцирование, пуб-

личное ношение масок для лица, проветривание помещений, мытье рук, закрывание рта при чихании или кашле, дезинфекцию поверхностей, а также наблюдение за лицами, проконтактировавшими с зараженными, и за наличием у них симптомов, самоизоляцию контактировавших и распространяются подразделения по вакцинации.

Мировые власти отреагировали на ситуацию следующими мерами: введением ограничений на поездки, блокировками, контролем рисков в географических точках и закрытием ряда объектов. Кроме того, во многих местах была проведена работа по расширению тестирования инфицированных и отслеживанию контактов.

Реакция на пандемию привела к серьезным социальным и экономическим потрясениям в мире и к величайшей глобальной рецессии. На настоящий момент цель многих государственных и общественных структур — исправить последствия этого глобального события, предотвратить повсеместную нехватку товаров, возникшую в результате паники, минимизировать нарушения в сельском хозяйстве и нехватку продовольствия. Множество школ и общественных зон были частично или полностью закрыты. Социальные сети и средства массовой информации распространяли фальсифицированную информацию. Пандемия породила проблемы, схожие с расовой дискриминацией, поскольку возник дисбаланс между императивами общественного здравоохранения и правами личности.

ИСТОРИЯ

В декабре 2019 г. был обнаружен чрезвычайно болезненный коронавирус, известный как SARS-CoV-2. Вирус проникает в клетки-мишени, прикрепляясь к рецептору — человеческому ангиотензинпревращающему ферменту 2 (hACE2). Он состоит из спайковых структур, созданных из гликопротеинов, которые способствуют проникновению вируса в клетки-мишени хозяина. Согласно литературным данным, вирус-предшественник SARS-CoV (severe acute respiratory syndrome related coronavirus, тяжелый острый респираторный синдром, вызванный коронавирусом), мутировавший в сайтах связывания рецепторных и мембранных белков, превратился в вирус SARS-CoV-2, спровоцировавший крайне тревожную пандемию COVID-19. Эти изменения, вероятно, ответственны за острое распространение и надежный патогенный механизм вируса, и считается, что он происходит от летучих мышей.

Как сообщается, в ходе углубленного анализа коронавирусов было установлено (Skariyachan et al., 2019; Bonilla-Aldana et al., 2020; Walls et al., 2020), что шесть коронавирусов были признаны причи-

ной респираторных расстройств: HCoV-OC43, HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-NKU1, SARS-CoV и MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome related coronavirus, ближневосточный респираторный синдром, вызванный коронавирусом). По-видимому, из упомянутых выше случаев SARS-CoV и MERS-CoV были зарегистрированы как более болезненные. Об их происхождении сообщалось из провинций Китая в 2002 г. и Аравийского п-ова в 2012 г. по отдельности.

Возникновение SARS-CoV-2 было обнаружено после значительного поступления пациентов в местные больницы г. Ухань в 2019 г. У них были обычные медицинские симптомы респираторных заболеваний. В начале февраля 2020 г. агентство Организации Объединенных Наций подтвердило, что новый коронавирус, получивший название SARS-CoV-2, был ответственен за эти симптомы, и дополнительно определило это патологическое заболевание как COVID-19. Неудовлетворительное положение дел с COVID-19 (coronavirus disease 2019, коронавирусная болезнь 2019 г.), сложившееся во всем мире, было объявлено ВОЗ пандемией.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

В начале декабря 2019 г. у ряда местных медицинских работников в г. Ухань, провинция Хубэй, материковый Китай, были диагностированы 69 симптомов, похожих на пневмонию неизвестного происхождения (Zhu et al., 2020). 07.01.2020 г. ВОЗ предварительно назвала инфекцию 2019-nCoV (2019-новый коронавирус) (Huang et al., 2020), а 11.02.2020 г. Исследовательская группа по коронавирусу Международного комитета по таксономии вирусов ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) переименовала ее в SARS-CoV-2 (Gorbalenya et al., 2020), а заболевание, вызванное SARS-CoV-2, получило название COVID-19 (Chen N. et al., 2020; Chen Z. et al., 2020). 30.01.2020 г. ВОЗ определила эпидемию 2019-nCoV как чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения — шестую в хронологическом порядке после:

- I. H1N1 в 2009 г.
- II. Полиомиелит в 2014 г.
- III. Эбола в Западной Африке в 2014 г.
- IV. Зика в 2016 г.
- V. Эбола в Демократической Республике Конго в 2019 г.

ВОЗ объявила COVID-19 пандемией 11.03.2020 г. (Li et al., 2020). По состоянию на 30.11.2020 г., этой развивающейся высокоинфекционной болезнью было заражено 62 195 274 человека во всем мире, в результате чего погибло 1 453 355 человек, а показатель смертности составил 2.34% (WHO, 2020).

Коронавирус SARS-CoV-2 – это плеоморф размером 80–160 нм, благодаря пепломерам обладающий формой короны, относится к классу вирусов, содержащих одноцепочечную (+)РНК (Shang et al., 2020). Это несегментированный РНК-вирус с диапазоном размеров от 26 до 32 Кб. Они классифицируются как нидовирусы семейства Coronaviridae подсемейства Coronavirinae, которое далее подразделяется на род α , β , γ и δ . Человеческая популяция в основном подвержена воздействию α - и β -родов коронавирусов. HCoV-229E (коронавирус человека) и HCoV-NL63 являются представителями рода α , в то время как род β включает HCoV-NKU1, HCoV-OC43, MERS-CoV, SARS-CoV и самую последнюю вспышку – SARS-CoV-2.

Одноцепочечная РНК, белок нуклеокапсида, белок оболочки, мембранный белок и гликопротеин(ы) шипов были обнаружены в коронавирусе. Гликопротеин спайка (S) отвечает за уникальную характеристику коронавируса, которая представляет собой короноподобную структуру на внешней поверхности вируса. S-белок делится на две субъединицы S1 и S2. Субъединица S1 дополнительно разделена на три домена: А, В и С (Angeletti et al., 2020). Домен А субъединицы S1 и CoV-OC43, и CoV-NKU1 взаимодействует с рецепторами хозяина в целом (Hulswit et al., 2019). С другой стороны, было показано, что MERS-CoV использует домены А и В для проникновения в клетки через рецептор DPP4 (дипептидилпептидазы-4) (Park et al., 2019). Утверждается, что В-домен SARS-CoV-2 и SARS-CoV напрямую взаимодействует с рецептором человеческого ангиотензинпревращающего фермента 2 (hACE2), позволяя вирусу проникать в клетку-мишень (Cui et al., 2019). Поразительно, что структура белка S как в вирусах SARS-CoV, так и в новых вирусах SARS-CoV-2 почти идентична, с незначительными изменениями.

СТРУКТУРА ГЕНОМА SARS-CoV, MERS-CoV И SARS-CoV-2

SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 – это коронавирусы человека, которые имеют ряд структурных сходств и являются основной причиной тяжелой пневмонии. Коронавирусы имеют следующую генетическую организацию: ORF1AB, 5'-репликаза (ген *rep*), шип (S), оболочка (E), мембрана (M), нуклеокапсид (N-3') с короткими нетранслируемыми областями UTR на обоих концах. Отмечается (Du et al., 2009), что ген *rep* кодирует неструктурные белки NSP и занимает около двух третей вирусного генома. Было показано, что геном CoV имеет множество открытых рамок считывания ORFs (open reading frames). Примерно две трети вирусной РНК кодируются первыми ORFs – ORF1a/b, которые преобразу-

ются в два полипротеина, pp1a и pp1ab, которые кодируют 16 NSP. Белки шипа (S), оболочки (E), мембраны (M) и нуклеокапсида (N), а также другие вспомогательные белки участвуют в реакции врожденной иммунной системы хозяина (Cui et al., 2019). Белок S (трансмембранный гликопротеин) имеет две субъединицы: S1 и 138 S2, которые необходимы для взаимодействия с вирусным рецептором и последующего входа. В SARS-CoV и SARS-CoV-2 субъединица S1 с рецепторсвязывающим доменом RBD (receptor binding domain) взаимодействует с рецептором ACE2 на клетках-хозяевах, но в MERS-CoV она взаимодействует с рецептором DPP4 на клетках-хозяевах. Компонент S2 отвечает за слияние мембран вируса и клетки-хозяина (Du et al., 2009; Xia et al., 2014). Поскольку он участвует в идентификации рецепторов, прикреплении вируса и проникновении в клетку-хозяина, спайковый белок SARS-CoV является наиболее важной мишенью для разработки вакцин и методов лечения SARS-CoV (Du et al., 2009). Белок E необходим для внутриклеточного транзита и сборки вируса, белок M участвует в сборке и морфогенезе вируса, а белок N необходим для синтеза РНК (Song et al., 2019). Геном коронавируса Ухань-Ху-1 (WHCV) был идентифицирован у пациента с пневмонией, инфицированного COVID-19, работника уханьского рынка морепродуктов. SARS-CoV-2 имеет длину генома 29.9 Кб (Wu et al., 2020), в то время как MERS-CoV и SARS-CoV имеют длину генома 30.1 и 27.9 Кб соответственно (De Wit et al., 2016). Хотя геномная последовательность SARS-CoV-2 сопоставима с последовательностью SARS-CoV и MERS-CoV, состав генома SARS-CoV-2 заметно отличается от состава SARS-CoV и MERS-CoV (Prompetchara et al., 2020). После секвенирования вирусного генома, получения филогенетических результатов и изучения эволюционных закономерностей было установлено, что летучая мышь была основным хозяином вируса и что SARS-CoV-2 был передан от летучих мышей людям через панголинов в качестве промежуточного хозяина. Геномная последовательность SARS-CoV-2 на 96.2% идентична RaTG13 Bat-CoV, на 79.5% похожа на SARS-CoV и примерно на 50% похожа на MERS-CoV (Guo et al., 2020). Ученые обнаружили, что SARS-CoV-2 имеет более высокую гомологию последовательности с Bat-CoV-RaTG13, которая ранее была обнаружена у *Rhinolophus affinis* (широко известной как Лошадиная подковка) из провинции Юньнань, чем с Bat-SL-CoVZC45 и Bat-SL-CoVZC21 – идентичными последовательностями, полученными из более 1000 метагеномных образцов панголина. Утверждается, что источником SARS-CoV-2 является китайская летучая мышь “хризантема”. Поскольку SARS-CoV-2, выделенный из панголинов, имел примерно 85.5–92.4%-ное сходство между геномами CoV, панго-

лины были идентифицированы как промежуточные хозяева (Lam et al., 2020). Верблюды также были идентифицированы в качестве промежуточных хозяев для MERS, причем изоляты MERS-CoV от верблюдов и людей демонстрируют 99%-ную идентичность (Cui et al., 2019).

ПРОНИКНОВЕНИЕ И РЕПЛИКАЦИЯ КОРОНАВИРУСА В КЛЕТКУ-ХОЗЯИНА

В случае SARS-CoV и SARS-CoV-2 коронавируса проникает в клетку-хозяина, прикрепляясь к определенным рецепторам клеточной поверхности – hACE2 и CD90L, однако в случае MERS-CoV используется рецептор DPP4 (Li et al., 2020). RBD субъединицы S1 связывается с рецептором hACE2 в случае SARS-CoV-2, тогда как субъединица S2 облегчает слияние между хозяином и плазматической мембраной микроорганизма (Li et al., 2020). В субъединицах S1 и S2 SARS-CoV-2 есть четыре уникальные аминокислоты, которые попадают в места расщепления фурина (Cui et al., 2019). Белок S активируется расщеплением на белки S1 и S2, что является нековалентным разделением с интервалами на границе мембраны. Расщепление S-белка на субъединицы S1 и S2, удерживающиеся между собой нековалентными силами, происходит на границе клеточной мембраны после связывания фермента пептидазы с рецептором hACE2. Этот лизис вызывает необратимые изменения конформации валентности, что увеличивает сродство супермолекулы к связыванию и, как следствие, существенно активирует супермолекулу для слияния (Belouzard et al., 2009). Модифицированные сайты связывания рецепторов субъединицы S1 и сайты расщепления фурина, возможно, способствуют быстрой передаче, размножению и инфекционности вируса (Zhou et al., 2018). После связывания и слияния супермолекулы S геномный РНК-мессенджер микроорганизма достигает протоплазмы клетки-хозяина посредством эндоцитоза, опосредованного рецептором, или непосредственно через плазматическую мембрану хозяина. В целом, геномная РНК коронавируса чрезвычайно длинная, примерно с тридцатью тысячами нуклеотидов. Кроме того, геномная РНК содержит открытую рамку считывания 6–10 (ORF), которая определяет фактор репликазы (Cowling, Leung, 2020). ORF1a и ORF1b дают пару двух третей геномной РНК, которую они затем преобразуют в два огромных полипротеина – pp1a и pp1ab соответственно. Кроме того, два протеолитических фермента, а именно ферментоподобный протеолитический фермент и 3С-подобный протеолитический фермент, расщепляют эти полипротеины на неструктурные белки NSP (Schoeman, Fielding, 2019). Полипротеины pp1ab и pp1b суть NSP1-11 и NSP1-16 соответственно. Эти белки также известны как репликазы и поли-

меразы, поскольку они участвуют в процессах репликации и транскрипции. Эти NSPs каждый в свое время устанавливаются с интервалами вдоль мембраны RER и образуют комплекс репликаза–транскриптаза RTC (replication transcription complex). Каждому NSP соответствуют специфические функции: NSP1 – деградация клеточного РНК-мессенджера и ингибирование противовирусной сигнализации; NSP12 – активность РНК-зависимого фермента РНК-полимеразы; NSP13 – активность геликазы; NSP14 – активность экзорибонуклеазы, а также активность эндорибонуклеазы. С помощью РНК-зависимого РНК-фермента простая фракция порядка микроорганизмов, которая кодируется для оставшихся ORFs, транскрибируется в антисмысловую РНК (от тридцати до пятидесяти) (Fehr, Perlman, 2015). С помощью репликазной активности РНК-зависимого фермента РНК микроорганизмов эта антисмысловая РНК все чаще воспроизводится и преобразуется в полноразмерную положительную нить геномной РНК (Cui et al., 2019) (рис. 1).

ПАТОГЕНЕЗ

Несмотря на то, что патогенез COVID-19 неизвестен, патогенез MERS-CoV и SARS-CoV остается лучшим источником информации о COVID-19 (Li et al., 2020). Исследования показали, что измененные остатки RBD субъединицы S1, присутствие RRAR и частично открытая форма тримера S могут быть причиной высокой патогенности и множественных возможностей передачи COVID-19. RBD субъединицы S1 на спайковых белках связывается с рецептором hACE2, который в основном обнаруживается в легких, особенно в пневмоцитах типа 2, что приводит к снижению активности рецепторов hACE2 (Kuba et al., 2005; Xu et al., 2020). Повышенный синтез ангиотензина-2 (AT2) родственным ферментом ACE1 может быть результатом пониженной регуляции рецепторов ACE2. Повышенная проницаемость легочных сосудов из-за увеличения выработки AT2 может вызвать повреждение легких (Imai et al., 2005). Кроме того, SARS-CoV-2 содержит антигенпрезентирующие клетки, которые прикрепляются к дендритной клетке хозяина, активируя макрофаги и вызывая тяжелую иммунологическую реакцию, приводящую к чрезмерному высвобождению провоспалительных цитокинов (IFN тип I и II, IL-1, IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF, TGF и др.) и хемокинов (CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10) (Cameron et al., 2008). Эти медиаторы воспаления вызывают большее повреждение эпителиальных клеток, выстилающих слизистую оболочку, и проходят через кровоток, нанося вред другим органам (Li et al., 2020; Rothan, Byrareddy, 2020) (рис. 2).

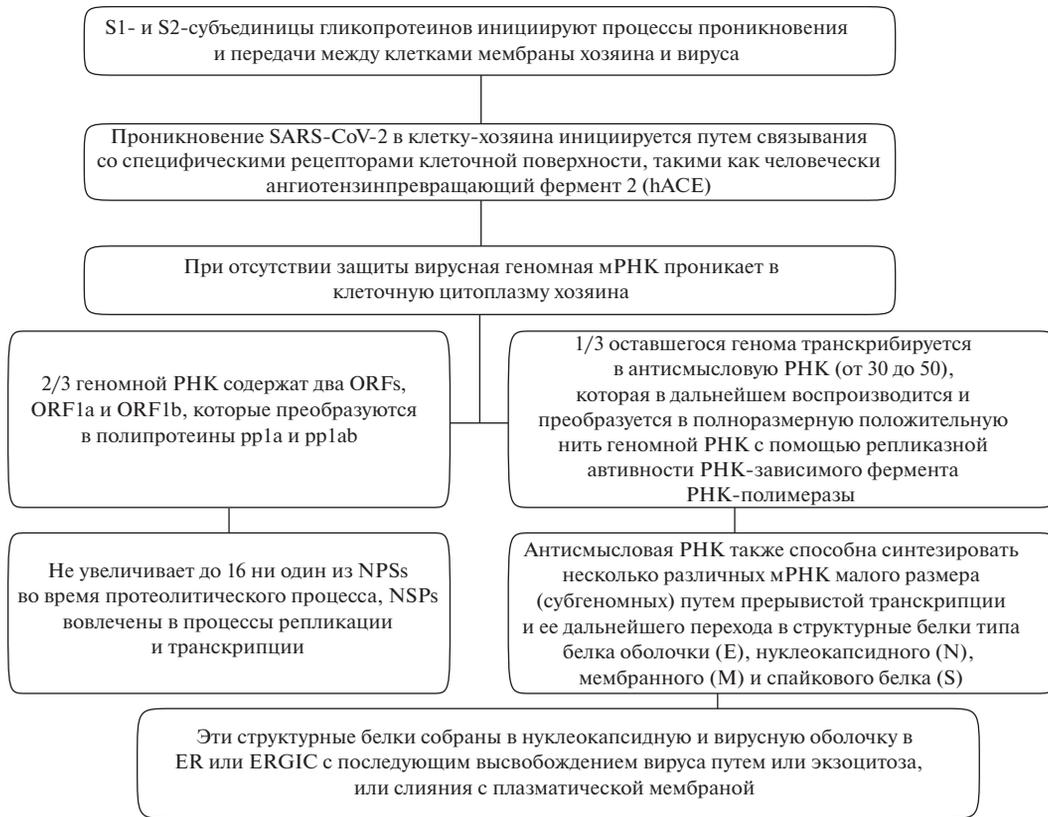


Рис. 1. Репликация вируса внутри клетки-хозяина.



Рис. 2. Схематическое представление патогенеза и клинических проявлений COVID-19.

КЛИНИЧЕСКИЕ СИМПТОМЫ

Острые проявления инфекции COVID-19 могут появиться после 5–6 дней инкубации, в зависимости от возраста человека и иммунного статуса. Люди старше 60 лет более восприимчивы к SARS-CoV-2 (Li et al., 2020). Лихорадка (более 80% случаев), кашель (более 60%), истощение (более 35%), выделение мокроты (более 30%) и одышка (более 15%) являются наиболее распространенными клиническими симптомами инфекции SARS-CoV-2. Головная боль, мышечная

слабость, одышка, боль в горле и боль в плевре (10–15%) являются менее распространенными симптомами. Тошнота, рвота и стеснение в груди – достаточно редкие симптомы COVID-19. Наиболее распространенные причины смерти и тяжести протекания заболевания – дыхательная недостаточность (69.5%), сепсис или полиорганная недостаточность (28%), сердечная недостаточность (14.6%) и почечная недостаточность (14.6%) (Heymann, Shindo, 2020; Zhang et al., 2020). В медицинском журнале Новой Англии не-

давно опубликован отчет о клинических характеристиках COVID-19 (Guan et al., 2020), в котором отражено исследование, проведенное в Китае, 1099 пациентов с COVID-19. Согласно отчету, наиболее распространенными симптомами были лихорадка (88.7%), кашель (67.8%) и аномалии, выявленные с помощью компьютерной томографии (86.2%). Непрозрачность матового стекла и неоднородное двустороннее затенение были наиболее распространенными паттернами, наблюдаемыми на КТ-изображениях. При лабораторном исследовании также было обнаружено возникновение лимфоцитопении (83.2%), тромбоцитопении (36.2%) и лейкопении (33.7%).

ДИАГНОЗ

Диагноз COVID-19 может быть поставлен различными способами. После подтверждения люди должны быть изолированы от остальной части сообщества. В результате предварительная профилактика ограничивается диагностикой. Лабораторные тесты на основе антигенов или нуклеиновых кислот, такие как быстрое тестирование и тесты ОТ-ПЦР в реальном времени, используются для определения наличия SARS-CoV. При исследованиях эпиднадзора за серологическими заболеваниями с целью оценки распространенности инфекции в сообществе кровь/сыворотка используются для выявления IgM (текущая/недавняя инфекция) или IgG (прошлая инфекция).

Для выявления текущей инфекции COVID-19 из предполагаемых случаев получают мазок из горла или носоглотки для анализа на основе вирусных нуклеиновых кислот.

ОТ-ПЦР на основе вирусных антигенов или вирусных нуклеиновых кислот в режиме реального времени рекомендуется для диагностики COVID-19-подозреваемых, а также контактов с COVID-19-положительными, в то время как тесты на быстрое обнаружение на основе антител рекомендуются в первую очередь для эпиднадзора, чтобы после лабораторного подтверждения можно было следовать соответствующим процедурам лечения и ведения, чтобы предотвратить дальнейшее распространение. Как минимум через 7 дней с момента появления симптомов будет полезно обнаружение быстрых антител. Экспресс-тесты полезны для эпидемиологических исследований и эпиднадзора. Все вышеперечисленные тесты должны проводиться под наблюдением врача (табл. 1).

ПРЕДЛАГАЕМОЕ ЛЕЧЕНИЕ

Симптоматическая терапия (терапия, основанная на потребностях)

Это лечение основано на симптоматической и кислородной терапии, которая является основ-

ным лечебным вмешательством для пациентов с тяжелыми инфекциями (рис. 3). В случаях дыхательной недостаточности, которая устойчива к кислородотерапии, может потребоваться искусственная вентиляция легких, в то время как для лечения септического шока требуется гемодинамическая поддержка. 28.01.2020 г. ВОЗ опубликовала документ, в котором обобщены стандарты ВОЗ и научная информация, собранные в ходе борьбы с предыдущими эпидемиями, вызванными CoV человека. Среди рекомендаций были упомянуты стратегии лечения дыхательной недостаточности, такие как защитная механическая вентиляция и высокопоточная назальная оксигенация HFNO (high-flow nasal oxygen) или неинвазивная вентиляция 436 (NIV) (Cascella et al., 2020). После индивидуального исследования следует рассмотреть возможность экстракорпоральной мембранной оксигенации (ЭКМО) у пациентов с рефрактерной гипоксемией, сохраняющейся несмотря на защитную вентиляцию легких. Тем, у кого были плохие результаты, может помочь вентиляция в положении лежа (Cascella et al., 2020).

Модуляция иммунитета хозяина

Люди, которые впервые сталкиваются с SARS-CoV-2, имеют хорошую начальную защиту организма-хозяина в легких, что связано со скромными симптомами и разрешением болезни. В некоторых ситуациях вирусное иммунное уклонение может привести к рефрактерному повреждению альвеол, плохим механизмам восстановления легких и системному воспалению с сопутствующей дисфункцией органов (Hall et al., 2020). Самый быстрый путь к успеху в исследовании и лечении лиц с критическими заболеваниями, вызванными COVID-19, — это стратегия иммуномодуляции, основанная на иммунологическом фенотипе, которая может включать антицитокиновую терапию у тщательно отобранных пациентов и иммуностимулирующие препараты — у других (Hall et al., 2020).

Вирусный клиренс

Наиболее эффективный подход к лечению SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 заключается в том, чтобы проверить, эффективны ли имеющиеся в настоящее время противовирусные препараты. Многие противовирусные препараты: интерфероны, даунавивир/кобицистат (презкобикс), рибавирин и лопинавир-ритонавир — были изучены во время предыдущих эпидемий коронавируса, и некоторые из них показали многообещающие результаты *in vitro* (Chu et al., 2004). Лопинавир, антиретровирусное лекарство, ингибирует фермент протеазы и при использовании в комбинации с другим ингибитором протеазы ри-

Таблица 1. Мониторинг эпидемиологической обстановки, скрининг населения и точная диагностика

Тепловое сканирование и инфракрасные датчики	Это безопасный метод, позволяющий изолировать больных людей от остального населения. Инфракрасное излучение обнаруживается и улавливается в виде тепла тепловизионными камерами, которые затем преобразуют его в визуальные данные. Использование таких камер в различных общественных местах, в том числе в аэропортах, на вокзалах, в академических учреждениях и исследовательских центрах, выгодно для измерения температуры тела больших толп с точностью до 0.5°C. Тепловизионным камерам для работы требуется большая длина волны ИК-энергии (Lee et al., 2020). ИК-сканеры используются для сканирования отдельных лиц, однако проверка большой толпы занимает больше времени. В результате можно сделать вывод, что тепловизионные камеры являются лучшей альтернативой для крупномасштабного скрининга, чем ИК-сканеры
Тест на амплификацию нуклеиновых кислот NAAT (nucleic acid amplification test)	Для подтверждения заболевания COVID-19 NAAT применяют с использованием флуоресцентной полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОТ-ПЦР) на мазке из носа или образце крови в соответствии с протоколом ВОЗ (Wu et al., 2020). “Если вирусная нагрузка очень низкая, наблюдается ограниченная чувствительность из-за низкого обнаружения вирусной нуклеиновой кислоты”, – говорится в литературе. Такая низкая частота обнаружения может привести к ложноотрицательным результатам. FDA (Food and Drug Administration) – управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США – и другие регулирующие органы выдали разрешение на экстренное использование диагностических наборов, в которых используется технология ОТ-ПЦР для идентификации COVID-19. При этом ОТ-ПЦР имеет ряд возможных преаналитических и аналитических опасностей. Ложная идентификация, подготовка образцов, специфичность, чувствительность, проблемы стабильности, продолжительность – все это делает метод несовершенным. Хотя калибровка оборудования является серьезной проблемой, поскольку она может привести к ошибочным или вводящим в заблуждение результатам, настоятельно рекомендуется регулярно калибровать ОТ-ПЦР, чтобы избежать любых ложных показаний
Компьютерная томография	Настоятельно рекомендуется проводить компьютерную томографию (КТ) грудной клетки, чтобы иметь высокий процент выявления вирусной пневмонии. Непрозрачность матового стекла (область туманного помутнения) при рентгенографии или область повышенного затухания при КТ обусловлены вытеснением воздуха жидкостью, это может свидетельствовать о коллапсе дыхательных путей, фиброзе или опухолевом процессе (Zu et al., 2020).
Тест на антитела	Сообщается (Li et al., 2020) об эволюции и клиническом внедрении комбинированного диагностического теста на антитела к SARS-CoV-2 для быстрого определения IgM/IgG. Этой группой была разработана быстрая (в течение 15 мин) и простая иммуносупрессия бокового потока. Одновременно IgM и IgG могут быть обнаружены против вируса SARS-CoV-2 на нескольких стадиях COVID-19 в этом разработанном иммуноанализе

тонавином снижает вирусный метаболизм и способствует вирусному клиренсу.

Противовирусные препараты

Противовирусные препараты – пенцикловир, рибавирин, хлорохин, нафамостат, умифеновир, дарунавир и арбидоланд нитазииоксанид – *in vitro* сравниваются с двумя препаратами широкого спектра действия – фавипиравиром и ремдеси-

виром – для противовирусной терапии. Хлорохин и ремдесивир были более эффективными в лечении COVID-19 среди исследованных препаратов (Wang et al., 2020). Ремдесивир в настоящее время является усовершенствованным аналогом аденозина вируса Эбола, который эффективен при различных вирусах, в том числе SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2 (Sheahan et al., 2017; Mulangu et al., 2019; Holshue et al., 2020). В настоящее время *in vitro* подтверждено, что инфекцию

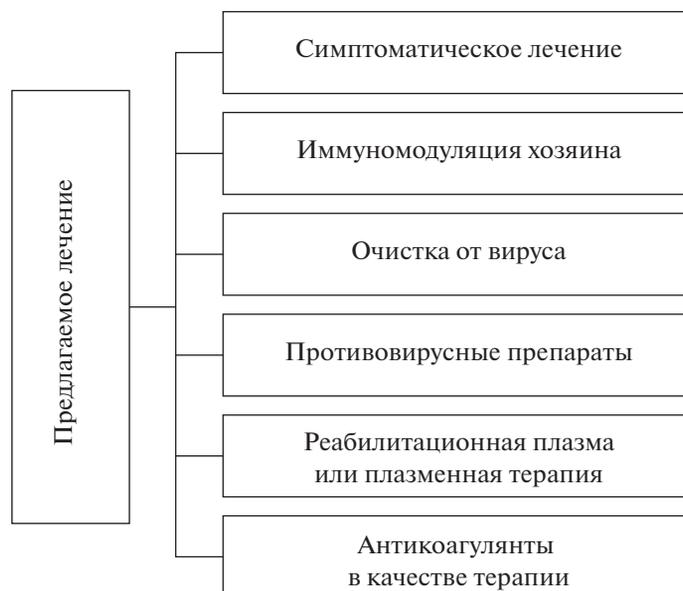


Рис. 3. Стратегии лечения инфекции COVID-19.

SARS-CoV-2 можно успешно контролировать (Wang et al., 2020).

Первым препаратом против нового коронавируса, который был одобрен на рынке Национальным управлением по медицинским продуктам после вспышки, был Фавилавир, ранее называемый капилавином. Лекарство было произведено фармацевтической компанией Чжэцзян Хисунь и, как полагают, играет важную роль в лечении и профилактике эпидемии.

На сегодня 482 из наиболее регулярных процедур у пациентов с SARS-CoV и MERS-CoV производились рибавирином или рибавирином в сочетании с различными типами IFN (Morgenstern et al., 2005; Omrani et al., 2014).

Рибавирин является аналогом нуклеозида, обладает широким спектром противовирусных свойств за счет предотвращения укупорки вирусной РНК и мРНК (von Grotthuss et al., 2003). Предыдущие исследования показали, что рибавирин-алиспоривир обладает улучшенными противовирусными свойствами против SARS-CoV и MERS-CoV (De Wilde et al., 2017).

Считалось, что при борьбе с SARS-CoV и MERS-CoV, а также с SARS-CoV-2, IFN, тимозин и внутривенный α -глобулин улучшают состояние иммунной системы (Xie, Chen, 2020).

Ранее исследователи продемонстрировали возможность улучшения результатов SARS-CoV (Chu et al., 2004) и MERS-CoV с помощью ингибиторов протеаз — ритонавира и лопинавира, используемых при лечении СПИДа (Arabi et al., 2015). Сообщалось, что вирусная нагрузка пациента с COVID-19 в Корее значительно снизилась после

лечения лопинавином/ритонавином (Lim et al., 2020).

Из этой последовательности препаратов в феврале 2020 г. была оценена (Wang et al., 2020) противовирусная эффективность пяти различных лекарств, одобренных FDA: хлорохина, рибавирина, нитазоксанида, пенцикловира, нафамостата и двух широко используемых противокоррозионных агентов фавипиравира против COVID-19. Это исследование показало эффективный контроль культуры клеток COVID-19 *in vitro* с помощью двух препаратов — хлорохина и ремдесивира. Препарат должен быть протестирован у пациентов с инфекцией COVID-19 на основе его профиля безопасности и эффективности при других вирусных инфекциях (Wang et al., 2020). В США на трех инфицированных COVID-19 пациентах протестирован ремдесивир во время вспышки, при этом выявлено улучшение симптомов без существенных побочных эффектов, что позволило FDA использовать продукт примерно у 250 пациентов. Что касается безопасности, то биофармацевтическая компания “Gilead Sciences, Inc.” объявила о проведении 3-й фазы клинических испытаний ремдесивира, чтобы продемонстрировать безопасность и эффективность при инфекции COVID-19. “Gilead” объявила о результатах начального клинического испытания 3-й фазы после предварительного расследования. В течение 14 дней лечения лекарство значительно снизило смертность и улучшило состояние в 64% случаев (<https://www.gilead.com/news-and-press/annual-report/year-in-review-2020/our-covid-19-response>). На основании этих результатов FDA выдало разрешение на использование ремдесивира

для экстренного применения против COVID-19, но полного глобального одобрения пока не получено (<https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-therapeutic-biological-products/novel-drug-approvals-2020>).

Хлорохин. FDA разрешило лечение малярии, артрита и волчанки препаратом хлорохин (Solomon, Lee, 2009). Исследования также показали, что хлорохин является успешным кандидатом для лечения SARS-CoV-2 (Touret, De Lamballerie, 2020). Хлорохин предотвращает связывание вируса и участвует в гликозилировании клеточного рецептора ACE2 и SARS-CoV, что уменьшает взаимодействие ACE2–SARS-CoV. *In vitro* было подтверждено, что хлорохин значительно подавляет распространение SARS-CoV путем вмешательства в ACE2 в клеточных линиях Vero E6 (Vincent et al., 2005; Wang et al., 2020). Национальная комиссия здравоохранения КНР сообщила о включении хлорохина в качестве тестового препарата в Руководство по COVID-19 (VI издание) из-за хороших результатов предварительных клинических испытаний. Хотя хлорохин и считается более безопасным вариантом лечения, чем другие лекарства, но его передозировка может привести к смертельной токсичности (Liu et al., 2020).

Гидроксихлорохин. Документация указывает, что гидроксихлорохин (гидроксильная производная хлорохина) может быть использован для лечения инфекций SARS-CoV-2 в качестве лучшей и более безопасной альтернативы хлорохину. Более того, исследования на животных показывают меньшую токсичность, чем у хлорохина (Liu et al., 2020). Была исследована *in vitro* (Liu et al., 2020) его противовирусная активность, по сравнению с хлорохином, при оценке эффективности гидроксихлорохина против инфекции SARS-CoV-2. Было показано, что гидроксихлорохин уменьшает инфекцию SARS-CoV-2 *in vitro*. В плазме инфицированных COVID-19 пациентов, в частности, наблюдается повышенный уровень цитокина, что приводит к усугублению тяжести заболевания. Согласно этому исследованию, цитокины могут быть снижены с помощью сывороточного гидроксихлорохина. Поэтому авторы предположили, что гидроксихлорохин может быть потенциально противоинфекционным кандидатом. Но в клинических моделях, относящихся к хлорохину, не существует доказательств того, что гидроксихлорохин эффективен при SARS-CoV-2 (Liu et al., 2020). Несколько стран предложили включить гидроксихлорохин для лечения пациентов с COVID-19 в больницы, а группам с высоким риском инфицирования, например медицинским работникам, — в качестве профилактики. Кроме того, многие компании зарегистрировали более 300 клинических испытаний по всему миру с целью изучения эффективности и безопасности этого лекарства для COVID-19 на основе обнаде-

живающих доклинических данных и более ранних клинических данных на небольшой популяции. Роль гидроксихлорохина при респираторных вирусных нагрузках у пациентов с COVID-19 была оценена в ходе открытого нерандомизированного клинического исследования. 26 пациентов с COVID-19 получали лечение в течение 10 дней с гидроксихлорохином по 600 мг/сут. Результаты показали, что вирусная нагрузка у большинства пациентов эффективно снимается на пятый день.

Фавипиравир, продаваемый как Авиган, был признан эффективным против COVID-19. В ходе клинического испытания 340 пациентов в г. Шэньчжэнь и г. Ухань министр науки и технологий Китая Синьминь Чжан заявил, что Фавипиравир дал положительные результаты. Этот препарат был разработан для лечения гриппа компанией “Toyama Chemical, Co., Ltd.” Экспериментальное лечение новых коронавирусных инфекций было одобрено на февраль 2020 г. В ходе исследования в Ухане лечение фавипиравиром снизило симптомы инфекции и уменьшило продолжительность лихорадки.

Бевацизумаб. Одобрение FDA США для лечения первой линии метастатического колоректального рака было получено 26.02.2004 относительно Бевацизумаба — рекомбинантного гуманизованного моноклонального антитела против VEGF (Cowling, Leung, 2020). Впоследствии FDA одобрило лечение некоторых видов рака: легких, почек, шейки матки, яичников и т.д. — с помощью этого продукта в сочетании с химиотерапией. Недавние исследования также показывают, что более высокие уровни VEGF в крови у пациентов с COVID-19 более опасны, по сравнению с традиционными легочными симптомами, в частности с одышкой, и острым респираторным расстройством. На этой основе Университетская больница Цилу Шаньдун также начала клинические испытания этого продукта при лечении COVID-19 (ClinicalTrials.gov).

Ингибиторы протеазы — одобренные Министерством сельского хозяйства США ингибиторы протеазы для лечения ВИЧ. Эти препараты также были ранее опробованы при лечении SARS-CoV. Однако их клиническая эффективность была неопределенной. Синтез структурных и функциональных полипротеиновых белков, таких как p1ab и p1a, которые способствуют дальнейшей репликации вирусов, является основной обязанностью ферментов протеазы. Было показано, что ингибиторы протеазы лопинавир/ритонавир ингибируют активность 3-химотрипсина — фермента протеазы, который играет важную роль в репликации и синтезе важнейших структурных белков (Chu et al., 2004; De Wilde et al., 2017).

Лопинавир/ритонавир был включен во многих странах в клинические рекомендации по лечению COVID-19, и к 14.06.2020 г. во всем мире было проведено 48 клинических испытаний (ClinicalTrial.gov). Однако данные клинических испытаний по безопасности и эффективности этих лекарств от инфекции COVID-19 очень ограничены, так как пока опубликовано только одно из них (Hung et al., 2020). Чтобы выяснить, как работает комбинация лопинавира и ритонавира, проведено (Сао et al., 2020) открытое рандомизированное и контролируемое клиническое исследование. Обнаружено, что в сочетании со стандартным лечением в предложенной комбинации не было значительного клинического улучшения и что смертность не была снижена, по сравнению со стандартной группой лечения. На основании этого вывода необходимы дальнейшие исследования с использованием дополнительных комбинированных препаратов для оценки эффективности лечения инфекции COVID-19 лопинавиром и ритонавиром (Belouzard et al., 2009).

На данный момент ни одно лекарственное средство для COVID-19 не одобрено FDA и ВОЗ, но все они находятся в стадии исследования и, возможно, результаты будут успешными. Текущие клинические исследования пациентов с SARS-CoV-2 показывают, что ремдесивир и гидроксихлорохин являются эффективными кандидатами на лекарства для лечения инфекции SARS-CoV-2. Однако эффективность и безопасность таких препаратов следует подтвердить надежными данными клинических испытаний, поскольку было зарегистрировано очень мало таких исследований. Эти исследования также необходимы для ответа на ряд вопросов: доза препарата, продолжительность лечения, определенные терапевтические параметры, выявление групп высокого риска и серьезные побочные эффекты.

*“Выздоровливающая плазма”
или плазменная терапия*

Простой, но очень эффективный метод лечения использовался не только у пациентов, выздоравливающих после коронавирусной инфекции, но и для лечения очень тяжелых случаев инфекции — терапия с помощью “выздоровливающей плазмы” или сыворотки. Быстрая реакция антител у недавно переболевших людей может быть использована для противодействия вирусам у пациентов, страдающих острым вирусным заболеванием. Во время вспышек лихорадки Эбола в Западной Африке в 2014–2015 гг. этот метод был успешным (Kraft et al., 2015), а также при лечении атипичной пневмонии (Mair-Jenkins et al., 2015) и MERS-CoV (Arabi et al., 2015). Однако разработка плазменной терапии для выздоравливающих

только частично помогла во время вспышки, поскольку увеличенное в геометрической прогрессии число больных пациентов превышает число доноров плазмы (Rabi et al., 2020). Во время вспышек эта терапия применялась без точных вакцин или лекарств (Arabi et al., 2015).

Антикоагулянты как терапевтические средства

Гепарин. Низкомолекулярный гепарин LMWH (low molecular weight heparin) обычно используется в качестве средства от COVID-19. Были учтены связи спайковых белков COVID-19, а также дерегуляция IL-6 (Mummery, Rider, 2000), которая усиливается у пациентов с COVID-19. Недавнее исследование показывает, как спайк S1 SARS-CoV-2 (SARS-CoV-2 S1 RBD) взаимодействует с гепарином, это может обеспечить разработку терапии на основе гепарина (Microft-West et al., 2020). Большой интерес представляют новые соединения гепарина для лечения COVID-19 (Zhang et al., 2020).

Дипиридамол. Антиагрегант дипиридамол (DIP) действует как ингибитор фосфодиэстеразы (PDE), который увеличивает соотношение цАМФ/цГМФ внутриклеточно (Gresele et al., 2011). В дополнение к известной антитромбоцитарной функции DIP может предложить пациентам с COVID-19 потенциальные терапевтические преимущества. Клинические испытания в Китае показали, что DIP особенно успешен в борьбе с РНК-вирусами в качестве противовирусного препарата широкого спектра действия (Xie, 2010).

Использование ингибиторов ACE2. Для проникновения вируса в клетку-хозяина требуется рецептор ACE2. Блокирование этого рецептора может успешно ограничить репликацию вирусов в организме. Ингибитор DX600, селективный ACE2, может показать хорошие результаты при инфекции SARS-CoV-2, но все еще необходимо изучить его клиническое значение (Huang et al., 2020).

**ПРЕВЕНТИВНЫЕ МЕРЫ ПРОТИВ
ПЕРЕДАЧИ COVID-19**

Болезнь COVID-19 имеет высокую скорость передачи от человека к человеку и через различные поверхности: металл, картон и пластик (Bedford et al., 2020). В результате ВОЗ и министерства здравоохранения многих стран выступают за различные профилактические меры, чтобы избежать распространения коронавируса SARS-CoV-2 (рис. 4).

Социальное дистанцирование. Люди должны держаться друг от друга на расстоянии не менее 3 м, в соответствии с руководящими принципами ВОЗ, чтобы ограничить риск передачи COVID-19 от человека к человеку. Кроме того, чтобы избежать передачи инфекции в сообществе, следует



Рис. 4. Меры против передачи COVID-19.

не допускать больших собраний. Чтобы предотвратить передачу инфекции, люди, которые вступают в тесный контакт с инфицированным человеком, должны быть отделены и помещены в карантин не менее чем на 14 дней (Yi et al., 2020).

Средства индивидуальной защиты (СИЗ). Медицинские работники носят СИЗ для защиты от инфекции SAR-CoV-2 и предотвращения вторичной передачи в больницах. Дыхательные маски: N95 (отфильтровывающие более 95% частиц, находящихся в воздухе), FFP2 (>94%) и FFP3 (>99%) – должны использоваться медицинскими работниками во избежание инфекции. Чтобы не допускать ошибок, медицинские работники должны пройти надлежащую подготовку по обращению с СИЗ. Кроме того, следует проявлять достаточную осторожность при отказе от старых СИЗ (Kraemer et al., 2020).

Дезинфицирующие средства для рук. Люди должны регулярно мыть руки с помощью дезинфицирующих средств на спиртовой основе, чтобы избежать заболевания коронавирусом. В качестве профилактической стратегии необходимо мыть руки с мылом и водой до и после еды (WHO, 2020).

Локдаун по всей стране. В связи с пандемической катастрофой и глобальным кризисом общественного здравоохранения Индия, вторая в мире страна по численности населения после Китая, ввела значительную блокировку по всей стране в четыре этапа с 25.03.2020 по 31.05.2020 в общей сложности на 68 дней (21 + 19 + 14 + 14), чтобы

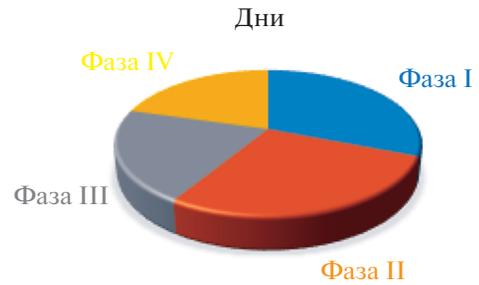


Рис. 5. Внедрение общенациональной изоляции в Индии.

свести к минимуму распространение и передачу инфекции (рис. 5).

Ежедневное наблюдение за лихорадкой. В попытке выявить людей с подозрением на лихорадку на железнодорожных станциях, станциях метро, в морских портах и в терминалах аэропортов были созданы контрольно-пропускные пункты для проверки температуры, чтобы контролировать всех путешественников с помощью тепловых сканеров.

Изоляция/карантин. Изоляция и карантин – это классическая, но высокоэффективная и действенная мера против всех опасных эпидемий. Человек с подозрением на лихорадку должен быть изолирован в своем доме в отдельной комнате, то есть находиться на карантине, либо выбрать карантин в зависимости от условий. ВОЗ предложила, чтобы люди, у которых нет хронических заболеваний (заболеваний сердца и легких, иммунодефицита или почечной недостаточности) и у которых обнаруживаются легкие симптомы, могли бы проводить изоляцию в домашних условиях (WHO, 2020). В неблагоприятных случаях больные должны быть госпитализированы, а серьезные случаи требуют немедленной госпитализации в отделение интенсивной терапии для обеспечения надлежащего медицинского лечения.

Вакцинация. Наиболее эффективным способом быстрой выработки иммунитета от COVID-19 является вакцинация. В то время как для разрыва цепи передачи требуются немедикаментозные меры: социальное дистанцирование, ношение масок и практическая гигиена рук, в борьбе с эпидемиями/пандемиями, вызванными экзотическими и высокоинфекционными вирусными этиологиями, вакцинация необходима для противостояния вирусу. Исследования проводились на основе живых или неактивированных вирусов, рекомбинантных вирусных векторов, ДНК, VLP и растворимых белков. Несколько разработчиков ведущих вакцин-кандидатов против COVID-19 указали, что они подали или планируют подать заявку на экстренное утверждение вакцины. Назначение вакцин-кандидатов для экстренного

использования создает многочисленные этические проблемы, в том числе и в случае проведения слепых испытаний: потенциальное влияние на другие исследования вакцин, поведение по снижению риска, сохранение теста и доверие к вакцине. Однако вакцина, стимулирующая защитный иммунный ответ, вызывает обеспокоенность по большей части относительно побочных проявлений после иммунизации. Реакция в виде анафилактического шока очень редка, для большинства вакцин – частота менее 1 доза/млн.

Хотя в настоящее время существует более 40 различных кандидатов на вакцину, самым впечатляющим фактом является то, что вакцина от Pfizer и BioNTech была первой, которая показала многообещающие данные по эффективности. Эффективность вакцины составила 90%. Риск вакцины заключается в том, что она не эффективна на 100% и ее эффективность снижается, если она не хранится при определенных температурах. Проблемы, связанные с вакцинами: 1) для хранения и транспортировки вакцины требуется очень низкая температура: –70°C для поддержания ее эффективности, 2) своевременное введение вакцины будет затруднено, если учесть, что получателям потребуется бустер в 21 день, и что отслеживание и введение этой вакцины в определенные сроки потребует значительных усилий (для максимального повышения ее эффективности). По состоянию на январь 2021 г. компания-производитель вакцины Pfizer–BioNTech BNT162b2 (<https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/pfizer-and-biontech-confirm-high-efficacy-and-no-serious>) с юридическим статусом в Аргентине, Бахрейне, Канаде, Саудовской Аравии, Чили, Коста-Рике, Эквадоре, ЕС, Израиле, Иордании, Кувейте, Мексике, Омане, Панаме, Сингапуре, Швейцарии, Великобритании, США, была одобрена ВОЗ и для Ассоциации университетов Европы EUA (European University Association); однако статус EUA ожидал рассмотрения в Австралии, Индии, Японии.

Вакцины, которые в настоящее время одобрены (EUA) для разрешения на экстренное использование против SARS-CoV-2, помимо Pfizer:

I. ChAdOx1 (Оксфорд/AstraZeneca; Covishield в Индии)

II. Спутник V (Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России)

III. Коваксин (BBV152) (Bharat Biotech, Индия)

IV. ЭпиВакКорона (Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор” Роспотребнадзора)

V. мРНК-1273 (Moderna, США)

<https://investors.modernatx.com/news-releases/news-release-details/moderna-announces-positive-initial-booster-data-against-sars-cov>

<https://investors.modernatx.com/news-releases/news-release-details/moderna-provides-clinical-and-supply-updates-covid-19-vaccine>

VI. BBIBP-CORV (Sinopharm, Пекинский институт и Уханьский институт Биологических Продуктов)

VII. Convidicea Ad5-nCoV (CanSino Biologics, Пекинский институт Биотехнологий, NPO Petrovax)

VIII. CoronaVac (Sinovac, Китай)

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВАКЦИН

Для разработки вакцины доступны многочисленные технологические методы (например, ДНК, РНК, инактивированный вирусный вектор, белковая субъединица). Характеристики вакцины: частота дозирования, скорость разработки, масштабируемость – зависят от типа используемого технологического метода. Хотя одни методы уже использовались ранее при разработке вакцин, другие – разрабатываются в последнее время. Например, мРНК-вакцины против бешенства, гриппа и вируса Зика ранее тестировались на животных (табл. 2).

Вакцины мРНК

BNT162b2, широко известная как Pfizer, представляет собой мРНК-вакцину, состоящую из нуклеозид-модифицированной мРНК (modRNA), на основе мессенджера, шифрующую оптимизированный домен, связывающий SARS-CoV-2-рецептор (RBD). Это серия двойных доз с интервалом в 21 день. Было установлено, что эффективность вакцины против исходного штамма SARS-CoV-2 составила 95% в течение семи дней после введения второй дозы, и серьезных проблем с безопасностью отмечено не было.

Текущее состояние:

Заявка на получение лицензии на биологические препараты (BLA), поданная 7.05.2021 г. в Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов для полного одобрения использования для лиц в возрасте 16 лет и старше.

Разрешение на чрезвычайное использование (EUA) было выдано в Соединенных Штатах лицам в возрасте от 12 лет и старше.

Национальный институт здравоохранения (NIH) проводит второй этап испытаний аллергических реакций на вакцину у пациентов с тяжелой аллергией. В процессе завершения испытания 3-й фазы у взрослых и подростков в возрасте 12 лет и старше. У беременных испытания фазы 2/3 начались в феврале 2021 г. Фаза 1/2/3 испытаний, начавшихся весной 2021 г., – у младенцев и детей в возрасте 6 месяцев и старше. У пожилых людей проходит 3-я фаза испытаний бустерной

Таблица 2. Особенности вакцин и процесса вакцинации

Тип вакцины	Характеристика	Доза	Производитель
мРНК	Быстрая скорость прогресса; масштаб производства от низкого до среднего	2	BNT162b2 (Pfizer, BioNTech); mRNA-1273 (Moderna)
ДНК	Высокая скорость разработки; средний масштаб производства	2	INO-4800 (Inovio) https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04642638
Векторный переносчик вирусов	Промежуточный рост; высокие инженерные масштабы	1 или 2	AZD-1222 Ad5-CoV (AstraZeneca, Oxford Univ.); Ad26.COV2.S (Johnson & Johnson)
Белковая субъединица	Разработка от среднего до быстрого уровня; высокие производственные масштабы	2	NVX-CoV2373 (Novavax)

Примечание: текущее состояние утвержденных вакцин по состоянию на 10.06.2021 г.

дозы BNT162b2 с последующей 20-валентной пневмококковой конъюгированной вакциной (20vPnC).

мРНК-1273. Антиген S-2P кодирует вакцину, известную как Moderna. Вакцинация проводится с интервалом в 4 нед. в виде серии двойных доз. Сообщается, что одна бустерная доза мРНК-1273 или мРНК-1273.351 у ранее вакцинированных участников клинических испытаний обеспечивает повышенные титры нейтрализации для SARS-CoV-2 и двух других тревожных вариантов (то есть V.1.351, P.1). Доза промотора для V.1.351 была выше, чем доза бустерной мРНК-1273 для мРНК-1273, соответствующих штамму заявителей.

Текущее состояние:

EUA рекомендовала в США для лиц в возрасте 18 лет и старше. EUA представила 10.06.2021 вакцину для подростков на основе исследования 2/3 фазы TeenCOVE (n = 3732), завершено у подростков в возрасте 12–17 лет и продемонстрировавшего 100%-ную эффективность после введения двух доз. Испытания NIH 2-й фазы аллергических реакций на вакцину у пациентов с тяжелой аллергией продолжаются. Завершена 3-я фаза испытания эффективности против коронавируса (COVE) у взрослых в США. Испытание фазы 2/3 KidCOVE для детей в возрасте от 6 месяцев и старше началось в марте 2021 г. (целевой набор 6750). Начало исследование второй фазы для кандидатов на бустерную вакцину. Для оценки назальной вирусной нагрузки и выделений планируется испытание 3-й фазы у студентов университета.

Вакцины против вирусных переносчиков

Ad26.COV2.S (Johnson & Johnson) представляет собой рекомбинантную векторную аденовирусную вакцину типа 26 (Ad26), вводимую в виде однократной инъекции JNJ-78436735, VAC31518. Ad26.COV2.S была надежна в защите во всех отношениях: расовом, возрастном, региональном; возрастные группы, включая пожилых людей, были изучены во всех вариантах и районах, в том числе в Южной Африке, где почти все случаи COVID-19 (95%) были вызваны инфекциями V.1.351 варианта SARS-CoV-2.

Текущее состояние:

Для взрослых в возрасте 18 лет и старше EUA в Соединенных Штатах.

Этап 3 испытания (ENSEMBLE) у взрослых завершен.

У беременных женщин испытание фазы 2 началось в феврале 2021 г.

Для оценки эффективности 1 или 2 доз испытание фазы 2a (ENSEMBLE 2) началось в конце 2020 г. Испытание ENSEMBLE 2 было расширено за счет включения подростков в апреле 2021 г.

AZD-1222 (ChAdOx1 nCoV-19; AstraZeneca, Covishield, Индия). Вакцина на основе векторов, содержащих поверхностный антиген гликопротеина (спайковый белок), является аденовирусом шимпанзе с дефицитом репликации. Его назначают с интервалом в 28 дней в виде серии двойных доз. Вакцина укрепляет вашу иммунную систему, вырабатывая антитела для атаки вируса SARS-CoV-2, если он позже заразит ваш орга-

низм. Вакцина AZD-1222 разрабатывалась быстрее, чем другие векторные вакцины, путем сравнительного тестирования с различными противокоронавирусными вакцинами в 2019 г. Сообщалось, что эффективность вакцин составила 76% после введения одной стандартной суточной дозы вакцины в период с 22 по 90 день.

Текущее состояние:

Представление EUA в Соединенных Штатах находится на рассмотрении; одобрено для применения в Соединенном Королевстве и других странах.

Испытания фазы 3 завершены в Соединенных Штатах в марте 2021 г.

В Соединенном Королевстве планируется провести 3-ю фазу испытаний для оценки безопасности и иммунного ответа у детей и молодых людей в возрасте 6–17 лет.

Однако также сообщалось о случаях тромбоза с тромбоцитопенией (TTS) с вакцинами Ad26.COV2.S (Янссен [Johnson & Johnson]) и AZD-1222 (ChAdOx1 nCoV-19; AstraZeneca). Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов временно приостановило использование Ad26.COV2.S в середине апреля 2021 г., чтобы Консультативный комитет CDC по практике иммунизации (ACIP) мог оценить редкие случаи тромбоза синуса мозговой вены. ACIP подтвердил свою предварительную рекомендацию использовать вакцину Janssen COVID-19 для всех лиц в возрасте 18 лет и старше в соответствии с FDA EUA после обсуждения преимуществ и рисков возобновления вакцинации. В настоящее время EUA предупреждает о редких случаях свертывания крови после иммунизации, в основном среди женщин в возрасте от 18 до 49 лет. Риск смерти, включая тромбоз, и серьезные последствия от COVID-19 перекрывают возможности чрезвычайно успешных вакцин.

Вакцины из белковых субъединиц

NVX-CoV2373 (Novavax) (<https://ir.novavax.com/news-releases/news-release-details/novavax-confirms-high-levels-efficacy-against-original-and-0>) разработан с использованием технологии рекомбинантных наночастиц из генетической последовательности SARS-CoV-2 для создания полноразмерной префузионной конформации белка спайка (S). Это объединяется с адьювантом (Матрица-М). Результаты доклинических исследований показывают, что он эффективно связывается с человеческими рецепторами, на которые нацелен вирус. Он вводится в виде серии из 2 доз с интервалом в 21 день. Рассматриваемая эффективность исходного штамма 96.4%.

Текущее состояние:

Первичные результаты опубликованы в Соединенном Королевстве в ходе испытания 3-й фазы.

В Южной Африке опубликованы первичные результаты этапа 2b.

Этап 3 испытания (PREVENT-19) в Соединенных Штатах и Мексике; по оценкам, зачисление 30000 человек завершится в середине февраля 2021 г.

Необходимо обеспечить, чтобы все исследователи непрерывно получали информацию о перекрестных испытаниях вакцин, начатых в Южной Африке, Соединенном Королевстве и Соединенных Штатах в марте/апреле 2021 г.

С целью охвата 3000 человек в 75 центрах США испытание среди подростков в возрасте 12–17 лет началось в мае 2021 г.

Вирусные варианты и вакцины

Вирусные мутации могут естественным образом произойти в любом месте генома SARS-CoV-2. В отличие от генома ДНК человека, который медленно мутирует, РНК-вирусы способны мутировать легко и быстро. Вызывающие озабоченность варианты (VOCs) могут снизить эффективность вакцин, что становится очевидным по очень низкому уровню вакциноиндуцированной защиты от тяжелых форм заболевания. CDC отслеживает пропорции вариантов в Соединенных Штатах и подсчитал, что вариант B.1.1.7 (впервые обнаруженный в Соединенном Королевстве) со 2.01. по 13.03.2021 г. составил более 27% случаев. 7.04.2021 г. CDC объявил B.1.1.7 доминирующим штаммом, циркулирующим в Соединенных Штатах.

Усиленный геномный надзор в некоторых странах выявил другие VOCs, в том числе B.1.351 (501Y.V2), впервые обнаруженный в Южной Африке, и B.1.1.28 (переименованный в P.1) (501Y.V3), который был обнаружен при обычном досмотре в аэропорту Токио у 4 путешественников из Бразилии. Изменение варианта B.1.1.7, которое включает мутацию E484K (B.1.1.7+E484K), которая была обнаружена в начале 2021 г., усиливает эти опасения. CDC также отслеживает VOCs B.1.427 и B.1.429, которые появились в Калифорнии. Однако другое исследование предполагает, что антитела, вызванные первичной инфекцией и вакциной с мРНК BNT162b2, вероятно, сохраняют защитную эффективность против B.1.1.7 и большинства других вариантов, но частичная конфронтация вируса с белком спайка B.1.351 может сделать некоторых людей менее защищенными, поддерживая обоснование разработки модифицированных вакцин, содержащих мутацию E484K (Liu et al., 2021).

Последний вариант Дельты (B.1.617.2), быстро распространившийся в Индии, появился в Соединенных Штатах в середине 2021 г. Оказывается,

Таблица 3. Различные этапы разработки и клинических испытаний вакцин-кандидатов (дополнение к табл. 2)

Вакцина	Примечание
INO-4800 (Inovio Pharmaceuticals)	Вакцина на основе ДНК, двойная доза, стабильна более 1 года при комнатной температуре; не требуется замороженной доставки. Продолжение испытания фазы 2/3 (INNOVATE); фазы 2 – для оценки выборки из 400 участников в режиме 2 доз (1 мг или 2 мг)
CVnCoV (CureVac)	мРНК, вакцина с двойной дозой. На нескольких европейских и латиноамериканских сайтах с целью регистрации 35 000 заявителей в декабре 2020 г. началась фаза 2b/3 испытания (HERALD) дозы мРНК 12 мкг (в 1-й и 29-й дни). Ассоциированные партнеры: Bayer, GlaxoSmithKline и Novartis для производства https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04652102
Рекомбинантная белковая адъювантная вакцина (Sanofi и GSK)	95–100%-ная сероконверсия наблюдалась в промежуточных результатах фазы 2 (n = 722) после двух доз, с большим уровнем нейтрализующих антител, сравнимым с естественной инфекцией. Это указывает на большой потенциал разработки в качестве бустерной вакцины, о чем свидетельствует высокий уровень нейтрализующих антител у участников после одного укола. Пробный этап 3 начинается с целевого набора 35000 человек в середине 2021 г. https://www.sanofi.com/en/media-room/press-releases/2021/2021-05-17-07-30-00-2230312 https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04672395 https://www.reuters.com/article/uk-health-coronavirus-sanofi-vaccines-idUKKBN2AD0PT
S-тример с CpG 1018 адъювантная вакцина (Clover и Dynavax)	Фаза 2/3 испытания (SPECTRA) вакцины на основе белка S-тримера COVID-19 субъединицы Clover, адъювантной CpG 1018 плюс квасцы Dynavax. Введение 2 доз с интервалом в 21 день; испытание началось в марте 2021 г. в Латинской Америке, Азии, Европе и Африке
VLA2001 с CpG 1018-адъювантом (Valneva и Dynavax)	Инактивированная цельновирусная вакцина. В Соединенном Королевстве в рамках 3-й фазы исследования (Cover-Compare) будет проведено сравнение иммуногенности VLA 2001 с AZD-1222 примерно у 4 000 взрослых https://valneva.com/press-release/valneva-initiates-phase-3-clinical-trial-for-its-inactivated-adjuvanted-covid-19-vaccine-candidate-vla2001/
UB-612 – вакцина на основе многоцепочечных пептидов (COVAXX (United Biomedical, Inc.))	Включенные аминокислотные последовательности для домена рецепторов SARS-CoV-2; дополнительно разработан для восстановления памяти, активации Т-клеток и эффекторной функции с использованием дизайнерских пептидов эпитома Th и CTL, полученных из мембраны, субъединиц S2 и областей ядерной защиты структурных белков SARS-CoV-2. Начало этапа 2 испытания на Тайване и этапа 2/3 испытания в Бразилии в первом квартале 2021 г. https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04545749 Чтобы создать новую компанию, можно призвать Vaxinity включить платформы вакцин обеих компаний (Covaxx, объединенная со своей дочерней компанией United Neuroscience)
HaloVax (Hoth Therapeutics; Voltron Therapeutics)	Сотрудничество с Центром вакцинации и иммунотерапии Массачусетской больницы общего профиля; использование самосборной вакцинной платформы VaxCelerate обеспечивает 1 фиксированный иммунный адъювант и 1 переменное иммунное назначение для обеспечения быстрого развития https://hoththerapeutics.com/pipeline/halo-vax/

Таблица 3. Продолжение

Вакцина	Примечание
SARS-CoV-2-вакцина с наночастицами (Ufovax)	Разработка прототипов вакцин с использованием технологии платформы самосборки белка наночастиц (1c-SAPNP) https://www.ufovax.com/ufovax-announces-its-self-assembling-nanoparticles-as-the-next-generation-vaccine-solution-for-covid-19/
PDA0203 (PDS Biotechnology Corp.)	Использует платформу активации Т-клеток Versamune для разработки вакцины https://www.pdsbiotech.com/pipeline/infectious-disease
CoVLP (Medicago и GlaxoSmithKline)	Сочетает в себе рекомбинантные вирусоподобные частицы коронавируса Medicago (RCOVLP) с адъювантной системой GSK. В марте 2021 г. было начато испытание фазы 3 с целью первоначально охватить 30 000 здоровых взрослых в возрасте от 18 до 65 лет, а затем лиц в возрасте 65 лет и старше с сопутствующими заболеваниями. Первоначально начатое в Канаде и США, испытание будет проходить в 10 странах https://www.medicago.com/en/newsroom/medicago-and-gsk-announce-start-of-phase-2-3-clinical-trials-of-adjuvanted-covid-19-vaccine-candidate
Covaxin (BBV152; Bharat Biotech и Ocugen)	Совместная разработка с Ocugen. Кандидат на вакцину на основе цельного вириона, инактивированного COVID-19. Разработано и изготовлено на биозащищенном объекте Bharat Biotech 3-го уровня биобезопасности, анонсированном для рынка США. В январе 2021 г. получил EUA в Индии после полностью зарегистрированного испытания фазы 3 (n ~ 25 800). В Индии результаты промежуточной фазы 3 с эффективностью 81% были опубликованы в марте 2021 г. Второй промежуточный анализ результатов фазы 3 в конце апреля 2021 г. показал эффективность 78% против инфекции легкой и средней степени тяжести и 100% против тяжелой COVID-19 https://ir.ocugen.com/news-releases/news-release-details/ocugens-covid-19-vaccine-co-development-partner-bharat-biotech-0
Рекомбинантная вакцина против аденовируса 5-го типа (вакцина против Ad5-вектора; Sinopharm (China))	Одобрено в Китае и Саудовской Аравии; предварительные данные: эффективность 86%; испытание фазы 2: сероконверсия нейтральных антител наблюдается у 59%, связывающие антитела – у 96–97% участников, положительные специфические клеточные реакции – у 88–90% участников. Вакцины для экстренного применения, одобренные ВОЗ в мае 2021 г., для лучшего распространения через Covax среди бедных стран
CoronaVac (Ad5-векторная вакцина; Sinovac (China))	Ограниченное использование в Китае. Промежуточные отчеты об эффективности фазы 3 сильно отличаются при нескольких испытаниях. Исследование, проведенное в Бразилии, показало эффективность 50–90%. Однако турецкое исследование сообщает об эффективности 91.25% (n = 7371; анализ данных на основе 1322 участников – 752 вакцины и 570 плацебо) https://www.reuters.com/article/us-health-coronavirus-sinovac/piecemeal-data-releases-threaten-to-undermine-sinovacs-covid-19-vaccine-idUSKBN2920QQ
гAd26 (замороженные) и векторные (лиофилизированные) составы на основе гAd5 (Спутник V; НИЦЭМ им. Н. Ф. Гамалеи, Москва, Россия)	Одобен в России. Ген полноразмерного гликопротеина S SARS-CoV-2 переносится каждым вакцинным вектором. В ходе фазы 3 исследования вводили 2 дозы с интервалом в 21 день (гAD26, затем гAd5), назначенные в соотношении 3:1 – вакцина:плацебо – 16501:5476. Промежуточный анализ результатов через 21 день после первой дозы (день дозы 2) подтверждает заражение COVID-19 у 0.1% группы вакцины по сравнению с 1.3% группы плацебо. Эффективность вакцины 91.3%

Таблица 3. Окончание

Вакцина	Примечание
hAd5 T-cell (ImmunityBio и NantKwest)	Продолжение исследования фазы 1; нацелен на внутренний нуклеокапсид (N) и внешний спайк (S), которые были разработаны для активации Т-клеток и антител SARS-CoV-2. Эти двойные структуры дают возможность кандидату на вакцину обеспечить длительный иммунитет, обусловленный клеточными препаратами, с мощной стимуляцией антител для пациентов как с белками S, так и с белками N. Исследование фазы 1 с оральным или сублингвальным бустером комнатной температуры было расширено, чтобы включить начальную первичную вакцину SC для индуцирования полной иммунной защиты и выработки как системных, так и слизистых антител
MRT5500 (Sanofi и Translate Bio)	Кандидат на вакцину на основе мРНК; доклиническая оценка продемонстрировала осенью 2020 г. благоприятную способность выделять нейтрализующие антитела с использованием 2-дозового режима, вводимого с интервалом в 3 недели. Несмотря на это, “Sanofi” объявила, что вакцина не будет готова к началу клинических испытаний до второй половины 2021 г., и она может быть использована на более позднем этапе против различных вариантов
AG0302-COVID19 (AnGes и Brickell Biotech)	Адьювантная ДНК-вакцина — фаза 1/2 исследований в Японии; данные, полученные в первом квартале 2021 г.; намерение провести испытания на стадии 3 в Соединенных Штатах и Южной Америке https://ir.brickellbio.com/news/detail/35/anges-and-brickell-biotech-announce-a-collaboration
SARS-CoV-2-вакцина с наночастицами спайкового ферритина (spFN) с адьювантом ALFQ (Исследовательский институт армии Уолтера Рида)	Исследование фазы 1 началось 1.04.2021 г. Доклиническое исследование на обезьянах показало, что вакцины в 2 дозы обеспечивают высокий уровень антител. Планы разработки включают новую версию вакцины с белками других коронавирусов https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04784767
Субъединица EPV-CoV-19 (EpiVax), вакцина, направленная на эпитоп Т-клеток	Доклинические валидационные исследования завершены. Клиническое испытание ожидается в начале 2021 г. Прекращена разработка вакцины
Кандидаты на вакцину V590 и V591 (Merck) V590 и V591 (субъединичные вакцины)	Исследования фазы 1 показали, что иммунный ответ был ниже, чем у естественной инфекции, а также в сравнении с другими вакцинами против SARS-CoV-2 https://www.merck.com/news/merck-discontinues-development-of-sars-cov-2-covid-19-vaccine-candidates-continues-development-of-two-investigational-therapeutic-candidates/

это главный вариант в Соединенном Королевстве весной 2021 г. Обнаружено (Edaga et al., 2021), что этот вариант в 6.8 раза более устойчив к нейтрализации сыворотками выздоравливающих от COVID-19 и вакцинированных мРНК людей. Однако исследование, проведенное Министерством здравоохранения Англии, показало, что действенность вакцины BNT162b2 была снижена с 93.4% при варианте B.1.1.7 до 87.9% при варианте Дельта через 2 нед. после введения второй дозы.

Незначительное снижение нейтрализации не считается клинически значимым в отношении эффективности вакцины из-за очень высокой эффективности каждой вакцины с мРНК (при-

близительно 95%) по отношению к эталонному вирусному штамму Ухань. Исследование, проведенное в Соединенном Королевстве в период с 1.11.2020 г. по 14.01.2021 г., показало, что эффективность AZD-1222 против варианта B.1.1.7 аналогична эффективности вакцины против других линий (табл. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эпидемиологическая обстановка в мире постоянно меняется. Ученые и медики продолжают научную деятельность по выявлению особенностей вируса, анализу течения заболевания, отра-

ботке методов лечения, а также по уточнению способов профилактики и предотвращения дальнейшего распространения эпидемии. Эта работа не может считаться завершённой, поэтому невозможно подвести окончательные итоги какого-либо исследования.

Число опубликованных научных работ по темам: SARS-CoV-2, COVID-19, coronavirus – постоянно растёт и на момент публикации данной статьи приближается к 90 тыс. Эта ситуация уже названа пандемией научных публикаций.

Для более контекстного понимания ряда тем, изложенных в данной статье, мы предлагаем обратиться к следующим источникам: Adhikari et al., 2020; Amit et al., 2021; Andersen et al., 2020, 2021; Berry et al., 2015; Coronavirus..., 2020; COVID-19..., 2021; Dhama et al., 2020; Doria-Rose et al., 2021; Ganesh et al., 2021; Galloway et al., 2021; Guan et al., 2003; Jeyanathan et al., 2020; Keech et al., 2020; Kim et al., 2020; Koirala et al., 2020; Lai et al., 2020; Le et al., 2020; Lippi, Plebani, 2020; Logunov et al., 2021; Lu et al., 2020; Lurie et al., 2020; MacNeil et al., 2021; Muik et al., 2021; Padron-Regalado, 2020; Polack et al., 2020; Robbins, Mueller, 2020; Rouquet et al., 2005; Sadoff et al., 2021; Safety and..., 2021; Shaik et al., 2022; Su et al., 2016; Turner et al., 2021; Vaxart to..., 2021; Voysey et al., 2021; Yang et al., 2020; Yoo, 2020; Zhu et al., 2020.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья является обзором, поэтому не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Adhikari S.P., Meng S., Wu Y.J. et al.* Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review // *Infect. Dis. Poverty*. 2020. V. 9. P. 29.
- Amit S., Regev-Yochay G., Afek A. et al.* Early rate reductions of SARS-CoV-2 infection and COVID-19 in BNT162b2 vaccine recipients // *Lancet*. 2021. V. 397 (10277). P. 875–877.
- Andersen K.G., Rambaut A., Lipkin W.I. et al.* The proximal origin of SARS-CoV-2 // *Nat. Med.* 2020. V. 26. P. 450–452.
- Anderson R.M., Heesterbeek H., Klinkenberg D., Hollingsworth T.D.* How will country-based mitigation measures influence the course of the COVID-19 epidemic? // *Lancet*. 2020. V. 395. P. 931–934.
- Angeletti S., Benvenuto D., Bianchi M. et al.* COVID-2019: the role of the nsp2 and nsp3 in its pathogenesis // *J. Med. Virol.* 2020. V. 92. P. 584–588.
- Arabi Y., Balkhy H., Hajeer A.H. et al.* Feasibility, safety, clinical, and laboratory effects of convalescent plasma therapy for patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a study protocol // *Springerplus*. 2015. V. 4. P. 709.
- Baden R.L., El Sahly H.M., Essink B. et al.* Efficacy and safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 vaccine // *N. Engl. J. Med.* 2021. V. 384 (5). P. 403–416.
- Bedford J., Enria D., Giesecke J. et al.* COVID-19: towards controlling of a pandemic // *Lancet*. 2020. V. 395. P. 1015–1018.
- Belouzard S., Chu V.C., Whittaker G.R.* Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites // *PNAS USA*. 2009. V. 106. P. 5871–5876.
- Berry M., Gamiieldien J., Fielding B.C.* Identification of new respiratory viruses in the new millennium // *Viruses*. 2015. V. 7. P. 996–1019.
- Bonilla-Aldana D.K., Holguin-Rivera Y., Cortes-Bonilla I. et al.* Coronavirus infections reported by ProMED, February 2000–January 2021 // *Travel. Med. Infect. Dis.* 2020. V. 2020. P. 101575.
- Cameron M.J., Bermejo-Martin J.F., Danesh A. et al.* Human immunopathogenesis of severe acute respiratory syndrome (SARS) // *Virus Res.* 2008. V. 133. P. 13–19.
- Cao B., Wang Y., Wen D. et al.* A trial of lopinavir-ritonavir in adults hospitalized with severe COVID-19 // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 382. P. 1787–1799.
- Cascella M., Rajnik M., Cuomo A. et al.* Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19) // *Stat Pearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020. PMID: 32150360.
- Chen N., Zhou M., Dong X. et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study // *Lancet*. 2020. V. 395. P. 507–513.
- Chen Z., Tong L., Zhou Y. et al.* Childhood 593 COVID-19: a multicentre retrospective study // *Clin. Microbiol. Infect.* 2020. V. 26 (9). P. 1260.e1–1260.e4.
- Chu C.M., Cheng V.C., Hung I.F. et al.* Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings // *Thorax*. 2004. V. 59. P. 252–256.
- Coronavirus (COVID-19): managing stress and anxiety. Melbourne: Univ. Melbourne, 2020. <https://services.unimelb.edu.au/counsel/resources/wellbeing/coronavirus-covid-19-managing-stress-and-anxiety>.
- COVID-19 subcutaneously and orally administered supplemental vaccine boost to enhance T cell protection in those who have already received EUA S-based vaccines. ClinicalTrials.gov. Available at <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04845191>. 2021 Apr 14; Accessed: April 29, 2021.
- Cowling B.J., Leung G.M.* Epidemiological research priorities for public health control of the ongoing global novel

- coronavirus (2019-nCoV) outbreak // *Euro Surveill.* 2020. V. 25 (6). P. 2000110.
- Cui J., Li F., Shi Z.L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses // *Nat. Rev. Microbiol.* 2019. V. 17 (3). P. 181–192.
- De Wilde A.H., Falzarano D., Zevenhoven-Dobbe J.C. et al. Alisporivir inhibits MERS- and SARS-coronavirus replication in cell culture, but not SARS-coronavirus infection in a mouse model // *Virus Res.* 2017. V. 228. P. 7–13.
- De Wit E., van Doremalen N., Falzarano D., Munster V.J. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses // *Nat. Rev. Microbiol.* 2016. V. 14. P. 523–534.
- Dhama K., Sharun K., Tiwari R. et al. COVID-19, an emerging coronavirus infection: advances and prospects in designing and developing vaccines, immunotherapeutics, and therapeutics // *Hum. Vaccin. Immunother.* 2020. V. 16 (6). P. 1232–1238.
- Doria-Rose N., Suthar M.S., Makowski M. et al. Antibody persistence through 6 months after the second dose of mRNA-1273 vaccine for COVID-19 // *N. Engl. J. Med.* 2021. V. 384 (23). P. 2259–2261.
- Du L., He Y., Zhou Y. et al. The spike protein of SARS-CoV – a target for vaccine and therapeutic development // *Nat. Rev. Microbiol.* 2009. V. 7. P. 226–236.
- Edara V.V., Lai L., Sahoo M.K. et al. Infection and vaccine-induced neutralizing antibody responses to the SARS-CoV-2 B.1.617.1 variant // *bioRxiv.* 2021. <https://doi.org/10.1101/2021.05.09.443299>
- Fehr A.R., Perlman S. Coronaviruses: an overview of their replication and pathogenesis // *Meth. Mol. Biol.* 2015. V. 1282. P. 1–23.
- Ganesh B., Rajakumar T., Malathi M. et al. Epidemiology and pathobiology of SARS-CoV-2 (COVID-19) in comparison with SARS, MERS: an updated overview of current knowledge and future perspectives // *Clin. Epidemiol. Glob. Health.* 2021. V. 10. P. 100694. <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2020.100694>
- Galloway S.E., Paul P., MacCannell D.R. et al. Emergence of SARS-CoV-2 B.1.1.7 lineage – United States, December 29, 2020 – January 12, 2021 // *Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2021. V. 70 (3). P. 95–99.
- Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S. et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: the species and its viruses – a statement of the coronavirus study group // *bioRxiv.* 2020. 2020.02.07.937862. P. 1–15.
- Gresele P., Momi S., Falcinelli E. Anti-platelet therapy: phosphodiesterase inhibitors // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2011. V. 72. P. 634–646.
- Guan W.J., Ni Z.Y., Hu Y. et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 382 (18). P. 1708–1720.
- Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q. et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China // *Science.* 2003. V. 302. P. 276–278.
- Guo Y.R., Cao Q.D., Hong Z.S. et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak – an update on the status // *Mil. Med. Res.* 2020. V. 7. P. 11.
- Hall M.W., Joshi I., Leal L., Ooi E.E. Immune modulation in COVID-19: strategic considerations for personalized therapeutic intervention // *Clin. Infect. Dis.* 2020. V. 74 (1). P. c1aa904.
- Heymann D.L., Shindo N. COVID-19: what is next for public health? // *Lancet.* 2020. V. 395. № 10224. P. 542–545.
- Holshue M.L., DeBolt C., Lindquist S. et al. First case of 2019 novel coronavirus in the United States // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 382. P. 929–936.
- Huang C., Wang Y., Li X. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China // *Lancet.* 2020. V. 395. P. 497–506.
- Hung I.F.-N., Lung K.-C., Tso E.Y.-K. et al. Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir-ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomized, phase 2 trial // *Lancet.* 2020. V. 395. Iss. 10238.
- Hulswit R.J.G., Lang Y., Bakkens M.J.G. et al. Human coronaviruses OC43 and HKU1 bind to 9-O-acetylated sialic acids via a conserved receptor-binding site in spike protein domain A // *PNAS USA.* 2019. V. 116. P. 2681–2690.
- Imai Y., Kuba K., Rao S. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure // *Nature.* 2005. V. 436. P. 112–116.
- Jeyanathan M., Afkhami S., Smaill F. et al. Immunological considerations for COVID-19 vaccine strategies // *Nat. Rev. Immunol.* 2020. V. 20 (10). P. 615–632.
- Keech C., Albert G., Cho I. et al. Phase 1–2 trial of a SARS-CoV-2 recombinant spike protein nanoparticle vaccine // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 383 (24). P. 2320–2332.
- Kim E., Erdos G., Huang S. et al. Microneedle array delivered recombinant coronavirus vaccines: immunogenicity and rapid translational development // *eBioMedicine.* 2020. V. 55. P. 102743.
- Koirala A., Joo Y.J., Khatami A. et al. Vaccines for COVID-19: the current state of play // *Paediatr. Respir. Rev.* 2020. V. 35. P. 43–49.
- Kraemer M.U.G., Yang C.H., Gutierrez B. et al. The effect of human mobility and control measures on the COVID-19 epidemic in China // *Science.* 2020. V. 368. P. 493–497.
- Kraft C.S., Hewlett A.L., Koepsell S. et al. The use of TKM-100802 and convalescent plasma in 2 patients with Ebola virus disease in the United States // *Clin. Infect. Dis.* 2015. V. 61. P. 496–502.
- Kuba K., Imai Y., Rao S. et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury // *Nat. Med.* 2005. V. 11. P. 875–879.
- Lai C.C., Shih T.P., Ko W.C. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges // *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2020. V. 55. P. 105924.

- Lam T.T., Jia N., Zhang Y.W. et al. Identifying 660 SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins // *Nature*. 2020. V. 583. P. 282–285.
- Le T.T., Andreadakis Z., Kumar A. et al. The COVID-19 vaccine development landscape // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2020. V. 19 (5). P. 305–306.
- Lee I.K., Wang C.C., Lin M.C. et al. Effective strategies to prevent coronavirus disease-2019 (COVID-19) outbreak in hospital // *J. Hosp. Infect.* 2020. V. 105 (1). P. 102–103.
- Li X., Wang W., Zhao X. et al. Transmission dynamics and evolutionary history of 2019-nCoV // *J. Med. Virol.* 2020. V. 92 (5). P. 501–511.
- Lim J., Jeon S., Shin H.Y. et al. Case of the index patient who caused tertiary transmission of COVID-19 infection in Korea: the application of lopinavir/ritonavir for the treatment of COVID-19 infected pneumonia monitored by quantitative RT-PCR // *J. Korean. Med. Sci.* 2020. V. 35. P. e79.
- Lippi G., Plebani M. The novel coronavirus (2019-nCoV) outbreak: think the unthinkable and be prepared to face the challenge // *Diagnosis (Berl)*. 2020. V. 7 (2). P. 79–81.
- Liu J., Cao R., Xu M. et al. Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection *in vitro* // *Cell Discov.* 2020. V. 6. P. 16.
- Liu Y., Liu J., Xia H. et al. Neutralizing activity of BNT162b2-elicited serum // *N. Engl. J. Med.* 2021. V. 384 (15). P. 1466–1468.
- Logunov D.Y., Dolzhenkova I.V., Shcheblyakov D. et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia // *Lancet*. 2021. V. 397. Iss. 10275. P. 671–681. [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)00234-8/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)00234-8/fulltext)
- Lu H., Stratton C.W., Tang Y.W. Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: the mystery and the miracle // *J. Med. Virol.* 2020. V. 92. P. 401–402.
- Lurie N., Saville M., Hatchett R., Halton J. Developing COVID-19 vaccines at pandemic speed // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 382 (21). P. 1969–1973.
- MacNeil J.R., Su J.R., Broder K.R. et al. Updated recommendations from the advisory Committee on immunization practices for use of the Janssen (Johnson & Johnson) COVID-19 vaccine after reports of thrombosis with thrombocytopenia syndrome among vaccine recipients – United States, April 2021 // *Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2021. V. 70 (17). P. 651–656.
- Mair-Jenkins J., Saavedra-Campos M., Baillie J.K. et al. The effectiveness of convalescent plasma and hyperimmune immunoglobulin for the treatment of severe acute respiratory infections of viral etiology: a systematic review and exploratory meta-analysis // *J. Infect. Dis.* 2015. V. 211. P. 80–90.
- Morgenstern B., Michaelis M., Baer P.C. et al. Ribavirin and interferon beta synergistically inhibit SARS-associated coronavirus replication in animal and human cell lines // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. V. 326. P. 905–908.
- Muik A., Wallisch A.K., Sanger B. et al. Neutralization of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 pseudovirus by BNT162b2 vaccine-elicited human sera // *Science*. 2021. V. 371 (6534). P. 1152–1153.
- Mulangu S., Dodd L.E., Davey R.T.Jr. et al. A randomized, controlled trial of Ebola virus disease therapeutics // *N. Engl. J. Med.* 2019. V. 381. P. 2293–2303.
- Mummery R.S., Rider C.C. Characterization of the heparin-binding properties of IL-6 // *J. Immunol.* 2000. V. 165. P. 5671–5679.
- Mycroft-West C., Su D., Elli S. et al. The 2019 coronavirus (SARS-CoV-2) surface protein (spike) S1 receptor binding domain undergoes conformational change upon heparin binding // *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.02.29.971093>
- Omrani A.S., Saad M.M., Baig K. et al. Ribavirin and interferon alfa-2a for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: a retrospective cohort study // *Lancet Infect. Dis.* 2014. V. 14. P. 1090–1095.
- Padron-Regalado E. Vaccines for SARS-CoV-2: lessons from other coronavirus strains // *Infect. Dis. Ther.* 2020. V. 9 (2). P. 1–20.
- Park Y.-J., Walls A.C., Wang Z. et al. Structures of MERS-CoV spike glycoprotein in complex with sialoside attachment receptors // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2019. V. 26. P. 1151–1157.
- Polack F.P., Thomas S.J., Kitchin N. et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 383 (27). P. 2603–2615.
- Prompetchara E., Ketloy C., Palaga T. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERS epidemic // *Asian Pac. J. Allerg. Immunol.* 2020. V. 38. P. 1–9.
- Rabi F.A., Al Zoubi M.S., Kasasbeh G.A. et al. SARS-CoV-2 and coronavirus disease 2019: what we know so far // *Pathogens*. 2020. V. 9. P. 231.
- Robbins R., Mueller B. After admitting mistake, AstraZeneca faces difficult questions about its vaccine // *The New York Times*. 2020. Nov. 25. Available at <https://www.nytimes.com/2020/11/25/business/coronavirus-vaccine-astrazeneca-oxford.html>.
- Rothan H.A., Byrareddy S.N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak // *J. Autoimmun.* 2020. V. 109. P. 102433.
- Rouquet P., Froment J.M., Bermejo M. et al. Wild animal mortality monitoring and human Ebola outbreaks, Gabon and Republic of Congo, 2001–2003 // *Emerg. Infect. Dis.* 2005. V. 11. P. 283–290.
- Sadoff J., Gray G., Vandebosch A. et al. Safety and efficacy of single-dose Ad26.COV2.S vaccine against COVID-19 // *N. Engl. J. Med.* 2021. V. 384 (23). P. 2187–2201.
- Safety and immunogenicity of AdCOVID in healthy adults (COVID-19 vaccine study). *ClinicalTrials.gov*. Available at <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04679909>. 2021. Feb 24; Accessed: April 29, 2021.

- Schoeman D., Fielding B.C.* Coronavirus envelope protein: current knowledge // *Virol. J.* 2019. V. 16. P. 69.
- Shaik K.M., Sarmah B., Wadekar G.S., Kumar P.* Regulatory updates and analytical methodologies for nitrosamine impurities detection in sartans, ranitidine, nizatidine and metformin along with sample preparation techniques // *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2022. V. 52 (1). P. 53–71.
<https://doi.org/10.1080/10408347.2020.1788375>
- Shang J., Wan Y., Luo C. et al.* Cell entry mechanisms of SARS-CoV-2 // *PNAS USA.* 2020. V. 117 (21). P. 11727–11734.
- Sheahan T.P., Sims A.C., Graham R.L. et al.* Broad-spectrum antiviral GS-5734 inhibits both epidemic and zoonotic coronaviruses // *Sci. Transl. Med.* 2017. V. 9. P. eaal3653.
- Skariyachan S., Challapilli S.B., Packirisamy S. et al.* Recent aspects on the pathogenesis mechanism, animal models and novel therapeutic interventions for Middle East respiratory syndrome coronavirus infections // *Front. Microbiol.* 2019. V. 10. P. 569.
- Solomon V.R., Lee H.* Chloroquine and its analogs: a new promise of an old drug for effective and safe cancer therapies // *Eur. J. Pharmacol.* 2009. V. 625. P. 220–233.
- Song Z., Xu Y., Bao L. et al.* From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight // *Viruses.* 2019. V. 11. P. 59.
- Su S., Wong G., Shi W. et al.* Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses // *Trends Microbiol.* 2016. V. 24 (6). P. 490–502.
- Touret F., De Lamballerie X.* Of chloroquine and COVID-19 // *Antiviral. Res.* 2020. V. 177. P. 104762.
- Turner P.J., Anotegui I.J., Campbell D.E. et al.* COVID-19 vaccine-associated anaphylaxis: a statement of the World Allergy Organization Anaphylaxis Committee // *World Allergy Organ. J.* 2021. V. 14 (2). P. 100571.
<https://doi.org/10.1016/j.waojou.2021.100517>
- Vaxart to present at the World Vaccine Congress Washington 2021 – Vaxart oral COVID-19 vaccine: hold the ice and the needles. Vaxart, Inc. 2021. Apr 29. Available at <https://investors.vaxart.com/news-releases/news-release-details/vaxart-present-world-vaccine-congress-washington-2021>
- Vincent M.J., Bergeron E., Benjannet S. et al.* Chloroquine is a potent inhibitor of SARS coronavirus infection and spread // *Virol. J.* 2005. V. 2. P. 69.
- von Grotthuss M., Wyrwicz L.S., Rychlewski L.* mRNA cap-1 methyltransferase in the SARS genome // *Cell.* 2003. V. 113. P. 701–702.
- Voysey M., Costa Clemens S.A., Madhi S.A. et al.* Single-dose administration and the influence of the timing of the booster dose on immunogenicity and efficacy of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine: a pooled analysis of four randomised trials // *Lancet.* 2021. V. 397 (10277). P. 881–891.
- Walls A.C., Park Y.J., Tortorici M.A. et al.* Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein // *Cell.* 2020. V. 181 (2). P. 281–292.
- Wang M., Cao R., Zhang L. et al.* Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) *in vitro* // *Cell Res.* 2020. V. 30. P. 269–271.
- WHO: Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report as of 30th November 2020 (10:23 am CET), <https://covid19.who.int/> (accessed on 30 November 2020), 2020.
- Wu F., Zhao S., Yu B. et al.* A new coronavirus associated with human respiratory disease in China // *Nature.* 2020. V. 579. P. 265–269.
- Xia S., Liu Q., Wang Q. et al.* Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) entry inhibitors targeting spike protein // *Virus Res.* 2014. V. 194. P. 200–210.
- Xie H.* Efficacy of dipyridamole in the treatment of 116 children with acute upper respiratory tract infections // *Chin. J. School. Doct.* 2010. V. 24. P. 921.
- Xie M., Chen Q.* Insight into 2019 novel coronavirus – an updated interim review and lessons from SARS-CoV and MERS-CoV // *Int. J. Infect. Dis.* 2020. V. 94. P. 119–124.
- Xu J., Zhao S., Teng T. et al.* Systematic comparison of two animal-to-human transmitted human coronaviruses: SARS-CoV-2 and SARS-CoV // *Viruses.* 2020. V. 12. P. 244.
- Yang Y., Peng F., Wang R. et al.* The deadly coronaviruses: the 2003 SARS pandemic and the 2020 novel coronavirus epidemic in China // *J. Autoimmun.* 2020. V. 109. P. 102434.
- Yi Y., Lagniton P.N.P., Ye S. et al.* COVID-19: what has been learned and to be learned about the novel coronavirus disease // *Int. J. Biol. Sci.* 2020. V. 16 (10). P. 1753–1766.
- Yoo J.H.* The fight against the 2019-nCoV outbreak: an arduous march has just begun // *J. Korean Med. Sci.* 2020. V. 35. P. e56.
- Zhang J., Xie B., Hashimoto K.* Current status of potential therapeutic candidates for the COVID-19 crisis // *Brain Behav. Immun.* 2020. V. 87. P. 59–73.
- Zhou P., Fan H., Lan T. et al.* Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin // *Nature.* 2018. V. 556. P. 255–258.
- Zhu F.C., Guan X.H., Li Y.H. et al.* Immunogenicity and safety of a recombinant adenovirus type-5-vectored COVID-19 vaccine in healthy adults aged 18 years or older: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial // *Lancet.* 2020. V. 396 (10249). P. 479–488. [Medline]. [Full Text].
- Zhu N., Zhang D., Wang W. et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019 // *N. Engl. J. Med.* 2020. V. 382. P. 727–733.
- Zu Z.Y., Jiang M.D., Xu P.P. et al.* Coronavirus disease 2019 (COVID-19): a perspective from China // *Radiology.* 2020. V. 296. P. E15–E25.

An Overview of COVID-19 and Its Vaccines

N. Rehman^a and A. Pandey^{a, *}

^a*Department of Biotechnology Motilal Nehru National Institute of Technology (MNNIT), Allahabad, India*

**e-mail: anjanap@mnnit.ac.in*

Coronavirus pandemic, is a continuing catastrophe (COVID-19) triggered by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). The virus passes in into the target cells by attaching itself to a receptor i.e., human angiotensin-converting enzyme 2 (hACE2). It consists of Spike structures created from glycoproteins that promote the virus entry into the target cells of host. The RBD of the S1 subunit on Spike proteins binds to the hACE2 receptor, which is mostly found in the lungs, particularly type-2 pneumocytes, causing human ACE2 receptors to be downregulated. Apart from nausea, vomiting, and chest tightness, which are unusual symptoms of COVID-19, the most common causes of death and severity are respiratory failure (69.5%), sepsis or multi-organ failure (28%), cardiac failure (14.6%), and renal failure (14.6%). Viral antigen-based or viral nucleic acid-based real-time RT-PCR is recommended for the diagnosis of COVID-19 suspects. Vaccination is essential for antiviral treatment. The study was conducted on viruses based on live-attuned or non-activated viruses, recombinant viral vectors, DNA, VLPs and soluble proteins. Vaccine from Pfizer and BioNTech was the first that showed promising data on effectiveness. 90% effectiveness of the vaccine appeared. BNT-162b2 (Pfizer, BioNTech) & mRNA-1273 (Moderna) are mRNA based; AZD-1222 Ad5-CoV (AstraZeneca; Oxford University); Ad26.COVS (Johnson & Johnson) are viral vector based and other vaccines have been granted emergency use authorization by FDA. Since RNA viruses are able to mutate readily and quickly the mutation in the existing strain can be Variants of concern (VOCs) that might diminish vaccine effectiveness. The latest Delta variant (B.1.617.2) has rapidly spread in India is emerging in the United States in mid-2021. It turns out to be the chief which is 6.8-fold more resistant to neutralization by sera from COVID-19 convalescent and mRNA vaccinated individuals.

Keywords: SARS-CoV-2, human angiotensin-converting enzyme 2, vaccination, variants of concern, Delta variant (B.1.617.2)

УДК 612.115.3-615.273.53

РОЛЬ P-СЕЛЕКТИНА В РАЗВИТИИ НАРУШЕНИЙ ГЕМОСТАЗА ПРИ COVID-19

© 2022 г. М. Г. Голубева*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия***e-mail: Mgolubeva46@mail.ru*

Поступила в редакцию 04.12.2021 г.

После доработки 18.12.2021 г.

Принята к публикации 18.12.2021 г.

В настоящем обзоре приводятся данные по изучению влияния нового заболевания COVID-19 на свертывание крови. Важной особенностью патогенеза этого тяжелого острого респираторного синдрома, вызванного коронавирусом SARS-CoV-2, является риск тромботических осложнений — от микроваскулярного тромбоза и венозной тромбоэмболии до инсульта. Эти тромботические осложнения так же, как тромбоцитопения, являются маркерами тяжелой формы COVID-19 и связаны с полиорганной недостаточностью и повышенной смертностью. Одним из центральных механизмов данной патологии является нарушение регуляции адгезивного белка P-селектина. Изучение сосудистой патологии, механизмов изменений гемостаза и роли в этих процессах биомаркеров тромбоза, прежде всего P-селектина различного происхождения (тромбоциты, эндотелиальные клетки, плазма), может внести определенную ясность в понимание патогенеза и в разработку эффективных методов терапии COVID-19.

Ключевые слова: COVID-19, гемостаз, P-селектин, фибринолиз, коагулопатия

DOI: 10.31857/S004213242202003X

ВВЕДЕНИЕ

Огромное количество публикаций, связанных с пандемией COVID-19, свидетельствует о стремлении исследователей найти действенные методы в лечении этого тяжелейшего заболевания. У многих пациентов, инфицированных коронавирусом-2 (SARS-CoV-2), развивается синдром, который соответствует берлинскому определению острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), характеризующегося очень высокой смертностью (Zhou et al., 2020). Приток полиморфоядерных клеток во внесосудистые отделы легких считается определяющей характеристикой этого заболевания, патогенез которого все еще находится в стадии изучения. Особое внимание уделяется изменениям параметров гемостаза: свертыванию крови и фибринолизу (Coccheri, 2021). На данный момент считается, что изменения в системе гемостаза являются решающими, особенно при тяжелых случаях заболевания. При COVID-19 наблюдается массивный микротромбоз, сочетающийся с усилением и воспалением, и иммунной реакции по типу цитокинового шторма — такого состояния иммунной системы, при котором она вместо защиты повреждает собственные ткани. Тромботическая микроангиопатия приводит к деструкции альвеол легких и об-

структивному неангеогенезу. Этому способствуют изменения в системе фибринолиза, которые могут приводить как к активации, так и к ингибированию фибринолитических механизмов. При снижении фибринолитической активности происходит усиление устойчивости микротромбов. Именно тромботические осложнения являются наиболее опасными при данном заболевании. Если в 2002–2004 гг. при эпидемии коронавирусной инфекции SARS-CoV-1 частота тромботических осложнений составляла 11–20%, то их частота при COVID-19 достигает 79% (Kichloo et al., 2020). Эти цифры настораживают и свидетельствуют о том, что необходимо более детально изучать причины и механизмы столь массивных тромботических осложнений и совершенствовать методы их лечения.

Коронавирусы составляют обширное семейство из 40 вирусов, 7 из которых вызывают заболевания у человека (Беяков и др., 2020). Штаммы человеческого коронавируса, вызвавшие эпидемию SARS-CoV-1 и пандемию COVID-19, относятся к роду бета-коронавирусов. В структуре коронавируса участвуют четыре белка — белки шипа (S), мембраны (M), оболочки (E) и нуклеокапсида (N). При попадании в дыхательные пути человека белок шипа S связывается с рецептором ангио-

тензинпревращающего фермента 2 (АПФ2), который высоко экспрессируется пневмоцитами легочного типа 2, сердечными миоцитами и эндотелиальными клетками сосудов. Сначала фрагмент S-белка вируса прочно связывается с рецептором клетки хозяина АПФ2 и затем благодаря трансмембранной протеазе TMPRSS2 этот связанный фрагмент отщепляется, а вирус вместе с оставшейся частью S-белка проникает в клетку хозяина, чтобы использовать ее для собственной репликации (Hoffman et al., 2020). Проникновение SARS-CoV-2 в клетку запускает апоптоз, что в конечном итоге приводит к фагоцитозу апоптотической клетки, особенно макрофагами. Все это обуславливает активацию иммунного ответа и увеличение высвобождения медиаторов воспаления, включая IL-6, IL-10, G-CSF и TNF- α (Смирнов, Тотолян, 2020; Kichloo et al., 2020). Полный геном SARS-CoV-2 уже достаточно изучен – первая публикация была сделана китайскими органами здравоохранения вскоре после обнаружения вируса, что облегчило процесс диагностики и идентификации возбудителя инфекции. SARS-CoV-2 – одноцепочечный РНК-содержащий вирус – относится к семейству Coronaviridae группы 2b бета-коронавирусов и имеет по меньшей мере 70% сходства в генетической последовательности с SARS-CoV-1, его размер составляет около 100 нм (Беляков и др., 2020).

Вероятность заражения людей зависит от экспрессии рецепторов АПФ2, которая неодинакова в разных тканях и коррелирует с показателями возраста, пола и расы. Установлено, что мужчины болеют чаще женщин, что может быть связано как с расположением гена АПФ2 в X-хромосоме, так и с активирующим влиянием тестостерона на экспрессию АПФ2 (Хирманов, 2021). Отмечается также, что хронические заболевания сердца, легких, сахарный диабет, онкологические заболевания приводят к усилению экспрессии АПФ2, к увеличению риска заболевания и к усугублению тяжести его течения.

Особое внимание клиницистов и патофизиологов привлекают описания аутопсий пациентов, умерших от этого заболевания. Исследования показывают, что венозная тромбоэмболия (ВТЭ) встречается примерно у 30% пациентов с COVID. Среди случаев ВТЭ тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) наблюдается в 26% и с высокой вероятностью приводит к смерти (Coccheri, 2020). Показан обширный микротромбоз, преобладающий в легких и связанный с тяжелой, часто летальной, дыхательной недостаточностью. Микротромбозы также наблюдаются в других органах – в почках, мозге и пр. Но именно микротромбоз легких, по-видимому, в наибольшей мере связан с обострением тяжелой дыхательной недостаточности, приводящей к смерти. ТЭЛА и микротромбоз могут возникать как сопутствующие,

раздельные или последовательные явления у одного и того же пациента. При биопсии легких отмечается повреждение клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов, моноцитов, тромбоцитов) и нитей фибрина и внутриальвеолярные кровоизлияния. В легких пациентов с COVID-19 наблюдаются тяжелые эндотелиальные повреждения, связанные с присутствием внутриклеточного вируса и поврежденными клеточными мембранами. Гистологический анализ легочных сосудов у пациентов с этим заболеванием показывает распространенный тромбоз с микроангиопатией. Микротромбы альвеолярных капилляров наблюдаются в 9 раз чаще у пациентов с COVID-19, чем у пациентов с гриппом ($p < 0.001$). В легких пациентов с COVID-19 усиливается ангиогенез, при этом рост новых сосудов в 2.7 раза интенсивнее, чем в легких пациентов с гриппом ($p < 0.001$), преимущественно за счет механизма инвагинации, а не наружного разрастания, что приводит к быстрой окклюзии альвеол изнутри (Ackermann et al., 2020).

Вызывает беспокойство тот факт, что в описываемых сериях это осложнение возникло у пациентов, несмотря на рутинную профилактику гепаринном. При более агрессивном варианте тромботических осложнений, наблюдаемых в летальных случаях, отмечается обширный микротромбоз обоих легких, распространяющийся на всю респираторную область (Raj et al., 2021). Более подробное наблюдение выявило диффузное и тяжелое эндотелиальное и альвеолярное повреждение с нарушением альвеолярных мембран, периальвеолярную микроангиопатию и широко распространенный микротромбоз с внутриальвеолярными кровоизлияниями.

СИСТЕМА ФИБРИНОЛИЗА И ЕЕ РОЛЬ В НАРУШЕНИЯХ ГЕМОСТАЗА ПРИ COVID-19

Понятно, что в нарушениях гемостаза и в усилении свертывающего потенциала крови важная роль должна быть отведена фибринолитической системе, которая связана не только со свертыванием крови, но также с ренин-ангиотензиновой системой (РАС). Фактически, основной компонент РАС – АПФ2 – действует как естественный рецептор для SARS-CoV-2 и других подобных вирусов. После связывания вируса с АПФ2 в избытке остается ангиотензин II, который действует как мощный стимулятор PAI-1 (plasminogen activator inhibitor 1) – основной ингибитор фибринолиза. В то же время повышенный уровень брадикинина стимулирует основной естественный фибринолитический агент, тканевый активатор плазминогена (ТПА) (Kwaan, 2020). Таким образом, фибринолиз может претерпевать одновременно усиление или активации ТПА, или ингибирования PAI-1, вызывая протромботическое или про-

геморрагическое состояние в зависимости от участков и фаз биологического процесса. Именно усилением локально повышенной активности ТАП могут объясняться внутриальвеолярные кровотечения, тогда как фазы или участки с повышенной ингибирующей активностью PAI-1 могут способствовать сохранению или стимуляции микротромбоза и приводить к фиброзу легких. Некоторые авторы продемонстрировали полное отключение фибринолиза в крови с тяжелым COVID-19 (Wright et al., 2020). Таким образом, нестабильный баланс между активацией и ингибированием фибринолиза может объяснять сосуществование тромботических и геморрагических признаков в легких и в других органах, а термин “легочный тромбоз” в настоящее время можно отнести к вызванному COVID-19 микротромбозу легких (Thachil, Srivastava, 2020).

P-СЕЛЕКТИН И ЕГО РОЛЬ В ГЕМОСТАЗЕ

Селектины образуют семейство Ca^{2+} -зависимых углеводсвязывающих белков, которые опосредуют начальный этап вовлечения лейкоцитов в воспалительный процесс. Поэтому блокирование селективов считают многообещающим терапевтическим подходом к лечению острых и хронических воспалительных заболеваний. Семейство селективных включает в себя E-, L- и P-селектины (Larsen et al., 1992; Setiadi, McEver, 2008).

E-селектин — гликопротеин, находящийся на клеточной поверхности, относится к классу адгезивных белков, вырабатывается клетками эндотелия и в случае повреждения ткани, например при воспалении или инфекции, способствует прикреплению нейтрофилов из циркулирующей крови к месту повреждения. При стимуляции эндотелия, например цитокинами, данный белок вырабатывается в больших количествах и экспрессируется на клеточной поверхности. E-селектин служит клеточным рецептором к сialiриновым углеводам на поверхности нейтрофилов (Голубева, 2017).

L-селектин — гликопротеин, находящийся на клеточной поверхности лейкоцитов, представляет собой адгезивный белок. L-селектин участвует в транслокации лейкоцитов из крови в лимфоидную ткань, где они взаимодействуют с антигеном. Эндотелиальные клетки, которые экспрессируют на своей поверхности лиганды к L-селектину, задерживают лейкоциты с L-селектином, что позволяет последним мигрировать в лимфоидную ткань.

Но основную роль во взаимодействии клеток крови играет P-селектин (Кузник, 2010). Этот белок представляет собой интегральный мембранный гликопротеин, массой 140 Да, который опосредует адгезию активированных тромбоцитов и

эндотелиальных клеток к нейтрофилам и моноцитам. P-селектин синтезируется в эндотелиальных клетках и хранится в особых гранулах — тельцах Вайбеля—Паладе. В тромбоцитах P-селектин локализуется в альфа-гранулах. После связывания с родственным лигандом на лейкоцитах — гликопротеиновым лигандом P-селектина PSGL-1 (P-selectin glycosylated protein ligand 1) — P-селектин опосредует начальное движение лейкоцитов на воспаленный эндотелий, что представляет собой первый шаг в привлечении лейкоцитов к участкам воспаления (Chen, Geng, 2006; Neri et al., 2020). P-селектин также активирует моноциты для синтеза тканевого фактора — важного кофактора в активации внешнего пути свертывания крови. При воздействии стимулирующих факторов: окислительных радикалов, тромбина, цитокинов, гистамина — P-селектин появляется в атеросклеротических бляшках. Это позволяет предполагать определенную роль P-селектина в развитии атеросклероза и коронарных заболеваний сердца. Он может действовать совместно с E-селектином, осуществляя на местах на начальных этапах воспаления специфическую адгезию нейтрофилов и моноцитов в участках острого процесса. В ответ на воспалительный стимул E- и P-селектины активируются на эндотелиальных клетках и тромбоцитах (P-селектин). Помимо патогенеза множества заболеваний (инсульт, псориаз, ревматоидный артрит), селектины участвуют в метастазировании опухолей (Binder, Ernst, 2011). Благодаря P-селектину циркулирующие опухолевые клетки, несущие углеводные лиганды к нему, могут осуществлять контакты с клетками эндотелия, а также с активированными тромбоцитами в начальной стадии их агрегации.

Показано, что так же, как и E-, P-селектин появляется на поверхности эндотелиальных клеток под воздействием цитокинов IL-1 и TNF. Установлено, что при активации тромбоцитов в цельной крови также появляется P-селектин (Flebus et al., 2015). Кроме того, известно, что экспрессия P-селектина значительно увеличивается при активации тромбоцитов во время гипертонии (Liu et al., 2016). В эндотелии существует внутренний запас этого белка, который быстро экспрессируется на поверхности клетки сразу после начала воспаления. На ранней стадии воспаления P-селектин обеспечивает быструю адгезию нейтрофилов и моноцитов к активированному сосудистому эндотелию, а также лейкоцитов — к активированным тромбоцитам (Honn, Tang, 1992).

Для определения уровня экспрессии P-селектина на поверхности клеток в качестве маркера активации тромбоцитов применяют метод точной цитометрии с использованием антител, меченных различными флуоресцентными красителями (Авдушкина и др., 2012; Frenette et al., 2000). Этот метод позволяет судить о функцио-

нальной активности клеток крови и отдельных компонентов, в частности Р-селектина.

В настоящее время общепризнано, что воспаление напрямую влияет на тромбоз и что тромбоз также представляет собой провоспалительное событие. Эта прочная связь частично обусловлена Р-селектином, который функционирует не только при экспрессии на поверхности активированных тромбоцитов и эндотелиальных клеток, но и при отщеплении с образованием его растворимой формы, называемой sP-селектином. sP-селектин — гликопротеид плотных гранул тромбоцитов с молекулярной массой 190 кДа. Эта форма Р-селектина, найденная в сыворотке и плазме, является продуктом протеолиза, и, скорее всего, это растворимый фрагмент, в котором отсутствует трансмембранный участок. Однако клинические данные, связывающие sP-селектин с атерогенезом, немногочисленны и противоречивы. Тем не менее, поскольку sP-селектин находится в плазме и сыворотке, осуществляет связь между клетками крови и эндотелием, то его также можно рассматривать в качестве ценного биомаркера как для диагностики, так и для прогнозирования необходимости интенсивного лечения COVID-19.

Еще в 1990-х гг. было показано, что при связывании со своим лигандом на лейкоцитах Р-селектин опосредует начальное движение лейкоцитов к участкам воспаления (Celi et al., 1997). Главный лиганд Р-селектина, PSGL-1, представляет собой гомодимерный муцин — гомодимер 240 кДа, состоящий из двух полипептидных цепей по 120 кДа (Patrik, 2004).

Таким образом, можно сказать, что и мембранная форма (на активированных эндотелиальных клетках, активированных тромбоцитах), и растворимая форма Р-селектина являются агонистами тромботических и воспалительных процессов. При этом Р-селектин активирует моноциты для синтеза тканевого фактора (Celi et al., 1994).

Учитывая эти данные, необходимо было изучить возможную роль Р-селектина в привлечении лейкоцитов в легкие во время ОРДС (Neri et al., 2020). Инфузия моноклональных антител к Р-селектину резко снизила повреждение легких в модели ОРДС на крысах. Показано, что у людей уровень sP-селектина повышен у пациентов с ОРДС, по сравнению с контрольной группой, и у невыживших, по сравнению с выжившими. Совсем недавно в рамках общегеномного ассоциативного исследования *SELPLG* (selectin P ligand gene) авторы сообщили о значительном ослаблении повреждения легких у мышей, подвергшихся воздействию моноклональных антител к лиганду Р-селектина. *SELPLG* был признан новым геном восприимчивости к ОРДС (Bime et al., 2018; Frenette et al., 2000).

Важным аспектом клинического ведения ОРДС является раннее его распознавание для предотвращения дальнейшего повреждения легких во время искусственной вентиляции легких. Однако в настоящее время нет специфических генетических или негенетических биомаркеров для выявления тех, у кого с большей вероятностью разовьется ОРДС, или для объяснения наблюдаемых различий в состоянии здоровья. Поэтому существует потребность в идентификации маркеров повышенной восприимчивости к ОРДС. Ген *SELPLG* и кодируемый им *PSGL-1* — потенциально новые терапевтические мишени для снижения патогенности ОРДС (Bime et al., 2018).

Экспрессия Р-селектина не ограничивается тромбоцитами и эндотелиальными клетками, необходимо также проверить факты экспрессии Р-селектина на пневмоцитах. Такую экспрессию наблюдали в образцах аутопсии пациента, умершего от SARS-CoV в 2002 г. (Yen et al., 2006). Эти данные согласуются с предположениями о патогенетической роли Р-селектина и заслуживают дальнейшего изучения, учитывая высокую частоту тромботических осложнений у пациентов с COVID-19. Это, в свою очередь, согласуется с опосредованной Р-селектином активацией внутрисосудистого свертывания крови.

Пандемия COVID-19 вызвала многочисленные исследования, направленные на изучение потенциальных терапевтических подходов. Необходимо учитывать, что усиление экспрессии Р-селектина эндотелиальными клетками наблюдали и ранее — оно является одной из причин повышения адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к клеткам эндотелия. Например, это показано в исследованиях, проведенных на трансгенных мышах с серповидно-клеточной анемией (Wood et al., 2004), при которой наблюдается повышение адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к клеткам эндотелия. В настоящее время рассматриваются возможности использования моноклональных антител к Р-селектину в качестве лекарственных средств. При блокаде этого белка моноклональными антителами адгезия клеток крови существенно снижается. Это показано и на изолированных сосудах пациентов с данным заболеванием. Таким образом, серповидно-клеточная анемия является тем патологическим состоянием, при котором отмечается повышенное провоспалительное и прокоагулянтное состояние в микроциркуляции, и ключевым фактором так же, как и при COVID-19, является Р-селектин (Matsu et al., 2001; Fallerini et al., 2021).

P-СЕЛЕКТИН – РАННИЙ БИОМАРКЕР ТРОМБОТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ COVID-19

Среди госпитализированных пациентов с COVID-19 высокая частота изменений воспалительных биомаркеров и биомаркеров свертывания крови коррелирует с плохим прогнозом (Lopez-Castaneda et al., 2021). Врачами государственной больницы в Мексике проводилась оценка воспалительных и прокоагулянтных биомаркеров у пациентов с COVID-19. В плазме крови больных различной степени тяжести и здоровых добровольцев проводили анализ воспалительных и свертывающих биомаркеров, включая D-димер, IL-6 и -8, PAI-1, P-селектин и VWF (von Willebrand factor). Стандартные лабораторные и клинические биомаркеры также были включены в сравнение групп. Анализ результатов показал, что концентрации в плазме всех протромботических и провоспалительных биомаркеров были значительно выше у пациентов с летальным исходом. Значительная разница была обнаружена в уровнях IL-6, PAI-1 и P-селектина у нетяжелых больных и здоровых добровольцев, по сравнению с пациентами с тяжелым течением COVID-19 и умершими ($p < 0.001$). Уровни VWF также значимо ($p < 0.0001$) различались между группами тяжелых пациентов (153.5 ± 24.3 UI/дл) и нетяжелых (133.9 ± 20.2 UI/дл). Уровни лейкоцитов и глюкозы также были значительно повышены у пациентов с тяжелой формой COVID-19. Подобные результаты были получены и в других клинических исследованиях (Agrati et al., 2021a). Авторы считают, что концентрацию P-селектина в плазме можно рассматривать как биомаркер данного заболевания.

Таким образом, центральный элемент патологии COVID-19 – это нарушение регуляции P-селектина, который является биомаркером воспалительной коагуляции, участвующим в свертывании крови, и который модулирует взаимодействие между клетками крови и эндотелиальными клетками. Он находится внутри тромбоцитов и эндотелиальных клеток, на клеточных мембранах и в растворимой форме присутствует в плазме. Он действует как рецептор адгезии, его растворимая форма (sP-селектин) играет важную роль в модулировании взаимодействия между клетками крови и эндотелиальными клетками (Venter et al., 2020). В специальном исследовании оценивали взаимосвязь между уровнем sP-селектина и клинической тяжестью инфекций COVID-19. Было показано (Karsli et al., 2021), что уровни sP-селектина в сыворотке как в группах легкой и умеренной пневмонии, так и в группе тяжелой пневмонии были выше, чем в контрольной группе ($p = 0.0001$ и $p = 0.0001$ соответственно). Авторы заключают, что sP-селектин можно использовать в качестве

ценного биомаркера и для диагностики, и для прогнозирования необходимости интенсивного лечения инфекции COVID-19.

Системное повреждение сосудов с микро/макротромбозом – это типичный признак тяжелой формы нового заболевания. При исследовании связи концентрации в плазме белков свертывания крови с возникновением ВТЭ при COVID-19 было показано, что девять белков свертывания дифференцировано экспрессировались у пациентов с тромбоэмболиями. При этом наибольшую экспрессию среди исследованных белков свертывания крови независимо от тяжести заболевания обнаруживал P-селектин. Авторы считают, что это подтверждает важность активации эндотелия в механизме ВТЭ при этом заболевании (Fenyves et al., 2021). Однако другие авторы полагают (Gelzo et al., 2021), что повреждение эндотелия менее актуально, поскольку уровень E-селектина не изменялся, в отличие от тромбоцитарного P-селектина. Тем не менее, как показывает опыт множества исследователей, у большинства пациентов наряду с коагулопатиями наблюдается эндотелиопатия, при этом отмечается необходимость проведения строгого мониторинга показателей свертывания крови пациентов с разной степенью тяжести COVID-19. Так, при измерении воспаления, факторов коагуляции и состояния эндотелия при легкой и средней степени тяжести заболевания показано (Cacciola et al., 2021), что IL-6, TNF- α , VWF, тканевой фактор (TF), ингибитор тканевого фактора (TFPI) значительно увеличиваются при умеренном заболевании так же, как D-димер, тромбин-антитромбиновый комплекс, фактор тромбоцитов P4, тромбоглобулин, P-селектин и адгезия тромбоцитов. У всех пациентов с средней тяжестью COVID-19, по сравнению с пациентами легкой формы, наблюдалось более короткое время свертывания и время образования сгустка, высокая плотность сгустка и низкий процент лизиса через 30 мин. Авторы заключают, что даже при средней степени тяжести пациенты имеют глубокое воспаление, связанное с тяжелой эндотелиопатией и патологией свертывания крови. Такой мониторинг позволит вовремя применить соответствующие антикоагулянты, улучшить прогноз умеренного COVID-19 и предотвратить развитие болезни в тяжелой форме.

P-селектин несомненно вносит вклад в адгезию патологических и, возможно, здоровых эритроцитов к поврежденному эндотелию, а также к соседним эритроцитам и к гиперактивированным тромбоцитам. Обнаружены (Manne et al., 2020) явные изменения в профилях экспрессии генов циркулирующих тромбоцитов у пациентов с COVID-19. Они также показали, что тромбоциты от пациентов с COVID-19 агрегируются быстрее и увеличивают распространение фибриногена и коллагена. Кроме того, авторы предположили,

что увеличение активации и агрегации тромбоцитов может частично быть связано с генерацией тромбосана.

На основании изученной литературы можно предположить, что существует причинно-следственная связь между повышенными концентрациями сывороточного ферритина и P-селектина, гиперактивацией тромбоцитов и их взаимодействием с эритроцитами (Grobler et al., 2020; Venter et al., 2020). Об участии железа в развитии патологий, возникающих при COVID-19 написано уже много, поэтому мы здесь только отметим, что уровень ферритина в сыворотке крови повышен в образцах крови при COVID-19, поскольку он известен как маркер поврежденных клеток (Venter et al., 2020). Его присутствие в кровотоке может вызвать патологию эритроцитов, тромбоцитов, а также фибриногена плазмы. Таким образом, P-селектин, сывороточный ферритин и патологические изменения клеток крови, помимо тромботических осложнений, могут способствовать снижению уровня насыщения кислородом, обычно наблюдаемому при COVID-19.

При изучении экспрессии некоторых трансмембранных белков в тромбоцитах показано, что во время инфекции SARS-CoV-2 обнаружено значительное увеличение экспрессии этих белков, по сравнению с контролем. Наличие таких тромбоцитов (гиперактивный фенотип) способствовало гиперкоагуляции (Bongiovanni et al., 2021).

Анализируя огромный пласт литературы, мы приходим к заключению, что в патологии при COVID-19 ведущую роль играет гиперактивность тромбоцитов. Прогрессирующая дыхательная недостаточность рассматривается как основная причина смерти пациентов с COVID-19 и может быть в значительной степени связана с микротромбами в системе кровообращения и, в частности, в легких. P-селектин может быть важным ранним маркером риска тяжелых сосудистых заболеваний. Наблюдения за структурными изменениями в плазме, в ходе которых наблюдаются микросгустки и крупные агрегаты тромбоцитов, могут помочь клиницистам планировать антикоагулянтную терапию на ранних этапах медицинской помощи (Venter et al., 2020).

Новые данные свидетельствуют о том, что SARS-CoV-2 может инфицировать эндотелиальные клетки со связанным иммунным ответом и с последующей активацией воспалительных путей, что приводит к нарушению регуляции эндотелия, активации лейкоцитов, отложению компонента и потреблению тромбоцитов.

Задача состоит в том, чтобы быстро найти терапевтические подходы для срочной помощи пациентам с COVID-19. Ключевым клиническим признаком тяжелой формы заболевания, по-видимому, является сильное протромботическое

состояние, которое связано с повышенной частотой артериальных, венозных и микрососудистых тромбозов, а также с летальными исходами. Эти пути могут спровоцировать протромботическое состояние (иммунотромбоз), которое может привести к серьезным тромботическим осложнениям. Агрегаты тромбоцитов/лейкоцитов могут представлять собой маркеры противовоспалительной эффективности антитромботических препаратов (McFadyen et al., 2020). Важно отметить, что переход к раннему введению антитромботической терапии для профилактики и лечения тромбоза, связанного с COVID-19, приведет к улучшению результатов для пациентов с COVID-19. Примером может служить антиагрегант клопидогрель или плавикс, который отличается от других антитромботических агентов, поскольку он, по-видимому, более эффективно блокирует экспрессию P-селектина на поверхности тромбоцитов, чем аспирин или ингибиторы рецепторов GPIIb/IIIa, и снижает агрегацию тромбоцитов/лейкоцитов (Klinkhardt et al., 2002, 2003). Успех следующего поколения антитромботических агентов, вероятно, будет зависеть от их способности предотвращать активацию тромбоцитов.

Помимо антиагрегантов, свою высокую эффективность обнаружили и антикоагулянты, успешно применяемые сейчас в клинической практике, в частности антикоагулянт прямого действия, ингибирующий фактор Ха, – Ксарелто, или ривароксабан. Известно, что в каскаде свертывания крови активация фактора X с образованием фактора Ха (FXa) через внутренний и внешний пути играет центральную роль. FXa напрямую преобразует протромбин в тромбин благодаря протромбиназному комплексу, что, в конечном счете, приводит к образованию фибринового сгустка и активации тромбоцитов посредством тромбина. Одна молекула FXa способна образовать более 1000 молекул тромбина. Кроме того, скорость реакции FXa, связанного с протромбиназой, увеличивается в 300000 раз, по сравнению с таковой свободного FXa, что вызывает взрывное усиление образования тромбина – именно этот “взрыв” и способны прекратить селективные ингибиторы FXa, что, следовательно, снижает и активацию тромбоцитов (<https://www.vidal.ru>).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ обширной литературы о значении P-селектина в развитии тяжелых, часто летальных, нарушений в системе свертывания крови и функциональной активности клеток эндотелия предполагает центральную роль взаимодействия эндотелия и тромбоцитов как части сложного патогенного механизма COVID-19, ведущего к локальной активации системы гемостаза и формирующей легочные тромбы. Как полагают (Agrati et al.,

2021b), необходимы более крупномасштабные исследования для изучения значимости P-селектина в качестве маркера активации тромбоцитов и эндотелия для определения степени риска и неблагоприятных прогностических исходов. Этот тип исследования предлагает возможность раскрыть механизмы, управляющие активацией тромбоцитов и повреждением эндотелия, а также определить конкретные методы лечения, направленные на минимизацию активации эндотелия и снижение риска тромбоза. Тем не менее, существующая литература о роли P-селектина у пациентов с COVID-19 предполагает, что он может быть ценным биомаркером для прогнозирования клинических исходов у пациентов с этим заболеванием. Основываясь на опыте многочисленных клиник и понимая всю трудность стандартизации методов и результатов исследований, можно видеть, что увеличение экспрессии P-селектина на поврежденных эндотелиальных клетках и активированных тромбоцитах способствует протромботическому состоянию, которое приводит к иммунотромбозу и тромбовоспалению (Agrati et al., 2021b).

Клинический опыт свидетельствует о том, что использование лекарственных препаратов (антикоагулянты, антиагреганты) может быть полезным при лечении пациентов с COVID-19 и они могут быть включены в протоколы лечения. К таким препаратам можно отнести аспирин и курантил, или дипиридамолом.

Дипиридамолом (DIP) – это антиагрегантный препарат, который действует путем ингибирования фосфодиэстеразы и повышения внутриклеточных уровней цАМФ/цГМФ (Голубева, 2020). Добавка DIP была связана со значительно более низкими концентрациями D-димера, большим количеством лимфоцитов и тромбоцитов в кровотоке. Это заметно улучшило клинические результаты в эксперименте с участием 31 пациента с COVID-19, по сравнению с контрольными пациентами (Liu et al., 2020). Однако эффективность DIP у госпитализированных пациентов с COVID-19 требует дальнейшего изучения.

Аспирин – это недорогой, известный с 1890 г., широко доступный препарат, который в низких дозах необратимо ингибирует фермент циклооксигеназу-1 (ЦОГ-1), необходимый для образования тромбоксана A₂ и провоспалительных простагландинов (Голубева, 2020). Продемонстрировано, что аспирин предотвращает как артериальные, так и венозные тромботические явления у людей, инфицированных SARS-CoV-2, и устраняет гиперактивность тромбоцитов *in vitro* (Baigent et al., 2009; Manne et al., 2020). Хотя влияние аспирина на клинические исходы у пациентов с внебольничной пневмонией было изучено, и были получены предварительные результаты о его потенци-

альной полезности для снижения смертности, данных об эффективности антитромботических препаратов при COVID-19 явно недостаточно (Chow et al., 2021). Кроме того, любая потенциальная польза от антитромботического лечения пациентов с COVID-19 может зависеть от времени начала лечения, особенно если тромбы уже образовались к моменту госпитализации. Работа ведется по нескольким направлениям. Так, некоторые фармацевтические компании и исследовательские центры пытаются разработать новые лекарства для борьбы с COVID-19. Но другие стараются определить, можно ли эффективно перепрофилировать какие-либо уже существующие препараты.

Основные трудности, возникающие перед клиницистами при лечении пациентов с этим новым заболеванием, связаны, прежде всего, с наличием мутаций коронавируса. Появление новых штаммов требует быстрого изменения тактики лечения, усиления контроля для снижения контактов между инфицированными, поиска новых препаратов для помощи пациентам и объединения усилий медиков разных стран для борьбы с пандемией.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все эксперименты проводили в соответствии с этическими принципами и нормативными документами, рекомендованными Европейским научным фондом (ESF), и с декларацией о гуманном отношении к животным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Авдушкина Л.А., Бычкова Н.В., Вавилова Т.В. Новый маркер активации тромбоцитов P-селектин // Никифоровские чтения – 2012: передовые отечественные и зарубежные медицинские технологии / Ред. С.С. Алексанин. СПб.: Политехника-сервис, 2012. С. 10–11.
- Беляков Н.А., Рассохин В.В., Ястребова Е.Б. Природа вируса, патогенез, клинические проявления // Коронавирусная инфекция. Лекция. Ч. 1. 2020. С. 1–18.
- Голубева М.Г. Современные представления о влиянии эритроцитов на реактивность тромбоцитов в процессе тромбиногенеза // Успехи соврем. биол. 2017. Т. 137. № 6. С. 586–592.
- Голубева М.Г. Нейропептид вазопрессин и его структурные аналоги в регуляции системы гемостаза. М.: Ким Л.А., 2020. 144 с.
- Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита: Экспресс-издательство, 2010. 827 с.

- Смирнов В.С., Толоян А.А. Врожденный иммунитет при коронавирусной инфекции // Инфек. иммун. 2020. Т. 10. № 2. С. 259–268.
- Хирманов В.Н. COVID-19 как системное заболевание // Клини. фарм. терап. 2021. № 3. С. 1–15.
- Ackermann M., Verleden S.E., Kuehnel M. et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19 // N. Engl. J. Med. 2020. V. 383. № 2. P. 120–128.
- Agrati Ch., Bordoni V., Sacchi A. et al. Elevated P-selectin in severe Covid-19: considerations for therapeutic options // Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis. 2021a. V. 13. № 1. P. e2021016.
- Agrati Ch., Sacchi A., Tartaglia E. et al. The role of P-selectin in COVID-19 coagulopathy: an updated review // Int. J. Mol. Sci. 2021b. V. 22. № 5. P. 7942.
- Baigent C., Blackwell L., Collins R. et al. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials // Lancet. 2009. V. 373. P. 1849–1860.
- Bime C., Pouladi N., Sammani S. et al. Genome-wide association study in African Americans with acute respiratory distress syndrome identifies the selectin P ligand gene as a risk factor // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2018. V. 197. P. 1421–1432.
- Binder F.P.C., Ernst B. E- and P-selectin: differences, similarities and implications for the design of P-selectin antagonists // Chimia (Aarau). 2011. V. 65. № 4. P. 210–213.
- Bongiovanni D., Klug M., Lazareva O. et al. SARS-CoV-2 infection is associated with a pro-thrombotic platelet phenotype // Cell Death Dis. 2021. V. 12. № 1. P. 50.
- Cacciola R., Cacciola E.G., Vecchio V., Cacciola E. Cellular and molecular mechanisms in COVID-19 coagulopathy: role of inflammation and endotheliopathy // J. Thromb. Thrombolysis. 2021. V. 23. P. 1–9.
- Celi A., Pellegrini G., Lorenzet R. et al. P-selectin induces the expression of tissue factor on monocytes // PNAS USA. 1994. V. 91. P. 8767–8771.
- Celi A., Lorenzet R., Furie B., Furie B.C. Platelet-leukocyte-endothelial cell interaction on the blood vessel wall // Semin. Hematol. 1997. V. 34. P. 327–335.
- Chen M., Geng J. P-selectin mediates adhesion of leukocytes, platelets, and cancer cells in inflammation, thrombosis, and cancer growth and metastasis // Arch. Immunol. Ther. Exp. 2006. V. 54. № 2. P. 75–84.
- Chow J.H., Khanna A.K., Kethireddy S. et al. Aspirin use is associated with decreased mechanical ventilation, intensive care unit admission, and in-hospital mortality in hospitalized patients with coronavirus disease 2019 // Anesth. Analg. 2021. V. 132. P. 930–941.
- Coccheri S. COVID-19: the crucial role of blood coagulation and fibrinolysis // Intern. Emerg. Med. 2021. V. 16. P. e253.
- Fallerini C., Daga S., Benetti E. et al. SELP Asp603Asn and severe thrombosis in COVID-19 males // J. Hematol. Oncol. 2021. V. 14. № 1. P. 123.
- Fenyves B.G., Mehta A., Kays K.R. et al. Plasma P-selectin is an early marker of thromboembolism in COVID-19 // Am. J. Hematol. 2021. V. 96. № 12. P. E468–E471.
- Flebus L., Lombart F., Martines-Jothar I. et al. In vitro study of the specific interaction between poly(2-dimethylamino ethylmethacrylate) based polymers with platelets and red blood cells // Int. J. Pharm. 2015. V. 492. № 1–2. P. 55–64.
- Frenette P.C.V., Denis C.V., Weiss D.L. et al. P-selectin glycoprotein ligand 1 (PSGL-1) is expressed on platelets and can mediate platelet-endothelial interactions *in vivo* // J. Exp. Med. 2000. V. 191. № 8. P. 1413–1422.
- Gelzo M., Cacciapuoti S., Pinchera B. et al. Further findings concerning endothelial damage in COVID-19 patients // Biomolecules. 2021. V. 11. № 9. P. 1368.
- Grobler C., Maphumulo S.C., Grobbelaar L.M. et al. Covid-19: the rollercoaster of fibrin(ogen), D-dimer, von Willebrand factor, P-selectin and their interactions with endothelial cells, platelets and erythrocytes // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. P. 5168.
- Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S. et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor // Cell. 2020. V. 181. № 2. P. 271–280.
- Honn K., Tang D. Adhesion molecules and tumor cell interaction with endothelium and subendothelial matrix // Canc. Metast. Rev. 1992. V. 11. № 3–4. P. 353–375.
- Karsli E., Sabirli R., Altintas E. et al. Soluble P-selectin as a potential diagnostic and prognostic biomarker for COVID-19 disease: a case-control study // Life Sci. 2021. V. 277. P. 119634.
- Kichloo A., Dettloff K., Aljadah M. et al. COVID-19 and hypercoagulability: a review // Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2020. V. 26. P. 1–9.
- Klinkhardt U., Graff J., Harder S. Clopidogrel, but not aspirin, reduces platelet leukocyte conjugates and P-selectin expression in a human *ex vivo in vitro* model // Clin. Pharmacol. Ther. 2002. V. 71. № 3. P. 176–185.
- Klinkhardt U., Bauersachs R., Adams J. et al. Clopidogrel but not aspirin reduces P-selectin expression and formation of platelet-leukocyte aggregates in patients with atherosclerotic vascular disease // Clin. Pharmacol. Ther. 2003. V. 73. № 3. P. 232–241.
- Kwaan H.C. Coronavirus disease 2019: the role of the fibrinolytic system from transmission to organ injury and sequelae // Semin. Thromb. Hemost. 2020. V. 46. № 7. P. 841–844.
- Larsen G.R., Sako D., Ahern T.J. et al. P-selectin and E-selectin. Distinct but overlapping leukocyte ligand specificities // J. Biol. Chem. 1992. V. 267 (16). P. 11104–11110.
- Liu G., Liang B., Song X. et al. P-selectin increases angiotensin II-induced cardiac inflammation and fibrosis *via* platelet activation // Mol. Med. Rep. 2016. V. 13. № 6. P. 5021–5028.
- Liu X., Li Z., Liu S. et al. Potential therapeutic effects of dipyridamole in the severely ill patients with COVID-19 // Acta Pharm. Sin. B. 2020. V. 10. P. 1205–1215.
- Lopez-Castaneda S., Garcia-Larragoiti N., Cano-Mendez A. et al. Inflammatory and prothrombotic biomarkers associated with the severity of COVID-19 infection // Clin. Appl. Thromb. Hemost. 2021. V. 27. P. 1–34.
- Manne B.K., Denorme F., Middleton E.A. et al. Platelet gene expression and function in COVID-19 patients // Blood. 2020. V. 136. P. 1317–1329.

- Matsu N.M., Borsig L., Rosen S.D. et al.* P-selectin mediates the adhesion of sickle erythrocytes to the endothelium // *Blood*. 2001. V. 98. № 6. P. 1955–1962.
- McFadyen J.D., Hannah S., Karlheinz P.* The emerging threat of (micro)thrombosis in COVID-19 and its therapeutic implications // *Circ. Res.* 2020. V. 127. № 4. P. 571–587.
- Neri T., Neri D., Celi A.* P-selectin blockade in COVID-19-related ARDS // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2020. V. 318. № 6. P. L1237–L1238.
- Patrick A.* P-selectin in haemostasis // *Brit. J. Haematol.* 2004. V. 126. № 3. P. 298–306.
- Raj K., Chandna S., Doukas S.G. et al.* Combined use of wells scores and D-dimer levels for the diagnosis of deep vein thrombosis and pulmonary embolism in COVID-19: a retrospective cohort study // *Cureus*. 2021. V. 13. № 9. P. 1–27.
- Setiadi H., McEver R.* Clustering endothelial E-selectin in clathrin-coated pits and lipid rafts enhances leukocyte adhesion under flow // *Blood*. 2008. V. 111. № 4. P. 1989–1998.
- Thachil J., Srivastava A.* SARS-2 coronavirus-associated hemostatic lung abnormality in COVID-19: is it pulmonary thrombosis or pulmonary embolism? // *Semin. Thromb. Haemost.* 2020. V. 46. № 7. P. 777–780.
- Venter C., Bezuidenhout J., Laubscher G.J. et al.* Erythrocyte, platelet, serum ferritin, and P-selectin pathophysiology implicated in severe hypercoagulation and vascular complications in COVID-19 // *Int. J. Mol. Sci.* 2020. V. 21. № 21. P. 8234.
- Wood K.C., Hebbel R.P., Gragner D.N.* Endothelial cell P-selectin mediates a proinflammatory and prothrombotic phenotype in cerebral venules of sickle cell transgenic mice // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2004. V. 286. P. 1608–1614.
- Wright F.L., Vogler T.O., Moore E.E. et al.* Fibrinolysis shutdown correlates to thrombotic events in severe COVID-19 infection // *J. Am. Coll. Surg.* 2020. V. 231. № 2. P. 193–203.
- Yen Y.T., Liao F., Hsiao C.H. et al.* Modeling the early events of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection *in vitro* // *J. Virol.* 2006. V. 80. P. 2684–2693.
- Zhou F., Yu T., Du R. et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study // *Lancet*. 2020. V. 395. P. 1054–1062.

Role of P-Selectin in the Development of Hemostasis Disorders in COVID-19

M. G. Golubeva*

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia

**e-mail: Mgolubeva46@mail.ru*

This review provides data on the impact of the new disease COVID-19 on blood clotting. An important feature of the pathogenesis of this severe acute respiratory syndrome caused by the SARS-Co-2 coronavirus is the risk of thrombotic complications ranging from microvascular thrombosis, venous thromboembolism and stroke. These thrombotic complications, like thrombocytopenia, are markers of the severe form of COVID-19 and are associated with multiple organ failure and increased mortality. One of the central mechanisms of this pathology is the dysregulation of the adhesive protein P-selectin. The study of the mechanisms of changes in hemostasis and vascular pathology, and the role in these processes of biomarkers of thrombogenesis, and primarily of P-selectin of various origins (platelets, endothelial cells, plasma), can bring some clarity to the understanding of the pathogenesis and therapy of COVID-19.

Keywords: COVID-19, hemostasis, P-selectin, fibrinolysis, coagulopathy

УДК 616.9-08-071(076.5)

БОЛЕЗНИ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

© 2022 г. В. М. Земсков^{1, *}, А. М. Земсков², В. В. Нейманн³, А. А. Барсуков¹,
В. А. Земскова², М. Н. Козлова¹, Н. С. Шишкина¹, В. С. Демидова¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А.В. Вишневского, Москва, Россия

²Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

³VRFD SA, Lugano, Switzerland

*e-mail: arturrego@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.10.2021 г.

После доработки 29.11.2021 г.

Принята к публикации 29.11.2021 г.

Представлены классификация болезней иммунной системы в различные периоды жизни человека, включая иммуноассоциированные и иммунозависимые заболевания, их феноменология, провоцирующие факторы болезней, механизмы регуляции иммунной реактивности с подробной и разно-сторонней детализацией этих проблем.

Ключевые слова: иммунная реактивность, иммуносупрессия и иммуностимуляция, факторы иммунных заболеваний, иммунорегуляция

DOI: 10.31857/S0042132422020090

ВВЕДЕНИЕ

С определенной точки зрения человеческий организм может быть представлен в качестве мишени для патогенных внешних и внутренних факторов. Иммунная система — это главный щит организма, противодействующий патогенным агентам любого происхождения. Как и любая часть организма, она сама может подвергаться патогенным воздействиям, в результате чего в ней могут формироваться донозологические изменения, а впоследствии — и болезни иммунной системы. Это влечет за собой неспособность организма распознавать и элиминировать чужеродные объекты вследствие анатомических дефектов или функциональной недостаточности лимфоидных органов (Черешнев, Шмагель, 2014; Земсков и др., 2018).

Представляет интерес развитие инфекций в разные периоды жизни человека и при некоторых функциональных состояниях организма.

Детство. В структуре детской заболеваемости инфекционные болезни составляют 60–70% с общей инвалидизацией около 600 тыс. детей. В последнее время отмечен рост: острых кишечных инфекций на 11.4%; цитомегаловирусной, герпесвирусной, хламидийной, микоплазменной инфекций — на 24.4%; геморрагических лихорадок и трихинеллеза — в 1.8–2 раза (Земсков и др., 2017; Zemskov et al., 2017a).

Старость. Возрастной иммунодефицит характеризуется частым формированием инфекционного и аутоиммунного синдромов. В пожилом и старческом возрасте развиваются хронические рецидивирующие бактериальные, вирусные, грибковые инфекции кожи и слизистых оболочек (пиодермии, фурункулезы, абсцессы, герпес, кандидоз, конъюнктивит, стоматит), хронические бронхиты, пневмонии, урогенитальные поражения (вульвиты, пиелонефриты), гастроэнтеропатии с длительной диареей, дисбактериозами, субфебрилитетом (Земсков и др., 2018; Zemskov et al., 2018).

Беременность. Инфекционно-воспалительные заболевания у беременных опасны как для самой женщины, так и для плода. При беременности вирусные инфекции (полиомиелит, гепатиты А и В, грипп, генитальный герпес), цитомегаловирус и вирус Эпштейна–Барр способны вызывать дистрофию печени, острый панкреатит, пиелонефриты, энцефалиты, анемии, миокардиты. Брюшной тиф, гонорея, листериоз, туберкулез, токсоплазмоз, амебиоз, лямблиоз, хламидиоз, микоплазмоз и гарднереллез возникают чаще и текут более тяжело. Дефицит sIgA, поглотительной, метаболической и хемотаксической способности фагоцитов, Т-зависимых реакций способствует развитию вагинитов, цервицитов, параметритов, пельвиоперитонитов, пиосальпингитов, вызванных стафилококковой, анаэробной,

грибковой, условно-патогенной флорой, трихинеллеза (Земсков и др., 2018; Zemskov et al., 2017c).

Роды. Послеродовые инфекционно-воспалительные заболевания встречаются в 13.3–54.3% случаев и занимают второе–четвертое место среди причин материнской смертности. Операция кесарева сечения увеличивает риск развития эндометритов и раневой инфекции в 5–10 раз. В этиологии послеродовых инфекционных заболеваний ведущую роль играют микробные ассоциации (более 80%), обладающие более выраженными патогенными свойствами, чем монокультуры. В последние 10–15 лет происходит смена традиционных инфекционных патогенов акушерской инфекции на хламидии, вирусы цитомегалии, стрептококки группы В, золотистые стафилококки, неспорообразующие анаэробы и др. (Zemskov et al., 2021b).

КЛАССИФИКАЦИИ БОЛЕЗНЕЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Патогенетическая классификация заболеваний

Иммунозависимые заболевания: первичные иммунодефициты, злокачественные новообразования, аллергические болезни. Основным патогенетическим механизмом являются первичные расстройства иммунной системы. Основным методом лечения является иммуноотропная терапия (Земсков и др., 2014).

Иммуноассоциированные заболевания: вторичные иммунодефициты, инфекции, соматические и прочие патологические процессы, аллергические осложнения, в основе которых лежит формирование вторичных расстройств иммунной системы, требующих вспомогательного иммуноотропного лечения (Земсков и др., 2014).

Феноменологическая классификация заболеваний

Гипореактивность иммунитета. Острая иммунная недостаточность развивается при острых инфекциях, подострая – при реконвалесценции, хроническая – при хронизации процесса. Первичные иммунодефициты – это врожденные, генетически обусловленные дефициты иммунной системы (0.05%), В-зависимые (50%), Т-зависимые (30%), комбинированные (10%), фагоцитарные (8%). Вторичные иммунодефициты – фенотипические иммунодефициты после инфекций, соматических заболеваний, облучений, обменных нарушений и др. Кроме того, имеются иммунопролиферативные и злокачественные новообразования, также относящиеся к вторичным иммунодефицитам (Zemskov et al., 2021a).

Гиперреактивность иммунитета. К этой категории относятся за пределы гуморальные или клеточные иммунные реакции на низкоиммуно-

генные агенты на фоне иммунодефицита или реакции, обусловленные мелкими размерами молекул аллергенов. Выделяют гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ), гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ), а также атопию. Эти виды реакций несут и защитный, и патогенный потенциалы. Так, ГНТ и специфические IgE обеспечивают защиту против паразитов, ГЗТ – против антибиотикорезистентных возбудителей, что, несомненно, является положительным явлением. Атопия представляет собой реагирование на слабые аллергены, причем существуют три ее варианта: 1) с преобладанием специфических реакций; 2) паритетно неспецифические/специфические реакции; 3) псевдоаллергические реакции – все это является патологическим реагированием.

Одним из проявлений гиперреактивности иммунной системы являются аутоиммунные заболевания, которые развиваются при появлении в кровотоке забарьерных антигенов либо микробных антигенов мимикрии. Органоспецифические реакции (например, тиреоидит Хашимото, тиреотоксикоз) развиваются в ответ на аутоантигены одного забарьерного органа. Неорганоспецифические реакции (в частности, ревматоидный артрит, дерматомиозит) направлены против антигенов разных тканей. Смешанные реакции реализуются обоими механизмами. Иммунокомплексные заболевания (анкилозирующий спондилит) обусловлены среднемолекулярными или крупными циркулирующими иммунными комплексами, тромбирующими капилляры почек, альвеол и других органов или вызывающими разрушение фагоцитирующих макрофагов с высвобождением агрессивных пищеварительных ферментов (Клиническая..., 2016; Zemskov et al., 2021a).

Неклассифицируемые заболевания

К ним относятся: вирусиндуцированные иммунодефициты (ВИЧ/СПИД), трансплантационная болезнь, реакция “трансплантат против хозяина”, иммунопатология репродукции.

ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ РАЗВИТИЮ БОЛЕЗНЕЙ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Микроокружение представлено гельминтами, простейшими, грибами, 100 000 видами бактерий, 300 000 видами вирусов, прионами, 1400 антропогенными инфекциями. Происхождение возбудителей (и соответствующие болезни): абиотические компоненты окружающей среды – почвы, воды, воздуха (сапронозы); инфицированные животные и люди (зооантропонозы, в частности, сап, сибирская язва); больные люди (антропонозы, к которым относятся, в частности, венерические заболевания); контаминированные пищевые

продукты (сальмонеллезы, паратифы); микрофлора растений, в том числе и лекарственных (Земсков и др., 2018; Микробиология для..., 2020; Zemskov et al., 2021b).

Болезни микробиоты составляют дисбактериозы. Заметим, что абсолютный нормоценоз – это нормальное состояние микрофлоры, которое встречается крайне редко. Различают четыре типа дисбиотических нарушений нормальной микрофлоры человека, нарушения начинаются с I типа – условного нормоценоза, II тип – промежуточный, III тип – дисбиоз, IV тип – выраженный воспалительный процесс. Существует несколько вариантов связи уровня иммунной реактивности пациентов с микробиотой: 1) в здоровом состоянии наблюдается баланс между комменсалами и условно-патогенными возбудителями; 2) в случае иммунной компрометации больных (СПИД) слабовирулентная и сапрофитная микрофлора кожи и слизистых оболочек способна вызывать инфекционные поражения; 3) при накоплении в эпителии хозяина антибактериальных факторов в микроорганизмах происходит ответная активация ферментов агрессии; 4) патологические состояния, обусловленные высоковирулентными возбудителями, могут не зависеть от состояния иммунитета (Zemskov et al., 2017b, 2019).

Смена характера течения инфекций в настоящее время. Открыты возбудители ВИЧ, геморрагических лихорадок Марбурга, Ласса, Лайма, атипичной пневмонии, коронавирусной инфекции-19, повысил патогенность хеликобактер пилори, и понизил – холерный вибрион, которые существенно изменили проявление инфекций.

Доказано участие в раке шейки матки папилломавирусов 16, 18, 48 и 56 типов, герпеса I и II типа; в лимфоме Беркитта, назофарингеальной карциноме – вируса Эпштейна–Барр; в первичном раке печени – вирусного гепатита В и С; в клеточной лимфосаркоме – лимфотропных вирусов VI и VII.

Показана возможность хронических вирусных, хламидиозных и других инфекций быть причиной атеросклероза, болезни Альцгеймера, диабета, инсульта, рассеянного склероза.

Отмечается превращение зооантропонозов (чума, желтая лихорадка) в антропонозы.

В ряде случаев происходит изменение типового места пребывания: например, миграция синегнойной бактерии из кишечника в другие органы с развитием эмпием плевры, артритов, энтероколитов, сепсисов.

Установлено, что формируется смягчение характера ряда заболеваний в виде инаппарантных форм с ранним или поздним рецидивированием (тифы, бруцеллез, орнитоз). Высок риск бессимптомного носительства, персистенции, дис-

бактериозов, иммунодефицитов, аллергизации, аутоиммунных поражений.

Антропогенные факторы заболеваний иммунной системы

Есть факторы, связанные с современным мироустройством, – это благосостояние населения, особенности современных транспортных систем, животноводство и, в частности, ветеринария в животноводстве, которая опосредованно воздействует на человека (Земсков и др., 2018; Микробиология для..., 2020; Zemskov et al., 2021a)

Улучшение благосостояния населения провоцирует аллергии на драгоценные металлы (золотые, серебряные бронхиальные астмы, дерматиты), косметику, духи, адьювантную болезнь на трансплантаты.

Современная сеть транспортных коммуникаций способствует быстрому распространению возбудителей из эндемичных очагов, обеспечивает пандемии и завозные инфекции. В 1999 г. вирусом Западного Нила в США за счет мигрантов из Африки было инфицировано более 4 тыс. человек. На Фарерских о-вах занос вируса кори обусловил высокую летальность у детей аборигенов, не имеющих устойчивости к патогену. К этому следует добавить географический стресс, обуславливающий подавление иммунной реактивности при смене места жительства, особенно у возрастных контингентов.

Приручение и одомашнивание человеком диких животных привело к развитию зооантропонозных, затем антропонозных, особенно вирусных инфекций, что напрямую связано с реактивностью иммунной системы.

Развитое животноводство, растениеводство, рыбоводство за счет бесконтрольного применения медицинских препаратов, используемых для лечения и профилактики болезней животных и растений, обусловило развитие у населения лекарственных осложнений.

Группа антропогенных факторов, связанных с медициной, неоднородна.

Часть из них предполагает непосредственное воздействие на человека, целью которого всегда было повышение качества и увеличение продолжительности жизни. Но это парадоксальным образом может не приводить к снижению заболеваемости, а стать причиной либо роста числа новых заболеваний, либо трансформации известных болезней.

Диагностическая и лечебная агрессия. В современной медицине используется более 3000 видов различных травмирующих вмешательств, способствующих развитию инфекционных заболеваний. При этом разделяют: 1) инфекции, связанные с устройствами искусственной вентиляции легких,

катетеризацией мочевого пузыря, катетеризацией сосудов и др.; 2) инфекции, обусловленные медицинскими процедурами: гемотрансфузиями, инъекциями и др., а также хирургическими вмешательствами (Калинина и др., 2008).

Лекарственные препараты. Все лекарственные средства иммунотропны, хотя их воздействие не однонаправленно: антибиотики, антигистамины, анестетики, кортикостероиды, цитостатики подавляют иммунную систему, а метаболиты, витамины, плазмозамещающие растворы, антиоксиданты, модуляторы, напротив, ее стимулируют.

Вакцино-сывороточное протезирование иммунной системы. В РФ ежегодно 150–200 млн человек подвергаются активной/пассивной иммунотерапии и профилактике. Однако препараты имеют реактогенность, прививочные реакции, осложнения, вакцинальные инциденты. Осложнения формируются при нарушении регламента назначения, введения, хранения препаратов, а также у групп риска, к которым относятся алкоголики, наркоманы, токсикоманы, иммунокомпрометированные, аллергизированные пациенты, в том числе на фоне избытка антител, приема антигистаминных, антибактериальных препаратов, цитостатиков, модуляторов и др.

Создание антибактериальных препаратов индуцировало феномен ESCAPE (ESCAPE — аббревиатура названий бактерий *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, представителей семейства Enterobacteriaceae), что означает формирование тотальной антибиотикорезистентности бактерий с риском формирования планетарной бактериальной устойчивости через 20–25 лет, что безусловно оказывает определенное негативное влияние на иммунную систему человека.

Увеличение продолжительности жизни и снижение рождаемости в развитых странах привело к демографическому старению. Так, по данным мировой статистики в настоящее время регистрируется 10% лиц старше 65 лет, через 10–15 лет их будет 25%, предполагается, что к 2100 г. численность лиц в возрасте 80 лет и старше достигнет 881 млн. При этом частота диагнозов у 60-летних составляет 3–5%, у 70-летних — более 10% (Земсков и др., 2018).

Патологическая беременность. Излишняя акушерская манипуляционная активность, снижение любой ценой детской смертности обуславливают формирование популяции детей-инвалидов с последующим воспроизводством неполноценного потомства.

Часть факторов, связанных с медициной, относится к организационным проблемам современного медицинского обслуживания.

Нарушение логистики создания медицинских учреждений привело к скоплению на суммарной площади больниц 15 км² трех миллионов коек, 50 млн больных и медицинского персонала в течение более 1 млрд койко-дней/год. Логичнее было бы разделять больничные отделения, например, гнойной гинекологии, “чистой” гинекологии и др. в изолированные помещения с периодическим посещением обслуживающего персонала, а не с его постоянным проживанием в общих структурах этих отделений.

Создание единых систем кондиционирования, вентиляции, канализации, подачи кислорода, создание общих пищеблоков, клининговых служб способствует распространению сапронозных и других инфекций, например, болезни легионеров, в местах скопления людей, в том числе проживания и лечения.

Особые свойства больничных штаммов обуславливают: 1) лекарственную полирезистентность; 2) низкую вирулентность с высокой устойчивостью к внешним факторам; 3) замедление и извращение метаболизма и роста инфекционных возбудителей; 4) изменение мембранных рецепторов патогенов и клеток макроорганизма; 5) образование микст-ассоциаций вирулентных, условно-патогенных возбудителей, хламидий, вирусов, прионов, мико- и уреоплазм, гарднерелл, риккетсий, грибов, простейших, гельминтов.

Несостоятельность иммунных реакций

Недостаточность реакций. Поражение клеточного звена иммунитета обуславливает вирусные и грибковые инфекции, гуморального звена — бактериальные, а комбинированные поражения иммунной системы способствуют нарушению межклеточных взаимодействий Т- и В-лимфоцитов; поражение фагоцитарного звена детерминирует тяжелые бактериальные инфекции, а компонентов системы комплемента — рецидивирующие инфекции. Нарушения пуринового обмена способствует развитию Т-иммунодефицитов, а подавление миграции и кооперации иммунокомпетентных клеток — иммунной недостаточности. Развивается блокирование иммунитета при злокачественных новообразованиях. “Феномен проскальзывания” означает развитие защитных механизмов на среднее количество злокачественных клеток, при этом малые и большие концентрации клеток распознаются с трудом. “Феномен блокирования” состоит в утрате цитотоксичности противораковыми антителами при отсутствии комплемента, а понятие “феномен паритета” подразумевает устойчивое количественное равновесие злокачественных и специфических Т-киллерных клеток.

Особенности противовирусного иммунитета. Мимикрия вирусов под необходимые клеткам биологически активные соединения обуславливает потенциальную опасность иммунного ответа (Zemskov et al., 2020). Расположение антирецептора вириона в узких углублениях (щелях, каньонах), недоступных для активных центров противовирусных антител, снижает эффективность гуморальной защиты. Клеточный фактор, которым являются естественные киллеры, лизирующие мишени, инфицированные вирусами, при лихорадке, стрессе, назначении кортикостероидов инактивируется. Интерфероны (α , β , γ), блокирующие пораженные клетки, индуцируют кишечный, сердечно-сосудистый, мочевого синдромы. В ряде случаев вирус SARS-CoV-2 подавляет синтез интерферонов I, II, III типов в инфицированных тканях легких человека, что сочетается с выбросом провоспалительных цитокинов на фоне дефицита циркулирующих Т-лимфоцитов.

Активация реакций. Медиаторная (I тип), цитотоксическая (II тип), иммунокомплексная (III тип), клеточная (IV тип) реакции сопровождаются глистные инвазии, грибковые инфекции, поражения простейшими и др. Избирательная гиперчувствительность иммунитета на лекарственные препараты может индуцировать анафилактический шок, болезни Стивенсона, Лайелла.

Патогенность реакций. При высвобождении эндотоксинов из бактерий в сенсibilизированном организме развиваются эндотоксинные шоки, под влиянием возбудителей модифицируются аутоантигены, образуются антигены мимикрии на клетках хозяина и инфекта, а за счет интеграции вирусной РНК в геном изменяются клеточные рецепторы. При образовании средне- и крупномолекулярных комплексов развиваются аутоиммунные заболевания, а при замедлении вывода из организма циркулирующих иммунных комплексов вследствие распада IgG высвобождаются связанные возбудители, токсины с рецидивом заболеваний (например, дифтерия) и др. Реакция “трансплантат против хозяина” обусловлена агрессивными иммунными реакциями клеток трансплантата против клеток хозяина с проявлением Рант-болезни (карликовая болезнь), феномена Симонсена (ключевое проявление – спленомегалия), гомологичной болезни у взрослых без отставания в росте и др.

Конкуренция реакций. Одновременное развешивание клеточных (противовирусных) и гуморальных (противобактериальных) иммунных реакций ингибирует оба механизма защиты. Аллергия превагирует над иммунной недостаточностью. ГЗТ тормозит ГНТ, и наоборот. Аллергия и аутоиммунная патология модифицируют иммунную недостаточность. Избыток антител ингибирует клеточный иммунитет. Безантигенная ревакцина-

ция модуляторами истощает иммунную память. Вакцинальный иммунитет подавляет естественную резистентность, стимулирует образование анамнестических антител, снижает число некомпонированных лимфоцитов.

МЕХАНИЗМЫ (УРОВНИ) РЕГУЛЯЦИИ ИММУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ

Важным механизмом предупреждения и устранения болезней иммунной системы является сохранение баланса различных механизмов регуляции реактивности организма (Микробиология для..., 2020).

Уровни естественной регуляции иммунной реактивности определяются естественными компенсаторными механизмами до развития болезнью иммунной системы у пациента.

Организменный уровень обусловлен совместным функционированием регулирующих систем: центральной нервной, эндокринной, иммунометаболической, гематологической и др. (Земсков и др., 2008, 2018).

Феноменологический уровень складывается из естественной резистентности, тахифилаксии, врожденного, видового и адаптивного иммунитета (Петров и др., 2017). Указанные механизмы могут быть скорректированы различными модуляторами: тимопептидами, миелопептидами, интерферонами, нуклеиновыми кислотами, синтетическими модуляторами и др. (Земсков и др., 2018).

Системный уровень базируется на ассоциированных вариациях иммунного, биохимико-метаболического, гематологического, бактериологического, специфического клинического статусов и др. (Земсков и др., 2017).

Сгруппированный по звеньям иммунитета уровень определяется состоянием клеточных (Т-зависимых), гуморальных (В-зависимых), фагоцитарных (неспецифических), цитокиновых (воспалительных), метаболических и прочих показателей (Земсков и др., 2018). Развитие болезни происходит в тех случаях, когда поврежденное звено реактивности востребуется при патологическом процессе.

Специализированный уровень включает антителообразование, ГНТ и ГЗТ, иммунную память и толерантность, соотношение параметров свободнорадикального окисления липидов и белков, механизмов антиоксидантной системы (Земсков и др., 2008, 2018, 2020).

Детализованный до сигнальных мишеней уровень может быть охарактеризован наборами ключевых тестов, результаты которых конкретизируют типовые формулы ФРИС и ФМР (формула расстройств иммунной системы и формула метаболических расстройств). Так, например, в остром периоде пиелонефрита у больных, согласно ФРИС

($V_3^+MCM_3^+HCTsp_2^-$), наблюдается накопление третьей степени и В-клеток, и маркера аутоагрессии молекул средней массы (МСМ) на фоне недостаточности средней выраженности метаболизма нейтрофилов. У тех же больных ФМР ($OШ_2^+MДА_3^-СОД_2^-$) регистрирует избыток фактора свободно-радикального окисления оснований Шиффа с дефицитом малонового диальдегида и с подавлением активности супероксиддисмутазы антиоксидантной системы (Земсков и др., 2020).

Уровень генетической регуляции иммунной реактивности заключается в регламентировании инфекционной и соматической заболеваемости, в развертывании защитных и иммунопатологических реакций, вакцинального ответа, эффективности коррекции. Конкретная регуляция процессов осуществляется генами главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) человека, системы HLA, антигенов системы АВ0, резус-фактора, сывороточных гаптоглобинов и др. Отличительной особенностью данного уровня является то, что перечисленные генетические системы расположены в различных хромосомах: в 6-й – система HLA, в 9-й – система АВ0, в 1-й – резус-фактор, и при этом они функционируют как единое целое (Васильева, 1992; Зарецкая и др., 2002; Земсков и др., 2008).

Патологическая регуляция иммунной реактивности

Патологическая эндогенная лимфоидная регуляция иммунной реактивности обусловлена достижением иммунной системой предела компетенции, что способствует развитию иммунозависимых, иммуноассоциированных и прочих заболеваний (Хайтов и др., 2010; Земсков и др., 2015).

Патологическая эндогенная метаболическая регуляция иммунной реактивности реализуется за счет накопления в организме острофазовых белков, низкомолекулярных нуклеиновых кислот, формирования дисбаланса свободнорадикального окисления/антиокислительной системы, индукции метаболического синдрома (абдоминального ожирения, сахарного диабета 2-го типа, артериальной гипертензии и дислипидемии), что вызывает иммунодефицитные состояния (Прокопенко, Бровкина, 2003; Луцкий и др., 2016; Земсков и др., 2020).

Патологическая экзогенная экологическая регуляция иммунной реактивности осуществляется абиотическими и биотическими факторами внешней среды. К природным факторам относят температуру, радиацию, влажность, продолжительность светового дня, возмущенность магнитного поля, химический состав воздуха, почвы, воды и т.д., а к биотическим – микрофлору, растительный и животный мир. Указанные факторы оказывают

мягкое/жесткое, прямое/опосредованное, регулируемое/нерегулируемое, короткое/длительное, локальное/глобальное, аккумулирующее/неаккумулирующее действие (Земсков и др., 2018).

Клиническая регуляция иммунной реактивности оказывает влияние на локализацию, патогенез, этиологию, стадию, комбинацию, аллергизацию заболеваний (Земсков и др., 2017, 2018; Микробиология для..., 2020).

Влияние локализации заболеваний на иммунопатологию. В количественном плане в остром периоде у пациентов с офтальмохламидиозом установлены достоверные отличия иммунных маркеров от нормы в 36%, с урогенитальным хламидиозом – в 68%, с синдромом Рейтера – в 80%. Качественно при офтальмохламидиозе обнаружены минимальные изменения гемограмм с дефицитом Т- и В-клеток, дисиммуноглобулинемией, торможением метаболизма нейтрофилов, стимуляцией уровня провоспалительных цитокинов. При урогенитальном хламидиозе выраженность воспаления и сенсibilизации возрастает на фоне угнетения Т- и фагоцитарного звеньев иммунитета, дисбаланса гуморальной защиты, накопления провоспалительных интерлейкинов. Синдром Рейтера характеризуется стимуляцией белого кровяного ростка, диспропорцией Т- и В-обусловленных цитокиновых реакций с супрессией фагоцитарного иммунитета (Новиков Д., Новиков П., 2009).

Влияние патогенеза заболеваний на иммунопатологию. В периоде обострения экзогенной и эндогенной бронхиальной астмы отмечается формирование иммунопатологии в 58 и 85% случаев соответственно. При этом при экзогенной бронхиальной астме наблюдаются значительные вариации клеточного звена, они составляют более 66%, а остальные вариации (гематологические, иммунные гуморальные, фагоцитарные, цитокиновые) можно считать средними, они составляют 33–66%. При эндогенной бронхиальной астме выраженность изменений существенно выше, она максимальна по всем маркерам, кроме цитокиновых.

Влияние этиологии заболеваний на иммунопатологию. Количественно-качественные отличия лабораторных маркеров у страдающих секреторным вирусным и гнойным бактериальным отитами выражались в снижении 42 и 77% значений маркеров соответственно. Качественно в первом случае изменения касались Т- и В-клеток, их регуляторных субпопуляций, а во втором – основных популяций лимфоцитов, натуральных киллеров и фагоцитоза.

Влияние стадии заболеваний на иммунопатологию. У пациенток с первичным острым и обострением хронического аднексита сформировалась однозначная реакция в виде воспаления, сенсibilизации, супрессии Т- и фагоцитарного звеньев и

активации В-звена иммунитета, накопления циркулирующих иммунных комплексов. В то же время при хроническом воспалении дополнительно наблюдался дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов, лейкоцитоз, эозинофилия. В целом при данных заболеваниях число “извращенных” лабораторных показателей составило 49 и 78% соответственно.

Влияние комбинаций заболеваний на иммунопатологию. У пациентов с хроническим аутоиммунным тиреоидитом наблюдался дисбаланс тиреоидных гормонов, рост антитиреоидных антител и циркулирующих иммунных комплексов, угнетение Т-супрессорного и раздражение гуморального звена иммунитета. При хроническом бронхите развивалась лимфопения, накопление гранулоцитов, подавление клеточного иммунитета, накопление киллеров, IL-4. При комбинации обоих заболеваний отмечалось совмещение кластеров патогенеза двух заболеваний.

Влияние алергизации на иммунопатологию. В остром периоде гнойной инфекции мягких тканей у больных регистрируется снижение 42% иммунных параметров. После дополнительного развития у пациентов аллергического дерматита количество измененных показателей достигает 81%. В качественном плане наблюдается подавление клеточных защитных реакций, дисбаланс В-лимфоцитов и IgG, индукция аутоагрессивных и токсических реакций, тотальное подавление поглощательной и метаболической способности фагоцитов на фоне накопления провоспалительных цитокинов и клеток с тенденцией к апоптозу.

Альтернативные механизмы (феномены) иммунных реакций

Феномен единства специфичности и неспецифичности. В основе защиты от внутренней и внешней антигенной интервенции лежат первичные неспецифические и вторичные специфические механизмы. Конкретный иммунный ответ подвергается неспецифической регуляции тимомиметиками, цитокинами, фрагментами разрушения иммунных глобулинов, нуклеиновыми кислотами, эндотоксинами и др. (Национальная концепция..., 2012; Вакцины и вакцинация, 2014; Земсков и др., 2017; Микробиология для..., 2020).

Феномен предпочтения, представляющий соотношение гиперчувствительности (аллергии) и недостаточности (иммунодефицита). Аллергия, как крайняя степень выраженности иммунных реакций, несет защитный и патогенный потенциалы. При одновременном формировании с иммунодефицитом она является преобладающей и в то же время усугубляющей его выраженность, модифицирует и снижает эффективность иммунотерапии. При этом сама иммунная недостаточность

может проявлять позитивный потенциал при аутоиммунных и аллергических заболеваниях и негативный – при множестве прочих состояний (Горячкина, Кашкин, 2009; Земсков и др., 2017).

Феномен маятника (стимуляция и супрессия). При любых патологических процессах в иммунной системе развиваются полярные относительно стимуляции и супрессии реакции. На уровне отдельных нозоформ провоцируется развитие иммунозависимых, аллергических, аутоагрессивных, иммунокомплексных болезней, первичных и вторичных дефицитов и рака. При иммуноассоциированных процессах, при которых развиваются гнойные инфекции мягких тканей, бронхолегочная патология, цереброваскулярные поражения и др., регистрируется дисбаланс по разным показателям. Например, у пациентов, страдающих острым инфарктом миокарда, общая стимуляция реактивности в остром периоде провоцирует отсроченную патологию, например аневризмы, болезнь Дресслера, а при торможении риск осложнений снижается (Земсков и др., 2017, 2018).

Феномен паутины (частное, промежуточное и общее). Для сохранения гомеостаза организма развивается несколько уровней защиты: региональный, субсистемный и системный иммунитет. Региональный иммунитет обеспечивает органную защиту организма, непосредственно сообщаясь с внешней средой. Выделяют субсистемный иммунитет кожи, слизистых оболочек респираторного, пищеварительного и мочевого трактов (Земсков и др., 2018). Доказательством наличия системного иммунитета является формирование сильных корреляций между собой лабораторных маркеров. Например, при аутоиммунном тиреоидите показано формирование положительных корреляционных связей уровня гормонов щитовидной железы и инсулина с IgG и циркулирующими иммунными комплексами и отрицательных – с Т-звеном иммунитета (Земсков и др., 2017).

Феномен гармонизации (вариабельность, нормализация, синхронизация). В остром периоде заболеваний наблюдается высокая изменчивость гематоиммунометаболических, бактериологических, клинических и иных процессов. В стадии ремиссии/выздоровления отмечается нормализация лабораторных показателей, которая сочетается с синхронизацией функций регулирующих систем, а именно иммунной, эндокринной, центральной нервной (Петров и др., 2017; Земсков и др., 2018).

Феномен конкретики и общности (персонификация и системность). Индукция конкретных иммунных реакций на аллерген при анафилактическом шоке или синдроме Лайелла сопровождается мгновенным вовлечением в патологический процесс эндокринной системы с выбросом гормонов

стресса и нервной системы – с характерными поведенческими проявлениями.

Феномен дезинтеграции и интеграции (диссимиляции и ассимиляции). В результате патологического и физиологического разрушения соматических и микробных клеток высвобождаются биологически активные вещества: R-белки, трансфер-фактор, эндотоксины, высоко- и низкомолекулярные нуклеиновые кислоты, микробосвязывающие белки острой фазы, С-реактивный белок (СРБ) и др., которые вначале способствуют развитию воспаления, а затем обуславливают компенсирующую активацию и интеграцию иммунных функций (Земсков и др., 2018).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в развернутом изложении рассмотрены различные болезни иммунной системы в различные периоды жизни человека, их зависимость от внешних и внутренних факторов различной природы, детальная феноменологическая характеристика, влияние заболеваний различной природы на развитие болезней иммунной системы и многие другие важнейшие вопросы этой проблемы.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнялась в рамках Программы плановых исследований НИР в Национальном медицинском исследовательском центре хирургии им. А.В. Вишневского (Москва) и в Воронежском государственном медицинском университете им. Н.Н. Бурденко.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием людей, соответствуют этическим стандартам институционального и/или национального комитета по исследовательской этике и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. Разрешения от каждого из включенных в исследование участников и информированное добровольное согласие не требуются, поскольку пациенты подвергались исследованиям в плане оказания медицинской помощи, предусмотренной Минздравом России в условиях стационарного лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Вакцины и вакцинация: Национальное руководство / Ред. В.В. Зверев, Р.М. Хаитов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 640 с.

Васильева Л.В. Клинико-генетические ассоциации у больных неспецифическими заболеваниями легких: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М.: ВГМИ, 1992. 24 с.

Горячкина Л.А., Кашкин К.П. Клиническая аллергология и иммунология. Руководство для практикующих врачей. М.: Миклош, 2009. 432 с.

Зарецкая Ю.М., Хамаганова Е.Г., Губарев А.А. Иммунология и иммуногенетика человека. М.: Триада-фарм, 2002. 136 с.

Земсков А.М., Земсков В.М., Караулов А.В. Клиническая иммунология. Учебник для вузов. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 432 с.

Земсков В., Земсков А., Глухов А. Диагностика, лечение иммунозависимых, иммуноассоциированных заболеваний. Основы, характеристика, методы. Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing, 2014. 648 с.

Земсков А.М., Земсков В.М., Земскова В.А. и др. Настольная книга клинического иммунолога. Теоретические, практические и прикладные аспекты клинической иммунологии на современном этапе. М.: Триада-Х, 2015. 704 с.

Земсков А.М., Есауленко И.Э., Черешнев В.А. и др. Курс лекций по клинической иммунофизиологии. Воронеж: Ритм, 2017. 1048 с.

Земсков А.М., Черешнев В.А., Ревивили А.Ш. и др. Проблемы клинической иммунологии XXI века. М.: Научная книга, 2018. 320 с.

Земсков А., Земскова В., Бережнова Т. Метаболический иммунитет. Метаболические расстройства, диагностика, коррекция, иммунотерапия. Монография. Deutland: Lambert Academic Publishing, 2020. 385 с.

Калинина Н.М., Кетлинский С.А., Оковитый С.В., Шуленко С.Н. Заболевания иммунной системы. Диагностика и фармакотерапия. М.: Эксмо, 2008. 494 с.

Клиническая иммунология и аллергология. Учебное пособие / Ред. А.М. Земсков. Воронеж: ВГМУ, 2016. 288 с.

Луцкий М.А., Земсков А.М., Разуваева В.В. Формирование окислительного стресса в патогенезе цереброваскулярных заболеваний и инсульта. Воронеж: 2016. 195 с.

Микробиология для медицинских специальностей. Учебник / Ред. А.М. Земсков. М.: Кнорус, 2020. 296 с.

Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи и информационный материал по ее положениям / Ред. В.И. Покровский. Н. Новгород: Ремедиум Приволжье, 2012. 84 с.

Новиков Д.К., Новиков П.Д. Клиническая иммунопатология. М.: Медицинская литература, 2009. 464 с.

Петров Р.В., Хаитов Р.М., Черешнев В.А. Физиология иммунной системы: клеточные и молекулярно-биологические механизмы // Вестник РФФИ. 2017. № 1. Спец. вып. "100 лет физиологии в России". С. 96–120.

Прокопенко Л.Г., Бровкина И.Л. Иммунометаболические нарушения и их коррекция // Окислительный, энергетический и иммунный гомеостаз / Ред.

- Л.Г. Прокопенко, А.И. Лазарев, А.И. Конопля. Курск: КГМУ, 2003. Р. 13–34.
- Хаитов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г. Иммунология. Норма и патология. М.: Медицина, 2010. 751 с.
- Черешнев В.А., Шмагель К.В. Иммунология. Учебник для студентов образовательных учреждений высшего профессионального образования. М.: Центр стратегического партнерства, 2014. 520 с.
- Zemskov A.M., Zemskov V.M., Shishkina V.V. et al. Immunology of infections: current stage. Immunology of childhood // Int. J. Rec. Sci. Res. 2017a. V. 8. Iss. 12. P. 22177–22181.
- Zemskov A.M., Zemskov V.M., Zemskova V.A. et al. Immunology of infections at the present stage, microbiota and microbiota diseases // Int. J. Curr. Adv. Res. 2017b. V. 6. Iss. 10. P. 6381–6386.
- Zemskov A.M., Zemskova V.A., Zemskov V.M. et al. Infections immunology of the present time pregnancy immunology // Int. J. Curr. Res. 2017c. V. 9. Iss. 12. P. 63042–63046.
- Zemskov A.M., Zemskov V.M., Zemskova V.A. et al. Immunology of infections at the present stage, immunology of climax and aging // Int. J. Rec. Sci. Res. 2018. V. 9. Iss. 1. P. 23416–23419.
- Zemskov V.M., Zemskov A.M., Pronko K.N. et al. Controversial issues of clinical immunology. Modern concepts about the pathogenesis of infections // Glob. J. Med. Res. 2019. V. 19. Iss. 2. P. 1–6.
- Zemskov V.M., Zemskov A.M., Pronko K.N. General representations about immunopathological state // Int. J. Case Study. 2020. V. 9. Iss. 7. P. 12–21.
- Zemskov V.M., Zemskov A.M., Neymann V. et al. Contradiction to clinical immunology. Suppression and stimulation of immune reactivity in pathological processes // Innovat. J. Med. Health Science. 2021a. V. 11. Iss. 5. P. 1656–1664.
- Zemskov V.M., Zemskov A.M., Zemskova V.A. Immunology of nonhospital and intrahospital infections // Biol. Bull. Rev. 2021b. V. 11. № 4. P. 368–376.

Diseases of the Immune System

V. M. Zemskov¹, *, A. M. Zemskov², V. V. Neymann³, A. A. Barsukov¹, V. A. Zemskova², M. N. Kozlova¹, N. S. Shishkina¹, and V. S. Demidova¹

¹Vishnevsky National Medical Research Center for Surgery, Moscow, Russia

²Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

³VRFD SA, Lugano, Switzerland

*e-mail: arturrego@yandex.ru

The classification of diseases of the immune system in different periods of a person's life, including immunoassociated and immune-dependent diseases, their phenomenology, provoking factors of diseases, mechanisms of regulation of immune reactivity with comprehensive and versatile details of these problems are presented.

Keywords: immune reactivity, immunosuppression and immunostimulation, factors of immune diseases, immunoregulation

УДК 612.25+615.099.092

РОЛЬ АКВАПОРИНА-5 В ФОРМИРОВАНИИ ОТЕКА ЛЕГКИХ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

© 2022 г. П. Г. Толкач¹, *, Д. Т. Сизова¹, В. А. Башарин¹, С. В. Чепур², Н. Г. Венгерович²,
О. И. Алешина², И. М. Иванов², М. А. Чайкина¹

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

²Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины,
Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: pgtolkach@gmail.com

Поступила в редакцию 26.11.2021 г.

После доработки 10.12.2021 г.

Принята к публикации 10.12.2021 г.

Механизм токсического отека легких, вызванного интоксикацией ацилирующими агентами (фосген, перфторизобутилен и др.), окончательно не изучен. Отек легких можно смоделировать селективными α_2 -адреномиметиками (дексмететомидин) при введении в высоких дозах. Важную роль в формировании отека легких различного генеза может играть аквапорин-5 – селективный водный канал, локализованный на апикальной поверхности мембран альвеолоцитов 1-го типа. Неселективным ингибитором аквапоринов считают хлорид (II) ртути. Цель проведения исследования состояла в оценке роли аквапорина-5 в формировании у крыс отека легких, вызванного интоксикацией дексмететомидином (10 мг/кг) и перфторизобутиленом (1.5 LC₅₀). Хлорид (II) ртути вводили животным подкожно в дозе 0.3 LD₅₀ однократно непосредственно после интоксикации перфторизобутиленом и дексмететомидином. Через 1 и 3 ч после воздействия извлекали легкие, определяли величину легочного коэффициента, проводили иммуногистохимическое выявление аквапорина-5 и оценивали соотношение окрашенных и неокрашенных диаминобензидином апикальных мембран альвеолоцитов 1-го типа. При интоксикации животных перфторизобутиленом увеличивалось относительное содержание аквапорина-5 в отличие от воздействия дексмететомидина. Применение хлорида (II) ртути (0.3 LD₅₀) способствовало снижению легочного коэффициента через 3 ч после воздействия перфторизобутилена, уменьшению относительного содержания аквапорина-5. Применение хлорида (II) ртути (0.3 LD₅₀) не приводило к снижению легочного коэффициента у крыс после введения дексмететомидина. Установлено, что увеличение относительного содержания аквапорина-5 после ингаляционного воздействия перфторизобутилена играет важную роль в генезе токсического отека легких. Разработка селективных блокаторов аквапорина-5 может быть новым направлением в поиске средств терапии отравлений ацилирующими агентами.

Ключевые слова: токсический отек легких, перфторизобутилен, дексмететомидин, интоксикация, аквапорин-5, хлорид (II) ртути, механизм действия

DOI: 10.31857/S0042132422020089

ВВЕДЕНИЕ

Аквапорин-5 (AQP₅) – водный канал, локализованный в альвеолоцитах 1-го типа, который играет ключевую роль в трансцеллюлярном перемещении воды из интерстиция в альвеолярное пространство (Jung et al., 1994; Wittekindt, Dietl, 2019). Согласно данным литературы, аквапорины играют важную роль в формировании отеков различных органов и тканей (Li et al., 2011; Wittekindt, Dietl, 2019).

Отравление пульмонотоксикантами, обладающими ацилирующим действием (фосген, перфторизобутилен и др.), может произойти вследствие аварийных ситуаций на химически опасных объ-

ектах, при горении фторсодержащих полимеров, например, на пожарах и др. (Толкач и др., 2020). На сегодня патогенез токсического отека легких, вызванный интоксикацией ацилирующими агентами, остается не до конца изученным, более того, отсутствуют средства этиотропной терапии и эффективные подходы к проведению патогенетической терапии отравлений этими токсикантами (Башарин и др., 2019).

Дексмететомидин – высокоселективный полный агонист всех подтипов α_2 -адренорецепторов (Virtanen et al., 1988). Дексмететомидин, как и другие α_2 -адреномиметики, широко используют для седации и премедикации животных в ветери-

нарной анестезиологии (Raekallio et al., 2017). В дозировках, используемых для создания искусственной седации (0.5–10 мкг/кг×ч), дексмететомидин предотвращает воспалительную реакцию в тканях легких, вызванную интоксикацией липополисахаридом (Taniguchi et al., 2008). Тем не менее при использовании дексмететомидина в высоких дозах (в десятки раз превышающих средние эффективные) у животных возникает отек легких, вызванный нарушением тонуса сосудов и перераспределением кровотока (Kastner et al., 2007; Raekallio et al., 2017). Таким образом, введение крысам дексмететомидина в высоких дозах может быть использовано для моделирования отека легких сосудистого генеза.

В ранее проведенных экспериментальных исследованиях было показано, что применение хлорида (II) ртути (0.3 LD₅₀) приводило к снижению выраженности токсического отека легких, вызванного интоксикацией фосгеном и перфторизобутиленом (Толкач и др., 2020). С учетом того, что хлорид (II) ртути – неселективный блокатор аквапоринов, ингибирующий перемещение воды через альвеолоциты 1-го типа в альвеолярное пространство (Hirano et al., 2010), его можно использовать в качестве зонда для оценки роли AQP₅ в генезе отека легких различной этиологии.

Данные литературы позволяют сделать предположение о том, что изучение влияния хлорида (II) ртути на динамику содержания внесосудистой воды в легких, а также иммуногистохимическое исследование содержания AQP₅ в альвеолоцитах 1-го типа могут быть целесообразны для оценки роли AQP₅ в формировании отека легких различного генеза.

Цель исследования – оценить роль AQP₅ в формировании у крыс отека легких, вызванного интоксикацией перфторизобутиленом и дексмететомидином.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное исследование выполнено на крысах-самцах. Животные были разделены на группы (по шесть особей в каждой): ИК – интактный контроль; HgCl₂ – животным вводили хлорид (II) ртути; ПФИБ – животных подвергали интоксикации перфторизобутиленом; ДММ – животным вводили дексмететомидин; ПФИБ + HgCl₂ – животным после воздействия перфторизобутилена вводили хлорид (II) ртути; ДММ + HgCl₂ – животным после воздействия дексмететомидина вводили хлорид (II) ртути. При проведении экспериментов соблюдали требования Правил надлежащей лабораторной практики (ГОСТ 33044–2014 “Межгосударственной стандарт”).

Перфторизобутилен получали путем термодеструкции фторопласта-4 в камере для пиролиза

при температуре 620–680°C. Определение количественного содержания перфторизобутилена в составе продуктов пиролиза фторопласта-4 проводили методом газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (Agilent 7890В с масс-селективным детектором Agilent 240 ms, США). Статическую ингаляционную интоксикацию лабораторных животных групп ПФИБ и ПФИБ + HgCl₂ моделировали в герметичной камере объемом 0.1 м³. Животных подвергали воздействию перфторизобутилена в концентрации, соответствующей 1.5 LC₅₀ (экспозиция – 15 мин). По окончании интоксикации животных извлекали из камеры, после чего они дышали атмосферным воздухом.

Дексмететомидина гидрохлорид (Sigma Aldrich, США, CAS-номер: 145108-58-3) вводили животным внутрибрюшинно однократно в дозе 10 мг/кг – данная доза препарата в 1000 раз больше, чем используемая для выполнения седации у животных (Taniguchi et al., 2008).

Хлорид (II) ртути животным групп ПФИБ + HgCl₂ и ДММ + HgCl₂ вводили подкожно (в холку) в дозе, соответствующей 0.3 LD₅₀ однократно, непосредственно после ингаляционного воздействия перфторизобутилена и внутрибрюшинного введения дексмететомидина.

Животным группы HgCl₂ вводили хлорид (II) ртути подкожно (в холку) в дозе, соответствующей 0.3 LD₅₀.

Легкие у выведенных из эксперимента животных извлекали через 1 и 3 ч после воздействия исследуемых веществ. Для косвенной оценки содержания внесосудистой воды в легких определяли легочной коэффициент (ЛК). Легкие фиксировали 10%-ным раствором формалина.

Для выполнения иммуногистохимического исследования из предварительно приготовленных парафиновых блоков при помощи ротационного микротомы изготавливали срезы ткани легких толщиной 4 мкм, которые размещали на предметных стеклах, обработанных полилизинном. После высокотемпературной обработки срезов (98°C, 20 мин в цитратном буфере с pH = 6.0) выполняли иммуногистохимическое окрашивание с использованием кроличьих моноклональных антител против AQP₅ (Uniprot ID: P47864, AtaGenix, США), универсальной полимерной системы визуализации UltraVision Quanto (Thermo, США) и автоматического иммуностейнера Autostainer A360 (Thermo, США) в соответствии с рекомендациями производителей реагентов. В качестве оптически плотной метки был использован диаминобензидин.

Относительное содержание AQP₅ определяли на микропрепарате как отношение протяженности апикальной поверхности мембраны альвео-

Таблица 1. Влияние хлорида (II) ртути (0.3 LD₅₀) на динамику ЛК и относительное содержание AQP₅ у крыс в различные сроки после ингаляционного воздействия перфторизобутилена (1.5 LC₅₀), отн. ед., Me [Qн; Qв]

Группа	Величина ЛК		Относительное содержание AQP ₅ , %	
	время после воздействия, ч		время после воздействия, ч	
	1	3	1	3
ИК	5.1 [4.5; 5.6]		29 [25; 32]	
ПФИБ	10.6 [9.6; 11.7]*	33.4 [26.4; 40.5]*	50 [41; 56]*	51 [47; 64]*
ПФИБ + HgCl ₂	18.1 [16.9; 19.2]*	17.7 [17.2; 18.2]* ^{&}	33 [27; 45]	30 [22; 37] [#]

Примечание: * – различия значимы, по сравнению с группой ИК, $p < 0.05$; [&] – различия значимы, по сравнению с группой ПФИБ, 3 ч, $p < 0.05$; [#] – различия значимы, по сравнению с группой ПФИБ, 3 ч, $p < 0.05$.

лоцита 1-го типа с AQP₅ (измеряли протяженность комплекса антиген/антитело, окрашенного коричневым цветом) в альвеоле к общей протяженности альвеолярной поверхности (в пределах полей зрения микропрепарата). Измерения проводили при помощи программного комплекса Pannogramic Viewer 1.15.14 (3DHitech Ltd.). Относительное содержание AQP₅ в альвеоле выражали в процентах.

Статистический анализ результатов экспериментальных исследований проводили при помощи программы Statistica 10.0. К сравнению полученных данных, распределение которых отличалось от нормального, применяли непараметрические критерии Краскела–Уоллиса и Ньюмана–Кейлса для множественных парных сравнений. Данные в тексте представлены в виде медианы, верхнего и нижнего квартилей – Me [Qн; Qв]. Вывод о статистической значимости различий между группами принимали при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценка влияния хлорида (II) ртути на величину ЛК и относительное содержание AQP₅ в легких крыс после ингаляционного воздействия перфторизобутилена

Для моделирования токсического отека легких животных подвергали воздействию перфторизобутилена (1.5 LC₅₀). Интоксикация крыс исследуемым пульмоноотоксикантом приводила к значимому увеличению ЛК через 1 ч и еще большему его нарастанию через 3 ч после воздействия, по сравнению с интактными животными (табл. 1). Данные изменения сопровождалось увеличением ($p < 0.05$) относительного содержания AQP₅ на апикальной поверхности альвеолоцитов 1-го типа (рис. 1) после воздействия перфторизобутилена (табл. 1).

В предварительной серии экспериментов было продемонстрировано, что введение крысам хлорида (II) ртути (0.3 LD₅₀) не приводило к измене-

нию величины ЛК и относительного содержания AQP₅ через 1 и 3 ч после воздействия (рис. 1).

Применение хлорида (II) ртути (0.3 LD₅₀) способствовало значимому снижению ЛК у крыс через 3 ч после воздействия перфторизобутилена. Выявили уменьшение ($p < 0.05$) относительного содержания AQP₅ через 1 и 3 ч после воздействия перфторизобутилена на фоне применения хлорида (II) ртути до уровня интактных животных (рис. 1, табл. 1).

Оценка влияния хлорида (II) ртути на ЛК и относительное содержание AQP₅ в легких крыс после внутрибрюшинного введения дексмететомидина

Для моделирования отека легких сосудистого генеза крысам внутрибрюшинно вводили дексмететомидин (10 мг/кг). При анализе ЛК отметили его значимое увеличение через 1 и 3 ч после воздействия, по сравнению с контролем. Выявленное увеличение ЛК не сопровождалось нарастанием относительного содержания AQP₅ в альвеоле (табл. 2).

Применение хлорида (II) ртути (0.3 LD₅₀) не способствовало снижению ($p < 0.05$) ЛК у крыс через 1 и 3 ч после введения дексмететомидина (табл. 2). С учетом того, что применение хлорида ртути (II) не способствовало снижению ЛК у животных группы ДММ + HgCl₂, определение относительного содержания AQP₅ в этой группе не проводили.

ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенном экспериментальном исследовании смоделированы два типа отека легких: токсический отек легких, вызванный интоксикацией ацилирующим агентом (перфторизобутилен) и отек легких сосудистого генеза, вызванный интоксикацией α₂-адреномиметиком (дексмететомидин).

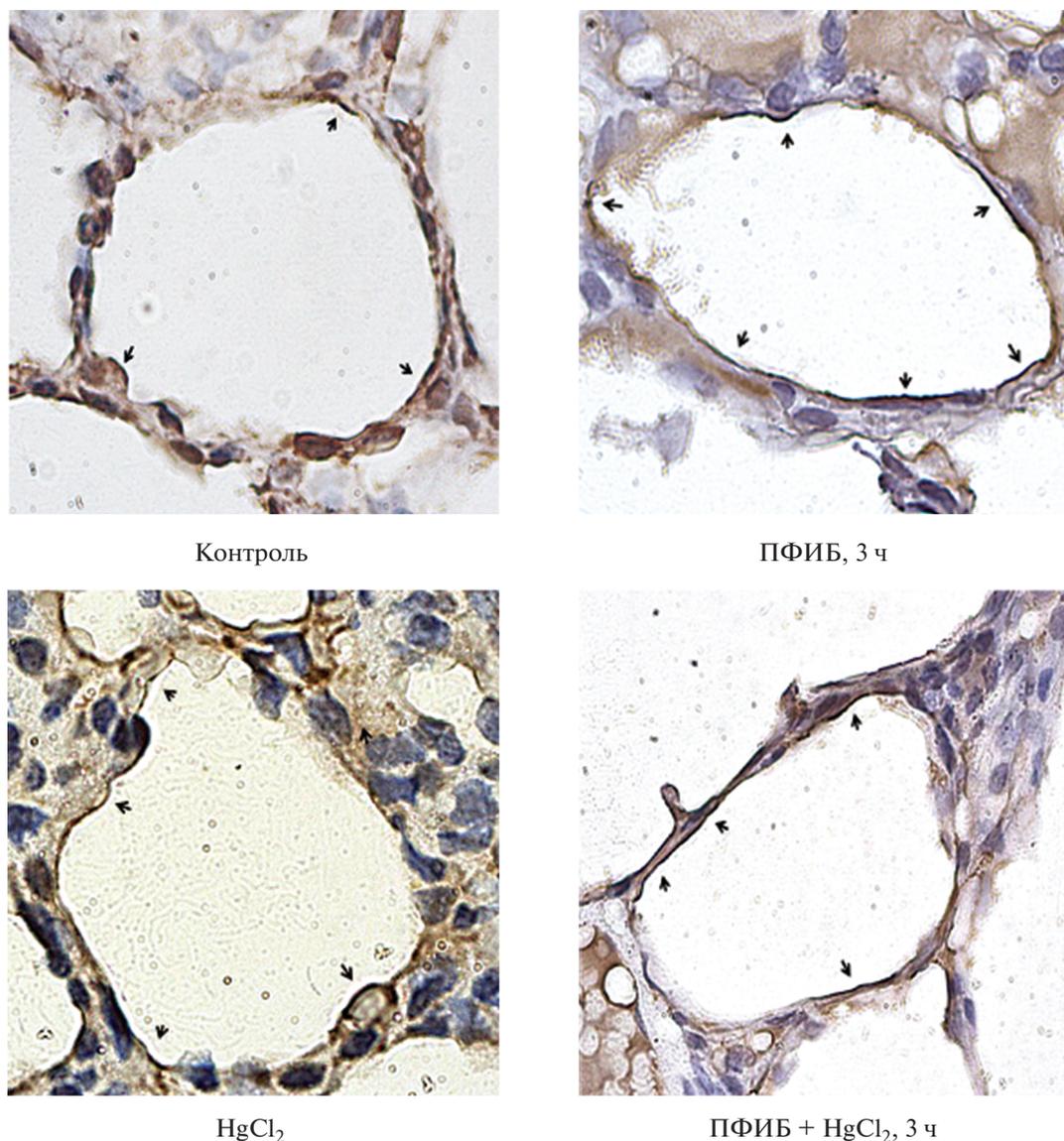


Рис. 1. Экспрессия аквапорина-5 клетками альвеолярного эпителия через 3 ч после воздействия перфторизобутилена. Иммуногистохимия, оптически плотная метка – диаминобензидин; ув. об. $\times 100$.
Примечание: введение крысам хлорида (II) ртути ($0.3 LD_{50}$) не приводило к увеличению содержания AQP₅ в легких; интоксикация крыс перфторизобутиленом ($1.5 LC_{50}$) приводила к увеличению содержания AQP₅ в легких крыс через 3 ч после воздействия; применение хлорида (II) ртути ($0.3 LD_{50}$) приводило к снижению содержания AQP₅ в легких через 3 ч после воздействия перфторизобутилена. Стрелками указан комплекс аквапорина-5 с антителом, окрашенный оптически плотной меткой (диаминобензидин).

Внутрибрюшинное введение крысам дексмететомидина в дозе 10 мг/кг приводило к нарастанию ЛК уже через 1 ч после воздействия. Дексмететомидин, воздействуя на α_2 -адренорецепторы (Virtanen et al., 1988), приводит к нарастанию общего периферического сосудистого сопротивления (Raekallio et al., 2017) и к увеличению гидростатического давления в легочных капиллярах, что способствует дезинтеграции аэрогематического барьера и выходу жидкости из системного кровотока в интерстиций и альвеолярное про-

странство с последующей манифестацией отека легких (Kastner et al., 2007). При проведении иммуногистохимического исследования в этом случае не наблюдали нарастания содержания AQP₅ в альвеолах, несмотря на увеличение внесосудистой воды в легких, а применение неселективного блокатора аквапоринов хлорида (II) ртути не способствовало снижению ЛК. Таким образом, можно предположить, что генез отека легких, вызванного α_2 -адреномиметиком (дексмететомидин) не связан с изменением содержания AQP₅ в альвео-

Таблица 2. Влияние хлорида (II) ртути ($0.3 LD_{50}$) на динамику ЛК и относительное содержание AQP_5 у крыс в различные сроки после внутрибрюшинного введения дексмететомидина (10 мг/кг), отн. ед., Ме [Qн; Qв]

Группа	Величина ЛК		Относительное содержание AQP_5 , %	
	время после воздействия, ч		время после воздействия, ч	
	1	3	1	3
ИК	4.9 [4.1; 5.5]		29 [25; 32]	
ДММ	9.1 [8.2; 10.5]*	14.6 [11.3; 18.9]*#	28 [22; 47]	21 [18; 38]
ДММ + $HgCl_2$	11.6 [10.8; 16.2]*	13.2 [11.4; 18.1]*	Не определяли	

Примечание: * – различия значимы, по сравнению с ИК, $p < 0.05$; # – различия значимы, по сравнению с группой ДММ, 1 ч, $p < 0.05$.

лоцитах I-го типа. Вероятно, выход воды в альвеолярное пространство происходит парацеллюлярно.

Было продемонстрировано, что применение неселективного блокатора аквапоринов хлорида (II) ртути приводило к снижению содержания внесосудистой воды в легких через 1 и 3 ч после воздействия перфторизобутилена. Известно, что хлорид (II) ртути попадает в легкие, где диссоциирует до иона ртути, который формирует ковалентную связь с аминокислотными остатками (Cys_{189} , Cys_{187}) водного канала AQP_5 . Это приводит к снижению транспорта воды через AQP_5 в альвеолярное пространство (Jung et al., 1994; Nigano et al., 2010). В ранее выполненном исследовании было показано, что применение хлорида (II) ртути приводило к снижению ЛК, к уменьшению гистологических проявлений токсического отека легких, а также к нормализации оксигенации артериальной крови и кислотно-основного состояния через 6 ч после воздействия на животных фосгена ($1.5 LC_{50}$) и перфторизобутилена ($1.5 LC_{50}$) (Толкач и др., 2020).

При проведении иммуногистохимического исследования выявили увеличение относительного содержания AQP_5 через 1 и 3 ч после воздействия перфторизобутилена. Согласно данным литературы, AQP_5 в физиологических условиях находится на внутриклеточной поверхности плазматической мембраны альвеолоцита I-го типа и в ответ на действие вторичных мессенджеров (например, увеличение концентрации внутриклеточного кальция) транслоцируется на наружную поверхность плазматической мембраны (Ishikawa et al., 1998). Помимо этого, активность аквапоринов может регулироваться за счет изменения уровня их экспрессии или процессов рециклизации (Wittekindt, Dietl, 2019). Можно предположить, что перфторизобутилен, воздействуя на альвеолоциты I-го типа, способствует или изменению уровня экспрессии AQP_5 , или транслокации AQP_5 из внутриклеточного компартмента на апикальную поверхность альвеолоцитов I-го типа, что приводит

к избыточному поступлению воды в альвеолярное пространство и к манифестации токсического отека легких. Эти данные подтверждены уменьшением выраженности токсического отека легких, выявленным снижением относительного содержания AQP_5 в легких крыс на фоне введения неселективного блокатора аквапоринов хлорида (II) ртути после воздействия перфторизобутилена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного экспериментально-го исследования позволяют сделать вывод о важной роли AQP_5 в генезе токсического отека легких, вызванного интоксикацией перфторизобутиленом. На настоящий момент в Российской Федерации фармакологические препараты, блокирующие AQP_5 , не зарегистрированы. Разработка соединений, селективно блокирующих AQP_5 , может быть новым направлением в поиске средств этиотропной и патогенетической терапии отравления пульмонотоксикантами, обладающими ацилирующим действием.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

При проведении экспериментов были соблюдены все применимые международные, национальные и/или институциональные требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Башарин В.А., Чепур С.В., Щеголев А.В. и др. Роль и место респираторной поддержки в схемах терапии острого легочного отека, вызванного ингаляцион-

- ным воздействием токсичных веществ // Воен.-мед. журн. 2019. № 11. С. 26–32.
- Толкач П.Г., Башарин В.А., Чепур С.В. и др. Исследование влияния дихлорида ртути на динамику развития токсического отека легких у животных при интоксикации пульмонотоксикантами ацилирующего действия // Мед. акад. журн. 2020. Т. 20 (4). С. 55–61.
- Hirano Y., Okimoto N., Kadohira I. et al. Molecular mechanisms of how mercury inhibits water permeation through aquaporin-1: understanding by molecular dynamics simulation // *Biophys. J.* 2010. V. 98 (8). P. 1512–1519.
- Ishikawa Y., Eguchi T., Skowronski M.T., Ishida H. Acetylcholine acts on M3 muscarinic receptors and induces the translocation of aquaporin5 water channel *via* cytosolic Ca^{2+} -elevation in rat parotid glands // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998. V. 245. P. 835–840.
- Jung J., Preston G., Smith B. et al. Molecular structure of the water channel through aquaporin CHIP. The hourglass model // *J. Biol. Chem.* 1994. V. 269 (20). P. 14648–14654.
- Kastner S.B.R., Ohlerth S., Pospischil A. et al. Dexmedetomidine-induced pulmonary alterations in sheep // *Res. Vet. Sci.* 2007. V. 83. P. 217–226.
- Li J., Xu M., Fan Q. et al. Tanshinone IIA ameliorates seawater exposure induced lung injury by inhibiting aquaporins (AQP) 1 and AQP₅ expression in lung // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2011. V. 176 (1–2). P. 39–49.
- Raekallio M.R., Virtanen M., Happonen I., Vainio O.M. Adverse reactions of α_2 -adrenoceptor agonists in cats reported in 2003–2013 in Finland // *Vet. Anaesth. Analg.* 2017. V. 44 (4). P. 803–810.
- Taniguchi T., Kurita A., Kobayashi K. et al. Dose- and time-related effects of dexmedetomidine on mortality and inflammatory responses to endotoxin-induced shock in rats // *J. Anesth.* 2008. V. 22 (3). P. 221–228.
- Virtanen R., Savola J., Saano V., Nyman L. Characterization of the selectivity, specificity and potency of medetomidine as an alpha 2-adrenoceptor agonist // *Eur. J. Pharmacol.* 1988. V. 150. P. 9–14.
- Wittekindt O.H., Diel P. Aquaporins in the lung // *Eur. J. Physiol.* 2019. V. 471. P. 519–532.

The Role of Aquaporin-5 in the Formation of Pulmonary Edema of Different Genesis

P. G. Tolkach^{a, *}, D. T. Sizova^a, V. A. Basharin^a, S. V. Chepur^b,
N. G. Vengerovich^b, O. I. Aleshina^b, I. M. Ivanov^b, and M. A. Chaykina^a

^aKirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia

^bState Scientific Research Testing Institute of Military Medicine, Saint-Petersburg, Russia

*e-mail: pgtolkach@gmail.com

The mechanism of toxic pulmonary edema caused by intoxication with acylating agents (phosgene, perfluoroisobutylene, etc.) is not fully understood. Pulmonary edema can also be caused by selective α_2 -adrenergic agonists (dexmedetomidine) when administered in high doses. An important role in the formation of pulmonary edema of various genesis can be played by aquaporin-5, a selective water channel localized on the apical surface of type 1 alveolocyte membranes. Mercury (II) chloride is considered to be a non-selective inhibitor of aquaporins. Hereupon, the study was to assess the role of aquaporin-5 in the formation of pulmonary edema in rats caused by intoxication with dexmedetomidine (10 mg/kg) and perfluoroisobutylene (1.5 LC₅₀). Mercury (II) chloride is administered to animals subcutaneously at a dose of 0.3 LD₅₀ once immediately after intoxication with perfluoroisobutylene and dexmedetomidine. After 1 and 3 hours after exposure, the lungs were extracted, the value of the pulmonary coefficient was determined, the immunohistochemical detection of aquaporin-5 was performed and the ratio of the apical membranes of type 1 alveolocytes stained and unpainted with diaminobenzidine was evaluated. When animals were intoxicated with perfluoroisobutylene, the relative content of aquaporin-5 increased, in contrast to the effect of dexmedetomidine. The use of mercury (II) chloride contributed to a decrease in the lung coefficient 3 h following exposure to perfluoroisobutylene, a decrease in the relative content of AQP₅. The use of mercury (II) chloride (0.3 LD₅₀) does not lead to a decrease in the lung coefficient in rats following the administration of dexmedetomidine. The increase in the relative content of aquaporin-5 after inhalation exposure to perfluoroisobutylene plays a role in the genesis of toxic pulmonary edema. The development of selective blockers of aquaporin-5 may be a new direction in search for means of treating poisoning with acylating agents.

Keywords: toxic lung edema, perfluoroisobutylene, dexmedetomidine, intoxication, aquaporin-5, mercury (II) chloride, mechanism of action

УДК 579.61+615.246

ОЦЕНКА МЕТАБОЛОМА ЧЕЛОВЕКА КАК МЕТОД МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА. ПРОФИЛАКТИКА И ТЕРАПИЯ

© 2022 г. Г. А. Шиловский¹, *, Е. В. Сорокина¹, Т. С. Путьгина¹¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

*e-mail: gregory_sh@list.ru

Поступила в редакцию 04.12.2021 г.

После доработки 21.12.2021 г.

Принята к публикации 30.12.2021 г.

Анализ метаболома является ключевым моментом для понимания динамических процессов, происходящих в организме. При нормальных условиях концентрация тех или иных соединений в тканях определяется их ролью в метаболических процессах и, как правило, меняется в небольших пределах. Однако при патологии метаболомный профиль пораженной ткани может резко измениться. Изучая динамику состава и концентрации метаболитов, можно понять молекулярные основы возникновения множества заболеваний или, по крайней мере, выявить их биомаркеры. В обзоре рассмотрены исследования взаимосвязи между кишечной флорой и колоректальным раком; хотя конкретный механизм этого процесса до сих пор неясен. Литературные данные и результаты исследований свидетельствуют о важной роли взаимодействия метаболитов пробиотических культур: продуктов расщепления белков, углеводов, в частности лактозы, бактериоцинов пептидной природы, антиоксидантов, соединений, функционирующих как нейромедиаторы и нейрогормоны. Эти вещества выступают в качестве сигнальных молекул внутри микробного консорциума и в то же время влияют на организм хозяина в целом. Используемые в качестве пробиотиков благоприятные для здоровья человека микроорганизмы (лактобациллы, бифидобактерии и молочнокислые стрептококки) формируют естественную иммунную защиту, ускоряют процесс регенерации эпителия, а также принимают активное участие в процессах фагоцитоза, показывая высокую эффективность в лечении различных заболеваний желудочно-кишечного тракта. Таким образом, принципиальное значение имеет поддержание баланса между данными микроорганизмами и условно патогенными бактериями. Также возможно использование пробиотиков в профилактике и лечении колоректального рака.

Ключевые слова: метаболом, метаболиты, колоректальный рак, лактобактерии, пробиотики, диагностика

DOI: 10.31857/S0042132422020077

ВВЕДЕНИЕ

Метаболомное профилирование тканей и сывротки крови подопытных животных — экспериментальных моделей заболеваний человека — способствует пониманию механизмов биохимических процессов, протекающих в организме в норме и патологии, что можно в дальнейшем использовать для диагностики, профилактики и терапии различных заболеваний (Пирузян, 2005; Зеленцова и др., 2019).

От экзогенных и эндогенных микроорганизмов, в совокупности формирующих микробиом человека, зависит здоровье или болезненное состояние человека. Значительную роль в организме хозяина играет кишечная микробиота. Изменение состава микробиома связано с различными патологиями: ожирением, диабетом, некоторыми видами рака, заболеваниями кишечника, сердеч-

но-сосудистой системы и патологией почек (Le Chatelier et al., 2013).

Проникновение бактерий через стенку кишечника приводит к увеличению количества микроорганизмов или их метаболитов в кровотоке, что приводит к активации иммунной системы. Это воздействие имеет решающее значение, особенно при повреждении тканей, потому что модуляция воспаления или репаративных процессов может повлиять на тяжесть возникшего повреждения (Andrianova et al., 2020). Помимо воздействия на иммунную систему, микробиота кишечника может взаимодействовать с почками через производство различных соединений, в частности короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК). Эти кислоты, представленные в основном ацетатом, пропионатом и бутиратом, являются основными продуктами ферментативного расщепления слож-

ных полисахаридов бактериями толстого кишечника. Определенные КЦЖК очень важны для здорового функционирования кишечника. КЦЖК обновляют и питают кишечные энтероциты, являясь для них энергетическим субстратом. Также КЦЖК способствуют поддержанию кислого pH, угнетая тем самым условно-патогенные и патогенные микроорганизмы и поддерживая нормальный здоровый биоценоз.

Мы представляем обзор исследований таких изменений состава микробиоты кишечника, которые влияют на частоту и прогрессирование колоректального рака (КРР), представляющего собой злокачественную опухоль из эпителиальной ткани сигмовидного (толстого) кишечника и прямой кишки.

КРР – третий по распространенности рак, а также вторая по значимости причина смерти от рака во всем мире (Hou et al., 2021). Уровни заболеваемости КРР и смертности от него растут с каждым годом. Это связано с изменениями в образе жизни и диетических привычках человека, что позволяет предположить наличие взаимосвязи между состоянием флоры кишечника человека и развитием КРР. В патогенезе рака толстой кишки существенное значение имеет повреждение слизистой оболочки кишки в результате длительного воздействия механических, токсических, аллергических факторов, что приводит к нарушению двигательной и секреторной функций кишки (Ahmed, Umar, 2018). Существующие в настоящий момент варианты скрининговых тестов имеют ряд недостатков. Коммерческие тесты на основе состояния стула демонстрируют низкую чувствительность и высокий уровень ложноположительных результатов, что отрицательно влияет на процент обнаружения канцерогенеза на ранней стадии. Стандартная колоноскопия имеет низкую популярность из-за инвазивности и ощущения дискомфорта. Вследствие этого перспективным направлением диагностики КРР становится изучение метаболома и микрофлоры кишечника и возможность выявить микробные популяции, ассоциированные с данной патологией, подобрать эффективные пути лечения данного заболевания. Предполагается, что по метаболомному профилю тканей кишечника возможно диагностировать не только КРР, но и целый ряд различных заболеваний, выбрать оптимальный путь их профилактики и лечения (Пирузян, 2005; Tilg et al., 2018).

КИШЕЧНАЯ МИКРОБИОТА ПРИ КОЛОРЕКТАЛЬНОМ РАКЕ

Кишечная флора, эпителиальные клетки слизистых оболочек, пищевые пробиотические компоненты и небольшие молекулы, включая гормоны, ферменты, слизь и соли желчных кислот, составляют сложную кишечную микроэкосистему –

микробиом (Klimko et al., 2020). Пробиотики – это полезные бактерии, которые в норме обитают в нашем организме, а пребиотики – это соединения, которые становятся пищей для этих бактерий. Основные пробиотические штаммы: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus rhamnosus* и *Streptococcus thermophilus*, а также патогенные бактерии, в том числе *Enterococcus faecalis*, *Enterotoxigenic bacteroides fragilis*, *Streptococconterium*, *Clostridium*, *Streptococmonterium*, составляют кишечную флору.

Химические канцерогены окружающей среды, ксенобиотики в продуктах питания, чрезмерное применение антибактериальных препаратов, неправильное использование слабительных средств и другие факторы существенно влияют на состояние микрофлоры кишечника, вызывая количественные и качественные нарушения соотношений между различными микробными популяциями (Конев, 2005). Развивается дисбиоз, характеризующийся нарушением соотношения микробных популяций в различных отделах кишечника, усиленным размножением условно-патогенной флоры. Показано, что профили микробиоты у больных КРР отличаются от таковых у здоровых людей, а бактериальные флотипы различаются в зависимости от местоположения первичной опухоли. Однако композиционные вариации микробного профиля не ограничиваются опухолевой тканью и различаются даже в случае рака проксимального и дистального отделов толстой кишки (Kim et al., 2020). На модельных объектах КРР было показано, что бактерии-драйверы вызывают воспаление, повышенную пролиферацию клеток и усиливают выработку генотоксических веществ, способствующих мутациям, связанным с последовательностью аденома–карцинома. Экспериментальные данные на животных моделях также указывают на связь между кишечной микробиотой и развитием КРР (Wang et al., 2017).

Одним из отличительных признаков рака является нарушение регуляции метаболизма. Ввиду этого метаболомика представляет собой оптимальный подход для изучения метаболических механизмов онкогенеза (Nannini et al., 2020). Для выявления различий в профилировании кишечной флоры и фекальных метаболитов между здоровыми людьми и больными КРР используется метод метаболомической дактилоскопии, сочетающий пиросеквенирование с газовой хроматографией–масс-спектрометрией. Показано (Ohara et al., 2010), что у всех больных КРР обнаружены дисбиотические сдвиги различной степени выраженности по типу уменьшения нормофлоры и заселения условно-патогенными бактериями. Количество бифидобактерий снижено у 82.7% больных, лактобактерий – у 71.1%, молочнокислых бактерий – у 53.8%, энтерококков – у 48%, эшерихий с нормальной ферментацией – у 50% больных. Увеличение количества гемолитических *E. coli*

выявлено у 11.5% больных. Повышенная численность условно-патогенной микрофлоры имела место у 48% больных КРР. Особо выделяются: *Klebsiella pneumoniae* – у 13.5%, *Enterobacter* spp. – у 7.6%, *Proteus* spp. – у 1.9%, *Citrobacter* spp. – у 3.8%, дрожжеподобные грибы рода *Candida* выявлены у 7.6%, *Staphylococcus aureus* – у 5.8%, *Pseudomonas aeruginosa* – у 3.8%, *Acinetobacter* – у 1.9%, *Clostridium* – у 1.9% больных (Ohara et al., 2010).

Известно, что КЦЖК – основные метаболиты, образующиеся в результате микробной ферментации нерастворимых пищевых волокон в кишечнике, – могут напрямую активировать рецепторы GPCRs, связанную с G-белком (G-protein-coupled receptors), ингибировать гистоновые деацетилазы HDACs (histone deacetylases) и служить энергетическими субстратами для связи режима питания и микробиоты кишечника, тем самым улучшая его здоровье (Hou et al., 2021).

Проанализирована (Wang et al., 2017) фекальная микробиота пациентов (со средним возрастом 52.5 года), среди которых были здоровые люди и больные КРР. Анализ микробной ДНК в человеческих фекалиях проводился методом пиросеквенирования для специфического обнаружения области V4 бактериальной рибосомной 16S РНК на изолированной геномной ДНК. В фекальной микробиоте больных КРР и здоровых лиц были обнаружены следующие бактериальные филы: Verrucomicrobia, Tenericutes, Synergistetes, Proteobacteria, Fusobacteria, Firmicutes, Cyanobacterium, Chlorobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria, Acidobacteria, Crenarchaeota и Euryarchaeota. В данном исследовании не обнаружено достоверных различий в фекальной кишечной микробиоте пациентов с КРР и здоровых лиц на уровне бактериальных фил. Тем не менее, выявлены достоверные различия в кишечном фекальном микробиоценозе на уровне родов и видов. У больных КРР, по сравнению с кишечным биоценозом здоровых людей, преобладают следующие рода: *Clostridium* spp., *Fusobacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Peptostreptococcus* spp. Многие виды из представителей данных родов обладают протеолитической и липолитической активностями. Вместе с тем у больных КРР преобладают виды: *Citrobacter farmeri*, а также *Akkermansia muciniphila* – муциндеградирующая бактерия, которая может привести к развитию КРР при наличии предрасположенности (Azcarate-Peril et al., 2011).

В фекальном биоценозе здоровых людей преобладают следующие рода и виды: *Megamonas hypermegale*, *Anaerosporeobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Dorea formicigenerans*, *Adlercreutzia* spp., *Faecalibacterium* spp., *Dialister* spp., *Prevotella* spp., *Roseburia* spp., *Ruminococcus* spp., *Pseudobutyrvibrio* spp., *Bacteroides* spp. Многие из перечисленных микроорганизмов входят в основной состав микробиоты и яв-

ляются продуцентами КЦЖК. У больных КРР, по сравнению с профилем здоровых лиц, обнаружено повышенное содержание КЦЖК: уксусной, валериановой, масляной, изовалериановой кислот. Концентрация изомасляной кислоты выше в фекальном метаболитном профиле здоровых лиц, а концентрация пропионата – практически одинакова. Считается, что КЦЖК, особенно масляная кислота, обладают противораковым действием: защищают от возникновения и прогрессирования КРР (Wang et al., 2017). Большинство микроорганизмов, населяющих кишечник, – гликолитического типа, принадлежат к филам Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria. При попадании в толстую кишку белковых остатков пищи происходит замена основного источника питания – пребиотической субстанции – белковой субстанцией, что приводит к бактериальному протеолизу с образованием конечных продуктов – крезола, индола, сероводорода, скатола, меркаптанов и т.д.

Данные продукты являются токсичными для кишечных энтероцитов. Далее происходит изменение соотношений бактериальных фил – Firmicutes/Bacteroidetes и Bacteroidetes/Actinobacteria, защелачивание внутренней среды толстой кишки, увеличение количества условных патогенов и патогенов, обладающих протеолитической активностью, – представителей родов *Clostridium* spp., *Bacteroides* spp., *Proteus* spp., *Fusobacterium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Akkermansia* spp. и т.д.

Если изменения в микробиоме не поддаются компенсаторной адаптации, это может привести к развитию патологий. Следовательно, выявленные изменения в популяциях кишечной микрофлоры у больных КРР позволяют говорить о целесообразности применения препаратов для восстановления нормальной микрофлоры на всех этапах лечения и реабилитации больных (Ohgashi et al., 2011; Zhang et al., 2012).

Штаммы *Clostridium difficile*, являясь частью нормальной кишечной микробиоты человека, бывают как токсигенными, так и нетоксигенными (Gerding et al., 2015). Бактерии *Clostridium* вырабатывают наибольшее количество токсинов, по сравнению с другими бактериями, что может приводить к различным патологиям (Popoff, Bouvet, 2009). Генетические характеристики токсигенных клостридий свидетельствуют о возможности горизонтального переноса генов токсинов (Gantois et al., 2006). Появляется все больше свидетельств того, что лакто- и бифидобактерии, которые являются частью кишечной микробиоты, проявляют антимикробную активность и участвуют в защите желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) хозяина. Поэтому предполагается, что основной механизм, посредством которого пробиотические штаммы оказывают свое благотворное влияние, заключается в сбалансированном производстве

КЦЖК. Механизмы, с помощью которых борются с желудочно-кишечными патогенами, являются комплексными и включают конкурентные метаболические взаимодействия и выработку антимикробных молекул.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СТРАТЕГИИ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ПОМОЩЬЮ ПРОБИОТИКОВ

Молочнокислые бактерии могут применяться в виде пероральных и парентеральных препаратов с целью замещения потенциально патогенной микрофлоры. Пробиотические культуры устойчивы к неблагоприятной среде верхних отделов пищеварительного тракта. Это позволяет им достигать толстой кишки, где в основном и реализуется их полезный эффект. В частности, эти бактерии могут подавлять размножение вредных гнилостных и патогенных бактерий, а также вытеснять патогены – возбудители кишечных и нозокомиальных инфекций, часто полирезистентных к широко используемым антибиотикам (Стоянова, Габриэлян, 2017).

Антибиотики и пробиотики сегодня не рассматриваются как полностью несовместимые группы лечебных препаратов или антагонисты. Их совместное рациональное использование создает предпосылки для достижения максимального результата в широком спектре клинических ситуаций. Среди разрабатываемых новых эффективных и безопасных альтернативных профилактических или терапевтических стратегий лечения КРР рассматривается применение пробиотиков. Они способны оптимизировать различные физиологические функции организма-хозяина и могут быть использованы в том числе и у людей с подавленным иммунитетом. Противоопухолевый потенциал пробиотических штаммов обусловлен метабиотиками, обладающими эпигенетическим, антимуtagenным, иммуномодулирующим, апоптотическим и антиметастатическим эффектами (Sharma, Shukla, 2016).

Главная особенность пробиотических штаммов заключается в их способности предотвращать рост патогенных и условно-патогенных микроорганизмов за счет синтеза антимикробных метаболитов: молочной и уксусной кислот, перекисей, диацетила и др., но ведущее место отводится специфическим антимикробными веществам белковой природы – бактериоцинам. Бактериоцины даже в очень низких концентрациях обладают способностью образовывать поры в мембранах бактерий.

Бактериоциновые фрагменты живут недолго в организме человека или окружающей среде, что сводит к минимуму возможность штаммов взаимодействовать с деградированными фрагментами

антибиотиков: это общая отправная точка в развитии устойчивости к бактериоцинам, по сравнению с обычными антибиотиками, которые являются вторичными метаболитами (Lahtinen et al., 2011; Fiorda et al., 2017). Бактериоцины, в отличие от антибиотиков, полностью расщепляются в организме, и вероятность возникновения осложнений от бактериоцинов минимальна, а применение антибиотиков часто имеет для человека отрицательные последствия.

Продуцентами бактериоцина являются лактококки *Lactococcus lactis* – стрептококки серологической группы N, которые по систематическому положению выделены из группы микроорганизмов рода *Streptococcus*, включающего патогенные формы, и названы *Lactococcus*, они не вызывают инфекционных заболеваний человека и животных (Bernbom et al., 2006). Растет интерес к бактериоцинообразующим лактококкам, которые вследствие своей безвредности, высокой ферментативной и антимикробной активности являются объектом фундаментальных исследований по созданию новых активных пробиотиков и биологических консервантов. Установлено, что низинообразующие штаммы имеют функцию поддержания равновесия группы молочнокислых бактерий кишечного тракта человека и животных. Низин эффективен, в основном, только против грамположительных споровых бактерий и не эффективен против патогенов, относящихся к грамтрицательным бактериям и микроскопическим грибам, колонизирующим пищевые продукты при хранении, являющихся основной причиной их порчи и вызывающих заболевания у людей (Willey, van der Donk, 2007). Также образующиеся летучие жирные кислоты являются важнейшими регуляторами углеводного, липидного и энергетического метаболизма в ЖКТ, печени и в других тканях (Устюгова и др., 2012; Шендеров, 2013).

Показано, что использование пробиотических препаратов на основе молочнокислых бактерий оказывает положительное влияние на функционирование органов и тканей организма человека, в том числе на иммунную и эндокринную системы. Пробиотики обладают антиканцерогенной, антимуtagenной, антиоксидантной активностями, подавляют патогенные и условно-патогенные микроорганизмы кишечника (Стоянова и др., 2020).

Эффективность молочнокислых пробиотических бактерий доказана также при профилактике и лечении антибиотик-ассоциированной диареи, которая возникает при нарушении состава и активности нормальной микрофлоры ЖКТ человека. У взрослых при профилактике диареи хорошую эффективность показал прием продуктов, содержащих пробиотический штамм *L. casei* DN 114001 (Hickson et al., 2007). У детей молочнокислые бак-

терии, принимаемые внутрь, способны предотвращать возникновение диарей или уменьшать побочные эффекты, связанные с приемом антибиотиков, например амоксициллина (Шендеров, 1998). Выявлено положительное влияние штамма *L. casei* DN 114001 и при проведении эрадикационной терапии инфекции *H. pylori* у детей (Sýkora et al., 2004).

В последние годы все больше внимания уделяется поиску новых штаммов, обладающих антимикробным потенциалом. Ведется усиленный поиск продуцентов антибиотических веществ среди непатогенных для человека бактерий с широким спектром антимикробного действия (Стоянова и др., 2020), а пробиотические штаммы способны образовывать антибиотические вещества, которые строго специфичны.

Ниже перечислены известные пробиотики:

- *Bifidobacterium bifidum* доминирует в толстом кишечнике, поддерживает выработку витаминов в кишечнике, подавляет вредные бактерии, поддерживает реакцию иммунной системы и предотвращает диарею;

- *Lactobacillus acidophilus* улучшает толерантность к лактозе, снижает на 61% уровень кишечной палочки, уровень холестерина, снимает газообразование в животе;

- *Bifidobacterium longum* поддерживает функцию печени, уменьшает воспаление, выводит свинец и тяжелые металлы;

- *Lactobacillus casei* поддерживает иммунитет, подавляет *Helicobacter pylori* и помогает бороться с различными инфекциями;

- *Bifidobacterium infantis* снижает диарею и запоры;

- *Lactobacillus brevis* повышает клеточный иммунитет, усиливает естественные Т-киллерные клетки и убивает бактерии *Helicobacter pylori*;

- *Bacillus subtilis* – пробиотик, вызывает мощный иммунный ответ, подавляет рост вредных бактерий, в частности сальмонелл, и других патогенных микроорганизмов;

- *Lactobacillus bulgaricus* – пробиотический штамм, который борется с вредными бактериями, вторгающимися в пищеварительную систему, нейтрализует токсины и естественным образом вырабатывает собственные антибиотики;

- *Lactobacillus rhamnosus* поддерживает бактериальный баланс, помогает бороться с инфекциями мочевыводящих путей и ЖКТ.

Пробиотики вовлечены в повышение уровня иммунной защиты хозяина и таким образом понижают частоту и продолжительность инфекций, значительно облегчают антибиотик-ассоциированную диарею и острую диарею различных причин. Показан большой потенциал пробиотиков и для лечения КРП (Ohigashi et al., 2011; Zhang et al.,

2012; Raman et al., 2013). Лактобактерии обладают выраженной антагонистической активностью и способностью к адгезии, что обеспечивает важную роль этих микроорганизмов в поддержании колонизационной резистентности. Благодаря этим свойствам лактобактерии подавляют рост и размножение поступающих извне представителей посторонней микрофлоры, предотвращают приживление последних, блокируя рецепторы клеток слизистых оболочек от адгезинов потенциально патогенных бактерий. Лактобактерии и структурные компоненты этих клеток могут оказывать выраженный эффект на иммунную систему через стимуляцию миграции моноцитов, активацию фагоцитарной активности, индукцию гиперчувствительности замедленного типа (Соловьева и др., 2010). Применение биологически активных добавок с пробиотическим действием может рассматриваться как один из наиболее физиологичных и клинически значимых способов коррекции дисбиотических нарушений при заболеваниях ЖКТ, в том числе и КРП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рассмотренные данные позволяют сделать вывод, что по метаболомному профилю кишечника можно не только диагностировать заболевания человека, в частности колоректальный рак, но и выбрать оптимальный путь профилактики и лечения заболевания. Подобные исследования расширяют границы понимания феномена здоровья человека в аспекте эндоэкологии и открывают перспективы развития биотерапии (Шендеров, 2017). В конечном счете, результаты исследований служат основой для разработки профилактических и терапевтических подходов к лечению многих заболеваний, связанных с измененным кишечным микробиомом (и его метаболитами) в эпоху растущей антибиотикорезистентности патогенов человека.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Зеленцова Е.А., Центалович Ю.П., Яньшолэ Л.В. и др. Метаболом – молекулярное “зеркало” жизни // Наука из первых рук. 2019. № 5–6. С. 6–15.
- Конева Ю.В. Дисбиозы и их коррекция // Consilium Medicum. 2005. Т. 7. № 6. С. 432–437.

- Пирузян Л.А. Метаболический паспорт человека – основа новой стратегии в фармакологии // *Анестезиол. реаниматол.* 2005. № 2. С. 4–11.
- Соловьева Н.В., Лейхтер С.Н., Бажукова Т.А. и др. Коррекция дисбиотических нарушений при заболеваниях желудочно-кишечного тракта и печени биологически активными добавками с пробиотическим действием // *Обзоры клин. фармакол. лекар. терап.* 2010. Т. 8. № 3. С. 48–57.
- Стоянова Л.Г., Габриэлян Н.И. Перспективность использования пробиотических штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* при лечении госпитальных инфекций // *Журн. инфектол.* 2017. Т. 9. № 4. С. 110.
- Стоянова Л.Г., Сорокина Е.В., Дбар С.Д. Скрининг перспективных штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* для создания нетоксичных антимиотиков // *Пробл. мед. микол.* 2020. Т. 22. № 4. С. 46–53.
- Устюгова Е.А., Тимофеева А.В., Стоянова Л.Г. и др. Характеристика и идентификация бактериоцинов, образуемых *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 194-К // *Прикл. биохим. микробиол.* 2012. Т. 48. № 6. С. 618–625.
- Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. 1. М.: Грантъ, 1998. 287 с.
- Шендеров Б.А. Мишени и эффекты короткоцепочечных жирных кислот // *Соврем. мед. наука.* 2013. № 1–2. С. 21–50.
- Шендеров Б.А. Метабиотики – новая технология профилактики заболеваний, связанных с микробиологическим дисбалансом человека // *Вестн. восстановит. мед.* 2017. Т. 4. № 80. С. 40–49.
- Ahmed I., Umar S. Microbiome and colorectal cancer // *Curr. Col. Cancer Rep.* 2018. V. 14. № 6. P. 217–225. <https://doi.org/10.1007/s11888-018-0416-7>
- Andrianova N.V., Popkov V.A., Klimenko N.S. et al. Microbiome-metabolome signature of acute kidney injury // *Metabolites.* 2020. V. 10. № 4. P. 142. <https://doi.org/10.3390/metabo10040142>
- Azcárate-Peril M.A., Sikes M., Bruno-Bárcena J.M. The intestinal microbiota, gastrointestinal environment and colorectal cancer: a putative role for probiotics in prevention of colorectal cancer? // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2011. V. 301. № 3. P. 401–424. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00110.2011>
- Bernbom N., Licht T.R., Brogren C.H. et al. Effects of *Lactococcus lactis* on composition of intestinal microbiota: role of nisin // *Appl. Environ. Microbiol.* 2006. V. 72. № 1. P. 239–244. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.239-244.2006>
- Fiorda F.A., de Melo Pereira G.V., Thomaz-Soccol V. et al. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation – a review // *Food Microbiol.* 2017. V. 66. P. 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.004>
- Gantois I., Ducatelle R., Pasmans F. et al. Butyrate specifically down-regulates *Salmonella* pathogenicity island 1 gene expression // *Appl. Environ. Microbiol.* 2006. V. 72. № 1. P. 946–949. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.1.946-949.2006>
- Gerding D.N., Meyer T., Lee C. et al. Administration of spores of nontoxigenic *Clostridium difficile* strain M3 for prevention of recurrent *C. difficile* infection: a randomized clinical trial // *JAMA.* 2015. V. 313. №. 17. P. 1719–1727. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.3725>
- Hickson M., D'Souza A., Muthu N. et al. Use of probiotic *Lactobacillus* preparation to prevent diarrhoea associated with antibiotics: randomised double blind placebo controlled trial // *BMJ.* 2007. V. 335. P. 80–85. <https://doi.org/10.1136/bmj.39231.599815.55>
- Hou H., Chen D., Zhang K. et al. Gut microbiota-derived short-chain fatty acids and colorectal cancer: ready for clinical translation // *Cancer Lett.* 2021. V. 526. P. 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.11.027>
- Kim M., Vogtmann E., Ahlquist D.A. et al. Fecal metabolomic signatures in colorectal adenoma patients are associated with gut microbiota and early events of colorectal cancer pathogenesis // *mBio.* 2020. V. 11. P. e03186-19. <https://doi.org/10.1128/mBio.03186-19>
- Klimko A.I., Cherdyntseva T.A., Brioukhanov A.L., Netrusov A.I. In vitro evaluation of probiotic potential of selected lactic acid bacteria strains // *Prob. Antimicrob. Proteins.* 2020. V. 12. № 3. P. 1139–1148. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09599-6>
- Lahtinen S., Ouwehand A., Salminen S., von Wright A. Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects. Fourth edition. Boca Raton: CRC Press, 2011. 764 p. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000300018>
- Le Chatelier E., Nielsen T., Qin J. et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers // *Nature.* 2013. V. 29. № 500. P. 541–546. <https://doi.org/10.1038/nature12506>
- Nannini G., Meoni G., Amedei A., Tenori L. Metabolomics profile in gastrointestinal cancers: update and future perspectives // *World J. Gastroenterol.* 2020. V. 26. № 20. P. 2514–2532. <https://doi.org/10.3748/wjg.v26.i20.2514>
- Ohara T., Yoshino K., Kitajima M. Possibility of preventing colorectal carcinogenesis with probiotics // *Hepatogastroenterology.* 2010. V. 57. № 104. P. 1411–1415.
- Ohigashi S., Hoshino Y., Ohde S., Onodera H. Functional outcome, quality of life, and efficacy of probiotics in postoperative patients with colorectal cancer // *Surg. Today.* 2011. V. 41. № 9. P. 1200–1206. <https://doi.org/10.1007/s00595-010-4450-6>
- Popoff M.R., Bouvet P. Clostridial toxins // *Future Microbiol.* 2009. V. 4. № 8. P. 1021–1064. <https://doi.org/10.2217/fmb.09.72>
- Raman M., Ambalam P., Kondepudi K.K. et al. Potential of probiotics, prebiotics and synbiotics for management of colorectal cancer // *Gut Microbes.* 2013. V. 4. № 3. P. 181–192. <https://doi.org/10.4161/gmic.23919>
- Sharma M., Shukla G. Metabiotics: one step ahead of probiotics; an insight into mechanisms involved in anticancerous effect in colorectal cancer // *Front. Microbiol.* 2016. V. 7. P. 1940. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01940>
- Sýkora J., Malán A., Záhlava J. et al. Gastric emptying of solids in children with *H. pylori*-positive and *H. pylori*-negative non-ulcer dyspepsia // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2004. V. 39. P. 246–252. <https://doi.org/10.1097/00005176-200409000-00004>

- Tilg H., Adolph T.E., Gerner R.R., Moschen A.R. The intestinal microbiota in colorectal cancer // *Cancer Cell*. 2018. V. 33. № 6. P. 954–964.
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.004>
- Wang X., Wang J., Rao B., Deng L. Gut flora profiling and fecal metabolite composition of colorectal cancer patients and healthy individuals // *Exp. Ther. Med.* 2017. V. 13. № 6. P. 2848–2854.
<https://doi.org/10.3892/etm.2017.4367>
- Willey J.M., van der Donk W.A. Lantibiotics: peptides of diverse structure and function // *Annu. Rev. Microbiol.* 2007. V. 61. P. 477–501.
<https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.080706.093501>
- Zhang J.W., Du P., Gao J. et al. Preoperative probiotics decrease postoperative infectious complications of colorectal cancer // *Am. J. Med. Sci.* 2012. V. 343. № 3. P. 199–205.
<https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e31823aace6>

Assessment of Human Metabolome as a Method for Molecular Diagnostics of Colorectal Cancer. Prevention and Therapy

G. A. Shilovsky^{a, *}, E. V. Sorokina^a, and T. S. Putyatina^a

^a*Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia*

**e-mail: gregory_sh@list.ru*

The analysis of the metabolome is a key point for understanding the dynamic processes occurring in the body. Under normal conditions, the concentration of certain compounds in tissues is determined by their role in metabolic processes and, as a rule, varies within small limits. However, with pathology, the metabolic profile of the affected tissue can change dramatically. By studying the dynamics of the composition and concentration of metabolites, one can understand the molecular basis of the occurrence of many diseases, or at least identify their biomarkers. The review focuses on the relationship between intestinal flora and colorectal cancer; however, the exact mechanism of the intestinal flora that causes this cancer is still unclear. Literature data and results indicate the role of metabolites of probiotic cultures: the products of the breakdown of proteins, carbohydrates, in particular lactose, bacteriocins, peptide nature, antiants, compounds functioning as neurotransmitters and neurohormones. These substances act as signaling molecules within the microbial consortium and at the same time affect the host as a whole. Microorganisms favorable for human health (lactobacilli, bifidobacteria and lactic streptococci) used as probiotics form a natural immune defense, accelerate the process of regeneration of the epithelium, and also take an active part in the process of phagocytosis, showing high efficiency in the treatment of various diseases of the gastrointestinal tract. Thus, it is important to maintain a balance between these microorganisms and opportunistic bacteria. They may also be used as probiotics in the prevention and early detection of colorectal cancer.

Keywords: metabolome, metabolites, colorectal cancer, lactobacilli, probiotics, diagnostics

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

DOI: 10.31857/S0042132422020107

Журнал “Успехи современной биологии” публикует обзорные и теоретические статьи, отражающие современные достижения биологии, а также принципиально важные экспериментальные работы с соответствующим теоретическим обсуждением. В случае, если статья подготовлена в форме нескольких сообщений, они должны быть представлены одновременно. Статьи, отклоненные редколлегией, к повторному рассмотрению как правило не принимаются.

Отправляя рукопись в журнал, автор гарантирует, что соответствующий материал (в оригинале или переводе на другие языки или с других языков) ранее нигде не публиковался и не находится на рассмотрении для публикации в других издательствах.

Редакция журнала просит авторов при направлении статей в печать руководствоваться изложенными ниже правилами, а также по возможности использовать стилевой файл, помещенный на сайте www.pleiadesonline.com. Стилевой файл создан для упрощения работы авторов по подготовке рукописей к публикации. Он предоставляет возможность одним нажатием кнопки на панели инструментов изменить весь комплекс стилей для выбранного фрагмента в соответствии со стандартами по предоставлению рукописей.

Редакция журнала принимает рукописи через авторский портал редакционно-издательской системы издательства Pleiades Publishing. Сведения о прохождении рукописи, рецензирование, согласование авторской правки осуществляются через личный кабинет автора после регистрации на сайте системы: <https://publish.sciencejournals.ru>.

Редакционная коллегия журнала “Успехи современной биологии” при рассмотрении статьи проводит проверку материала с помощью системы Антиплагиат. В случае обнаружения многочисленных заимствований редакция действует в соответствии с правилами COPE.

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ РУКОПИСИ

Статья должна быть напечатана однотипно 12 кеглем через 1.5 интервала (таблицы тоже) на одной стороне листа формата А4, с полями не менее 3 см со всех сторон. При наборе используйте стандартные Windows TrueType шрифты (Times

New Roman – для текста, Symbol – для греческих букв, MathematicalPi2 – для рукописных и готических символов). Общий объем рукописи (включая аннотацию, литературу, таблицы, и подписи к рисункам) не должен превышать 35 страниц. Число рисунков не должно быть более семи.

К рукописи должна быть приложена “Страницка для переводчика”: резюме на английском языке, название статьи, общепринятое название учреждения, где выполнена работа, транслитерация фамилий авторов, перевод ключевых терминов, обозначений, сокращений и единиц измерений.

На отдельной странице следует привести ФИО всех авторов полностью, места работы, номера телефонов (мобильный и рабочий), адрес электронной почты и скайп-имя для связи с редактором.

В сопроводительном письме редколлегия журнала просит авторов назвать 3–5 возможных рецензентов указанной работы (при возможности указать электронные адреса).

Обращаем Ваше внимание, что новые статьи редакция принимает только в формате **doc**. Файлы рукописей, подписанных договоров и сопроводительных писем должны быть собраны в один архив (желательно ZIP). Бумажный вариант предоставлять не нужно!

Статья, поступающая для публикации, должна сопровождаться: направлением от учреждения, в котором выполнена работа; лицензионным договором между автором и главным редактором журнала (образец договора см. на сайте <http://sciencejournals.ru/journal/uspbio/>).

СТРУКТУРА РУКОПИСИ

УДК – индекс Универсальной десятичной классификации (**курсивом** в левом верхнем углу);

– название статьи;

– инициалы, затем фамилии авторов;

– полное название учреждения (аббревиатура не допускается), город, адрес электронной почты (**курсивом**);

– аннотация (поместить после шапки статьи); из аннотации должно быть ясно, какие проблемы рассматриваются в статье, какие вопросы в ней обсуждаются;

– ключевые слова (3–6 слов или коротких словосочетаний), точно отражающие содержание статьи и не повторяющие название.

Отметить арабскими цифрами соответствие фамилий авторов учреждениям, в которых они работают; звездочкой помечается фамилия автора, ответственного за корреспонденцию.

Статья должна включать следующие рубрики: **ВВЕДЕНИЕ**, **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**, **БЛАГОДАРНОСТИ** (общая информация о любой помощи в проведении работы и подготовке статьи: сообщения о полезных обсуждениях и дискуссиях, благодарности коллегам и рецензентам (в особых случаях); сообщения о предоставлении материалов, научных данных, компьютерного оборудования, приборов – во временное пользование; информация о проведении исследований в центрах коллективного пользования; помощь в технической подготовке текста; все остальное, что оценивается как полезная помощь, но не является достаточным, чтобы считаться вкладом в авторство работы), **ФИНАНСИРОВАНИЕ** (информация о грантах и любой другой финансовой поддержке исследований. Просим не использовать в этом разделе сокращенные названия институтов и спонсирующих организаций), **КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**, **СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ** (обязательный раздел при подаче статей в журналы биологической тематики, см. <http://pleiades.online/ru/authors/guidelines/ethicsstatements/>) и **СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**.

Статья может быть разбита на разделы и подразделы с четким выделением их подчиненности. Названия разделов печатаются прописными буквами на отдельной строке без подчеркивания. Подзаголовки внутри разделов так же печатаются на отдельной строке светлым курсивом.

Экспериментальные статьи должны включать рубрики: **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**, **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**.

Текст. Все части статьи (таблицы, сноски и т.д.) должны быть приведены полностью в соответствующем месте статьи (**каждая таблица печатается на отдельной странице**). Подписи к рисункам представляют на последней странице текста, далее следуют сами рисунки без подписей. В соответствующем месте текста должна быть ссылка на рисунок, а на полях рукописи отмечено место, где о данном рисунке идет речь.

Транскрипция, шрифты, выделения. В тексте статьи следует избегать употребления слов и фамилий в иностранной транскрипции. Прописные (заглавные) буквы внутри фразы допускаются лишь для имен собственных, родовых латинских названий организмов и для существительных на немецком языке. В остальных случаях, в том числе и в списке литературы, все слова внутри фразы пишутся со строчной буквы.

Сокращения и условные обозначения. Следует по мере возможности избегать сокращений, кроме общеупотребительных. Если все-таки используются сокращения, то они должны быть расшифрованы в тексте при их первом упоминании. Допускаются лишь принятые в Международной системе единиц сокращения мер, физических, химических и математических величин и терминов и т.п. В бинарной систематической и аналитической номенклатуре сокращения допускаются при частом и повторном их упоминании, и то лишь в отношении родового названия. **Латинские видовые и родовые названия, а также обозначения генов, даются курсивом** (например, *D. melanogaster*).

Литература. Вся литература должна быть сведена в конце статьи в алфавитные списки **без нумерации** отдельно для русских и иностранных авторов. Работы одного и того же автора располагают в хронологической последовательности. В списке литературы приводят следующие данные: а) фамилию и инициалы автора (авторов), б) название работы, журнала (книги, диссертации), год, том, номер, первую и последнюю страницу (для книг сообщают место издания, издательство и количество страниц, для диссертации – институт, в котором выполнена работа). Название журнала дают в общепринятом сокращении, книги или диссертации – полностью. Обратите внимание на знаки препинания, а так же на то, что фамилии авторов даются курсивом. Указывать следует имена четырех авторов, если их число более четырех, то даются первые три фамилии, далее “и др.” или “et al.”.

Образец:

Иванов А.С., Петров В.Н., Сидоров М.Ю. и др. Название статьи // Название журнала. 1994. Т. 26. С. 15–24.

Андреева С.А. Название книги. М.: Наука, 1990. Общее число страниц в книге (например, 230 с.) или конкретная страница (например, С. 75).

Иванов И.И. Название диссертации: Дис. ... канд. биол. наук. М.: Название института, 1992. 184 с.

В тексте следует ссылаться следующим образом на работы, напечатанные кириллическими шрифтами: (Юрцев, 1992) или “...в смысле А.И. Толмачева (1931)...” (**с неизменным указанием инициалов!**); на работы, напечатанные латиницей: (Schulte, 1989) или “...по Ротмалеру (Rothmaler, 1976)” (**без инициалов автора!**). При ссылке на несколько работ одного автора их следует перечислять в хронологическом порядке, используя при необходимости буквенные индексы для обозначения разных работ, опубликованных в один и тот же год, например (Schaffer, 1984, 1985b) или Б.М. Миркин (1989б, 1996). При одновременной ссылке на несколько работ разных авторов их следует перечислять в хронологическом порядке, отделяя друг от друга точкой с запятой: (Шнюкова,

1977; Зими́на, Сазыкина, 1987; Fogg, 1965). При ссылке на совместную работу двух авторов следует указывать фамилии обоих через запятую: (Tufail, Fogg, 1987). При ссылке на совместную работу более двух авторов следует использовать сокращения и др. или et al. после фамилии первого автора: (Бурковский и др., 1997; Tufail et al., 1989). При прямом цитировании текста необходимо в ссылке указывать номер страницы. Список литературы не должен превышать **120** источников.

Иллюстрации. К статье может быть приложено небольшое число рисунков и схем, предпочтительно в форматах **tiff** и **eps**. Не желательно использовать файлы в формате **jpg**. Все иллюстрации должны быть импортированы в конец файла статьи к соответствующим подрисуночным подписям. При наличии нескольких частей одной иллюстрации они должны быть отмечены как (а), (б), (в) и т.д., располагаться последовательно и иметь общую подпись. Внутри файла не нужно группировать иллюстрации по ячейкам таблицы или каким-либо аналогичным способом. При этом с рукописью обязательно должны быть сданы исходные файлы иллюстраций. Иллюстрации должны иметь размеры, соответствующие их информативности: 8–8.5 см (на одну колонку) или 17–17.5 см (на две колонки); для надписей и обозначений используйте стандартные TrueType шрифты. Просьба не добавлять на задний план иллюстраций серый (цветной) фон или сетки.

Графики и диаграммы желательно готовить в векторных графических редакторах с разрешением не ниже 600 dpi, толщина линий не должна быть меньше 0.5 pt; векторные иллюстрации не должны содержать точечных закрасок, таких как “Noise” “Black&white noise” “Top noise”; для векторной графики все использованные шрифты должны быть включены в файл. Полутоновые иллюстрации должны иметь разрешение не ниже 300 dpi. **Иллюстрации, вставленные в WORD не являются оригиналами, должны быть представлены отдельные файлы.**

Представленные фотографии должны быть контрастными, хорошо проработанными в деталях.

Дополнительные материалы к статьям. Для более полного описания исследования, к статье могут прилагаться дополнительные материалы (аудио- и видеофайлы, презентации, дополнительные таблицы и рисунки и пр.) при условии, если автор является правообладателем прилагаемых материалов, и автором ранее не были переданы авторские права на их использование иным (кроме издателя) лицам, либо автор имеет письменное разрешение правообладателя на их использование в целях опубликования и распространения в журнале. **Дополнительные материалы публикуются только в электронной версии журнала.**

Статья должна быть законченным произведением. Не допускается выносить в дополнительные файлы материалы, критически важные для понимания статьи. Дополнительные материалы издателем публикуются в исходном авторском исполнении. Файлы дополнительных материалов должны именоваться по порядку: “ESM_1.mpg”, “ESM_2.pdf”, “ESM_3.xls”. В тексте статьи будет указана ссылка на наличие дополнительных материалов: “Дополнительные материалы для этой статьи находятся по адресу <номер DOI> и доступны для авторизованных пользователей”.

Дополнительные материалы являются частью статьи, на которую распространяются все правила и требования, предъявляемые к статье издателем и действующим законодательством как к самостоятельному объекту авторских прав, в том числе условия о необходимости заключения авторского договора на прилагаемые материалы. Подробности см. на сайте <http://pleiades.online/ru/authors/guidelines/prepare-electronic-version/supplementary-materials/>.

При отсутствии хотя бы одного из указанных выше элементов рукопись может быть отклонена без рассмотрения по существу.

В случае отклонения статьи редакция высылает автору соответствующее уведомление. Редакция вправе не вступать в переписку с автором относительно причин (оснований) отказа в публикации статьи. Редакция оставляет за собой право на сокращение текста, не меняющее научного смысла статьи.