2026, Т. 22, № 2

ВЕСТНИК БИОТЕХНОЛОГИИ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ ИМЕНИ Ю.А. ОВЧИННИКОВА

Научно-практический журнал

Основан в 2005 году

Главный редактор
Р.Г. Василов

Заместитель главного редактора
Т.Н. Гаева

Редакционная коллегия
Р.Г. Василов, Т.Н. Гаева, А.А. Назаренко, И.С. Фадеева

Редакционный совет
Ш.О. Бастуабаева (Алмаатинская обл., Республика Казахстан), В.С. Акатов (Пущино), М.В. Донова (Пущино), М.П. Кирпичников (Москва), Э.И. Коломиец (Минск, Республика Беларусь), С.В. Костров (Москва), Д.А. Лиознов (Санкт-Петербург), С.В. Нетесов (Новосибирск), Т.В. Овчинникова (Москва), В.О. Попов (Москва), Е.Д. Свердлов (Москва), А.А. Цыганков (Пущино), В.М. Чернов (Казань), А.С. Яненко (Москва)

Журнал зарегистрирован в Росохранкультуре
Рег. ПИ № ФС77-19745 от 11 апреля 2005 г.

Зав. редакцией Т.В. Смирнова
Адрес: 123060, г. Москва, а/я 3
Тел.: +7 (495) 648-09-13
E-mail: vestnik@biorosinfo.ru

Учредитель и издатель:
АНО «Информационно-аналитический центр медико-социальных проблем»
Адрес: 123060, г. Москва, а/я 6
E-mail: raifvasilov@mail.ru

Издается при поддержке
Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова

ISSN 1996-4741

© Информационно-аналитический центр медико-социальных проблем, 2026

2026, Vol. 22, No 2

BULLETIN OF BIOTECHNOLOGY AND PHYSICO-CHEMICAL BIOLOGY NAMED AFTER Yu.A. OVCHINNIKOV

Scientific and practical journal

Founded in 2005

Chief editor
R.G. Vasilov

Deputy chief editor
T.N. Gaeva

Editorial board
R.G. Vasilov, T.N. Gaeva, A.A. Nazarenko, I.S. Fadeeva

Editorial council
Sh.O. Bastuabayeva (Alma-Ata region, Republic of Kazakhstan), V.S. Akatov (Pushchino), M.V. Donova (Pushchino), M.P. Kirpichnikov (Moscow), E.I. Kolomiets (Minsk, Republic of Belarus), S.V. Kostrov (Moscow), D.A. Lioznov (St. Petersburg), S.V. Netesov (Novosibirsk), T.V. Ovchinnikova (Moscow), V.O. Popov (Moscow), E.D. Sverdlov (Moscow), A.A. Tsygankov (Pushchino), V.M. Chernov (Kazan), A.S. Yanenko (Moscow)

The journal is registered in Rosokhrankultura
Reg. PI No. FS77-19745 dated April 11, 2005

Head of the Editorial Office T.V. Smirnova
Address: 123060, Moscow, PO Box 3
Tel.: +7 (495) 648-09-13
E-mail: vestnik@biorosinfo.ru

Founder and Publisher:
ANO «Information and Analytical Center
for Medical and Social Problems»
Address: 123060, Moscow, PO Box 6
E-mail: raifvasilov@mail.ru

Published with the support of the
Russian Biotechnology Society named after Yu.A. Ovchinnikov

ISSN 1996-4741

© Information and Analytical Center
for Medical and Social Problems, 2026

Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова

2026, Т. 22, № 2

СОДЕРЖАНИЕ

Колонка главного редактора

К читателям. Р.Г. Василов 5

Оригинальные статьи

Анализ развития арбускулярных микоризных грибов на *Coriandrum sativum* в зависимости от штамма и фазы вегетации растения на черноземе южном.
А.И. Алексеева, С.Ф. Абдурашитов, А.Я. Аблаев 6

Современные *in vitro* и *in vivo* модели ревматоидного артрита: ограничения и перспективы для трансляционных исследований.
К.И. Бахарева, П.С. Салынкин, М.С. Солдатова, Г.И. Байкалов, И.С. Фадеева, Р.С. Фадеев, М.И. Кобякова 15

Прикладные аспекты UV-VIS спектральных характеристик основных форм зеленых пигментов.
Д.В. Гришин 30

Конструирование рекомбинантных протективных антигенов *Pseudomonas aeruginosa* и оценка их вакцинного потенциала.
А.А. Калошин 36

Биологические и генетические характеристики новых бактериофагов полирезистентных клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*.
Ю.В. Сизова, М.П. Погожова, А.В. Тюрина, Н.Е. Гаевская, М.Г. Мелоян, А.С. Анисимова, М.В. Цимбалистова 45

Ферментативный гидролизат фибрина как основа питательных сред для производства иммунобиологических препаратов в ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (подведение итогов исследований, новые данные, перспективы).
К.И. Холматов, М.В. Овчинникова, А.В. Комиссаров, О.А. Волох, Н.И. Вахрушина, С.В. Астафьева, В.А. Бенцлер, М.М. Чалбушев, И.М. Жулидов, С.В. Генералов, Р.Р. Салихов, В.Р. Вольников, Д.Н. Бибиков, Г.Н. Гиненко, Е.А. Глазкова, О.С. Зинина, Е.Г. Абрамова, А.К. Никифоров 52

Современные методы оценки специфической безопасности и эффективности холерных вакцин.
О.А. Шамина, О.В. Громова, О.А. Волох, С.А. Воробьева 64

Влияние спектральных характеристик источника освещения на рост цианобактерии *Limnospira platensis* B-12619 и синтез фикобилипротеинов.
О.И. Однорал, А.Н. Туркин, Я.Э. Сергеева 74

Обзоры

Природные соединения как митопротекторы: от механизмов действия к терапевтическому потенциалу.
А.П. Кувырченкова, А.Г. Рогов, Т.Н. Голева, Р.Г. Василов 83

Энтеросорбенты как компоненты отечественных препаратов для профилактики и лечения инфекционных и неинфекционных заболеваний.
Н.Д. Омельченко, И.А. Иванова, А.В. Филиппенко, А.А. Труфанова, О.Г. Жукова, Е.А. Глазкова 95

Микроводоросли и цианобактерии как продуценты пищевого белка и липидов.
Я.Э. Сергеева, К.В. Горин, Д.В. Сухинов, В.С. Хлевная, М.Г. Петрова, М.В. Крюкова, В.Г. Сучков, В.М. Пожидаев, Р.Г. Василов 110

Правила для авторов 120

Yu.A. Ovchinnikov bulletin of biotechnology and physical and chemical biology

2026, Vol. 22, No 2

CONTENTS

Column of the Chief editor

To readers. R.G. Vasilov 5

Original articles

Analysis of the development of arbuscular mycorrhizal fungi on C*oriandrum sativum* depending on the strain and the plant's growth stage on southern chernozem.
A.I. Alekseeva, S.F. Abdurashytov, A.Ya. Ablaev 6

Modern *in vitro* and *in vivo* models of rheumatoid arthritis: Limitations and prospects for translational research.
K.I. Bakhareva, P.S. Salynkin, M.S. Soldatova, G.I. Baykalov, I.S. Fadeeva, R.S. Fadeev, M.I. Kobyakova 15

Applied aspects of UV-VIS spectral characteristics of main forms of green pigments.
D.V. Grishin 30

Construction of recombinant protective antigens of *Pseudomonas aeruginosa* and evaluation of their vaccine potential.
A.A. Kaloshin 36

Of multidrug-resis Biological and genetic characteristics of new bacteriophages tant clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*.
Yu.V. Sizova, M.P. Pogozhova, A.V. Tyurina, N.E. Gaevskaya, M.G. Meloyan, A.S. Anisimova, M.V. Tsimbalistova 45

Enzymatic fibrin hydrolysate as the basis of nutrient media for the production of immunobiological preparations at the Russian Anti-Plague institute «Microb» of Rospotrebnadzor (summing up research, new data, prospects).
K.I. Kholmatov, M.V. Ovchinnikova, A.V. Komissarov, O.A. Volokh, N.I. Vakhrushina, S.V. Astafieva, V.A. Benzler, M.M. Chalbushev, I.M. Zhulidov, S.V. Generalov, R.R. Salikhov, V.R. Volnikov, D.N. Bibikov, G.N. Ginenko, E.A. Glazkova, O.S. Zinina, E.G. Abramova, A.K. Nikiforov 52

Modern methods for evaluating the specific safety and efficacy of cholera vaccines.
O.A. Shamina, O.V. Gromova, O.A. Volokh, S.A. Vorobeva 64

The effect of light spectral characteristics on cyanobacteria *Limnospira platensis* B-12619 growth and the phycobiliprotein synthesis.
O.I. Odnoral, A.N. Turkin, Ya.E. Sergeeva 74

Reviews

Natural compounds as mitoprotectors: From mechanisms of action to therapeutic potential.
A.P. Kuvyrchenkova, A.G. Rogov, T.N. Goleva, R.G. Vasilov 83

Enterosorbents as components of domestic preparations for the prevention and treatment of infectious and non-infectious diseases.
N.D. Omelchenko, I.A. Ivanova, A.V. Filippenko, A.A. Trufanova, O.G. Zhukova, E.A. Glazkova 95

Microalgae and cyanobacteria as producers of food protein and lipids.
Ya.E. Sergeeva, K.V. Gorin, D.V. Sukhinov, V.S. Khlevnaya, M.G. Petrova, M.V. Kryukova, V.G. Suchkov, V.M. Pojidaev, R.G. Vasilov 110

Rules for authors 120

К читателям

В номере 2 за 2026 год представлены оригинальные исследования и обзоры, отражающие широкий спектр актуальных направлений: от агробиотехнологии и микробиологии до клеточных технологий, вакцинологии и фармакологии.

Работа А.И. Алексеевой и соавт. (НИИСХ Крыма) посвящена анализу влияния различных штаммов арбускулярных микоризных грибов на продуктивность кориандра на черноземе южном, демонстрируя высокую перспективность использования ассоциаций РКР-1 и *Funneliformis mosseae* 1-16 для повышения урожайности и улучшения физиологических показателей культуры.

В обзоре К.И. Бахаревой и соавт. (НИИКЭЛ — филиал ИЦиГ СО РАН, ИТЭБ РАН) систематизированы современные *in vivo* и *in vitro* модели ревматоидного артрита, проанализированы их ограничения и трансляционный потенциал, а также обсуждаются перспективные инженерные платформы, включая микрофлюидные системы и биопринтинг.

Исследование Д.В. Гришина (ИБМХ им. В.Н. Ореховича) показывает, что спектральные характеристики экстрактов хлорофилла и соотношение его фракций в ультрафиолетовой и видимой областях являются информативными, сортоспецифическими показателями, перспективными для разработки альтернативных негенетических биомаркеров для паспортизации растений.

В работе А.А. Калошина (НИИВС им. И.И. Мечникова) по конструированию рекомбинантных протективных антигенов *Pseudomonas aeruginosa* выявлен синергический эффект при совместном применении белка OprF и анатоксина, что демонстрирует перспективность их использования в составе комбинированной антисинегнойной вакцины.

В статье Ю.В. Сизовой и соавт. (Ростовский-на-Дону противочумный институт) представлены результаты выделения и характеристики новых бактериофагов против полирезистентных клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, при этом фаг Phage-Kl-pnm-6 идентифицирован как вирулентный и перспективный компонент фаговых препаратов.

Коллектив авторов под руководством К.И. Холматова (Российский противочумный институт «Микроб») обобщает многолетний опыт использования ферментативного гидролизата фибрина в качестве основы питательных сред, подтверждая его высокую эффективность для культивирования широкого спектра микроорганизмов и клеточных линий в производстве иммунобиологических препаратов.

О.А. Шамина и соавт. (Российский противочумный институт «Микроб», «Вавиловский университет») в обзоре, посвященном методам контроля безопасности и эффективности холерных вакцин, обсуждают необходимость внедрения альтернативных *in vitro* методов (в том числе GM1 ELISA и ДИА ЗНЧ) для сокращения использования лабораторных животных и повышения стандартизации контроля.

Исследование О.И. Однорал и соавт. (НИУ «МЭИ», НИЦ «Курчатовский институт», МГУ, МФТИ) демонстрирует, что спектральные характеристики источников освещения значительно влияют на рост цианобактерии *Limnospira platensis* и накопление фикобилипротеинов, при этом смешанное красно-синее (3:1) облучение позволяет значительно увеличить как выход биомассы, так и С-фикоцианина.

В обзоре А.П. Кувырченковой и соавт. (НИЦ «Курчатовский институт») систематизированы молекулярные механизмы действия природных митопротекторов, проведен критический анализ клинических испытаний и очерчены перспективы применения синтетических адресных молекул.

Н.Д. Омельченко и соавт. (Ростовский-на-Дону противочумный институт, Российский противочумный институт «Микроб») в обзоре по энтеросорбентам подводят итог их применения в комплексной терапии инфекционных и неинфекционных заболеваний и обсуждают перспективы создания новых иммунобиологических препаратов на основе иммобилизованных бактериофагов и сорбентов.

Завершает номер работа Я.Э. Сергеевой и соавт. (НИЦ «Курчатовский институт», МФТИ, МГУ), в которой на основании кинетических параметров роста и состава жирных кислот доказан высокий биотехнологический потенциал микроводорослей и цианобактерий как устойчивых источников пищевого белка и ценных липидов.

Главный редактор,
президент Общества биотехнологов России,
профессор Р.Г. ВАСИЛОВ

УДК: 579.64: 633.81

АНАЛИЗ РАЗВИТИЯ АРБУСКУЛЯРНЫХ МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ НА *CORIANDRUM SATIVUM* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ШТАММА И ФАЗЫ ВЕГЕТАЦИИ РАСТЕНИЯ НА ЧЕРНОЗЕМЕ ЮЖНОМ

А.И. АЛЕКСЕЕВА*, С.Ф. АБДУРАШИТОВ, А.Я. АБЛАЕВ

ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», г. Симферополь

Одной из культур, широко выращиваемых на территории Крыма и активно использующихся в пищевой промышленности, парфюмерии и медицине является кориандр посевной (*Coriandrum sativum* L.). В последние годы идут активные поиски возможностей по снижению количества пестицидов, одной из которых может стать микоризация растений. Для этого в ходе работы исследовалось влияние арбускулярных микоризных грибов (АМ) на микоризацию, продуктивность и симбиотическую эффективность кориандра. Эксперименты проводились на черноземе южном в горшечной культуре с использованием 3 штаммов микоризных грибов (РКР-1, *Funneliformis mosseae* 1-16, *F. mosseae* 5-16) из Крымской коллекции микроорганизмов, в качестве стандартного штамма использовался *Rhizophagus irregularis* RCAM 00320. Результаты показали, что ассоциации РКР-1 и 1-16 способствуют более быстрой и эффективной микоризации (интенсивность микоризации к концу фазы розетки достигала 80–86%). Обилие арбускул и везикул было наибольшим у ассоциации РКР-1 (82% и 62% соответственно), что связано с высокой активностью этих грибов. Микоризованные растения демонстрировали улучшение показателей фосфорного обмена, фотосинтетических пигментов и сухой массы. Ассоциация 1-16 оказалась наиболее эффективной в улучшении продуктивности растений – 138%, тогда как ассоциация 5-16 показала наименьшую – 44,7%. Эти данные подтверждают высокую перспективность использования микоризы для повышения продуктивности кориандра.

Ключевые слова: *Coriandrum sativum*, *Funneliformis mosseae*, продуктивность растений, фосфорный обмен.

Введение

Coriandrum sativum L. – это распространенная культура, используемая в пищевой промышленности, медицине и парфюмерии [10]. Все части растения *C. sativum* съедобны, чаще всего используются его свежие листья или семена [22, 26]. Зеленая листва содержит белки, витамины и минералы (такие как кальций, фосфор и железо), волокна и углеводы. Листья и семена содержат эфирное масло, в состав которого входят триглицеридное масло, петрозелиновая кислота, мононенасыщенная жирная кислота. В результате исследований был выявлен ряд свойств веществ, содержащихся в кориандре: антибактериальная (эфирное масло подавляло рост таких бактерий как, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и других) и противогрибковая активность (в частности, подавлялся рост *Alternaria alternata*, *Candida lypolitica*, *Penicillium digitatum* и других) [22, 26]. Кориандр обладает рядом лечебных свойств. Содержащиеся в данном растении вещества проявляют противораковые, противовоспалительные и антиоксидантные свойства [22]. Также было обнаружено, что эфирное масло кориандра снижает уровень холестерина и сахара в крови, нормализует сердечный ритм, и обладает такими неврологическими эффектами как улучшение настроения и когнитивных способностей, снижение уровня беспокойства [19, 22].

Мировое производство семян кориандра составляет примерно 1,5–2 млн. т [16]. Основными мировыми производителями являются Индия, Марокко, Канада, Румыния, Россия, Иран [9]. В России в 2023–2024 гг. выращивалось около 58,7–73,0 тыс. тонн, из них около 47,7–58,9 тыс. тонн приходилось на Крым [11].

В последние годы идет активное изучение воздействия симбиотических микроорганизмов как на почву, так и на растения, в том числе грибов арбускулярной микоризы (АМ). АМ грибы, благодаря своему строению и синтезу гломалина [14] и других веществ, влияют на структуру и плодородие почвы, а также

© 2026 г. Алексеева А.И., Абдурашитов С.Ф., Аблаев А.Я.

*** Автор для переписки:**
Алексеева Алёна Ильинична
аспирант, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики, протеомики и биоинформатики, ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»
E-mail: alena_crao2000@mail.ru

предотвращают ее эрозию [15]. Также микоризные грибы способствуют поглощению и транспорту воды и ряда неорганических веществ к растениям-хозяевам [20, 23, 27]. При этом для *C. sativum* взаимодействие в системе «микоризный гриб-растение» изучено достаточно слабо. Поскольку способность вступать в симбиоз зависит не только от самого растения, но и от штамма микроорганизмов [1–3], то целью исследования стал анализ развития микоризной колонизации различными ассоциациями грибов АМ корней кориандра и их влияния на продуктивность растений и симбиотическую эффективность на разных этапах жизни растения.

Материалы и методы

В работе использовались ассоциации АМ грибов, выделенные в 2016–2021 гг.: *Funneliformis mosseae* 1-16, *F. mosseae* 5-16 и РКР-1, входящие в Крымскую коллекцию микроорганизмов [13]. В качестве контрольного штамма применялся *Rhizophagus irregularis* RCAM 00320 из коллекции Всероссийского НИИ сельскохозяйственной микробиологии. Дополнительно использовался биопрепарат «Микробиоком-агро» (комплексный микробный препарат), предоставленный лабораторией экологии и физиологии микроорганизмов ФГБУН «НИИСХ Крыма», содержащий штаммы бактерий *Paenibacillus polymyxa* П13НК, *Lelliottia nimipressuralis* 32-3 и *Agrobacterium radiobacter* 204. Симбиотическая активность оценивалась на кориандре сорта Силач (селекция ФГБУН «НИИСХ Крыма» [12]).

Вегетационный опыт проводился в пластиковых сосудах объемом 5 л (n=4) с использованием южного чернозема в качестве субстрата [4, 6]. В почву вносили инокулят АМ грибов из расчета не менее 50 колонизирующих единиц (споры и фрагменты корней) на одно семя. Перед посевом семена кориандра стерилизовали 10%-м раствором перекиси водорода и промывали стерильной водой. Все варианты, кроме контроля, дополнительно обрабатывались препаратом «Микробиоком-агро» в дозировке 10^6 КОЕ/семя. Посев осуществлялся по 25 семян на сосуд. Контрольные семена промывались только стерильной водой. Полив проводили трижды в неделю фильтрованной водой, поддерживая влажность субстрата на уровне 60% полной влагоемкости. Дополнительные элементы питания не вносили.

Отбор образцов выполнялся каждые две недели после прорастания, всего за время опыта было проведено пять отборов. Оценка микоризации проводилась в четырех фазах развития растений: проростки (2 недели), розетка 1 (4 недели), розетка 2 (6 недель), стеблевание (8 недель) и бутонизация (10 недель).

Для оценки микоризной колонизации (МК) отбирали корни 2–3 порядка, с последующей их мацерацией в 10% растворе КОН при температуре 95 °С. Визуализировали окрашиванием корневых фрагментов черными чернилами [25]. Окрашенные фрагменты выкладывали на предметное стекло отрезками в 1 см. Степень микоризации определяли под стереомикроскопом МСП-2 (Ломо, Россия) в проходящем свете по методике Травло [24]. Симбиотическая эффективность и индексы микоризации рассчитывали согласно патенту [8].

Фотосинтетические пигменты экстрагировали из свежих листьев кориандра этиловым спиртом (96%) [7]. После полного обесцвечивания образца спиртовую вытяжку анализировали спектрофотометрически на приборе SpectrostarNano (BMG Labtech, Германия) при длинах волн 665 нм, 649 нм, 440 нм [5]. Содержание фосфора в растениях определяли после сжигания по методу Кьельдаля (ГОСТ 26745) в серной кислоте и перекиси водорода на приборе LK-100 (LOIP, Россия) с последующей фотометрией с длиной волны 710 нм на спектрофотометре ПЭ-5300ВИ (Экросхим, Россия) (ГОСТ 26717-85). В качестве стандарта использовали серию разведений раствора KH_2PO_4.

Статистическая обработка результатов вегетационного опыта проведена в соответствии с рекомендациями Б.А. Доспехова [4]. Рассчитывали средние величины ($\bar{x}$) и их стандартные ошибки (SE) для выборок объемом от 5 до 8 повторностей. Сравнение выборочных средних выполняли с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) и апостериорного критерия Дункана в пакете программ IBM SPSS Statistics (IBM, США). Предварительно оценивали нормальность распределения остатков (критерий Колмогорова-Смирнова) и равенство дисперсий (тест Левена) для обоснования правомерности использования параметрических критериев.

Результаты и обсуждение

В процессе исследования установлено, что скорость формирования микоризного симбиоза различалась между вариантами обработки (рисунок 1). Наиболее активную колонизацию корней наблюдали

в первую фазу у ассоциации РКР-1, где единичные гифы визуализировали в фазу проростков (рисунок 2). В остальных вариантах, включая контроль с природными расами грибов АМ, процесс микоризации начался в фазу розетки. После стеблевания встречаемость МК поддерживалась кориандром на максимальном уровне (87,5–100%) со всеми исследуемыми ассоциациями.

Динамика микоризации корней кориандра существенно изменялась в зависимости от применяемых ассоциаций. В фазу розетки отмечен стремительный рост встречаемости и интенсивности МК для ассоциаций РКР-1 и 1-16, которые достоверно превысили остальные варианты в 2,6–3,3 раза ($p<0,01$) (рисунок 2, 3). К завершению фазы розетки 2 РКР-1 и *F. mosseae* 1-16 достигли значения интенсивности МК 80,8–86,8%, в то время как показатели других обработок продолжали постепенно повышаться. Ассоциация 5-16 продемонстрировала наименьшую степень интенсивности, которая не превысила к фазе бутонизации 70%.

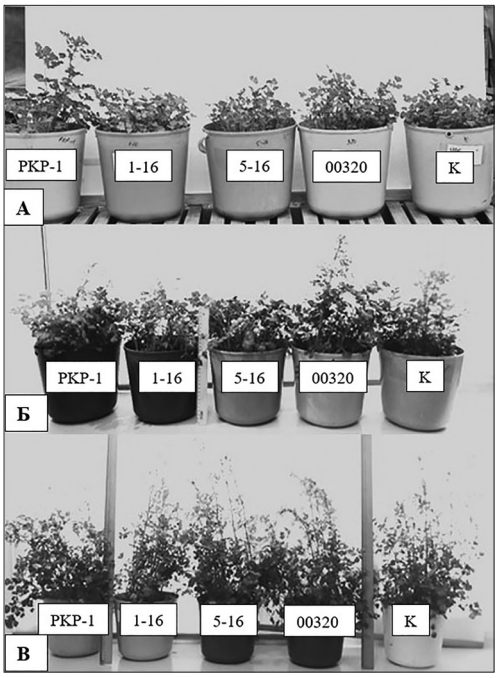


Рис. 1. Вегетационный опыт с кориандром на черноземе южном. Фазы развития растений: А – розетка, Б – стеблевание, В – бутонизация

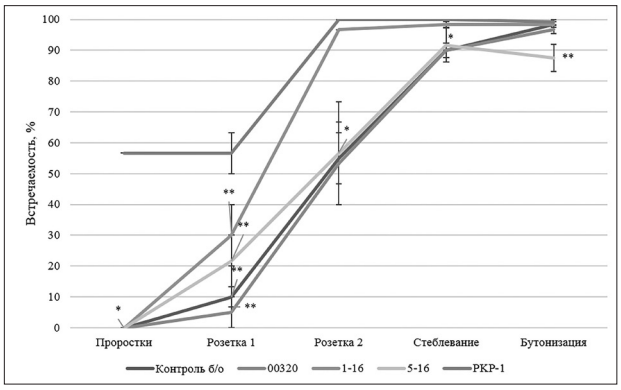


Рис. 2. Динамика встречаемости микоризной колонизации под действием ассоциаций грибов АМ в процессе развития растений кориандра (вегетационный опыт на черноземе южном). *Примечание*: символом * отмечены установленные статистически значимые различия вариантов относительно контроля согласно тесту Дункана (* отмечены показатели при $p<0,05$, ** отмечены показатели при $p<0,01$)

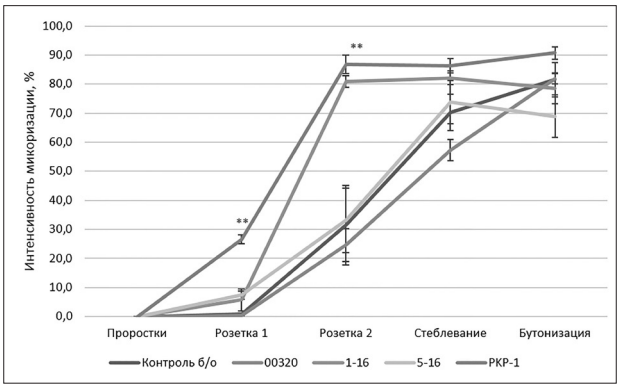


Рис. 3. Интенсивность микоризации в зависимости от ассоциации АМ грибов и фазы развития растений кориандра на черноземе южном. *Примечание*: символом * отмечены установленные статистически значимые различия вариантов относительно контроля согласно тесту Дункана (* отмечены показатели при $p<0,05$, ** отмечены показатели при $p<0,01$)

Оценка обилия арбускул – ключевых структур симбиотического обмена питательными веществами – показала схожую закономерность. Их формирование началось в фазу розетки, при этом ассоциации РКР-1 и *F. mosseae* 1-16 достоверно опережали другие варианты в 4,0–5,2 раза, достигая максимума уже к концу этой фазы (рисунок 4). Контроль и штамм *R. irregularis* RCAM 00320 показали более медленное накопление арбускул с выходом на плато лишь к фазе стеблевания.

Динамика образования везикул – запасающих структур грибного симбионта – существенно отличалась от арбускул. Активное везикулообразование началось позже, к концу фазы розетки, причем максимальные показатели были отмечены у ассоциации РКР-1 в фазу бутонизации – 64,7% (рисунок 5). Отмечено, что у ассоциаций *F. mosseae* 5-16 и 1-16 к этому периоду наблюдалось снижение количества везикул относительно контроля, что может свидетельствовать об изменении

функциональной активности симбиоза на поздних этапах онтогенеза АМ грибов или достижением микросимбионтом своих максимальных показателей.

Поскольку ассоциации РКР-1 и *F. mosseae* 1-16 к концу фазы розетки приблизились к максимальным значениям, то было принято решение проводить оценку содержания фосфора и хлорофиллов в фазы стеблевания и бутонизации. Это позволило исследовать данные показатели после окончания развития микоризы и оценить ее максимальное влияние на растение.

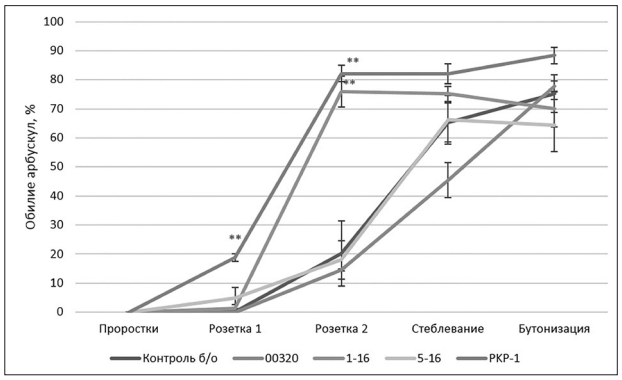


Рис. 4. Изменение обилия арбускул в зависимости от ассоциаций АМ грибов и фазы развития растений кориандра на черноземе южном. *Примечание*: символом * отмечены установленные статистически значимые различия вариантов относительно контроля согласно тесту Дункана, $p<0,01$

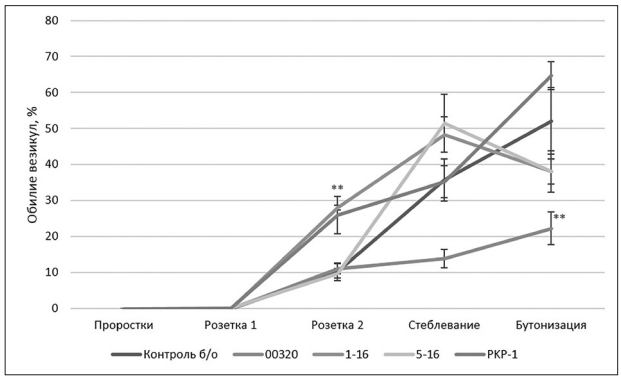


Рис. 5. Изменение обилия везикул в зависимости от ассоциаций АМ грибов и фазы развития растений кориандра на черноземе южном. *Примечание*: символом * отмечены установленные статистически значимые различия вариантов относительно контроля согласно тесту Дункана, $p<0,01$

Оценка содержания фосфора в тканях растений проводилась с целью установления функциональной эффективности сформированного микоризного симбиоза, поскольку улучшение фосфорного питания за счет повышения доступности труднорастворимых почвенных фосфатов и увеличения абсорбирующей поверхности корневой системы является ключевым механизмом положительного влияния АМ грибов на растение-хозяина [17]. Установлено, что влияние различных вариантов обработки на накопление фосфора варьировалось и зависело от фазы развития. В фазу стеблевания штамм *R. irregularis* RCAM 00320 и ассоциация *F. mosseae* достоверно повышали содержание фосфора в побегах на 2,9–11,4% и в корнях на 8,7% по сравнению с контролем ($p<0,05$), тогда как ассоциации РКР-1 и *F. mosseae* 5-16, несмотря на высокую интенсивность микоризации, снижали этот показатель (таблица 1). К фазе бутонизации положительный эффект сохранялся только в побегах, в то время как во всех вариантах отмечено снижение содержания фосфора в корнях, что, вероятно, связано с перераспределением элемента в надземные органы в период активного роста [17].

Таблица 1

Влияние микоризации на содержание фосфора в частях растения

Вариант опыта	Содержание фосфора. мг/г растения			
	Стеблевание		Бутонизация	
	Побеги	Корни	Побеги	Корни
Контроль	0,35±0,003	0,23±0,003	0,39±0,003	0,31±0,003
RCAM 00320	0,39±0,00*	0,25±0,003	0,43±0,00*	0,27±0,003*
Ассоциация 1-16	0,36±0,003	0,25±0,003*	0,45±0,003*	0,18±0,003*
Ассоциация 5-16	0,32±0,003*	0,23±0,00	0,35±0,00*	0,28±0,003*
Ассоциация РКР-1	0,30±0,003*	0,18±0,003*	0,35±0,003*	0,28±0,003*

Примечание: символом * отмечены установленные статистически значимые различия вариантов относительно контроля согласно тесту Дункана, $p<0,01$

Поскольку фотосинтетическая активность растений напрямую детерминирована их питательным статусом и служит интегральным индикатором физиологического состояния, был проведен количественный анализ пигментного комплекса листьев. Достоверное повышение содержания хлорофиллов a и b на 12,2–12,4% в фазу стеблевания отмечено при обработке ассоциацией РКР-1, что свидетельствует об усилении фотосинтетической активности (рисунок 6). Однако к фазе бутонизации положительный эффект наблюдался лишь при обработке штаммом-референтом (12,1–16,7%), тогда как ассоциация *F. mosseae* 5-16 достоверно снижала содержание всех фотосинтетических пигментов на 15,4–16,7%. Эти данные указывают на различия в физиологических механизмах взаимодействия растения с разными штаммами АМ грибов.

Интегральным показателем эффективности микоризации служило накопление биомассы растений. Поскольку растения не доводились до получения урожая, то симбиотическая эффективность рассчитывалась путем подсчета процента прироста сухой массы растений, обработанных АМ грибами относительно контроля [6]. Достоверная прибавка сухой массы по сравнению с контролем наблюдалась на протяжении обеих фаз развития, причем наибольший эффект отмечен при использовании штамма-референта в фазу стеблевания (+181,3 мг, или ~140% к контролю) и ассоциации *F. mosseae* 1-16 в фазу бутонизации (+354,5 мг, или ~120% к контролю) (таблица 2, рисунок 7). Таким образом, выявлена зависимость продуктивности кориандра от интенсивности микоризации и улучшения фосфорного питания, опосредованного деятельностью АМ грибов.

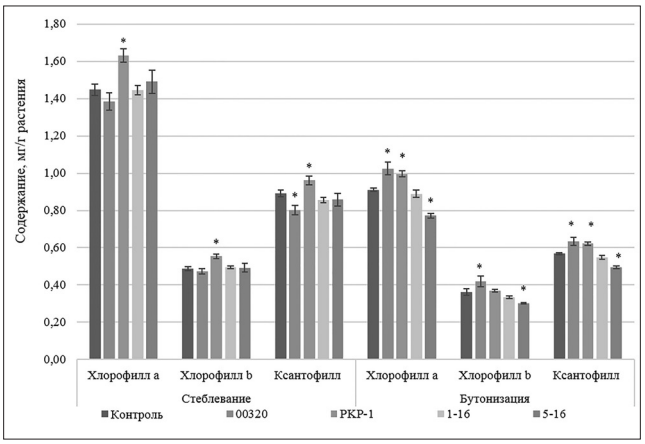


Рис. 6. Влияние микоризации на содержание фотосинтетических пигментов в листьях кориандра посевного.
Примечание: символом * отмечены установленные статистически значимые различия вариантов относительно контроля согласно тесту Дункана, $p<0,05$

Таблица 2

Симбиотическая продуктивность *C. sativum* в модельном эксперименте в зависимости от ассоциаций АМ грибов

Вариант опыта	Сухая масса побегов, мг/растение		
	розетка 2	стеблевание	бутонизация
Контроль	110,0±30,2	131,3±23,8	289,6±40,3
RCAM 00320	123,8±48,9	312,5±154,5*	434,6±131,6*
Ассоциация 1-16	103,8±25,2	242,5±50,4	644,1±230,4*
Ассоциация 5-16	86,3±34,6	190,0±45,5	393,6±80,3
Ассоциация РКР-1	193,8±55,6*	242,5±45,0	267,7±49,2
$НСР_{05}$	34,1	99,9	82,4

Примечание: $НСР_{05}$ – наименьшая существенная разница; символом * отмечены установленные статистически значимые различия вариантов относительно контроля согласно тесту Дункана, $p<0,05$

Результаты проведённого опыта подтверждают, что эффективность микоризации у кориандра определяется штаммовой принадлежностью арбускулярных микоризных грибов [2]. Ассоциации РКР-1 и *F. mosseae* 1-16 продемонстрировали способность к раннему формированию микоризных структур и высокой функциональной активности, что согласуется с современными данными о селективности растений при установлении симбиоза с АМ грибами [1, 18]. В то же время ассоциация *F. mosseae* 5-16 показала низкие показатели микоризации, что может быть связано как с её сниженной способностью, скорее всего генетически обусловленной, к взаимодействию с корнями растений, так и с внешними факторами – уровнем pH, качеством почвы и содержанием питательных веществ [18, 21].

Особый интерес представляет склонность кориандра к формированию симбиоза даже в контрольных вариантах без внесения инокулянта. Это подтверждает на-

личие естественного пула АМ грибов в почве и высокую адаптивность культуры к микоризным взаимодействиям. Подобные результаты были получены в исследованиях последних лет, где отмечается, что кориандр способен формировать устойчивые симбиотические связи даже в условиях стрессовых факторов среды [1, 21].

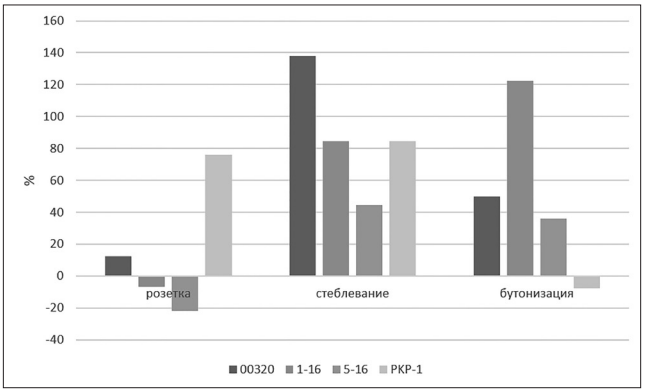


Рис. 7. Симбиотическая эффективность ассоциаций АМ грибов *C. sativum* в модельном эксперименте

В фазе розетки ассоциация РКР-1 показала резкий рост интенсивности микоризации (до 86,8%), сопровождавшийся увеличением числа арбускул. Это свидетельствует о высокой функциональной активности симбиоза и подтверждает ключевую роль арбускулярных структур в транспорте фосфора и стимуляции роста растений [18, 21].

Различия между штаммами в накоплении фосфора оказались значимыми: РКР-1 и *F. mosseae* 5-16 снижали его уровень в растениях, тогда как *R. irregularis* RCAM 00320 и *F. mosseae* 1-16 способствовали его увеличению. Эти данные указывают на неодинаковую эффективность штаммов в усвоении и передаче фосфора, что напрямую отражается на продуктивности растений. Подобные различия в функциональной активности АМ грибов ранее отмечались в исследованиях, посвящённых фосфорному питанию культурных растений [1, 18, 21].

Дополнительным подтверждением положительного влияния микоризации стало повышение содержания фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и ксантофиллов) в обработанных вариантах. Увеличение фотосинтетической активности сопровождалось ростом биомассы растений в фазах стеблевания и бутонизации, что согласуется с данными о стимулирующем эффекте АМ грибов на продуктивность сельскохозяйственных культур [1, 21].

Следует отметить, что, хотя в эксперименте был использован сортовой материал, а именно сорт Силач (внесен в Росреестр в 2016 г.), растения кориандра этого сорта могут иметь генетическую предрасположенность к симбиозу, которая выражалась в ускоренном развитии отдельных особей и переход от одной фазы к другой под действием обработки грибами АМ.

Заключение

Таким образом, при взаимодействии с кориандром наибольшую симбиотическую активность продемонстрировали ассоциации РКР-1 и 1-16. Существенное влияние на показатели содержания фотосинтетических пигментов, уровень фосфора, сухую массу растений и общую симбиотическую эффективность оказал также штамм-референт RCAM 00320. Изменения в концентрации фотосинтетических пигментов и фосфора в растениях были зафиксированы, однако они носили умеренный характер. Наиболее выраженное воздействие микоризации проявилось в увеличении сухой биомассы растений (на 181,3 мг для штамма-референта и на 354,5 мг для ассоциации 1-16) и росте индексов симбиотической эффективности (рост на 140% для RCAM 00320 и 120% для ассоциации 1-16), причём величина этих изменений зависела от фазы развития растений. Наибольший вклад в повышение продуктивности и устойчивости культуры наблюдался для штамма-референта и ассоциации 1-16. Совокупность полученных данных позволяет заключить, что именно ассоциация *F. mosseae* 1-16 является наиболее перспективной для применения в микоризации кориандра сорта Силач, обеспечивая стабильное формирование симбиоза и положительное влияние на физиологические показатели растения.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00241 «Коррекция микробиома Coriandrum sativum как фактор управления его продуктивностью и качеством масла» https://rscf.ru/project/23-26-00241/

Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Литература

1. Абдурашитов С.Ф., Алексеева А.И., Грицевич К.С., Сейтаджиева С.Б., Зубоченко А.А., Юрков А.П. Симбиотическая эффективность новых ассоциаций грибов арбускулярной микоризы при взаимодействии с *Coriandrum sativum* // Ученые записки Крымского федерального

университета имени В. И. Вернадского. Биология. Химия. — 2023. — Т. 9. — № 4. — С. 3—14.
2. Абдурашитов С.Ф., Грицевич К.С., Алексеева А.И., Сейтаджиева С.Б., Зубоченко А.А., Юрков А.П. Агрохимическая и физиологическая основа симбиотической эффективности ассоциаций грибов арбускулярной микоризы с растениями *Coriandrum sativum* // Земледелие. — 2024. — № 1. — С. 23—27.
3. Абдурашитов С.Ф., Немтинов В.И., Пузанова Е.В., Грицевич К.С., Белова И.В., Грунина Е.Н., Абдурашитова Э.Р., Климчук А.В. Оценка влияния арбускулярно-микоризных грибов на хозяйственно ценные показатели лука репчатого. // Экосистемы. — 2020. — № 21(51). — С. 101—108.
4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. — Москва: Агропромиздат, 1985. — 352 с.
5. Клейн Р.М., Клейн Д.Т. Методы исследования растений: монография. — Москва: Колос, 1974. — 527 с.
6. Лабутова Н.М. Методы исследования арбускулярных микоризных грибов. — Санкт-Петербург: Инновационный центр защиты растений ВИЗР, 2000. — 24 с.
7. Патент РФ № 2244916. Способ определения хлорофилла в растениях гречихи / В.Т. Лобков., Г.В. Наполова, 2005.
8. Патент РФ № 2528864. Способ экспресс-определения симбиотической эффективности грибов арбускулярной микоризы и индексов микоризации / А.П. Юрков, 2014.
9. Паштецкий В.С., Невкрытая Н.В., Мишнев А.В., Назаренко Л.Г. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра. — 2-е изд., доп. — Симферополь: ООО «Издательство Типография «Ариал», 2018. — 320 с.
10. Прахова Т. Я. Оценка продуктивности и адаптивности сортов кориандра в условиях лесостепи Среднего Поволжья // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. — 2023. — Т. 24. — № 2. — С. 214—222.
11. Федеральная служба государственной статистики: [сайт]. — URL: https://rosstat.gov.ru/folder/11110/document/13277 (дата обращения 05.03.2026).
12. Центр коллективного пользования научным оборудованием РФ [сайт]. — URL: http://www.ckp-rf.ru/usu/507515/ (дата обращения: 05.03.2026).
13. Центр коллективного пользования научным оборудованием РФ [сайт]. — URL: https://ckp-rf.ru/catalog/usu/507484 (дата обращения: 05.03.2026).
14. Ao D., Wang B., Wang Y., Chen Y., Liang C., An S. Arbuscular mycorrhizal fungi communities and glomalin mediate particulate and mineral-associated organic carbon formation in grassland patches // Communications Earth & Environment. — 2025. — Vol. 6. — Art. 553. doi: 10.1038/s43247-025-02492-x.
15. Fall A.F., Nakabonge G., Ssekandi J., Founoune-Mboup H., Apori S.O., Ndiaye A., Badji A., Ngom K. Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on soil fertility: Contribution in the improvement of physical, chemical, and biological properties of the soil // Frontiers Fungal Biology. — 2022. — Vol. 3. — Art. 723892. doi: 10.3389/ffunb.2022.723892.
16. FAOSTAT (Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database): [сайт]. — URL: https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL (дата обращения 05.03.2026).
17. Hou L., Zhang X., Feng G., Li Z., Zhang Y., Cao N. Arbuscular mycorrhizal enhancement of phosphorus uptake and yields of maize under high planting density in the black soil region of China // Scientific Reports. — 2021. — Vol. 11. — Art. 1100. doi: 10.1038/s41598-020-80074-x.
18. Langrand J., Lounès-Hadj Sahraoui A., Duclercq J., Raveau R., Laruelle F., Bert V., Facon N., Tisserant B., Fontaine J. Coriander (*Coriandrum sativum*) cultivation combined with arbuscular mycorrhizal fungi inoculation and steel slag application influences trace elements-polluted soil bacterial functioning // Plants. — 2023. — Vol. 12. — No. 3. — Art. 618. doi: 10.3390/plants12030618.
19. Mahleyuddin N.N., Moshawih S., Ming L.C., Zulkifly H.H., Kifli N., Loy M.J., Rahman Sarker M.R., Al-Worafi Y.M., Goh B.H., Thuraisingam S., Goh H.P. *Coriandrum sativum* L.: A review on ethnopharmacology, phytochemistry, and cardiovascular benefits // Molecules. — 2021. — Vol. 27. — No. 1. — Art. 209. doi: 10.3390/molecules27010209.
20. Martin F.M., Öpik M., Dickie I.A. Mycorrhizal research now: from the micro- to the macro-scale // New Phytologist. — 2024. — Vol. 242. — No. 4. — P. 1399—1403.
21. Miao F., Wang S., Yuan Y., Chen Y., Guo E., Li Y. The Addition of a high concentration of phosphorus reduces the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in temperate agroecosystems // Diversity. — 2023. — Vol. 15. — No. 10. — Art. 1045. doi: 10.3390/d15010045.
22. Scandar S., Zadra C., Marcotullio M.C. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) polyphenols and their nutraceutical value against obesity and metabolic syndrome // Molecules. — 2023. — Vol. 28. — No. 10. — Art. 4187. doi: 10.3390/molecules28104187.
23. Tang H., Hassan M.U., Feng L., Nawaz M., Shah A.N., Qari S.H., Liu Y., Miao J. The Critical role of arbuscular mycorrhizal fungi to improve drought tolerance and nitrogen use efficiency in crops // Frontiers Plant Science. — 2022. — Vol. 13. — Art. 919166. doi: 10.3389/fpls.2022.919166.
24. Trovelot A., Kough J.L., Gianinazzi-Pearson V. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche des méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle // The Mycorrhizae: Physiology and Genetics. — 1986. — P. 217—221.
25. Vierheilig H., Coughlan A.P., Wyss U., Piché Y. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi // Applied and Environmental Microbiology. — 1998. — Vol. 64. — No. 12. — P. 5004—5007.
26. Wibodo D.P., Nuari D.A., Apionita S., Marianiet R. Review: Antimicrobial activity of Coriander (*Coriandrum sativum* L.) // Tropical Journal of Natural Product Research. — 2023. — Vol. 7. — No. 5. — P. 2844—2858.

27. Xie K., Ren Y., Chen A., Yang C., Zheng O., Chen J., Wang D., Li Y., Hu S., Xu G. Plant nitrogen nutrition: The roles of arbuscular mycorrhizal fungi // Journal of Plant Physiology. — 2022. — Vol. 269. — Art. 153591. doi: 10.1016/j.jplph.2021.153591.

References

1. Abdurashitov SF, Alekseyeva AI, Gritsevich KS, Seytadzhiyeva SB, Zubochenko AA, Yurkov AP. Simbioticheskaya effektivnost' novykh assotsiatsiy gribov arbuskulyarnoy mikorizy pri vzaimodeystvii s *Coriandrum sativum*. Uchenyye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Biologiya. Khimiya 2023; 9(4):3–14 (in Russian).
2. Abdurashitov SF, Gritsevich KS, Alekseyeva AI, Seytadzhiyeva SB, Zubochenko AA, Yurkov AP. Agrokhimicheskaya i fiziologicheskaya osnova simbioticheskoy effektivnosti assotsiatsiy gribov arbuskulyarnoy mikorizy s rasteniyami *Coriandrum sativum*. Zemledeliye 2024; 1:23–27 (in Russian).
3. Abdurashitov SF, Nemtinov VI, Puzanova YeV, Gritsevich KS, Belova IV, Grunina YeN, Abdurashitova ER, Klimchuk AV. Otsenka vliyaniya arbuskulyarno-mikoriznykh gribov na khozyaystvenno tsennyye pokazateli luka repchatogo. Ekosistemy 2020; 21(51):101–108 (in Russian).
4. Dospekhov BA. Metodika polevogo opyta. Moscow: Agropromizdat, 1985: 352 (in Russian).
5. Kleyn RM, Kleyn DT. Metody issledovaniya rasteniy: monografiya. Moscow: Kolos, 1974: 527 (in Russian).
6. Labutova NM. Metody issledovaniya arbuskulyarnykh mikoriznykh gribov. St. Petersburg: Innovatsionnyy tsentr zashchity rasteniy VIZR, 2000: 24 (in Russian).
7. Patent RF № 2244916. Sposob opredeleniya khlorofilla v rasteniyakh grechikhi. VT Lobkov, GV Napolova, 2005 (in Russian).
8. Patent RF № 2528864. Sposob ekspress-opredeleniya simbioticheskoy effektivnosti gribov arbuskulyarnoy mikorizy i indeksov mikorizatsii. AP Yurkov, 2014 (in Russian).
9. Pashtetskiy VS, Nevkrytaya NV, Mishnev AV, Nazarenko LG. Efiromaslichnaya otrasl' Kryma. Vchera, segodnya, zavtra. 2-ye izd, dop. Simferopol': OOO «Izdatel'stvo Tipografiya «Arial», 2018 320 (in Russian).
10. Prakhova TYa. Otsenka produktivnosti i adaptivnosti sortov koriandra v usloviyakh lesostepi Srednego Povolzh'ya. Agrarnaya nauka Yevro-Severo-Vostoka 2023; 24(2):214–222 (in Russian).
11. Federal'naya sluzhba gosudarstvennoy statistiki. URL: https://rosstat.gov.ru/folder/11110/document/13277 (date of access 05.03.2026) (in Russian).
12. Tsentr kollektivnogo pol'zovaniya nauchnym oborudovaniyem RF. URL: http://www.ckp-rf.ru/usu/507515/ (date of access: 05.03.2026) (in Russian).
13. Tsentr kollektivnogo pol'zovaniya nauchnym oborudovaniyem RF. URL: https://ckp-rf.ru/catalog/usu/507484 (date of access: 05.03.2026) (in Russian).
14. Ao D, Wang B, Wang Y, Chen Y, Liang C, An S. Arbuscular mycorrhizal fungi communities and glomalin mediate particulate and mineral-associated organic carbon formation in grassland patches. Communications Earth & Environment 2025; 6:553. doi: 10.1038/s43247-025-02492-x.
15. Fall AF, Nakabonge G, Ssekandi J, Founoune-Mboup H, Apori SO, Ndiaye A, Badji A, Ngom K. Roles of arbuscular mycorrhizal fungi on soil fertility: Contribution in the improvement of physical, chemical, and biological properties of the soil. Frontiers Fungal Biology 2022; 3:723892. doi: 10.3389/ffunb.2022.723892.
16. FAOSTAT (Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database). URL: https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL (date of access 05.03.2026).
17. Hou L, Zhang X, Feng G, Li Z, Zhang Y, Cao N. Arbuscular mycorrhizal enhancement of phosphorus uptake and yields of maize under high planting density in the black soil region of China. Scientific Reports 2021; 11:1100. doi: 10.1038/s41598-020-80074-x.
18. Langrand J, Lounès-Hadj Sahraoui A, Duclercq J, Raveau R, Laruelle F, Bert V, Facon N, Tisserant B, Fontaine J. Coriander (*Coriandrum sativum*) cultivation combined with arbuscular mycorrhizal fungi inoculation and steel slag application influences trace elements-polluted soil bacterial functioning. Plants 2023; 12(3):618. doi: 10.3390/plants12030618.
19. Mahleyuddin NN, Moshawih S, Ming LC, Zulkifly HH, Kifli N, Loy MJ, Rahman Sarker MR, Al-Worafi YM, Goh BH, Thuraisingam S, Goh HP. *Coriandrum sativum* L.: A review on ethnopharmacology, phytochemistry, and cardiovascular benefits. Molecules 2021; 27(1):209. doi: 10.3390/molecules27010209.
20. Martin FM, Öpik M, Dickie IA. Mycorrhizal research now: from the micro- to the macro-scale. New Phytologist 2024; 242(4):1399–1403.
21. Miao F, Wang S, Yuan Y, Chen Y, Guo E, Li Y. The Addition of a high concentration of phosphorus reduces the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in temperate agroecosystems. Diversity 2023; 15(10):1045. doi: 10.3390/d15010045.
22. Scandar S, Zadra C, Marcotullio MC. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) polyphenols and their nutraceutical value against obesity and metabolic syndrome. Molecules 2023; 28(10):4187. doi: 10.3390/molecules28104187.
23. Tang H, Hassan MU, Feng L, Nawaz M, Shah AN, Qari SH, Liu Y, Miao J. The Critical role of arbuscular mycorrhizal fungi to improve drought tolerance and nitrogen use efficiency in crops. Frontiers Plant Science 2022; 13:919166. doi: 10.3389/fpls.2022.919166.
24. Trovelot A, Kough JL, Gianinazzi-Pearson V. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche des méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. The Mycorrhizae: Physiology and Genetics 1986;217–221.
25. Vierheilig H, Coughlan AP, Wyss U, Piché Y. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. Applied and Environmental Microbiology 1998; 64(12):5004–5007.

26. Wibodo DP, Nuari DA, Apionita S, Marianiet R. Review: Antimicrobial activity of Coriander (*Coriandrum sativum* L.). Tropical Journal of Natural Product Research 2023; 7(5):2844–2858.

27. Xie K, Ren Y, Chen A, Yang C, Zheng O, Chen J, Wang D, Li Y, Hu S, Xu G. Plant nitrogen nutrition: The roles of arbuscular mycorrhizal fungi. Journal of Plant Physiology 2022; 269:153591. doi: 10.1016/j.jplph.2021.153591.

ANALYSIS OF THE DEVELOPMENT OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI ON *CORIANDRUM SATIVUM* DEPENDING ON THE STRAIN AND THE PLANT'S GROWTH STAGE ON SOUTHERN CHERNOZEM

A.I. ALEKSEEVA, S.F. ABDURASHYTOV, A.Ya. ABLAEV

Research Institute of Agriculture of Crimea, Simferopol

One of the crops widely grown in Crimea and extensively used in the food industry, perfumery and medicine is coriander (*Coriandrum sativum* L.). In recent years, there has been an active search for ways to reduce pesticide use, one of which could be plant mycorrhization. To this end, the study investigated the effect of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on mycorrhization, productivity and symbiotic efficiency in coriander. Experiments were conducted on southern chernozem in pot culture using three strains of mycorrhizal fungi (PKP-1, *Funneliformis mosseae* 1-16, *F. mosseae* 5-16) from the Crimean collection of microorganisms; *Rhizophagus irregularis* RCAM 00320 was used as the standard strain. The results showed that the associations of PKP-1 and 1-16 promote faster and more effective mycorrhization (the intensity of mycorrhization by the end of the rosette phase reached 80–86%). The abundance of arbuscules and vesicles was highest in the PKP-1 association (82% and 62%, respectively), which is associated with the high activity of these fungi. Mycorrhizal plants demonstrated improvements in phosphorus metabolism, photosynthetic pigments and dry weight. Association 1-16 proved to be the most effective in improving plant productivity – 138%, whilst association 5-16 showed the lowest improvement – 44.7%. These data confirm the high potential of using mycorrhizae to increase coriander productivity.

Keywords: *Coriandrum sativum*, *Funneliformis mosseae*, plant productivity, phosphorus metabolism.

Address:
Alekseeva A.I.
postgraduate student, junior researcher, laboratory
of molecular genetics, proteomics and bioinformatics,
Research Institute of Agriculture of Crimea
E-mail: alena_crao2000@mail.ru

Для цитирования:
Алексеева А.И., Абдурашитов С.Ф., Аблаев А.Я. Анализ развития арбускулярных микоризных грибов на *Coriandrum sativum* в зависимости от штамма и фазы вегетации растения на черноземе южном. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2):6–14.

For citation:
Alekseeva A.I., Abdurashytov S.F., Ablaev A.Ya. Analysis of the development of arbuscular mycorrhizal fungi on *Coriandrum sativum* depending on the strain and the plant's growth stage on southern chernozem. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2):6–14 (in Russian).

УДК 576.5, 616-018

СОВРЕМЕННЫЕ *IN VITRO* И *IN VIVO* МОДЕЛИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА: ОГРАНИЧЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДЛЯ ТРАНСЛЯЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

К.И. БАХАРЕВА[1], П.С. САЛЫНКИН[2], М.С. СОЛДАТОВА[1], Г.И. БАЙКАЛОВ[1], И.С. ФАДЕЕВА[2], Р.С. ФАДЕЕВ[1,2], М.И. КОБЯКОВА[1,2*]

[1] Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск;
[2] ФГБУН Институт теоретической и экспериментальной биофизики Российской академии наук, г. Пущино

Ревматоидный артрит — хроническое системное аутоиммунное заболевание, сопровождающееся устойчивым синовиальным воспалением, прогрессирующей деструкцией суставов и высокой инвалидизацией пациентов. Несмотря на успехи таргетной терапии, значительная часть больных не достигает устойчивой ремиссии, а результаты доклинических исследований нередко плохо транслируются в клиническую практику, что подчёркивает важность критической оценки существующих экспериментальных моделей. В обзоре систематизированы основные *in vivo* модели ревматоидного артрита с анализом их патогенетических особенностей, преимуществ и ограничений с точки зрения трансляционной значимости. Рассмотрены современные *in vitro* подходы, позволяющие моделировать ключевые компоненты иммунного ответа, синовиальное воспаление и ремоделирование костно-хрящевой ткани. Особое внимание уделено инженерным трёхмерным моделям и микрофизиологическим системам, которые повышают физиологическую релевантность доклинических исследований и открывают возможности для персонализированного тестирования терапии на клетках и тканях пациентов. Обсуждаются перспективные направления совершенствования экспериментальных платформ и их рациональная комбинация для повышения предсказуемости клинических исходов и сокращения числа неудачных клинических испытаний при разработке новых методов лечения ревматоидного артрита.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; *in vivo* модели; *in vitro* модели; эксплантаты; сфероиды; «сустав-на-чипе»; микрофлюидные системы; биопринтинг; биореакторные системы.

Введение

Ревматоидный артрит (РА) — хроническое системное аутоиммунное заболевание опорно-двигательного аппарата, характеризующееся хроническим синовиальным воспалением, прогрессирующей деструкцией суставов и высокой инвалидизацией. Это социально значимое заболевание, оказывающее значительное влияние на качество жизни пациентов и экономику здравоохранения [7, 9]. По современным эпидемиологическим данным, встречается во всех возрастных группах, включая детей и пожилых людей, при этом пик дебюта заболевания приходится на 40–55 лет — наиболее трудоспособный возраст. Распространённость РА среди взрослого населения в разных регионах мира составляет 0,2–1%, при этом женщины болеют в 2–3 раза чаще мужчин [1]. У женщин старше 65 лет распространённость заболевания достигает около 5%, что во многом связывают с особенностями гормонального статуса. По прогнозам, к 2050 году число больных РА может достигнуть 31,7 млн человек. РА приводит к значительной потере трудоспособности: примерно у половины пациентов стойкая инвалидизация развивается в течение первых 3–5 лет от начала болезни, в то время как ремиссия наступает только у 30–55% [14]. Заболевание также существенно сокращает продолжительность жизни из-за высокого риска развития сопутствующих патологий: сердечно-сосудистых заболеваний, тяжёлых инфекций, онкологических заболеваний, а также специфических осложнений, связанных с

© 2026 г. Бахарева К.И., Салынкин П.С., Солдатова М.С., Байкалов Г.И., Фадеева И.С., Фадеев Р.С., Кобякова М.И.

*** Автор для переписки:**
Кобякова Маргарита Игоревна
к.б.н., исполняющий обязанности заведующего лабораторией биофармакологии Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН
E-mail: kobyakovami@gmail.com

системным иммуновоспалительным процессом (ревматоидный васкулит, АА-амилоидоз, интерстициальная болезнь лёгких и др.) [18].

Хронический характер заболевания и недостаточная приверженность терапии остаются серьёзными проблемами клинической практики. В связи с этим особое значение приобретает критическая оценка существующих доклинических моделей РА, которые используются для изучения патогенеза заболевания и разработки новых терапевтических подходов. Цель настоящего обзора — проанализировать современные *in vitro* и *in vivo* модели ревматоидного артрита, обозначить их ключевые преимущества и ограничения, а также обсудить перспективные направления развития экспериментальных систем, включая трёхмерные модели, микрофизиологические платформы «сустав-на-чипе» и другие. Задачами обзора являются: (1) систематизация основных животных и клеточных моделей РА, (2) оценка их трансляционного потенциала с позиций предсказуемости клинических исходов и (3) выявление направлений совершенствования моделей для повышения эффективности доклинических исследований.

Патогенез ревматоидного артрита

Ревматоидный артрит развивается поэтапно и включает доклиническую стадию, предшествующую появлению развернутой клинической картины заболевания. Генетическая предрасположенность в сочетании с факторами риска (курение, инфекции, особенности микробиоты) приводит к нарушению иммунной толерантности и формированию аутоиммунного ответа, в том числе на уровне синовиальной оболочки. На ранних этапах ключевую роль играют посттрансляционные модификации белков, прежде всего превращение аргинина в цитруллин (цитруллинирование), которое может быть связано с воздействием табачного дыма, микроорганизмов, таких как *Porphyromonas gingivalis*, и активацией нейтрофилов. Модифицированные аутобелки распознаются антигенпрезентирующими клетками, такими как макрофаги, как чужеродные, что инициирует Т-клеточный ответ и последующую активацию В-клеток с выработкой аутоантител, включая ревматоидный фактор (РФ) и антитела к цитруллинированным белкам (АЦБ). Эти антитела часто выявляются задолго до развития клинически выраженного синовита, что указывает на существование дополнительных, еще не полностью изученных механизмов, способствующих переходу аутоиммунных процессов в синовиальное воспаление [5].

В развернутой стадии заболевания синовиальная оболочка инфильтрируется иммунными клетками и подвергается гиперплазии, что сопровождается гипоксией, неоваскуляризацией и формированием паннуса. В синовиальной ткани и крови пациентов с РА повышены уровни провоспалительных цитокинов, включая ИЛ-17, ИЛ-6, ИЛ-1β, ИЛ-21, TGF-β и ИЛ-23, которые способствуют привлечению нейтрофилов, активации остеокластов, усилению резорбции костной ткани и поддержанию хронического воспаления [10]. Лимфоцитарные инфильтраты нередко формируют структуры, напоминающие зародышевые центры, что облегчает тесное взаимодействие Т- и В-клеток и способствует созреванию высокоаффинных аутоантител. Особое значение в патогенезе РА придают субпопуляциям Th1- и Th17-клеток: Th1-клетки опосредуют продукцию IFN-γ и активацию макрофагов, тогда как Th17-клетки через секрецию ИЛ-17 и связанных цитокинов усиливают инфильтрацию тканей, индуцируют экспрессию RANKL и стимулируют остеокластогенез, что напрямую связано с деструкцией хряща и кости. Клиническая эффективность блокаторов ФНО-α и других таргетных препаратов, влияющих на эти цитокиновые сети, дополнительно подтверждает ключевую роль Th1/Th17-оси и ФНО-зависимых путей в поддержании суставного воспаления при РА.

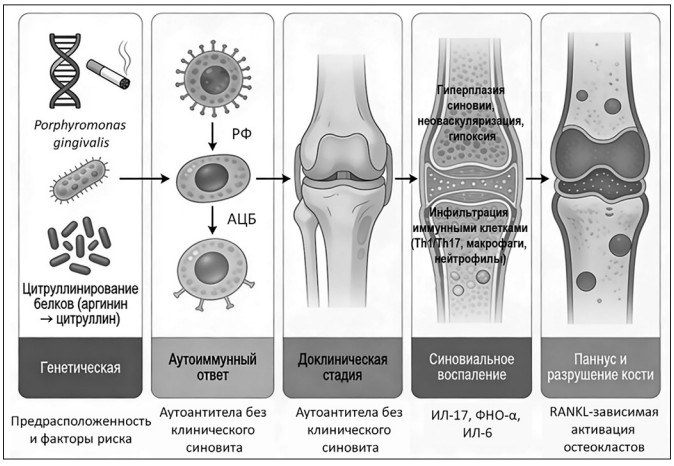


Рис. 1. Основные этапы патогенеза ревматоидного артрита. АЦБ — антитела к цитруллинированным белкам; ИЛ — интерлейкин; РФ — ревматоидный фактор

Ранняя диагностика и своевременное начало терапии РА имеют принципиальное значение для замедления прогрессирования заболевания и снижения риска тяжёлых осложнений. Многоуровневый и гетерогенный иммунопатогенез РА существенно осложняет разработку новых таргетных подходов и предъявляет высокие требования к доклиническим моделям заболевания.

Экспериментальные системы *in vitro* и *in vivo* должны по возможности воспроизводить ключевые звенья патогенеза — от нарушения иммунной толерантности и формирования аутоантител до синовиального воспаления, ремоделирования костно-хрящевой ткани и системных проявлений, однако на практике нередко отражают лишь отдельные аспекты этих процессов, упрощая клеточный состав, микроокружение и системное влияние организма. Это ограничивает их прогностическую ценность, способствует неудачам на стадии клинических испытаний и увеличивает затраты времени и ресурсов на создание новых терапевтических стратегий. В последующих разделах рассматриваются основные *in vivo* и *in vitro* модели РА, их преимущества и ограничения с позиций трансляционной значимости, а также современные подходы, направленные на повышение физиологической релевантности экспериментальных платформ.

Модели *in vivo* ревматоидного артрита: возможности и ограничения

Экспериментальные модели *in vivo* разрабатываются преимущественно на грызунах путём искусственной индукции артрита различными агентами. Такие модели позволяют изучать заболевание в контексте целостного организма, учитывать системные иммунные реакции, взаимодействие между органами, метаболические и нейроэндокринные факторы [2, 28]. Они играют ключевую роль в доклиническом тестировании противоревматических препаратов, однако далеко не всегда адекватно предсказывают клиническую эффективность у пациентов, что связано с межвидовыми различиями, упрощённостью патогенеза и ограниченным воспроизведением системных проявлений РА [2, 28]. В таблице 1 представлены наиболее широко используемые экспериментальные модели артрита, применяемые для имитации различных аспектов патогенеза РА.

Таблица 1

Основные экспериментальные модели артрита *in vivo*

Параметр	КИА (коллагениндуцированный артрит)	СА (K/BxN сывороточный артрит)	АИА (антигениндуцированный артрит)	АИА/КИА (комбинированная модель)	ПИА (пристаниндуцированный артрит)
Тип индукции	Коллаген II типа + адъювант	Перенос сыворотки от артритных мышей K/BxN	Введение модифицированного белкового антигена (мСА), бактериальные антигены + адъювант	Комбинация адъюванта и коллагена	Введение масляного раствора пристана
Иммунный механизм	Преимущественно В-клеточный, аутоантитела к коллагену II типа	Аутоантитела к глюкозобфосфатизомеразе (Г6ФИ); иммунные комплексы активируют врождённый иммунитет (нейтрофилы, макрофаги и др.)	Антиген-специфический Т-клеточно-зависимый ответ на введённый белковый антиген (например, мСА), с участием $CD4^+$ Th1/Th17-клеток, цитокинов и вторично В-клеток и антител	Комбинация Т-клеточных механизмов и гуморального аутоиммунитета	$CD4^+$ Т-клеточно-зависимый, MHC-ассоциированный ответ на неантигенный адъювант; хроническое стерильное воспаление
Фаза РА, которую имитирует	Хроническое течение без рецидивов; аутоантитела к коллагену	Только эффекторная фаза заболевания (без моделирования инициации аутоиммунитета)	Острое воспаление, частично сходное с РА	Многостадийный процесс: от инициации воспаления до аутоиммунного ответа и деструкции суставов	Хроническое рецидивирующее течение, близкое к РА человека
Основные преимущества	«Стандартная» модель, наличие аутоантител к коллагену, генетическая контролируемость	100%-я частота развития артрита, быстрое начало, удобство для изучения аутоантител и боли, применимость к разным линиям мышей	Надёжность, быстрый дебют, удобна для анализа Т-клеточных механизмов	Отражает как неспецифическое воспаление (компонент АИА), так и аутоиммунный компонент (как при КИА); пригодна для тестирования биопрепаратов и клеточных технологий	Наиболее близко имитирует хроническое рецидивирующее течение и эрозивную деструкцию суставов
Основные ограничения	Трудоёмкая индукция, длительное развитие, фокус преимущественно на В-клеточном звене	Моделирует только эффекторную фазу; Г6ФИ, вероятно, не является ключевым аутоантигеном при РА у человека	Системное поражение, неполное сходство с хроническим РА	Относительная редкость использования, зависимость от генетического фона, неполное воспроизведение всей гетерогенности РА	Молекулярные механизмы изучены в меньшей степени
Типичные животные модели	Мыши (например, линия DBA/1J)	Мыши	Крысы, мыши, кролики	Мыши линии Balb/c	Мыши, крысы

Выбор конкретной модели зависит от целей исследования: изучения механизмов аутоиммунитета, острого воспаления, боли, ремоделирования костно-хрящевой ткани или тестирования конкретных классов препаратов.

Коллаген-индуцированный артрит (*КИА*) относится к моделям активной иммунизации и основан на введении животным коллагена II типа в сочетании с адъювантом, что приводит к нарушению толерантности и формированию аутоантител к коллагену, с последующим развитием симметричного полиартрита, синовита, паннуса, эрозии хряща и костной ткани, во многом напоминающих РА. КИА считается «золотым стандартом» для изучения роли аутоантител к коллагену II типа и генетических факторов предрасположенности, но требует сложной индукции и длительного наблюдения за животными. Модель широко применяется для тестирования базисных противоревматических препаратов и биологических агентов, влияющих на гуморальный иммунитет и формирование паннуса, а также для анализа влияния генетических модификаций или нокаута отдельных генов на развитие аутоиммунного артрита [23]. Основные ограничения КИА связаны с тем, что, несмотря на схожесть по ряду клинико-морфологических и иммунологических признаков (аутоантитела к коллагену II типа, хронический синовит, паннус), модель не полностью воспроизводит гетерогенный и многофакторный характер человеческого РА, включая различный с человеком иммунный профиль и спектр аутоантигенов, а также самоограничивающийся характер хронического течения, вариабельность выраженности поражения суставов [2, 27].

Модель K/BxN сывороточного артрита (*СА*) основан на переносе аутоантител к глюкозо-6-фосфатизомеразе (Г6ФИ) от трансгенных мышей-доноров линии K/BxN к здоровым мышам-реципиентам (различных линий) и обеспечивает практически 100%-ю частоту артрита. Данная модель применяется для изучения эффекторной фазы аутоиммунного артрита — от циркулирующих аутоантител и иммунных комплексов до воспаления синовиальной оболочки и повреждения суставных структур. Ограничения модели связаны с фокусом исключительно на эффекторной фазе: СА не воспроизводит фазу инициации аутоиммунитета, поскольку аутоантитела вводятся пассивно с сывороткой, минуя этапы нарушения иммунной толерантности, активации Т- и В-клеток и формирования аутоантительного репертуара, характерные для ранних стадий РА. Также СА не подходит для изучения длительной хронизации, перехода от доклинической стадии к развернутому заболеванию и системных проявлений. Кроме того, ключевой аутоантиген Г6ФИ, лежащий в основе модели, имеет спорное значение в патогенезе человеческого РА, что снижает иммунологическую релевантность этой системы по отношению к типичным аутоантигенам человека (цитруллинированные белки, ревматоидный фактор) [6, 16]. Таким образом, СА обладает высокой ценностью для трансляционных исследований, в которых необходимо быстро и воспроизводимо оценивать препараты, влияющие на иммунные комплексы, врождённый иммунитет и болевой синдром, что делает её привлекательной для первичного доклинического скрининга. Однако отсутствие стадии индукции аутоиммунного ответа и фокус на аутоантителах к G6PI ограничивают возможность прямого переноса результатов на клинические ситуации, связанные с АЦБ- и РФ-позитивным РА, а также на стратегии, направленные на модификацию Т- и В-клеточного звена.

Антиген-индуцированный артрит (*АИА*) относится к моделям активной иммунизации и обычно вызывается сенсибилизацией животных метилированным сывороточным альбумином (мСА) или другим белковым антигеном в полном адъюванте Фрейнда с последующей внутрисуставной провокацией тем же антигеном, что приводит к локальному Т-клеточно-зависимому воспалению в сенсибилизированном суставе. Такая схема обеспечивает антиген-специфический, преимущественно $CD4^+$ Т-клеточно-опосредованный синовит с выраженным отёком, инфильтрацией клеток, гиперплазией синовии и элементами паннуса, что делает модель удобной для изучения роли отдельных цитокинов, Th1/Th17-субпопуляций и сигнальных путей, а также для первичного тестирования противовоспалительных и анальгетических средств [2, 28]. Ограничения АИА связаны с преимущественно острым и относительно самоограничивающимся течением воспаления, ограниченным поражением одного или нескольких суставов и системным характером введения адъювантов, что снижает релевантность модели для анализа длительного, многоочагового и гетерогенного течения РА у человека. Кроме того, иммунный ответ формируется против искусственного белкового антигена, а не типичных аутоантигенов, что необходимо учитывать при экстраполяции результатов.

Комбинированные модели АИА/КИА имитируют многостадийный процесс от инициации воспаления до развития аутоиммунного ответа и деструктивных изменений суставов, что делает их перспективными для изучения сложных патогенетических каскадов и оценки новых терапевтических стратегий. Однако они зависят от генетического фона животных и не воспроизводят всех

клинических аспектов РА [17]. Такие модели особенно интересны в контексте изучения перехода от неспецифического воспаления к устойчивому аутоиммунитету, выбора точек приложения комбинированной терапии и оценки влияния последовательного или одновременного воздействия на врождённый и адаптивный иммунитет.

Пристан-индуцированный артрит (*ПИА*) вызывают однократным введением синтетического масляного адъюванта пристана у грызунов чувствительных линий (чаще Dark Agouti-крыс), что приводит к развитию выраженного, преимущественно суставного воспаления с отёком, инфильтрацией мононуклеарными и полиморфноядерными клетками, формированием паннуса и эрозией хряща и кости. Данная модель характеризуется высокой частотой индукции, хроническим рецидивирующим течением и умеренной вариабельностью тяжести, причём инициация и поддержание артрита зависят от Т-клеточного ответа и MHC-ассоциированных механизмов. Основные ограничения ПИА связаны с тем, что, несмотря на хорошее воспроизведение клинико-морфологических критериев РА, модель индуцируется сильным неорганическим адъювантом без явного аутоантигена, её молекулярные механизмы изучены существенно менее подробно, чем, например, при КИА [2, 12]. Это усложняет экстраполяцию данных на человеческий РА и требует осторожности при интерпретации результатов, особенно при оценке таргетных вмешательств, нацеленных на специфические аутоантигены или ранние этапы нарушения иммунной толерантности.

Для преодоления части ограничений традиционных *in vivo* моделей создаются гуманизированные системы, в которых у грызунов воспроизводят ключевые элементы иммунной системы человека. Это достигается вводом человеческих трансгенов (например, HLA-молекул) или переносом человеческих иммунных клеток и тканей иммунодефицитным мышам, что позволяет оценивать действие биопрепаратов, специфичных к человеческим мишеням [20]. Несмотря на наличие воспалительных инфильтратов, гиперплазии синовиальной оболочки, паннуса, разрушения хряща и эрозии костей, большинство существующих моделей имеет важные ограничения. У части трансгенных линий грызунов развивается «самоизлечивающийся» артрит, у других — заболевание возникает только у генетически восприимчивых штаммов; патофизиология моделей часто не отражает эндогенное нарушение иммунной толерантности и системные компоненты заболевания. Мутации, лежащие в основе генетически модифицированных моделей, как правило, не совпадают с вариантами, выявляемыми у пациентов с РА, а сравнительный анализ транскриптомов показывает лишь частичное перекрытие паттернов экспрессии генов у мышей и человека [13]. Дополнительные межвидовые различия касаются образа жизни, продолжительности жизни, особенностей микроокружения, циркадных ритмов, массы тела и распределения популяций лейкоцитов в крови, что также ограничивает экстраполяцию результатов на человека. В совокупности это объясняет, почему ни одна из существующих моделей на животных не воспроизводит патогенез РА в полном объёме и почему часть терапевтических подходов, показавших эффективность *in vivo* у грызунов, не демонстрирует ожидаемого эффекта в клинических исследованиях [13].

Модели *in vitro* ревматоидного артрита: от двумерных культур к микрофизиологическим системам

В последнее время значительный прогресс в области тканевой инженерии и клеточных технологий привёл к качественному развитию методов исследования *in vitro*. Это позволило более детально изучать патогенез РА с использованием широкого спектра экспериментальных систем — от классических двумерных культур до сложных трёхмерных конструкций и микрофизиологических платформ. Исследования *in vitro* охватывают разнообразные подходы: от простых систем ко-культивирования до сложных трехмерных тканевых конструкций, включающих различные типы клеток, такие как клеточные линии, первичные клетки или клетки, полученные от пациентов, например, мезенхимальные стромальные клетки или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки [13]. Эти модели позволяют исследовать клеточную миграцию, активацию, презентацию антигенов, межклеточные взаимодействия и изменения в клеточно-матриксных взаимодействиях. Новые возможности для изучения механизмов патофизиологии РА и поиска потенциальных терапевтических мишеней открываются благодаря использованию органоидов и микрофизиологических систем [25], а также моделей *in silico*. Перспективные доклинические платформы *in vitro* включают концепцию «человеческого сустава на чипе», в которой применяют первичные клетки пациентов с РА и клетки из различных органов, что позволяет учитывать системный характер заболевания, ускорять трансляцию результатов и сокращать объём экспериментов на животных [12]. Основная цель современных подходов *in vitro* — максимально приблизить условия эксперимента к физиологическим особенностям заболевания при сохранении воспроизводимости и технологической выполнимости моделей. Это создаёт предпосылки для проведения более качественных и стандартизированных

доклинических исследований, повышающих вероятность успешного переноса результатов в клиническую практику. В таблице 2 представлены ключевые типы *in vitro* моделей РА, их преимущества и ограничения, а также перспективы использования этих систем для оптимизации терапевтических стратегий.

Таблица 2

Основные *in vitro* модели РА и инженерные трехмерные подходы

Параметр	**Двумерные культуры и сокультуры**	**Эксплантаты тканей**	**Сфероиды**	**Микрофлюидные системы («сустав-на-чипе»)**	**Биопринтинг**	**Биореакторные системы**
Принцип	Одиночные клетки; статическая культура, возможны сокультуры	Фрагменты нативной ткани (синовия, хрящ, костная ткань), культивируемые в среде при сохранении собственной трехмерной архитектуры	Самоорганизующиеся трехмерные агрегаты клеток в суспензии/ гидрогеле	Клетки в микроканалах и камерах с контролируемым потоком и механическими стимулами, многослойные структуры через пористые мембраны	Послойное формирование трехмерных конструкций 3D-принтером из клеток и биочернил (гидрогели, матриксы)	Динамическое трехмерное культивирование клеток/ конструктов в контролируемом объёме с регулированием среды и потоков
Типичные клеточные/тканевые компоненты	Хондроциты, фибробластоподобные синовиоциты (ФПС), макрофаги, эндотелиальные клетки; сокультуры хондроцитов, ФПС, макрофагов	Синовиальная оболочка, хрящ, субхондральная костная ткань, комбинированные фрагменты суставной ткани пациентов с РА	ФПС, эндотелиальные клетки, макрофаги, иногда хондроциты/ МСК в ВКМ-матриксах	Хондроциты, клетки субхондральной кости, ФПС; остеохондральные блоки; трехмерный синовиум в матрице	ФПС, хондроциты, остеобласты, эндотелиальные и иммунные клетки (Т-/В-лимфоциты, макрофаги, нейтрофилы) в гидрогелях	Сфероиды, биопечатные конструкции, эксплантаты, остеохондральные блоки; МСК и хондроциты
Ключевые процессы, которые моделируют	Ответ на провоспалительные стимулы (ФНОα, ИЛ1β, ЛПС), регуляция экспрессии генов, сигнальные пути, взаимодействия клетка-клетка и клетка-матрикс на упрощённом уровне	Естественная деградация матрикса, метаболизм хряща, локальное воспаление, индивидуальный ответ на терапию (ИЛ1β, ФНОα, ИЛ17; ИЛ6, ММР3)	Воспаление, неоваскуляризация (VEGF, bFGF), продукция ФНОα, ИЛ6, ММР3, вклад отдельных клеточных популяций в разрушение матрикса	Механическая нагрузка, градиенты питательных веществ, ремоделирование хряща и кости, образование паннуса, динамика синовиального воспаления	Воспаление и ремоделирование в пространственно организованной синовиальной/ остеохондральной ткани, иммуномиметические взаимодействия (ИЛ17, ИЛ21, ИНФγ, GMCSF)	Длительное хроническое воспаление в 3D-конструктах, ремоделирование матрикса под потоком и нагрузкой; масштабируемое производство клеток/биомолекул
Основные преимущества	Простота, низкая стоимость, высокая воспроизводимость; удобны для первичного скрининга и механистических исследований	Сохранение нативной трехмерной структуры и микроокружения, возможность персонализированного тестирования терапии на ткани пациента	Более физиологичная трехмерная организация, градиенты кислорода/ питательных веществ, платформа для раннего тестирова-ния препаратов	Точный контроль потоков и механики, реалистичная микрофизиология суставного комплекса, онлайн-мониторинг параметров; высокая трансляционная значимость	Заданная трехмерная архитектура, включение нескольких тканей и иммунных клеток, возможность «умных» биочернил с контролируемым высвобождением препаратов	Поддержка долгосрочных экспериментов, динамическая среда, приближение к нагрузкам *in vivo*; масштабирование клеточных и тканевых моделей
Основные ограничения	Упрощённая архитектура, отсутствие трехмерной организации и механической нагрузки; риск фенотипических и генетических изменений, ограниченная трансляционная ценность	Ограниченная длительность культивирования, фенотипические изменения *in vitro*, вариабельность между пациентами, инвазивность получения материала	Неполное воспроизведение всей сложности синовиальной ткани и системных аспектов РА; технические требования к стандартизации	Отсутствие тканевой нативной структуры; Высокая техническая сложность, стоимость, трудности стандартизации и масштабирования, ограниченная доступность для рутинного скрининга	Отсутствие нативной тканевой структуры; Дорогостоящая аппаратура и расходные материалы, сложная оптимизация биоматериалов и режимов печати, пока ограниченное клиническое внедрение	Сложность эксплуатации, высокая стоимость, необходимость стандартизированных протоколов

Двумерные клеточные культуры. Двумерная клеточная культура, представляющая собой выращивание клеток в двумерной системе, остаётся широко используемым и экономически доступным инструментом для биомедицинских исследований, несмотря на очевидные ограничения. Этот подход применяют для оценки эффективности новых терапевтических стратегий, подбора концентраций лекарственных средств, изучения регуляции экспрессии генов, анализа межклеточных взаимодействий и сигнальных путей, участвующих в развитии заболеваний. Однородность культуральной среды обеспечивает относительно равномерный рост клеток, а для моделирования более сложных взаимодействий используют системы совместного культивирования (со-культуры) [24]. По сравнению с современными трехмерными моделями, двумерная культура обладает рядом преимуществ, таких как простота культивирования клеток и высокая воспроизводимость, но сопровождается рядом недостатков. В условиях двумерного культивирования возрастает риск фенотипических и генетических изменений, связанных с изменением морфологии, снижением клеточного разнообразия и утратой дифференцировки. Двумерные культуры хрящевых клеток (хондроцитов) чувствительны к провоспалительным цитокинам и широко используются для изучения их влияния на хрящевую ткань при РА: под действием интерферона (ИФН)-γ, ФНО-α и ИЛ-1β хондроциты приобретают «артритоподобный» фенотип со снижением синтеза аггрекана и коллагена II типа и увеличением продукции матриксной металлопротеиназы, что способствует апоптозу и деградации матрикса [11]. В двумерных моделях хрящевой ткани часто наблюдается нестабильный фенотип хондроцитов, характеризующийся снижением экспрессии коллагена II типа и повышением экспрессии коллагена I типа; этот эффект частично компенсируют стандартизацией условий культивирования и использованием покрытий на основе поли(L-молочной) кислоты. Исследования Tetlow L.C. и соавторов показали, что первичные культуры хондроцитов и синовиоцитов в ответ на стимуляцию ИЛ-1β продуцируют коллагеназу-1, причём основным источником фермента являются синовиоциты. Оба фермента выявляются в очагах ревматоидного поражения, что свидетельствует о различающихся механизмах их экспрессии в патологических условиях и подчёркивает значимость со-культур для изучения взаимодействия хондроцитов и синовиальной оболочки [33]. Pagani S. и соавторы предложили трёхмерную клеточную модель, включающую остеокласты, эндотелиальные клетки и остеобласты, для изучения их влияния на микроокружение костной ткани. Авторами было показано, что поведение клеток в этой системе существенно отличается от монокультур, что делает такие модели полезными для изучения процессов костеобразования, резорбции и ангиогенеза [21]. Donlin L.T. и соавторы оценивали влияние ФНО-α на фенотип макрофагов посредством синовиальных фибробластов, при бесконтактном со-культивировании используя. Показано, что стимулированные ФНО-α фибробласты синовиальной оболочки секретируют растворимые медиаторы, подавляющие продукцию интерферона макрофагами, что демонстрирует важность паракринной коммуникации, при этом непосредственный контакт клеток не является обязательным, поскольку эффекты реализуются через растворимые факторы [22]. Монокультуры фибробластоподобных синовиоцитов (ФПС) занимают особое место среди двумерных моделей РА. Эти клетки обладают инвазивностью, высокой миграционной активностью и продуцируют провоспалительные цитокины (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО-α), матриксные металлопротеиназы и другие факторы, разрушающие хрящ и кость. Двумерные модели in vitro, основанные на культивировании ФПС с добавлением провоспалительных стимулов (ФНО-α, ЛПС), позволяют воспроизводить их активацию и секрецию медиаторов воспаления [19]. Вместе с тем такие системы не учитывают трёхмерную архитектуру тканей, градиенты кислорода и ростовых факторов, а также полноценные межклеточные контакты с другими типами клеток, что ограничивает их физиологическую релевантность и стимулирует переход к более сложным трехмерным подходам.

Трехмерные клеточные культуры. Трёхмерные стратегии, несмотря на их высокую техническую сложность, существенно превосходят двумерные подходы по информативности и позволяют детально изучать взаимодействие клеток между собой и с внеклеточным матриксом. Формирование трёхмерной структуры, приближённой к физиологии сустава, принципиально важно для моделирования патофизиологии РА и включает различные клеточные компоненты — остеогенные и хондрогенные клетки, элементы синовиальной оболочки и костно-хрящевого интерфейса. Такие модели дают возможность исследовать процессы дифференцировки, пролиферации и миграции клеток в условиях, более близких к *in vivo* [15].

Современные достижения тканевой инженерии постепенно вытесняют классические методы культивирования в двумерном монослое, способствуя переходу к более физиологичным трехмерным подходам *in vitro*. К ним относятся как бескаркасные методики, основанные на самоорганизации клеточных слоёв и образовании агрегатов, так и технологии с использованием синтетических и природных 3D-каркасов (например, из поли(лактида)

и гиалуроновой кислоты), обеспечивающих механическую поддержку и заданную архитектуру ткани [13]. Трехмерные модели направлены на преодоление ключевых ограничений двумерных культур, воспроизводя более сложное микроокружение, включая градиенты кислорода и питательных веществ, трёхмерную организацию матрикса и многоклеточные взаимодействия. К трёхмерным подходам *in vitro* относят как эксплантаты тканей, сохраняющие нативную архитектуру сустава, так и биоинженерные системы — сфероиды, микрофлюидные платформы («органы-на-чипе»), биопринтинг и специализированные биореакторные конструкции, которые последовательно приближают экспериментальные условия к реальной патологии суставов при РА [13].

Эксплантаты тканей при РА представляют собой фрагменты синовиальной оболочки, хрящевой, костной или иной поражённой ткани пациентов с РА (биопсии, хирургические вмешательства), которые культивируют в условиях *in vitro*. Такие модели позволяют сохранять природную трёхмерную архитектуру ткани и её клеточно-матриксное микроокружение. Эксплантаты синовиальной и костной ткани активно используют для оценки влияния различных терапевтических подходов на продукцию провоспалительных медиаторов, активность матрикс-разрушающих ферментов и экспрессию адгезионных молекул. Показано, что ИЛ-1β, ФНО-α и ИЛ-17 оказывают аддитивные и/или синергетические эффекты в культуре эксплантатов, усиливая воспалительную реакцию и деградацию матрикса. При использовании синовиальных эксплантатов от пациентов с РА комбинированная терапия биологическими препаратами (антитела к ФНО-α и блокада рецептора ИЛ-1) приводила к выраженному снижению продукции ИЛ-6 и матриксной металлопротеиназы (ММП)-3 по сравнению с монотерапией, что свидетельствует о потенциале комбинированного таргетного воздействия [13]. В ряде работ показано, что природные соединения, такие как киренол (активный компонент растительного сырья из традиционной китайской медицины), подавляют пролиферацию, миграцию, инвазию и секрецию ИЛ-6 фибробластами синовиальной оболочки при РА, что делает такие эксплантатные системы удобной платформой для первичного скрининга кандидатов-молекул. К основным преимуществам эксплантатных моделей относят сохранение трёхмерной структуры и микроокружения, возможность изучения естественных процессов деградации внеклеточного матрикса и метаболизма хряща, а также анализ индивидуальных особенностей течения заболевания и ответов на терапию. Эти системы позволяют тестировать лекарственные препараты в условиях, максимально приближенных к тканевому уровню поражения у конкретного пациента [32]. Вместе с тем их применение сопровождается рядом ограничений: продолжительность экспериментов ограничена прогрессирующим разрушением матрикса и изменением жизнеспособности тканей, клетки могут изменять свой фенотип в условиях *in vitro*, частично теряя характеристики, присущие им *in vivo*. Кроме того, сложно полностью воспроизвести естественные параметры микроокружения (механическая нагрузка, градиенты кислорода и питательных веществ). Существенную вариабельность вносят индивидуальные различия между пациентами по степени воспаления, длительности заболевания и предшествующей терапии, что необходимо учитывать при интерпретации результатов.

Трёхмерные клеточные структуры, известные как сфероиды, относятся к биоинженерным трехмерным моделям и существенно повышают точность исследований РА по сравнению с традиционными двумерными культурами. Сфероиды имитируют ключевые элементы структуры синовиальной ткани, включая сложные межклеточные взаимодействия между фибробластоподобными синовиоцитами, эндотелиальными клетками и макрофагами, а также их контакт с внеклеточным матриксом, который часто формируют на основе коллагенсодержащих гидрогелей [31]. Внутри сфероидов формируются градиенты кислорода и питательных веществ: центральные зоны характеризуются относительной гипоксией, тогда как на периферии клетки сохраняют высокую пролиферативную активность, что приближает модель к условиям *in vivo* [31]. Сфероидные модели позволяют воспроизводить ряд механизмов, характерных для РА. Под действием факторов роста VEGF и bFGF сфероиды увеличиваются в размере, а моноциты и нейтрофилы активно мигрируют в центр [3]. Применение сфероидов имеет ряд существенных преимуществ. Они обеспечивают воспроизводимые данные о динамике воспаления и разрушении внеклеточного матрикса, позволяют выявлять биомаркеры (ФНО-α, ИЛ-6, ММР-3 и др.) в среде культивирования и детально изучать вклад отдельных типов клеток — фибробластоподобных синовиоцитов, эндотелиальных клеток, макрофагов — в патогенез РА. Сфероиды снижают потребность в экспериментах на животных и подходят для раннего доклинического тестирования лекарственных средств, а также позволяют моделировать различные стадии заболевания — от раннего воспаления до выраженной деструкции матрикса [15]. В целом сфероидные одели повышают физиологическую релевантность и точность *in vitro* исследований ревматоидного артрита, приближая условия эксперимента к процессам, происходящим в суставе пациента. Это открывает

перспективы для разработки персонализированных подходов к терапии и стратификации пациентов. Вместе с тем сфероиды не способны полностью воспроизвести всю архитектурную и клеточную сложность синовиальной ткани, а также долгосрочные системные и генетические аспекты заболевания. Поэтому для повышения информативности их часто комбинируют с другими моделями — органоидами, микрофлюидными системами, *in vivo* моделями и *in silico* подходами.

Микрофлюидные системы, или «органы-на-чипе», представляют собой инновационные биотехнологические платформы, в которых с помощью микроканалов и специализированных клеточных культур моделируются сложные физиологические процессы. Эти системы обеспечивают динамическое протекание жидкостей (например, имитацию кровотока), воспроизведение механических воздействий (нагрузка, сдвиговое напряжение) и контролируемое взаимодействие между различными типами клеток. Ключевым преимуществом микрофлюидных платформ является возможность формирования многослойных структур, где клетки разделены пористыми мембранами и обмениваются растворимыми факторами, что позволяет моделировать межклеточные взаимодействия в условиях, близких к естественным. Дополнительное достоинство — точный контроль параметров среды (скорость потока, давление, pH, концентрации газов и метаболитов), что даёт возможность воспроизводить микрофизиологические условия конкретных органов и совместно культивировать несколько тканевых компонентов [15]. В отношении суставов разработан ряд микрофлюидных культур, частично воспроизводящих структуру и функции суставного комплекса. Они имитируют субхондральную кость, суставной хрящ или их сочетание (остеохондральный блок), а также синовиальную мембрану, учитывая пространственную топологию и воздействие механической нагрузки. Например, на основе хондроцитов лошади были созданы трехмерные конструкции хряща в микрофлюидных камерах, где физиологический градиент диффузии питательных веществ моделировал естественный матрикс, а геометрия микрокамер способствовала сохранению типичного фенотипа хондроцитов [3]. Thompson C.L. и соавторы разработали первую человеческую васкуляризированную систему «синовиум-на-чипе» — трёхмерную микрофлюидную платформу, в которой фибробластоподобные синовиоциты человека сокультивировали с эндотелиальными клетками пупочной вены (HUVEC), разделенными пористой мембраной, с формированием функциональной сосудистой сети. Данная платформа, разработанная на основе коммерческой системы Chip-S1® (Emulate Inc.), позволяет имитировать механическую нагрузку на синовиальную оболочку, воспроизводит ряд функциональных характеристик воспалённой синовиальной ткани (ИЛ-1β индуцированное повышение секреции ИЛ-6, простагландина E2, ММП-1 и молекулы адгезии ICAM-1) и пригодна для доклинического тестирования новых терапевтических подходов [26]. В целом микрофлюидные подходы преследуют несколько целей: получение более точной информации о состоянии ткани в норме и при патологии, создание микрофизиологической структуры, отражающей органоспецифические особенности, а также неинвазивный и автоматизированный контроль реакций на различные стимулы. На основе этих технологий созданы органоиды и «органы-на-чипе» для различных тканей (печень, почка, сердце), а также мультиорганные системы («мультиорган-на-чипе»), что делает реалистичной концепцию «человек-на-чипе». В контексте РА подход «человеческий сустав-на-чипе» рассматривается как перспективный инструмент *in vitro* для изучения патофизиологических механизмов заболевания и тестирования новых терапевтических стратегий, включая персонализированный подбор лечения [30]. Несмотря на значительный потенциал для трансляционных исследований и скрининга лекарственных средств, микрофлюидные системы по-прежнему сталкиваются с рядом ограничений. Они существенно сложнее в использовании и техническом обслуживании, чем статические культуры, требуют специализированного оборудования и экспертизы, а также не позволяют в полной мере моделировать некоторые функции органов (например, когнитивные процессы мозга или полноценные механические свойства костной ткани). Кроме того, их труднее адаптировать к высокопроизводительному скринингу, стандартизировать и масштабировать для широкого применения. Поэтому дальнейшее развитие сустав-на-чипе-платформ требует решения технических и методологических задач, направленных на повышение воспроизводимости, удобства использования и точности моделирования патогенеза РА [30].

Биопринтинг — это быстро развивающаяся технология, использующая биоматериалы и клетки для создания многоклеточных тканевых конструкций с заданной трёхмерной архитектурой. Она представляет собой послойный синтез биологических объектов с помощью высокотехнологичных 3D-принтеров, интегрированных в специализированные биопечатные системы, где в качестве исходных компонентов применяются клетки, гидрогели и другие биосовместимые матриксы. В контексте РА биопринтинг открывает новые возможности для моделирования суставных тканей, тестирования терапевтических подходов и разработки регенеративных стратегий. С её

помощью создают пространственные модели синовиальной оболочки, включающие различные типы клеток (фибробласты, макрофаги, эндотелиальные клетки, элементы сосудистого русла), встроенные в гидрогелевые матриксы, имитирующие внеклеточный матрикс и позволяющие воспроизводить воспалительные и механические сигналы, характерные для суставного воспаления. Биопечатные конструкции могут также включать хондроциты и остеобласты, что даёт возможность изучать взаимодействие хрящевой и костной тканей, а также резорбцию кости под влиянием остеокластов при сохранении трёхмерной структуры суставного блока. Иммуномиметическая биопечать предполагает интеграцию иммунных клеток — макрофагов, Т- и В-лимфоцитов, нейтрофилов — в искусственные синовиальные ткани для анализа цитокинового профиля и межклеточных взаимодействий, лежащих в основе хронического воспаления. В таких моделях динамическое взаимодействие Т-клеток и фибробластов способствует продукции провоспалительных цитокинов (ИЛ-17, ИЛ-21, IFN-γ, GM-CSF), что усиливает активацию макрофагов и ремоделирование внеклеточного матрикса. Контролируемое включение микросфер, высвобождающих цитокины (например, ФНО-α и ИЛ-1β), или совместное культивирование Т- и В-клеток позволяет формировать лимфоидоподобные структуры, характерные для синовиальной оболочки при РА. Трехмерная биопечать также предоставляет инструменты для создания конструкций с аутологичными хондроцитами и мезенхимальными стромальными клетками в составе биоразлагаемых гидрогелей, которые могут способствовать восстановлению хрящевой ткани после иммуно- или биологической терапии. В настоящее время, активно исследуются «умные» биочернила, содержащие иммунорегуляторные наночастицы или кортикостероиды, обеспечивающие контролируемое высвобождение лекарственных веществ, локальное подавление воспаления и стимуляцию регенерации тканей. Биопечатные микроткани суставов можно адаптировать под индивидуальные особенности пациента, что открывает перспективы для персонализированного тестирования лекарственных препаратов и прецизионной регенеративной терапии, непосредственно связывая иммунопатогенез РА с задачами трансляционной медицины. Несмотря на значительный потенциал, биопринтинг сталкивается с серьёзными техническими и экономическими ограничениями. Высокая стоимость оборудования и расходных материалов ограничивает доступность технологии, а оптимизация биоматериалов и параметров печати требует глубокого понимания их биомеханических и биохимических свойств для обеспечения нативности напечатанных структур. В настоящее время биопринтинг имеет ограниченное применение в клинической практике, для его широкого внедрения необходимы дополнительные доклинические и клинические исследования, подтверждающие эффективность и безопасность подходов. В целом биопринтинг рассматривается как перспективное направление, способное существенно трансформировать регенеративную медицину и биомедицинскую инженерию при условии преодоления существующих технических, экономических и регуляторных барьеров.

В контексте моделирования РА биореакторные системы рассматриваются как платформа для длительного культивирования клеток и трёхмерных конструкций в контролируемых условиях, что позволяет поддерживать жизнеспособность и функциональную активность тканей на протяжении продолжительного времени. Биореактор представляет собой специализированную ёмкость с возможностью точного регулирования параметров среды (температура, pH, растворённый кислород, скорость перемешивания, подача питательных веществ и удаление метаболитов), обеспечивающую воспроизводимое выращивание клеток и трехмерных конструктов. В отличие от статических культур, биореакторы позволяют создавать динамическую среду с контролируемым потоком жидкости и механическими стимулами, что особенно важно для суставных тканей, чувствительных к нагрузке и сдвиговому напряжению. Такие системы могут использоваться для поддержания тканевых эксплантатов, сфероидов, биопечатных конструкций, остеохондральных блоков и моделирования длительного хронического воспаления, характерного для РА [3, 4, 8, 26, 29–31].

Эволюция моделей *in vitro* при РА отражает стремление максимально приблизить лабораторные условия к реальным биологическим процессам. Двумерные модели остаются важным инструментом для первичного скрининга соединений и анализа отдельных клеточных и молекулярных механизмов, тогда как трехмерные системы: сфероиды, эксплантаты и микрофлюидные и биореакторные платформы позволяют изучать сложные межклеточные взаимодействия, хронизацию воспаления и влияние микроокружения с учётом индивидуальных особенностей пациента. Инженерные 3D-подходы — сфероидные и орган-на-чипе-модели, биопринтинг, биореакторные системы — обеспечивают более высокую физиологическую релевантность, но требуют существенных ресурсов, стандартизации и специализированной экспертизы. Оптимальной стратегией становится комбинирование двумерных и трехмерных моделей, эксплантатов и *in silico* подходов для поэтапного скрининга кандидатов-препаратов и валидации ключевых механизмов. Модели *in vitro*

не могут полностью заменить *in vivo* системы, которые позволяют оценивать системные эффекты терапии и вклад других органов и иммунной системы, однако комплексное использование этих подходов существенно углубляет понимание патогенеза РА и повышает вероятность успешной трансляции доклинических результатов в клиническую практику. Дальнейшее развитие трехмерных технологий, микрофизиологических платформ и персонализированных моделей на основе клеток пациентов ожидаемо приведёт к более точным, воспроизводимым и клинически релевантным системам для разработки новых методов лечения ревматоидного артрита.

Заключение

Ревматоидный артрит представляет собой многоуровневое аутоиммунное заболевание с выраженной гетерогенностью клинических проявлений и патогенетических механизмов, что существенно усложняет разработку новых лечебных подходов. Существующие доклинические модели *in vivo* и *in vitro* воспроизводят отдельные звенья патогенеза РА, однако ни одна из них не отражает заболевание в полном объёме, что частично объясняет расхождения между результатами доклинических экспериментов и исходами клинических испытаний.

Животные модели *in vivo* (MBS-артрит, КИА, SIA, АИА, комбинированные протоколы, ПИА и гуманизированные системы) остаются незаменимым инструментом для изучения системных иммунных реакций, ремоделирования костно-хрящевой ткани и оценки фармакодинамики препаратов. При этом межвидовые различия, упрощённость патофизиологии, неполное воспроизведение эндогенного нарушения толерантности и системных проявлений РА ограничивают их трансляционный потенциал. Модели *in vitro* — от классических двумерных культур и ко-культур до эксплантатов, сфероидов, микрофлюидных платформ «сустав-на-чипе», биопечатных конструкций и биореакторных систем — позволяют детально анализировать клеточные и молекулярные механизмы, межклеточные взаимодействия и влияние микроокружения, а также проводить высокопроизводительный скрининг лекарственных соединений и персонализированные исследования на клетках пациентов.

Дальнейшее развитие области связано с совершенствованием инженерных трехмерных технологий (биопринтинг, микрофизиологические системы, биореакторы), стандартизацией и валидацией комплексных платформ «сустав-на-чипе», а также расширением использования клеток и тканей пациентов для создания персонализированных моделей РА. Интеграция этих подходов с *in silico* моделированием и мультиомными методами анализа ожидаемо приведёт к появлению более точных и воспроизводимых доклинических систем, способных ускорить трансляцию экспериментальных находок в клиническую практику и улучшить исходы лечения пациентов с ревматоидным артритом.

Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-00224-26-00 (*главы «Введение», «Модели in vitro ревматоидного артрита: от двумерных культур к микрофизиологическим системам», «Заключение»*) *и в рамках государственного задания № FWNR-2025-0014* (*главы «Патогенез ревматоидного артрита», «Модели in vivo ревматоидного артрита: возможности и ограничения»*).

Литература

1. Громыко М.В., Грицук А.И. Экспериментальные модели ревматоидного артрита // Проблемы здоровья и экологии. — 2012. — № 2. — С. 115—118.
2. Allen T.M., Brehm M.A., Bridges S., Ferguson S., Kumar P., Mirochnitchenko O., Palucka K., Pelanda R., Sanders-Beer B., Shultz L.D., Su L., PrabhuDas M. Humanized immune system mouse models: Progress, challenges and opportunities // Nature immunology. — 2019. — Vol. 20. — No. 7. — P. 770—774
3. Ammon T., Zeiträg J., Mayr V., Benedicic M., Holthoff H. P., Ungerer M. Citrullinated autoantigen-specific T and B lymphocytes in rheumatoid arthritis: Focus on follicular T helper cells and expansion by coculture // ACR Open Rheumatology. — 2025. — Vol. 7. — No. 1. — e11785. doi: 10.1002/acr2.11785.
4. Barrs R.W., Jia J., Silver S.E., Yost M., Mei Y. Biomaterials for bioprinting microvasculature // Chemical Reviews Journal. — 2020. — Vol. 120. — No. 19. — P. 10887—10949.
5. Christensen A.D., Haase C., Cook A.D., Hamilton J.A. K/BxN serum-transfer arthritis as a model for human inflammatory arthritis // Front Immunol. — 2016. — Vol. 7. — Art. 213. doi: 10.3389/fimmu.2016.00213.
6. Damerau A., Gaber T. Modeling rheumatoid arthritis *in vitro*: from experimental feasibility to physiological proximity // International Journal of Molecular Sciences. — 2020. — Vol. 21. — No. 21. — Art. 7916. doi: 10.3390/ijms21217916.
7. Fujimoto S., Niiro H. Pathogenic role of cytokines in rheumatoid arthritis // Journal of Clinical Medicine. — 2025. — Vol. 14. — No. 18. — Art. 6409. doi: 10.3390/jcm14186409.
8. Fu L., Li P., Li H., Gao C., Yang Z., Zhao T., Chen W., Liao Z., Peng Y., Cao F., Sui X., Liu S., Guo Q. The application of bioreactors for cartilage tissue engineering: Advances, limitations, and future perspectives // Stem Cells International. — 2021. — Art. 6621806. doi: 10.1155/2021/6621806.

9. Grötsch B., Bozec A., Schett G. *In Vivo* models of rheumatoid arthritis // Bone Research Protocols. Methods in Molecular Biology — 2019. — Vol. 1914. — P. 269—280.
10. Hegen M., Keith J.C., Jr Collins M., Nickerson-Nutter, C.L. Utility of animal models for identification of potential therapeutics for rheumatoid arthritis // Annals of the Rheumatic Diseases. — 2008. — Vol. 67. — No. 11. — P. 1505—1515.
11. Kirsh S.M., Pascetta S.A., Uniacke J. Spheroids as a 3D model of the hypoxic tumor microenvironment // The Tumor Microenvironment: Methods and Protocols. — New York, NY: Springer US, 2023. — P. 273—285.
12. Kunisch E., Kinne R.W., Alsalameh R.J., Alsalameh S. Pro-inflammatory IL-1beta and/or TNF-alpha up-regulate matrix metalloproteases-1 and -3 mRNA in chondrocyte subpopulations potentially pathogenic in osteoarthritis: *In situ* hybridization studies on a single cell level // International Journal of Rheumatic Diseases. — 2016. — Vol. 19. — No. 6. — P. 557—566.
13. Kuo D., Ding J., Cohn I.S., Zhang F., Wei K., Rao D.A., Rozo C., Sokhi U.K., Shanaj S., Oliver D.J., Echeverria A.P., DiCarlo E.F., Brenner M.B., Bykerk V.P., Goodman S.M., Raychaudhuri S., Rätsch G., Ivashkiv L.B., Donlin L.T. HBEGF^{+} macrophages in rheumatoid arthritis induce fibroblast invasiveness // Science Translational Medicine. — 2019. — Vol. 11. — No. 491. — eaau8587. doi: 10.1126/scitranslmed.aau8587.
14. Luan J., Hu Z., Cheng J., Zhang R., Yang P., Guo H., Nan G., Guo N., Gou X. Applicability and implementation of the collagen-induced arthritis mouse model, including protocols (Review) // Experimental and Therapeutic Medicine. — 2021. — Vol. 22. — No. 3. — Art. 939. doi: 10.3892/etm.2021.10371.
15. McCreery K.P., Calve S., Neu C.P. Ontogeny informs regeneration: explant models to investigate the role of the extracellular matrix in cartilage tissue assembly and development // Connective Tissue Research. — 2020. — Vol. 61. — No. 3—4. — P. 278—291.
16. Meudec L. et al. Lessons from organoid engineering for rheumatic disease // Joint Bone Spine. — 2025. — Vol. 93. — No. 1. — Art. 105948. doi: 10.1016/j.jbspin.2025.105948.
17. Mishra A.P., Kumar R., Harilal S., Nigam M., Datta D., Singh S. Emerging landscape of in vitro models for assessing rheumatoid arthritis management // ACS Pharmacology & Translational Science. — 2024. — Vol. 7. — No. 8. — P. 2280—2305.
18. Miyoshi M., Liu S. Collagen-induced arthritis models // Rheumatoid Arthritis: Methods and Protocols. — New York, NY: Springer US, 2024. — P. 3—7.
19. Olmos I., Byrne R., Karonitsch T., Niederreiter B., Kartnig F., Alasti F., Holinka J., Peter E., Kiener H. 04.19 3D synovial organoid culture reveals cellular mechanisms of tissue formation and inflammatory remodelling // Annals of the Rheumatic Diseases. — 2017. — Vol. 76. — P. A49—A50. doi: 10.1136/annrheumdis-2016-211051.19.
20. Pagani S., Torricelli P., Veronesi F., Salamanna F., Cepollaro S., Fini M. An advanced tri-culture model to evaluate the dynamic interplay among osteoblasts, osteoclasts, and endothelial cells // Journal of Cellular Physiology. — 2018. — Vol. 233. — No. 1. — P. 291—301.
21. Revokatova D.P., Koteneva P.I., Kosheleva N.V., Shpichka A.I., Timashev P.S. Spheroids from epithelial and mesenchymal cell phenotypes as building blocks in bioprinting (review) // Sovremennye Tehnologii v Medicine. — 2025. — Vol. 17. — No. 1. — P. 133—154.
22. Rosser J., Bachmann B., Jordan C., Ribitsch I., Haltmayer E., Gueltekin S., Junttila S., Galik B., Gyenesei A., Haddadi B., Harasek M., Egerbacher M., Ertl P., Jenner F. Microfluidic nutrient gradient-based three-dimensional chondrocyte culture-on-a-chip as an *in vitro* equine arthritis model // Materials Today Bio. — 2019. — Vol. 4. — Art. 100023. doi: 10.1016/j.mtbio.2019.100023.
23. Schimek K., Frentzel S., Luettich K., Bovard D., Rütschle I., Boden L., Rambo F., Erfurth H., Dehne E.M., Winter A., Marx U., Hoeng J. Human multi-organ chip co-culture of bronchial lung culture and liver spheroids for substance exposure studies // Scientific Reports. — 2020. — Vol. 10. — Art. 7865. doi: 10.1038/s41598-020-64219-6.
24. Tetlow L.C., Woolley D.E. Comparative immunolocalization studies of collagenase 1 and collagenase 3 production in the rheumatoid lesion, and by human chondrocytes and synoviocytes *in vitro* // British Journal of Rheumatology. — 1998. — Vol. 37. — No. 1. — P. 64—70.
25. Thangadurai M., Sethuraman S., Subramanian A. A 2D inflammatory co-culture model for investigating synovial fibroblast and macrophage interactions in rheumatoid arthritis // Scientific Reports. — 2025. — Vol. 15. — No. 1. — Art. 30105. doi: 10.1038/s41598-025-16007-3.
26. Thompson C.L., Hopkins T., Bevan C., Screen H.R.C., Wright K.T., Knight M.M. Human vascularised synovium-on-a-chip: A mechanically stimulated, microfluidic model to investigate synovial inflammation and monocyte recruitment // Biomedical Materials. — 2023. — Vol. 18. — No. 6. — Art. 065013. doi: 10.1088/1748-605X/acf976.
27. Tuncel J., Haag S., Hoffmann M.H., Yau A.C., Hultqvist M., Olofsson P, Bäcklund J., Nandakumar K.S., Weidner D., Fischer A., Leichsenring A., Lange F., Haase C., Lu S., Gulko P.S., Steiner G., Holmdahl R. Animal models of rheumatoid arthritis (I): Pristane-induced arthritis in the rat // PLoS One. — 2016. — Vol. 11. — No. 5. — e0155936. doi: 10.1371/journal.pone.0155936.
28. van Gaalen F.A., Toes R.E., Ditzel H.J., Schaller M., Breedveld, F.C., Verweij C.L., Huizinga T.W. Association of autoantibodies to glucose-6-phosphate isomerase with extraarticular complications in rheumatoid arthritis // Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology. — 2004. — Vol. 50. — No. 2. — P. 395—399.
29. Vukasovic A., Asnaghi M.A., Kostesic P., Quasnichka H., Cozzolino C., Pusic M., Hails L., Trainor N., Krause C., Figallo E., Filardo G., Kon E., Wixmerten A., Maticic D.,

Pellegrini G., Kafienah W., Hudetz D., Smith T., Martin I., Ivkovic A., Wendt D. Bioreactor-manufactured cartilage grafts repair acute and chronic osteochondral defects in large animal studies // Cell Prolif. – 2019. – Vol. 52. – No. 6. – Art. 12653. doi: 10.1111/cpr.12653.
30. Wendt D., Jakob M., Martin I. Bioreactor-based engineering of osteochondral grafts: from model systems to tissue manufacturing // Journal of Bioscience and Bioengineering. – 2005. – Vol. 100. – No. 5. – P. 489–494.
31. Wiewiórska-Krata N., Foroncewicz B., Zagożdżon R., Mucha K. 3D bioprinting strategies in autoimmune disease models // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 27. – No. 1. – Art. 343. doi: 10.3390/ijms27010343.
32. Zhang X., Su R., Wang H., Wu R., Fan Y., Bin Z., Gao C., Wang C. The promise of synovial joint-on-a-chip in rheumatoid arthritis // Frontiers in Immunology. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1408501. doi: 10.3389/fimmu.2024.1408501.
33. Zittermann S.I., Issekutz A.C. Endothelial growth factors VEGF and bFGF differentially enhance monocyte and neutrophil recruitment to inflammation // Journal of Leukocyte Biology. – 2006. – Vol. 80. – No. 2. – P. 247–257.

Reference

1. Gromyko MV, Gritsuk AI. Eksperimental'nyye modeli revmatoidnogo artrita. Problemy zdorov'ya i ekologii 2012; 2:115–118 (in Russian).
2. Allen TM, Brehm MA, Bridges S, Ferguson S, Kumar P, Mirochnitchenko O, Palucka K, Pelanda R, Sanders-Beer B, Shultz LD, Su L, PrabhuDas M. Humanized immune system mouse models: Progress, challenges and opportunities. Nature immunology 2019; 20(7):770–774
3. Ammon T, Zeiträg J, Mayr V, Benedicic M, Holthoff H P, Ungerer M. Citrullinated autoantigen-specific T and B lymphocytes in rheumatoid arthritis: Focus on follicular T helper cells and expansion by coculture. ACR Open Rheumatology 2025; 7(1):e11785. doi: 10.1002/acr2.11785.
4. Barrs RW, Jia J, Silver SE, Yost M, Mei Y. Biomaterials for bioprinting microvasculature. Chemical Reviews Journal 2020; 120(19):10887–10949.
5. Christensen A.D., Haase C., Cook A.D., Hamilton J.A. K/BxN serum-transfer arthritis as a model for human inflammatory arthritis. Front Immunol 2016; 7:213. doi: 10.3389/fimmu.2016.00213.
6. Damerau A, Gaber T. Modeling rheumatoid arthritis *in vitro*: from experimental feasibility to physiological proximity. International Journal of Molecular Sciences 2020; 21(21):7916. doi: 10.3390/ijms21217916.
7. Fujimoto S, Niiro H. Pathogenic role of cytokines in rheumatoid arthritis. Journal of Clinical Medicine 2025; 14(18):6409. doi: 10.3390/jcm14186409.
8. Fu L, Li P, Li H, Gao C, Yang Z, Zhao T, Chen W, Liao Z, Peng Y, Cao F, Sui X, Liu S, Guo Q. The application of bioreactors for cartilage tissue engineering: Advances, limitations, and future perspectives. Stem Cells International 2021: 6621806. doi: 10.1155/2021/6621806.
9. Grötsch B, Bozec A, Schett G. *In Vivo* models of rheumatoid arthritis. Bone Research Protocols. Methods in Molecular Biolog 2019; 1914:269–280.
10. Hegen M, Keith JC, Jr Collins M, Nickerson-Nutter, CL. Utility of animal models for identification of potential therapeutics for rheumatoid arthritis. Annals of the Rheumatic Diseases 2008; 67(11):1505–1515.
11. Kirsh S.M., Pascetta S.A., Uniacke J. Spheroids as a 3D model of the hypoxic tumor microenvironment. The Tumor Microenvironment: Methods and Protocols. New York, NY: Springer US, 2023: 273–285.
12. Kunisch E, Kinne RW, Alsalameh RJ, Alsalameh S. Pro-inflammatory IL-1beta and/or TNF-alpha up-regulate matrix metalloproteases-1 and -3 mRNA in chondrocyte subpopulations potentially pathogenic in osteoarthritis: *In situ* hybridization studies on a single cell level. International Journal of Rheumatic Diseases 2016; 19(6):557–566.
13. Kuo D, Ding J, Cohn IS, Zhang F, Wei K, Rao DA, Rozo C, Sokhi UK, Shanaj S, Oliver DJ, Echeverria AP, DiCarlo EF, Brenner MB, Bykerk VP, Goodman SM, Raychaudhuri S, Rätsch G, Ivashkiv LB, Donlin LT. HBEGF^{+} macrophages in rheumatoid arthritis induce fibroblast invasiveness. Science Translational Medicine 2019; 11(491):eaau8587. doi: 10.1126/scitranslmed.aau8587.
14. Luan J, Hu Z, Cheng J, Zhang R, Yang P, Guo H, Nan G, Guo N, Gou X. Applicability and implementation of the collagen-induced arthritis mouse model, including protocols (Review). Experimental and Therapeutic Medicine 2021; 22(3):939. doi: 10.3892/etm.2021.10371.
15. McCreery KP, Calve S, Neu CP. Ontogeny informs regeneration: explant models to investigate the role of the extracellular matrix in cartilage tissue assembly and development. Connective Tissue Research 2020; 61(3–4):278–291.
16. Meudec L et al. Lessons from organoid engineering for rheumatic disease. Joint Bone Spine 2025; 93(1):105948. doi: 10.1016/j.jbspin.2025.105948.
17. Mishra AP, Kumar R, Harilal S, Nigam M, Datta D, Singh S. Emerging landscape of in vitro models for assessing rheumatoid arthritis management. ACS Pharmacology & Translational Science 2024; 7(8):2280–2305.
18. Miyoshi M, Liu S. Collagen-induced arthritis models. Rheumatoid Arthritis: Methods and Protocols. New York, NY: Springer US, 2024: 3–7.
19. Olmos I, Byrne R, Karonitsch T, Niederreiter B, Kartnig F, Alasti F, Holinka J, Peter E, Kiener H. 04.19 3D synovial organoid culture reveals cellular mechanisms of tissue formation and inflammatory remodelling. Annals of the Rheumatic Diseases 2017; 76:A49–A50. doi: 10.1136/annrheumdis-2016-211051.19.

20. Pagani S, Torricelli P, Veronesi F, Salamanna F, Cepollaro S, Fini M. An advanced tri-culture model to evaluate the dynamic interplay among osteoblasts, osteoclasts, and endothelial cells. Journal of Cellular Physiology 2018; 233(1):291–301.
21. Revokatova DP, Koteneva PI, Kosheleva NV, Shpichka AI, Timashev PS. Spheroids from epithelial and mesenchymal cell phenotypes as building blocks in bioprinting (review). Sovremennye Tehnologii v Medicine 2025; 17(1):133–154.
22. Rosser J, Bachmann B, Jordan C, Ribitsch I, Haltmayer E, Gueltekin S, Junttila S, Galik B, Gyenesei A, Haddadi B, Harasek M, Egerbacher M, Ertl P, Jenner F. Microfluidic nutrient gradient-based three-dimensional chondrocyte culture-on-a-chip as an *in vitro* equine arthritis model. Materials Today Bio 2019; 4:100023. doi: 10.1016/j.mtbio.2019.100023.
23. Schimek K, Frentzel S, Luettich K, Bovard D, Rütschle I, Boden L, Rambo F, Erfurth H, Dehne EM, Winter A, Marx U, Hoeng J. Human multi-organ chip co-culture of bronchial lung culture and liver spheroids for substance exposure studies. Scientific Reports 2020; 10:7865. doi: 10.1038/s41598-020-64219-6.
24. Tetlow LC, Woolley DE. Comparative immunolocalization studies of collagenase 1 and collagenase 3 production in the rheumatoid lesion, and by human chondrocytes and synoviocytes *in vitro*. British Journal of Rheumatology 1998; 37(1):64–70.
25. Thangadurai M, Sethuraman S, Subramanian A. A 2D inflammatory co-culture model for investigating synovial fibroblast and macrophage interactions in rheumatoid arthritis. Scientific Reports 2025; 15(1):30105. doi: 10.1038/s41598-025-16007-3.
26. Thompson CL, Hopkins T, Bevan C, Screen HRC, Wright KT, Knight MM. Human vascularised synovium-on-a-chip: A mechanically stimulated, microfluidic model to investigate synovial inflammation and monocyte recruitment. Biomedical Materials 2023; 18(6):065013. doi: 10.1088/1748-605X/acf976.
27. Tuncel J, Haag S, Hoffmann MH, Yau AC, Hultqvist M, Olofsson P, Bäcklund J, Nandakumar KS, Weidner D, Fischer A, Leichsenring A, Lange F, Haase C, Lu S, Gulko PS, Steiner G, Holmdahl R. Animal models of rheumatoid arthritis (I): Pristane-induced arthritis in the rat. PLoS One 2016; 11(5):e0155936. doi: 10.1371/journal.pone.0155936.
28. van Gaalen FA, Toes RE, Ditzel HJ, Schaller M, Breedveld, FC, Verweij CL, Huizinga TW. Association of autoantibodies to glucose-6-phosphate isomerase with extraarticular complications in rheumatoid arthritis. Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology 2004; 50(2):395–399.
29. Vukasovic A, Asnaghi MA, Kostesic P, Quasnichka H, Cozzolino C, Pusic M, Hails L, Trainor N, Krause C, Figallo E, Filardo G, Kon E, Wixmerten A, Maticic D, Pellegrini G, Kafienah W, Hudetz D, Smith T, Martin I, Ivkovic A, Wendt D. Bioreactor-manufactured cartilage grafts repair acute and chronic osteochondral defects in large animal studies. Cell Prolif 2019; 52(6):12653. doi: 10.1111/cpr.12653.
30. Wendt D, Jakob M, Martin I. Bioreactor-based engineering of osteochondral grafts: from model systems to tissue manufacturing. Journal of Bioscience and Bioengineering 2005; 100(5):489–494.
31. Wiewiórska-Krata N, Foroncewicz B, Zagożdżon R, Mucha K. 3D bioprinting strategies in autoimmune disease models. International Journal of Molecular Sciences 2025; 27(1):343. doi: 10.3390/ijms27010343.
32. Zhang X, Su R, Wang H, Wu R, Fan Y, Bin Z, Gao C, Wang C. The promise of synovial joint-on-a-chip in rheumatoid arthritis. Frontiers in Immunology 2024; 15:1408501. doi: 10.3389/fimmu.2024.1408501.
33. Zittermann SI, Issekutz AC. Endothelial growth factors VEGF and bFGF differentially enhance monocyte and neutrophil recruitment to inflammation. Journal of Leukocyte Biology 2006; 80(2):247–257.

MODERN *IN VITRO* AND *IN VIVO* MODELS OF RHEUMATOID ARTHRITIS: LIMITATIONS AND PROSPECTS FOR TRANSLATIONAL RESEARCH

K.I. BAKHAREVA[1], P.S. SALYNKIN[2], M.S. SOLDATOVA[1], G.I. BAYKALOV[1], I.S. FADEEVA[2], R.S. FADEEV[1,2], M.I. KOBYAKOVA[1,2]

[1] Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology — Branch of the ICG SB RAS, Novosibirsk;
[2] Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino

Rheumatoid arthritis is a chronic systemic autoimmune disease characterized by persistent synovial inflammation, progressive joint destruction, and a high disability rate among the patients. Despite the success of targeted therapy, a significant proportion of patients don't achieve sustained remission, and the results of preclinical studies are often poorly translated into clinical practice, emphasizing the important critical evaluation of the existing experimental models. This review is a systematization of the main *in vivo* models of rheumatoid arthritis, analyzing the pathogenic features, advantages, and limitations in terms of translational significance. It was considered one of the modern *in vitro* approaches, allowing for the modeling of key components of the immune response, synovial inflammation,

and bone-cartilage remodeling. The particular attention is focused on the three-dimensional engineering models and microphysiological systems that increase the physiological relevance of preclinical studies and open up the opportunities for personalized testing therapy on patient-derived cells and tissues. The promising directions are discussed for improving the experimental platforms and their rational combination to increase the predictability of clinical outcomes and reduce the number of unsuccessful clinical trials in the development of new treatments of rheumatoid arthritis.

Keywords: rheumatoid arthritis; *in vivo* models; *in vitro* models; explants; spheroids; «joint-on-a-chip»; microfluidic systems; bioprinting; bioreactor systems.

Address:
Kobyakova M.I., Ph.D. in Biology
Acting head of the laboratory of biopharmacology,
Institute of Theoretical and Experimental Biophysics
RAS, Pushchino, Russia
E-mail: kobyakovami@gmail.com

Для цитирования:
Бахарева К.И., Салынкин П.С., Солдатова М.С., Байкалов Г.И., Фадеева И.С., Фадеев Р.С., Кобякова М.И. Современные *in vitro* и *in vivo* модели ревматоидного артрита: ограничения и перспективы для трансляционных исследований. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2): 15–29.

For citation:
Bakhareva K.I., Salynkin P.S., Soldatova M.S., Baykalov G.I., Fadeeva I.S., Fadeev R.S., Kobyakova M.I. Modern *in vitro* and *in vivo* models of rheumatoid arthritis: Limitations and prospects for translational research. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2):15–29 (in Russian).

УДК: 577.2, 535.34

ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ UV-VIS СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ОСНОВНЫХ ФОРМ ЗЕЛЕНЫХ ПИГМЕНТОВ

Д.В. ГРИШИН*

ФГБНУ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, г. Москва

Современные методы типирования и паспортизации растений, ценных с промышленной, лекарственной или декоративной точек зрения, не всегда обеспечивают точную идентификацию, так как сталкиваются со сложностями из-за высокого сходства морфологических или генетических характеристик некоторых сортов, высокого уровня гетерозиготности и необходимости использования большого набора полиморфных микросателлитных локусов. Поэтому в современной биотехнологической науке являются актуальными работы, направленные на пополнение коллекций информативных биомаркеров, в том числе за счет разработки маркеров негенетической природы. К подобным перспективным маркерам может быть отнесен основной зеленый пигмент — хлорофилл, т.к. он полиморфен у разных фотоавтотрофов со структурной, биохимической и колориметрической точек зрения. В рамках этого в работе изучались спектральные характеристики экстрактов хлорофилла, полученных из образцов листьев растений, относящихся к разным семействам *Rosaceae* и *Oleaceae*, в диапазоне длин волн от 400 до 700 нм. При этом были рассчитаны количества отдельных фракций хлорофилла и их взаимная пропорциональность. Проведенное исследование выявило достоверные различия в спектрах поглощения отдельных функциональных типов хлорофилла у изучаемых видов растений в ультрафиолетовом и видимом диапазонах, что свидетельствует о перспективах дальнейших разработок спектральных и концентрационных характеристик основных структурных форм хлорофилла в качестве самостоятельных биомаркеров.

Ключевые слова: биомаркер, пигмент, UV-VIS спектральные характеристики, альфа- и бета хлорофилл, фотосинтез, растения.

Введение

Оксигенный фотосинтез — один из древнейших биохимических процессов, который насчитывает более трех миллиардов лет эволюции [4, 5]. 90—95% сухого вещества биомассы современных растений, прямо или косвенно, образуется в результате фотосинтеза [9, 17]. Хлорофилл, основной зеленый пигмент, содержащийся в хлоропластах, позволяет наземным растениям поглощать световую энергию и обеспечивать непрерывность процессов фотосинтеза. В наземных растениях присутствуют два функциональных типа этого пигмента: альфа- и бета хлорофилл, Chlα (Chlorophyll alpha) и Chlβ (Chlorophyll beta), соответственно [11, 13]. Совместное функционирование обоих пигментов увеличивает эффективность поглощения и трансформации энергии света.

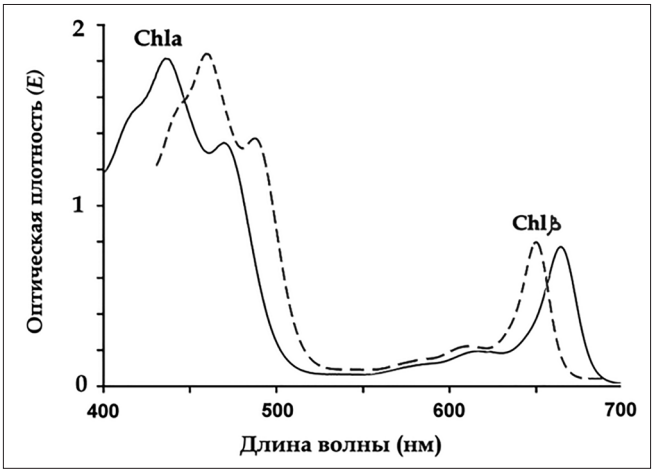


Рис. 1. Спектры поглощения разных форм хлорофилла в УФ-видимой области

Chlβ отличается от Chlα наличием формильного остатка вместо метильного радикала в седьмом положении хлоринового гетероцикла, что определяет некоторое различие по отношению к полярным и неполярным растворителям. При этом, экстрагированный этанолом Chlα поглощает свет на длинах волн 437 и 664 нм, в то время как максимум поглощения Chlβ наблюдается при 470 и 649 нм [2] (рисунок 1).

© 2026 г. Гришин В.Д.

*** Автор для переписки:**
Гришин Дмитрий Викторович
к.б.н., заведующий группой генной инженерии и метиломных исследований, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича» (ИБМХ)
E-mail: molbiol_ibm@inbox.ru

Соотношение хлорофилла Chlα и Chlβ в одном и том же растении иногда варьируется в зависимости от степени затененности листьев и содержания азота в почве [1, 6]. Между тем, известно, что зеленые растения в активной фазе вегетации, даже пребывая в одних и тех же условиях освещенности и аммонификации почв, обладают разными оттенками зеленого цвета (рисунок 2). Данные вариации цветовой гаммы, скорее всего, являются наследственным признаком, обусловленным присутствием разных количеств фракций хлорофилла альфа и бета в тилакоидах, а также различным их соотношением между собой и с другими биомолекулами. По этой причине возникает определенный интерес к данным пигментам и связанным с ними показателям как к потенциальным цветовым маркерам, способным отражать принадлежность к тому или иному виду или даже сорту.

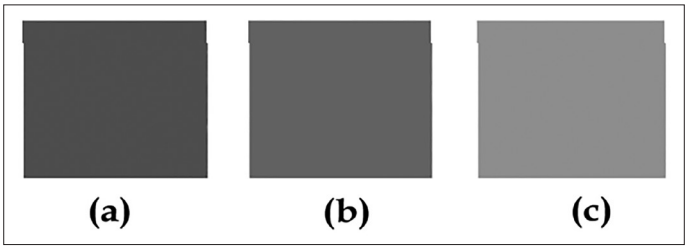


Рис. 2. Оттенки зеленых пигментов, специфичные для листьев разных растений. (a) — *Syríngа vulgáris* (сирень обыкновенная, код цвета: 2F7); (b) — *Malus robusta* '*Dolgo*' (китайка «Долго», код: 27F8); (c) — *Malus domestica Borkh.* (белый налив, код: 28C8). Цветовые коды даны по шкале Kornerup & Wanscher [7]

ДНК-паспортизация промышленно ценных сортов растений, например, таких как яблони, не всегда обеспечивает точную идентификацию, так как сталкивается со сложностями из-за высокого сходства ряда генетических характеристик, наличия разнообразных аллелей в геноме или необходимости использования широкой панели полиморфных микросателлитных маркеров [3, 12, 15]. Основные трудности включают необходимость стандартизации методов, высокую стоимость ДНК-анализа и сложность интерпретации данных при анализе старых или клоновых сортов.

Все сказанное выше определяет цель и актуальность поисковых работ, направленных на разработку и использование не только новых информативных молекулярно-генетических, но и альтернативных морфологических, колориметрических или биохимических маркеров для повышения эффективности типирования и паспортизации.

Материалы и методы

Объектами исследования стали 96 образцов листовых пластин растений, относящихся к семействам розоцветных (*Rosaceae*) и маслиновых (*Oleaceae*), различного генетического и эколого-географического происхождения, в том числе 39 образцов яблони сорта «Белый налив» (БН) (*M. domestica Borkh.*), 32 образца яблони сорта китайка «Долго» (*M. robusta* '*Dolgo*') и 25 образцов сирени обыкновенной (СО) (лат. *S. vulgáris*). Выбор в пользу данных сортов яблони был сделан, с одной стороны, ввиду различных сроков их цветения и созревания, а с другой — по причине их генетической схожести, в то время как сирень выступала в качестве таксономически более удаленного контроля. Здоровые листья, без признаков хлороза, собирались в середине августа из различных участков кроны у растений, произраставших на северо-востоке Московской области, в Богородском городском округе, на одинаковых почвах, богатых гумусом с высоким естественным содержанием органических веществ, в одинаковой степени затенения и в идентичных климатических условиях. Климат данного региона классифицируется как умеренно-континентальный, характеризующийся умеренно холодной зимой и теплым летом. Среднегодовая температура колеблется на отметке 5,7 °C. Средняя температура воздуха в самый холодный месяц (январь) составляет примерно -7,3 °C (при абсолютном минимуме -45 °C), а в самый теплый месяц (июль) — 20,1 °C (при абсолютном максимуме 38,5 °C). Среднегодовое количество осадков достигает 560 мм, около 70% из которых выпадает в период с апреля по октябрь.

Фотосинтетические пигменты

Для экстракции основного пигмента, ответственного за фотосинтез, хлорофилла из растительного сырья использовали этанольный метод, описанный в работах [14, 16]. Для стандартизации процесса экстракции пигментов этанолом отбирали по 0,25 г каждого листа и закупоривали в темные колбы объемом 50—100 мл, затем добавляли 25 мл 95—100% этанола и оставляли в темном месте при температуре 4 °C на 24 часа. После первичной выдержки раствор переливали во флаконы объемом 150—200 мл, затем к образцу добавили еще 25 мл 95—100% этанола. После этого оба флакона оставлялись еще на 24 часа в прохладном темном месте. На следующий день процесс добавления 25 мл свежего этанола повторяли в третий раз. 75 мл полученного экстракта использовали для дальнейшего анализа пигментов. Ультрафиолетовое (УФ)-оптическое (UV-VIS — Ultraviolet and visible) поглощение хлорофилла измеряли в диапазоне от 400

до 700 нм с использованием одноканального спектрофотометра NanoDrop One (Thermo Fisher Scientific, США). Концентрацию отдельных форм хлорофилла рассчитывали с использованием эмпирических уравнений Лихтенталлера 1, 2 [8].

$$Chl\alpha = 13{,}36A_{664} - 5{,}19A_{649} \quad (1)$$

$$Chl\beta = 27{,}43A_{649} - 8{,}12A_{664} \quad (2)$$

Статистический анализ

Исследуемые и контрольные образцы обрабатывались одновременно, чтобы свести к минимуму технические погрешности. Массивы непрерывных переменных сравнивались с помощью непараметрического W-критерия Уилкоксона. Статистический анализ проводился с использованием инструментов Microsoft Excel и «Statistics Kingdom» (Австралия). Значения считались статистически достоверными при $P \leqslant 0{,}05$.

Результаты и обсуждение

Еще Норман Бордман, в своих работах, отмечал, что, хотя у большинства видов растений взаимная пропорциональность Chlα и Chlβ может различаться по величине, она имеет общую тенденцию [6, 10]. Таким образом, очевидно, что значение такого соотношения в той или иной степени является видовой особенностью.

Исходя из вышеизложенного, в представленной работе были изучены спектральные характеристики спиртовых экстрактов хлорофилла, полученных из репрезентативных образцов листьев яблонь и контрольного растения, в качестве которого выступала сирень, в диапазоне длин волн от 400 до 700 нм. Усредненные спектры представлены на рисунке 3.

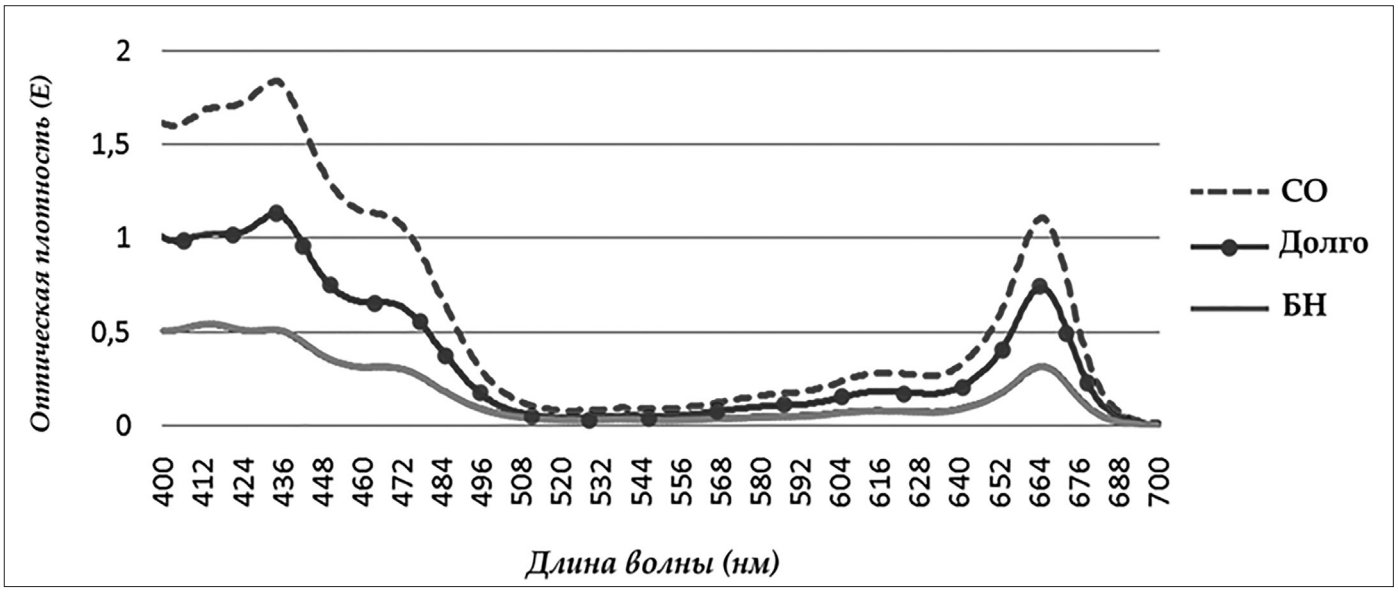


Рис. 3. Спектры поглощения спиртовых экстрактов хлорофилла исследуемых образцов листьев в УФ-видимом диапазоне

Chlα, экстрагированный 96% этанолом, поглощает свет на длинах волн 437 и 664 нм, в то время как максимум поглощения Chlβ наблюдается при 470 и 649 нм. На основании полученных данных и уравнений (1) и (2), приведенных в разделе «Материалы и методы» [8], были рассчитаны количества Chlα и Chlβ в исследуемых листьях, и проведено сравнение их соотношений (Chlα/Chlβ) с использованием непараметрического критерия Уилкоксона (таблица 1).

Проведенное исследование выявило отличительные особенности в спектрах поглощения фракций хлорофилла у изучаемых растений в ультрафиолетовом и видимом диапазонах, а также присутствие достоверных ($P \leqslant 0{,}0103$) различий при попарном сравнении образцов сортов яблони между собой и с контрольным образцом сирени обыкновенной.

Примечательным фактом было то, что различия в таком расчетном показателе как соотношение разных форм хлорофилла друг к другу для разных растений не были статистически значимыми (таблицы 1, 2). Это свидетельствует о том, что спектральные характеристики и рассчитанные на их основе концентрации Chlα и Chlβ, как самостоятельные видо- и сортоспецифические показатели, более информативны, чем их соотношения.

Таблица 1

W-критерий и z-оценка для попарного сравнения различий между двумя независимыми группами UV-VIS -спектральных данных для Chlα и Chlβ

№	Источник пигмента	n	W			Z		
			Chlα	Chlβ	Chlα/Chlβ	Chlα	Chlβ	Chlα/Chlβ
1	БН	39	1109	1397	1693	-3,403	2,826	6,246
	Долго	32						
2	Сирень	25	780	1300	833	-6,701	6,702	0,275
	БН	39						
3	Долго	32	768	936	325	-2,565	3,385	-6,428
	Сирень	25						

Примечание: n — количество образцов.

Таблица 2

Средняя величина, стандартное отклонение (*SD*) и P-значение для попарного сравнения различий между двумя независимыми группами УФ-спектральных данных для Chlα и Chlβ

№	Источник пигмента	n	$\dot{X}$			SD	P-значение		
			Chlα	Chlβ	Chlα/Chlβ	Chlα/Chlβ	Chlα	Chlβ	Chlα/Chlβ
1	БН	39	3,494	1,315	2,657	0,366	0,0007	0,0047	< 0,0001
	Долго	32	8,179	2,778	2,944				
2	Сирень	25	12,150	4,566	2,661	0,043	< 0,0001	< 0,0001	0,7831
	БН	39	3,494	1,315	2,657				
3	Долго	32	8,179	2,778	2,944	0,135	0,0103	< 0,0010	< 0,0001
	Сирень	25	12,150	4,566	2,661				

Примечание: результат статистически значим при P⩽0,05

Заключение

В ходе исследования были оценены аналитические параметры, и продемонстрирована эффективность методов определения различных форм хлорофилла в образцах листьев яблонь разных сортов и сирени в ультрафиолетовой и видимой областях спектра с последующим обсчетом полученной информации с помощью уравнений Лихтенталлера. Метод показал свою применимость для определения содержания зеленых пигментов с хорошей точностью и чувствительностью. Содержание различных форм хлорофилла в листовых пластинах сопоставимо с данными литературы о содержании хлорофилла в высших растениях. Полученные предварительные результаты свидетельствуют о том, что различные спектральные характеристики экстрактов опытных и контрольных образцов связаны с количеством хлорофилла альфа и бета в разных растениях, что, по всей видимости, обусловлено наследственными факторами. Таким образом, научный материал, который был проанализирован в настоящем исследовании, не только призван улучшить понимание потенциала УФ-спектральных характеристик зеленых пигментов, но и способен стать отправной точкой для развития новых прогрессивных исследований и методологий в сфере разработки дополнительных биомаркеров, не связанных напрямую с последовательностью ДНК, для идентификации и паспортизации зеленых растений.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы) (№122022800499-5).

Автор подтверждает отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Литература

1. Ali K.A., Noraldeen S.S., Yaseen A.A. An evaluation study for chlorophyll estimation techniques // Sarhad Journal of Agriculture. — 2021. — Vol. 37. — No. 4. — P. 1458—1465.
2. Berhe M., You J., Dossa K., Li D., Zhou R., Zhang Y., Wang L. Examining chlorophyll extraction methods in sesame genotypes: Uncovering leaf coloration effects and anatomy variations // Plants. — 2024. — Vol. 13. — No. 12. — Art. 1589. doi: 10.3390/plants13121589.
3. Broschewitz L., Reim S., Flachowsky H., Höfer M. Pomological and molecular characterization of apple cultivars in the German Fruit Genebank // Plants. — 2024. — Vol. 13. — No. 19. — Art. 2699. doi: 10.3390/plants13192699.
4. Cardona T. Thinking twice about the evolution of photosynthesis // Open Biology. — 2019. — Vol. 9. — No. 3. — Art. 180246. doi: 10.1098/rsob.180246.
5. Junge W. Oxygenic photosynthesis: history, status and perspective // Quarterly Reviews of Biophysics. — 2019. — Vol. 52. — e1. doi: 10.1017/S0033583518000112.
6. Kitajima K., Hogan K.P. Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light // Plant, Cell & Environment. — 2003. — Vol. 26. — No. 6. — P. 857—865.
7. Kornerup A., Wanscher J. Metheun Hand Book of Colour. — 3rd ed. — London: Metheun London Ltd., 1978. — 252 p.
8. Lichtenthaller H.K. Chlorophylls and carotenoids, pigments of photosynthetic biomembranes // Methods in Enzymology. — 1987. — Vol. 148. — P. 350—382.
9. Li T., Wang P., Li Y., Li L., Kong R., Fan W., Yin W., Fan Z., Wu Q., Zhai Y., Chen G., Wan S. Effects of configuration mode on the light-response characteristics and dry matter accumulation of cotton under jujube-cotton intercropping // Applied Sciences. — 2023. — Vol. 13. — No. 4. — Art. 2427. doi: 10.3390/app13042427.
10. Malavasi U.C., Malavasi M.M. Leaf characteristics and chlorophyll concentration of *Schyzolobium parahybum* and *Hymenaea stilbocarpa* seedlings grown in different light regimes // Tree Physiology. — 2001. — Vol. 21. — No. 10. — P. 701—703.
11. Mao H.T., Pang X., Li T., Qin Y., Zhang Z. W., Yuan S., Yuan M., Brestic M., Chen Y.E. Chlorophyll b is essential for the growth, photoprotection, and photosystem I assembly in wheat // The Plant Journal. — 2025. — Vol. 123. — No. 4. — e70442. doi: 10.1111/tpj.70442.
12. Marconi G., Ferradini N., Russi L., Concezzi L., Veronesi F., Albertini E. Genetic characterization of the apple germplasm collection in Central Italy: The value of local varieties // Frontiers in Plant Science. — 2018. — Vol. 9. — P. 1460. doi: 10.3389/fpls.2018.01460.
13. Mo C., Kim G., Lee K., Kim M.S., Cho B.-K., Lim J., Kang S. Non-destructive quality evaluation of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds using LED-induced hyperspectral reflectance imaging // Sensors. — 2014. — Vol. 14. — No. 4. — P. 7489—7504.
14. Ritchie R.J. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents // Photosynthesis Research. — 2006. — Vol. 89. — No. 1. — P. 27—41.
15. Tegtmeier R., Svara A., Gritsenko D., Khan A. *Malus sieversii*: A historical, genetic, and conservational perspective of the primary progenitor species of domesticated apples // Horticulture Research. — 2024. — Vol. 12. — No. 1. — Art. 244. doi: 10.1093/hr/uhae244.
16. Thrane J.E., Kyle M., Striebel M., Haande S., Grung M., Rohrlack T., Andersen T. Spectrophotometric analysis of pigments: A critical assessment of a high-throughput method for analysis of algal pigment mixtures by spectral deconvolution // PLoS ONE. — 2015. — Vol. 10. — No. 9. — e0137645. doi: 10.1371/journal.pone.0137645.
17. Wang W., Wei L., Li H., Xu H., Xu Z., Yan C., Wu Y., Ji S., Wang T. Effects of sowing date on photosynthetic characteristics, chlorophyll fluorescence and yield of different *Echium plantagineum* L. cultivars // Scientific Reports. — 2023. — Vol. 13. — No. 1. — Art. 14536. doi: 10.1038/s41598-023-38023-x.

References

1. Ali KA, Noraldeen SS, Yaseen AA. An evaluation study for chlorophyll estimation techniques. Sarhad Journal of Agriculture 2021; 37(4):1458—1465.
2. Berhe M, You J, Dossa K, Li D, Zhou R, Zhang Y, Wang L. Examining chlorophyll extraction methods in sesame genotypes: Uncovering leaf coloration effects and anatomy variations. Plants 2024; 13(12):1589. doi: 10.3390/plants13121589.
3. Broschewitz L, Reim S, Flachowsky H, Höfer M. Pomological and molecular characterization of apple cultivars in the German Fruit Genebank. Plants 2024; 13(19):2699. doi: 10.3390/plants13192699.
4. Cardona T. Thinking twice about the evolution of photosynthesis. Open Biology 2019; 9(3):180246. doi: 10.1098/rsob.180246.
5. Junge W. Oxygenic photosynthesis: history, status and perspective. Quarterly Reviews of Biophysics 2019; 52:e1. doi: 10.1017/S0033583518000112.
6. Kitajima K, Hogan KP. Increases of chlorophyll a/b ratios during acclimation of tropical woody seedlings to nitrogen limitation and high light. Plant, Cell & Environment 2003; 26(6):857—865.
7. Kornerup A, Wanscher J. Metheun Hand Book of Colour. 3rd ed. London: Metheun London Ltd., 1978. — 252 p.
8. Lichtenthaller HK. Chlorophylls and carotenoids, pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 1987; 148:350—382.
9. Li T, Wang P, Li Y, Li L, Kong R, Fan W, Yin W, Fan Z, Wu Q, Zhai Y, Chen G, Wan S. Effects of configuration mode on the light-response characteristics and dry matter accumulation of cotton under jujube-cotton intercropping. Applied Sciences 2023; 13(4):2427. doi: 10.3390/app13042427.

10. Malavasi UC, Malavasi MM. Leaf characteristics and chlorophyll concentration of *Schyzolobium parahybum* and *Hymenaea stilbocarpa* seedlings grown in different light regimes. Tree Physiology 2001; 21(10):701–703.
11. Mao HT, Pang X, Li T, Qin Y, Zhang Z W, Yuan S, Yuan M, Brestic M, Chen YE. Chlorophyll b is essential for the growth, photoprotection, and photosystem I assembly in wheat. The Plant Journal 2025; 123(4):e70442. doi: 10.1111/tpj.70442.
12. Marconi G, Ferradini N, Russi L, Concezzi L, Veronesi F, Albertini E. Genetic characterization of the apple germplasm collection in Central Italy: The value of local varieties. Frontiers in Plant Science 2018; 9:1460. doi: 10.3389/fpls.2018.01460.
13. Mo C, Kim G, Lee K, Kim MS, Cho B-K, Lim J, Kang S. Non-destructive quality evaluation of pepper (*Capsicum annuum* L.) seeds using LED-induced hyperspectral reflectance imaging. Sensors 2014; 14(4):7489–7504.
14. Ritchie RJ. Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. Photosynthesis Research 2006; 89(1):27–41.
15. Tegtmeier R, Svara A, Gritsenko D, Khan A. *Malus sieversii*: A historical, genetic, and conservational perspective of the primary progenitor species of domesticated apples. Horticulture Research 2024; 12(1):244. doi: 10.1093/hr/uhae244.
16. Thrane JE, Kyle M, Striebel M, Haande S, Grung M, Rohrlack T, Andersen T. Spectrophotometric analysis of pigments: A critical assessment of a high-throughput method for analysis of algal pigment mixtures by spectral deconvolution. PLoS ONE 2015; 10(9):e0137645. doi: 10.1371/journal.pone.0137645.
17. Wang W, Wei L, Li H, Xu H, Xu Z, Yan C, Wu Y, Ji S, Wang T. Effects of sowing date on photosynthetic characteristics, chlorophyll fluorescence and yield of different *Echium plantagineum* L. cultivars. Scientific Reports 2023; 13(1):14536. doi: 10.1038/s41598-023-38023-x.

APPLIED ASPECTS OF UV-VIS SPECTRAL CHARACTERISTICS OF MAIN FORMS OF GREEN PIGMENTS

D.V. GRISHIN

Institute of Biomedical Chemistry (IBMC), Moscow

Modern techniques and tools to typing and certification of plants that have value in terms of industry, biomedicine or ornamental horticulture do not always provide accurate identification, as they face difficulties due to the high similarity of morphological or genetic characteristics of some varieties, a high level of heterozygosity and the need to use a large set of polymorphic microsatellite loci. Therefore, in current biotechnological science, work aimed at replenishing collections of informative biomarkers, including through the development of markers of a non-genetic nature, is still considered relevant. The primary green pigment, chlorophyll, can be attributed to such promising markers, primarily due to the fact that it is polymorphic in different photoautotrophs from a structural, biochemical and colorimetric point of view. Within this framework, the spectral characteristics of chlorophyll extracts obtained from leaf samples of plants belonging to different families of *Rosaceae* and *Oleaceae* in the wavelength range of 400–700 nm were studied. At the same time, the amounts of individual chlorophyll fractions and their mutual proportionality were calculated. The study revealed significant differences in the absorption spectra of individual functional types of chlorophyll in the studied plant species in ultraviolet and visible wavelength ranges, which indicates the prospects for further development of spectral and concentration characteristics of the main structural forms of chlorophyll as independent biomarkers.

Keywords: biomarker; pigment; UV-VIS spectral characteristics; alpha- and beta-chlorophyll; photosynthesis; plants.

Address
Grishin D.V., Ph.D. in Biology
head of the scientific group of genetic engineering and methylomic research
Institute of Biomedical Chemistry (IBMC), Moscow
email: molbiol_ibm@inbox.ru

Для цитирования:
Гришин Д.В. Прикладные аспекты UV-VIS спектральных характеристик основных форм зеленых пигментов. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2):30–35.

For citation:
Grishin D.V. Applied aspects of UV-VIS spectral characteristics of main forms of green pigments. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2):30–35 (in Russian).

УДК 577.2:615.3

КОНСТРУИРОВАНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* И ОЦЕНКА ИХ ВАКЦИННОГО ПОТЕНЦИАЛА

А.А. КАЛОШИН*

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова», Москва

Разработка антисинегнойных вакцин представляет собой актуальную задачу, что связано с ростом антибиотикорезистентности *Pseudomonas aeruginosa*. Поэтому целью исследования было создание и иммунобиологический анализ рекомбинантных форм ключевых антигенов *P. aeruginosa*: белков наружной мембраны OprF, OprL, OprI и делеционной атоксичной формы экзотоксина А (анатоксин). Рекомбинантные антигены были синтезированы в *Escherichia coli*, очищены аффинной хроматографией на никель-сефарозе и изучены на мышиной модели. OprF и OprL индуцировали высокие титры специфических IgG, тогда как OprI обладал более слабой активностью. В моделях летальной инфекции нетоксигенным (PA170015) и токсигенным (PA103) штаммами, а также интоксикации рекомбинантным экзотоксином А, определены оптимальные протективные дозы, которые составили 25 мкг для рекомбинантных белков наружной мембраны (OprF и OprL) и 50 мкг для анатоксина. С целью увеличения эффективности иммунного ответа исследовали комплексную иммунизацию. Было выявлено, что использование комплекса OprF и анатоксина приводило к синергическому эффекту. В то же время комплексы OprL с OprF или анатоксином по эффективности были сопоставимы с моноиммунизацией, а применение трёхкомпонентной смеси (OprF, OprL и анатоксин) не показало преимуществ перед комбинацией OprF и анатоксина. Таким образом, проведённое исследование демонстрирует перспективность использования рекомбинантных белков OprF и анатоксина в составе комбинированной антисинегнойной вакцины.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*; иммунный ответ; рекомбинантные белки; белки наружной мембраны; OprF; OprL; OprI; экзотоксин А; анатоксин.

Введение

В современной медицине значительное внимание уделяется профилактике внутрибольничных инфекций, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами, такими как *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка). Исследования показывают, что большинство клинических изолятов данного возбудителя резистентны к распространённым антибиотикам. При этом отмечается стремительный рост доли полирезистентных штаммов, что приводит к резкому снижению эффективности стандартной антимикробной терапии [8, 11].

Иммунопрофилактика считается перспективным направлением против синегнойной инфекции. Попытки создания соответствующих вакцин ведутся с середины XX века. Были разработаны экспериментальные препараты на основе цельных убитых клеток [7, 14], липополисахаридов [10, 13] и компонентов разрушенного возбудителя [17]. Хотя эти вакцины показали достаточную иммуногенность, их высокая реактогенность, обусловленная токсичными и пирогенными примесями, оставалась проблемой [15].

Некоторое преимущество показали вакцины на основе нетоксичных белков наружной мембраны (Opr), среди которых наибольший интерес представляют порообразующий белок OprF, а также липопротеины OprL и OprI [2, 9, 15]. В СССР клинически применялись анатоксины на основе экзотоксина А, чья цитотоксичность устранялась химической обработкой с сохранением антигенных свойств [3]. Следует заметить, что экзотоксин А, блокирующий синтез белка в клетках человека, является одним из ключевых факторов патогенности *P. aeruginosa* [12]. Однако производство описанных вакцин сопряжено с трудностями очистки и стандартизации, а в случае анатоксина возможна реверсия токсичности.

Современные достижения генной инженерии открыли возможность создания более безопасных вакцин

© 2026 г. А.А. Калошин

*** Автор для переписки:**
Калошин Алексей Алексеевич
к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории протективных антигенов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова»
E-mail: alex-k-1973@yandex.ru

на основе рекомбинантных белков [15]. Для экзотоксина А, в частности, была продемонстрирована возможность получения стабильных атоксических форм методом делеции. Исследования показали, что удаление ключевых аминокислотных остатков в третьем цитотоксическом домене приводит к полной потере токсичности [6]. Учитывая перспективность высококонсервативных мажорных белков наружной мембраны (OprF, OprL, OprI) и экзотоксина А для создания антисинегнойной вакцины, целью данного исследования стало получение рекомбинантных форм этих антигенов и изучение их иммунобиологических свойств.

Материалы и методы

Гены *oprF*, *oprL*, *oprI* и *toxA* амплифицировали методом ПЦР с использованием в качестве матрицы геномной ДНК *P. aeruginosa* штамма PA103 (ATCC29260). Нуклеотидные последовательности праймеров подбирали на основе анализа генома референс-штамма PAO1 (AE004091). Использовали следующие пары праймеров: 5'-GGA TCC ATG AAA CTG AAG AAC ACC TTA G-3' и 5'-AAG CTT TTA CTT GGC TTC AGC TTC TAC-3' для *oprF*; 5'-GGA TCC ATG GAA ATG CTG AAA TTC GGC-3' и 5'-AAG CTT TTA CTT CTT CAG CTC GAC GCG-3' для *oprL*; 5'-GGA TCC ATG AAC AAC GTT CTG AAA TTC TC-3' и 5'-AAG CTT TTA CTT GCG GCT GGC TTT TTC C-3' для *oprI*; 5'-ATC ACA GGA AGC TTG CGA TGC ACC TGA TAC CCC ATT GGA-3' и 5'-TTG TGG TTG AAT TCA TAT TCG ATT GGG CTG GCA TCA G-3' для *toxA*. Прямые и обратные праймеры для амплификации генов мембранных белков соответствовали стартовым и терминальным областям их кодирующих последовательностей соответственно. На 5'-концы прямых праймеров был введён сайт рестрикции *BamHI*, а на 5'-концы обратных праймеров — сайт рестрикции *HindIII*. По данным сайтам синтезированные последовательности встроили в вектор экспрессии pQE-30 (QIAGEN), обеспечивающий синтез белка с N-концевым участком, содержащим шесть остатков гистидина (6His). Рекомбинантные плазмиды pQE-30-*oprF* (рисунок 1a), pQE-30-*oprL* (рисунок 1b) и pQE-30-*oprI* (рисунок 1c) использовали для трансформации клеток *E. coli* штамма M15 [pREP4] (QIAGEN).

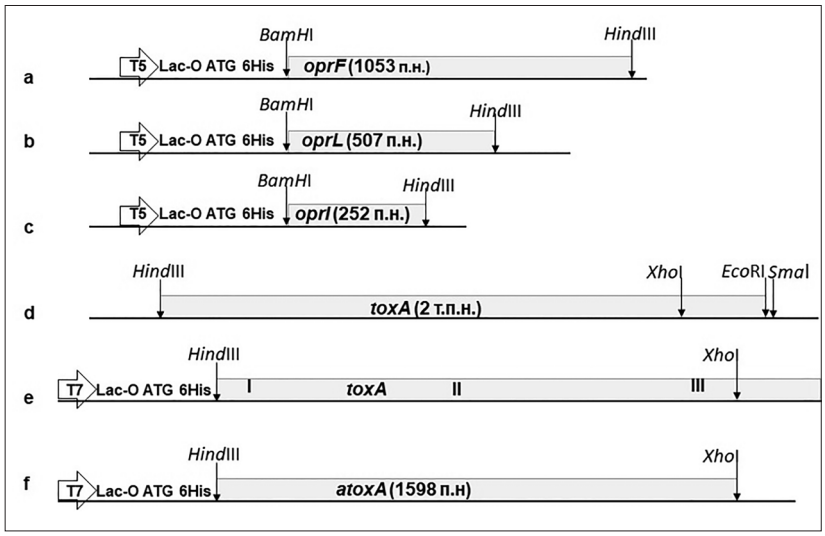


Рис. 1. Схемы встраивания генов *P. aeruginosa*. a — конструкция pQE-30-oprF для синтеза OprF; b — конструкция pQE-30-oprL для синтеза OprL; c — конструкция pQE-30-oprI для синтеза OprI; d — промежуточная конструкции; e — конструкция pET-28b-*toxA* для синтеза экзотоксина А; f — конструкция pET-28b-Δ*toxA* для синтеза анатоксина. Элементы конструкций: T5 — промотор бактериофага T5; T7 — промотор бактериофага T7; Lac-O — лактозный оперон; ATG — стартовый кодон, кодирующий метионин; 6His — регион, кодирующий шесть гистидинов. На схемах отмечены встроенные гены и их размеры, домены экзотоксина А (I, II и III) и сайты рестрикции (*BamH*I, *Hind*III, *Eco*RI, *Sma*I и *Xho*I)

Прямой праймер для гена *toxA*, соответствующий его стартовой области, содержал сайт рестрикции HindIII на 5'-конце, а обратный праймер, комплементарный участку, фланкирующему 3'-конец гена *toxA*, содержал сайт рестрикции EcoRI. Соответственно, по этим сайтам последовательность *toxA* встроили в вектор pBluescript II KS(+) (Fermentas). Промежуточную конструкцию pKS-*toxA* (рисунок 1d) использовали для трансформации клеток *E. coli* штамма DH5α, в которых проводили ее пассирование. Затем из плазмиды pKS-*toxA* вырезали

ген *toxA* с помощью рестриктаз *Hind*III и *Sma*I (векторная последовательность) и встроили в вектор экспрессии pET-28b(+) (Stratagene), который, как и pQE-30, содержал последовательность, кодирующую 6His. Рекомбинантную плазмиду pET-28b-*toxA* (рисунок 1e) использовали для трансформации клеток *E. coli* штамма BL21(DE3) (Stratagene). Для получения делеционного варианта (анатоксина) конструкцию pET-28b-*toxA* обработали рестриктазами *Hind*III и *Xho*I. Поскольку сайт *Xho*I расположен внутри области, кодирующей третий цитотоксический домен, в результате рестрикции был получен фрагмент размером ~1,6 т.п.н., кодирующий укороченный белок (531 аминокислотный остаток). Данный фрагмент также встроили в вектор pET-28b(+), получив рекомбинантную плазмиду pET-28b-Δ*toxA* (рисунок 1f), которую использовали для трансформации клеток BL21(DE3).

Для индукции синтеза рекомбинантных белков в культурах *E. coli* M15 и BL21(DE3) использовали изопропил-β-D-тиогалактопиранозид (IPTG). Синтезированные рекомбинантные белки очищали аффинной хроматографией на никель-сефарозе (GE Healthcare) по стандартному протоколу [18] и анализировали в ПААГ [4]. Иммунохимический анализ методом вестерн-блоттинга проводили с двумя поликлональными кроличьими антисыворотками против цельноклеточного препарата *P. aeruginosa* PA868 (коллекция лаборатории протективных антигенов ФГБНУ НИИВС им. И.И. Мечникова) и против нативного синегнойного анатоксина [3]. При детекции использовали антитела против IgG кролика, конъюгированные с пероксидазой хрена (Goat anti-Rabbit IgG (Heavy chain) Superclonal™ Secondary Antibody, A27036, Thermo Fisher), для визуализации которых применяли диаминобензидин.

Для иммунизации рекомбинантные белки переводили в буферный раствор (50 мМ TrisHCl, pH 9,0) методом диализа. Полученные препараты смешивали с адъювантом (гидроксид алюминия, Sigma-Aldrich) и доводили физиологическим раствором (0,9% хлорид натрия) до рабочих концентраций, обеспечивающих введение в объёме 0,5 мл доз антигена 6,25, 12,5, 25, 50 и 100 мкг на мышь. Адсорбцию антигена на адъюванте проводили в течение 12–14 часов при температуре 4–7 °C. Иммунизацию выполняли на самках мышей массой 16–18 г, полученных из вивария Филиала «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства». Препараты вводили внутрибрюшинно в объёме 0,5 мл с двухнедельным интервалом между инъекциями.

Для оценки антигенности рекомбинантные белки вводили мышам трёхкратно в разных дозах, формируя группы по 15 животных. Спустя две недели после каждой иммунизации у 5 мышей из каждой группы отбирали образцы сыворотки крови. В контрольную группу вошли неиммунизированные животные той же партии. При постановке иммуноферментного анализа (ИФА) рекомбинантные белки разводили до концентрации 10 мкг/мл в карбонатно-бикарбонатном буфере и сорбировали в 96-луночных планшетах (ВНИИ медполимер). В качестве вторичных антител применяли конъюгат пероксидазы хрена с антителами против мышиных IgG (Goat anti-mouse IgG (H+L) Superclonal™ Secondary Antibody, Thermo Fisher A28177). Связывание выявляли с использованием субстрата тетраметилбензидина.

Для оценки протективного действия рекомбинантных антигенов сформировали группы из 50 дважды иммунизированных мышей. Через две недели после заключительной иммунизации животным внутрибрюшинно вводили по 0,5 мл вирулентной культуры *P. aeruginosa* или раствор рекомбинантного экзотоксина A. Использовали штаммы PA170015 (коллекция лаборатории протективных антигенов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова») и PA103 (ATCC29260). Бактериальные клетки, выращенные на твёрдой среде Хоттингера, смывали физиологическим раствором и доводили спектрофотометрически до концентрации 1 млрд микробных клеток/мл. Из этой суспензии готовили серию из 5 последовательных двукратных разведений, каждое из которых вводили подгруппе из 10 животных. Для штамма PA170015 иммунизированным мышам вводили дозы 800, 400, 200, 100 и 50 млн микробных клеток (м.к.), а контрольным (неиммунизированным) животным – 400, 200, 100, 50 и 25 млн м.к. В случае штамма PA103 иммунизированные группы получали 200, 100, 50, 25 и 12,5 млн м.к., а контрольные – 100, 50, 25, 12,5 и 6,25 млн м.к. В опытах с рекомбинантным экзотоксином A мышам, иммунизированным анатоксином, вводили 100, 50, 25, 12,5 и 6,25 мкг, а контрольным животным – 25, 12,5, 6,25, 3,13 и 1,56 мкг белка-токсина. Регистрацию гибели животных проводили в течение 7 суток. Значение полулетальной дозы ($ЛД_{50}$) вычисляли по модифицированной формуле Ашмарина–Воробьева [1], согласно которой $ЛД_{50}$ соответствует обратному логарифму [$\lg A - \lg 2 \times (B_1/C_1 + B_2/C_2 + B_3/C_3 + B_4/C_4 + B_5/C_5 - 0{,}5]$, где A – наибольшая инфекционная доза, B – количество погибших животных в подгруппе, C – исходная численность, количество животных в подгруппе. Подстрочные цифры означают подгруппы,

полученные в результате заражения 5 дозами. 95%-й доверительный интервал $ЛД_{50}$ вычисляли согласно Ашмарину и Воробьеву [1]. Эффективность защиты оценивали с помощью индекса эффективности, представляющего собой отношение $ЛД_{50}$ в иммунизированной группе к $ЛД_{50}$ в контрольной (неиммунизированные животные той же партии, что использовались в опыте).

Результаты и обсуждение

Все амплифицированные последовательности целевых генов были клонированы под контролем регулируемых промоторов для экспрессии в *E. coli*. В случае генов мембранных белков (*oprF*, *oprL* и *oprI*), встроенных в pQE-30, это был модифицированный промотор бактериофага T5 (рисунок 1a, 1b и 1c), а в случае экзотоксиновых последовательностей (*toxA* и *atoxA*), встроенных в pET-28b(+), — модифицированный промотор бактериофага T7 (рисунок 1e и 1f).

Экспрессия клонированных генов приводила к синтезу рекомбинантных белков, чьи молекулярные массы соответствовали расчётным значениям: OprF (38,9 кДа), OprL (19,2 кДа), OprI (10,1 кДа), а также полноразмерного (73,8 кДа) и делеционного (анатоксина) (65,8 кДа) вариантов экзотоксина A (рисунок 2a). В иммуноблоттинге рекомбинантные белки наружной мембраны специфично взаимодействовали с поликлональной антисывороткой против цельноклеточного препарата *P. aeruginosa*. Рекомбинантные формы экзотоксина A выявлялись антисывороткой к синегнойному анатоксину, полученному путём химической инактивации нативного токсина (рисунок 2b).

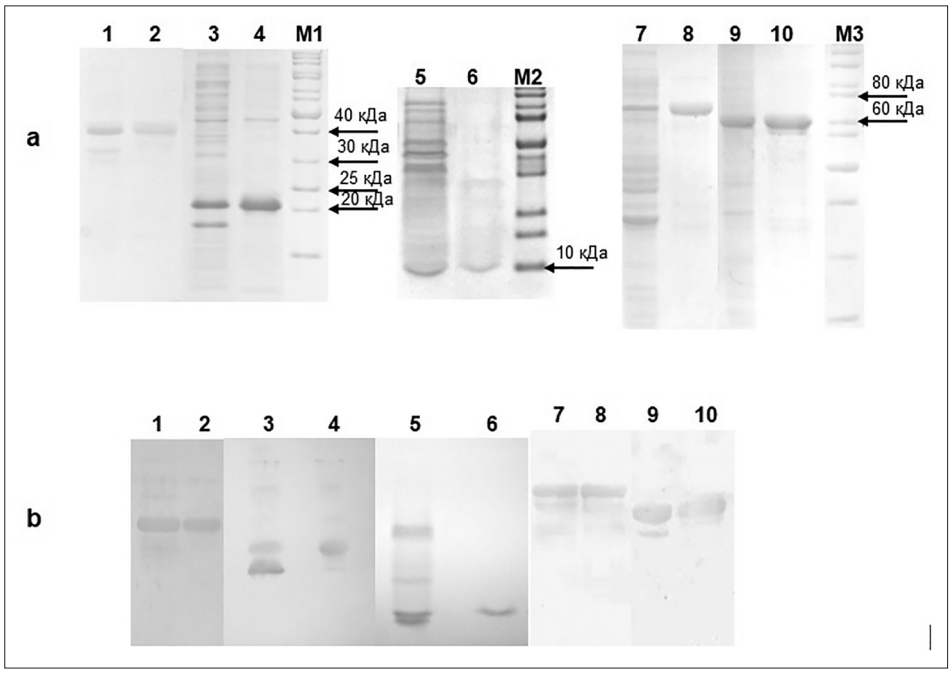


Рис. 2. Анализ рекомбинантных белков, полученных в результате экспрессии. a — ПААГ после окраски Кумасси R-250; b — нитроцеллюлозные мембраны после иммуноблоттинга; 1, 3, 5, 7 и 9 — белки индуцированных продуцентов OprF, OprL, OprI, экзотоксина A и анатоксина; 2, 4, 6, 8 и 10 — очищенные рекомбинантные OprF, OprL, OprI, экзотоксин A и анатоксин; M1, M2 и M3 — белковые маркеры молекулярных масс (отмечены молекулярные массы значимых фрагментов)

Рекомбинантные белки были очищены с помощью аффинной хроматографии на никель-сефарозе (рисунок 2a). При этом в клеточных лизатах продуцентов OprL и OprI, помимо полноразмерных белков, детектировались дополнительные иммунореактивные продукты с меньшей молекулярной массой. После очистки на сорбенте, специфичном к гистидиновому тегу, наблюдались только полноразмерные формы (рисунок 2b). Вероятно, в процессе синтеза данных белков, наряду с целевыми продуктами, образовывались укороченные варианты, лишённые N-концевой последовательности.

Для оценки антигенности использовали дозы рекомбинантных белков от 6,25 до 100 мкг при одно-, двух- и трёхкратной иммунизации. Анализ групповых сывороток в ИФА показал, что все антигены индуцировали синтез специфичных IgG, при этом уровень антител зависел от дозы и кратности введения. OprF при однократном введении вызывал значительный иммунный ответ только в дозе

100 мкг. После второй иммунизации максимальные титры антител наблюдались уже при дозе 25 мкг, а после третьей — при 12,5 мкг. Аналогичная динамика была характерна для OprL. OprI проявлял более слабую иммуногенность, что, вероятно, связано с его низкой молекулярной массой. Анатоксин индуцировал значительный рост титров IgG после двукратного введения дозы 100 мкг и трёхкратного введения, начиная с дозы 25 мкг (рисунок 3).

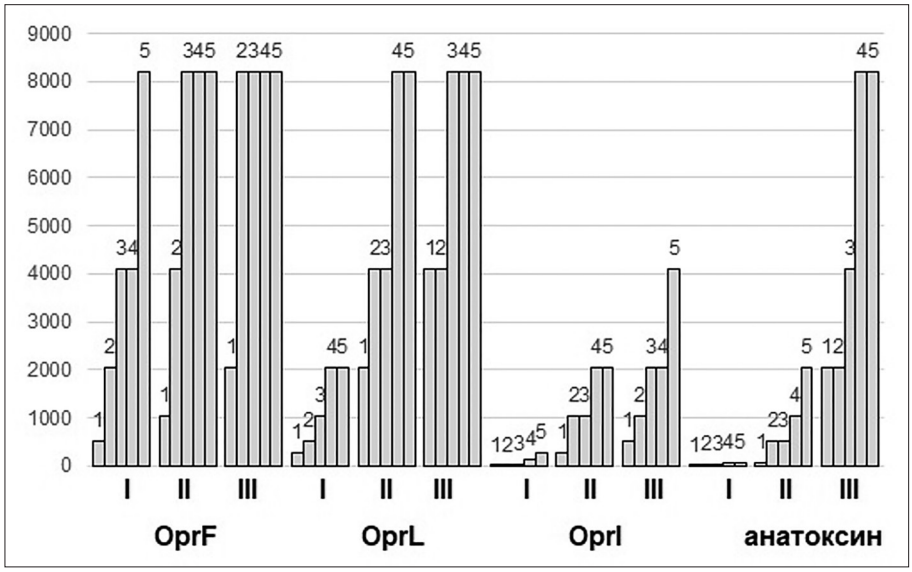


Рис. 3. Анализ накопления специфических IgG антител в организме мышей, иммунизированных рекомбинантными белками *P. aeruginosa*. *Примечание*: значения оси ординаты соответствуют отношению титров антисывороток к титрам сывороток неиммунизированных (контрольных) мышей. Верхние надписи столбиков гистограммы: 1 — иммунизация дозой 6,25 мкг, 2 — 12,5 мкг, 3 — 25 мкг, 4 — 50 мкг; 5 — 100 мкг. Нижние надписи под столбиками гистограмм: I — однократная, II — двукратная, III — трехкратная иммунизация

Для исследования протективных свойств использовали рекомбинантные белки OprF, OprL и анатоксин, которые вводили двукратно в дозах 6,25, 12,5, 25 и 50 мкг. Защитную активность мембранных белков оценивали при заражении нетоксигенным штаммом *P. aeruginosa* PA170015. Эффективность анатоксина тестировали в модели интоксикации функциональным рекомбинантным экзотоксином A (таблица 1).

Таблица 1

Исследование защитных свойств рекомбинантных белков с подбором оптимальной дозы иммунизации

Опыт по исследованию рекомбинантного:	Доза иммунизации, мкг	$ЛД_{50}$, млн м.к. *P. aeruginosa* PA170015 или мкг рекомбинантного экзотоксина A (доверительный интервал)	ИЭ
OprF	Контроль	66,0 (44,7–89,1) млн м.к.	–
	6,26 мкг	107,2 (75,9–151,4) млн м.к.	1,6
	12,5 мкг	141,4 (112,2–223,9) млн м.к.	2,1
	25 мкг	214,4 (141,3–281,8) млн м.к.	3,3
	50 мкг	162,5 (114,8–229,1) млн м.к.	2,5
OprL	0 (контроль)	73,0 (51,3–125,9) млн м.к.	–
	6,26 мкг	148,0 (104,7–208,9) млн м.к.	2,0
	12,5 мкг	187,0 (131,8–263,8) млн м.к.	2,6
	25 мкг	222,0 (158,5–316,2) млн м.к.	3,0
	50 мкг	206,0 (144,5–288,4) млн м.к.	2,8
анатоксина	0 (контроль)	6,2 (4,4–8,7) мкг	–
	25 мкг	31,6 (22,4–44,7) мкг	5,1
	50 мкг	55,0 (33,1–83,2) мкг	8,9

Примечание: ИЭ — индекс эффективности

Максимальную протективную активность рекомбинантные белки OprF и OprL проявили при иммунизирующей дозе 25 мкг, обеспечив индексы эффективности (ИЭ) 3,3 и 3,0 соответственно. Увеличение дозы до 50 мкг не повышало выживаемость, несмотря на высокие титры специфических антител (рисунок 3). Это может

указывать на индукцию непротективных антител при избытке антигена. Полученные данные позволяют предположить, что ключевую роль в защите от синегнойной инфекции играет клеточный иммунный ответ. Это подтверждается исследованиями ДНК-вакцины на основе гена *oprF*, которая эффективно защищала мышей линии с дефицитом В-лимфоцитов [16].

Рекомбинантный анатоксин эффективно индуцировал синтез антител, нейтрализующих экзотоксин А. Уровень защиты напрямую зависел от иммунизирующей дозы и коррелировал с титрами специфических антител. Наибольшая эффективность была достигнута при двукратном введении дозы 50 мкг, где индекс эффективности (ИЭ) составил 8,9 (таблица 1). Процедура иммунизации хорошо переносилась животными, что подтверждало отсутствие токсичности у данной делеционной формы. Этот белок лишён 106 С-концевых аминокислотных остатков, входящих в третий (цитотоксический) домен (положения 405–613). Известно, что делеция 36 и более аминокислот с С-конца полностью редуцирует АДФ-рибозилтрансферазную активность экзотоксина А. Такие рекомбинантные нетоксичные антигены могут быть определены как анатоксины и рассматриваться в качестве компонентов антисинегнойных вакцин [6].

На следующем этапе исследовали комплексное действие рекомбинантных антигенов, сформировав 7 опытных групп и 1 контрольную. Животных иммунизировали двукратно отдельными антигенами и их комбинациями в оптимизированных дозах: OprF (25 мкг), OprL (25 мкг), анатоксин (50 мкг), а также смесями OprF+OprL (25+25 мкг), OprF+анатоксин (25+50 мкг), OprL+анатоксин (25+50 мкг) и тройной комбинацией OprF+OprL+анатоксин (25+25+50 мкг). Протективную активность оценивали в модели заражения высоковирулентным токсигенным штаммом PA103. При моноиммунизации значения ИЭ составляли 2,0 (OprF), 2,2 (OprL) и 1,9 (анатоксин). Двухкомпонентная комбинация OprF с анатоксином обеспечила синергический эффект, повысив ИЭ до 3,0. Однако добавление к этой паре белка OprL (трёхкомпонентная смесь) не увеличивало защиту (ИЭ остался на уровне 3,0). Комплексы, содержащие OprL (OprF+OprL и OprL+анатоксин), по эффективности не превосходили моноиммунизацию, демонстрируя ИЭ 2,2 и 2,3 соответственно (таблица 2).

Таблица 2

Исследование защитных свойств комплексов рекомбинантных белков

Вводимые рекомбинантные белки в дозе	$ЛД_{50}$, млн м.к. *P. aeruginosa* PA103 (доверительный интервал)	ИЭ
Контроль	40,6 (30,9–53,7)	-
OprF, 25 мкг	81,2 (57,5–114,8)	2,0
OprL, 25 мкг	87,1 (61,7–123,0)	2,2
Анатоксин, 50 мкг	75,8 (53,7–107,2)	1,9
OprF, 25 мкг Анатоксин, 50 мкг	123,1 (93,3–186,2)	3,0
OprL, 25 мкг Анатоксин, 50 мкг	93,3 (66,1–131,8)	2,3
OprF, 25 мкг OprL, 25 мкг	87,0 (61,7–123,0)	2,2
OprF, 25 мкг OprL, 25 мкг Анатоксин, 50 мкг	123,1 (93,3–186,2)	3,0

Бактериальные патогены, включая *P. aeruginosa*, обладают широким спектром факторов вирулентности. В связи с этим разработка рекомбинантных вакцин часто направлена на создание многокомпонентных препаратов для расширения антигенного охвата. В литературе описаны, в частности, слитые белки, сочетающие эпитопы мембранных белков и экзотоксина А, которые демонстрировали более высокую протективную эффективность по сравнению с раздельным введением тех же антигенов [5]. В настоящей работе был выбран альтернативный подход, основанный на изучении протективных свойств комбинаций отдельных рекомбинантных антигенов.

Заключение

В ходе исследования были успешно получены и охарактеризованы рекомбинантные формы ключевых антигенов *P. aeruginosa*: белков наружной мембраны OprF, OprL, OprI и делеционной атоксической формы экзотоксина А (анатоксина). Показана их корректная экспрессия, иммунореактивность и способность индуцировать специфический гуморальный ответ у мышей. Определены оптимальные иммунизирующие дозы для проявления протективной активности: 25 мкг для белков наружной мембраны (OprF и OprL) и 50 мкг для

анатоксина. Установлено, что увеличение дозы сверх оптимальной не повышает защиту, что может указывать на индукцию непротективных антител и важную роль клеточного иммунитета. Ключевым результатом работы является выявление синергического эффекта при совместном применении рекомбинантных белков OprF и анатоксина, что привело к росту индекса эффективности. Это подтверждает перспективность создания комбинированных препаратов. Однако добавление третьего компонента (OprL) к этой паре не усилило защитный эффект по сравнению с моноиммунизацией. Полученные данные обосновывают выбор стратегии разработки антисинегнойной вакцины на основе комбинации отдельных антигенов.

Литература

1. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. — Ленинград: Медицина, 1962. — 180 с.
2. Макаренко Т.А., Станиславский Е.С. Иммунологическое изучение белков клеточной стенки *Pseudomonas aeruginosa* // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1996. — Т. 73. — № 2. — С. 7—9.
3. Михайлова Н.А., Кунягина О.В., Кузнецова Т.Н., Садыкова А.Ф., Бродвинова Н.С., Бодрова Т.Н. Изучение безопасности, реактогенности и антигенности анатоксина *Pseudomonas aeruginosa* на добровольцах // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 1995. — Т. 72. — № 3. — С. 89—92.
4. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование (практическое пособие). — Москва: Наука, 1981. — 288 с.
5. Chen T.Y., Shang H.F., Chen T.L., Lin C.P., Hui C.F., Hwang J. Recombinant protein composed of *Pseudomonas* exotoxin A, outer membrane proteins I and F as vaccine against P. aeruginosa infection // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 1999. — Vol. 52. — No. 4. — P. 524—533.
6. Chow J.T., Chen M.S., Wu H.C., Hwang J. Identification of the carboxyl-terminal amino acids important for the ADP-ribosylation activity of *Pseudomonas* exotoxin A // J. Biol. Chem. — 1989. — Vol. 264. — No. 31. — P. 18818—18823.
7. Feller I., Vial A.B., Callahan W., Waldyke J. Use of vaccine and hyperimmune serum for protection against *Pseudomonas septicemia* // J. Trauma. — 1964. — Vol. 4. — No. 4. — P. 451—456.
8. Feng W., Huang Q., Wang Y., Yuan Q., Li X., Xia P., Sun F. Changes in the resistance and epidemiological characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* during a ten-year period // J. Microbiol. Immunol. Infect. — 2021. — Vol. 54. — No. 2. — P. 261—266.
9. Kim D.K., Kim J.J., Kim J.H., Woo Y.M., Kim S., Yoon D.W., Choi C.S., Kim I., Park W.J., Lee N., Jung S.B., Ahn B.Y., Nam S.W., Yoon S.M., Choi W.J. Comparison of two immunization schedules for a *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane proteins vaccine in burn patients // Vaccine. — 2000. — Vol. 19. — No. 9—10. — P. 1274—1283.
10. Langford D.T., Hiller J. Prospective, controlled study of a polyvalent pseudomonas vaccine in cystic fibrosis-three year results // Arch. Dis. Child. — 1984. — Vol. 59. — No. 12. — P. 1131—1134.
11. La Rosa R., Molin S., Johansen H.K. *Pseudomonas aeruginosa*: Persistence beyond antibiotic resistance // Trends Microbiol. — 2025. — Vol. 33. — No. 10. — P. 1076—1084.
12. Michalska M., Wolf P. *Pseudomonas* exotoxin A: optimized by evolution for effective killing // Front Microbiol. — 2015. — Vol. 6. — Art. 963. doi: 10.3389/fmicb.2015.00963
13. Polk H.C., jr, Borden S., Aldrete J.A. Prevention of pseudomonas respiratory infection in a surgical intensive care unit // Ann. Surg. — 1973. — Vol. 177. — No. 5. — P. 607—615.
14. Sachs A. Active immunoprophylaxis in burns with a new multivalent vaccine // Lancet. — 1970. — Vol. 296. — No. 7680. — P. 959—961.
15. Santamarina-Fernández R., Fuentes-Valverde V., Silva-Rodríguez A., García P., Moscoso M., Bou G. *Pseudomonas aeruginosa* vaccine development: Lessons, challenges, and future innovations // Int. J. Mol. Sci. — 2025. — Vol. 26. — No. 5. — Art. 2012. doi: 10.3390/ijms26052012
16. Staczek J., Gilleland L.B., van der Heyde H.C., Gilleland H.E. DNA vaccines against chronic lung infections by *Pseudomonas aeruginosa* // FEMS Immunol. Med. Microbiol. — 2003. — Vol. 37. — No. 2-3. — P. 147—153.
17. Stanislavsky E.S., Balayan S.S., Sergienko A.I., Makarenko T.A., Edvabnaya L.S., Krohina M.A., Rusanov V.M. Clinico-immunological trials of *Pseudomonas aeruginosa* vaccine // Vaccine. — 1991. — Vol. 9. — No. 7. — P. 491—494.
18. The QIAexpressionist™: A handbook for high-level expression and purification of 6xHis-tagged proteins. — Hilden, Germany: Qiagen, 2001. — 136 p.

References

1. Ashmarin IP, Vorob'yev AA. Statisticheskiye metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh. Leningrad: Meditsina, 1962: 180 (in Russian).
2. Makarenko TA, Stanislavskiy ES. Immunologicheskoye izucheniye belkov kletochnoy stenki Pseudomonas aeruginosa. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii 1996; 73(2):7—9 (in Russian).
3. Mikhaylova NA, Kunyagina OV, Kuznetsova TN, Sadykova AF, Brodvinova NS, Bodrova TN. Izucheniye bezopasnosti, reaktogennosti i antigennosti anatoksina Pseudomonas aeruginosa na dobrovol'tsakh. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii 1995; 72(3): 89—92 (in Russian).

4. Osterman LA. Metody issledovaniya belkov i nukleinovykh kislot: Elektroforez i ul'tratsentrifugirovaniye (prakticheskoye posobiye). Moscow: Nauka, 1981: 288 (in Russian).
5. Chen TY, Shang HF, Chen TL, Lin CP, Hui CF, Hwang J. Recombinant protein composed of *Pseudomonas* exotoxin A, outer membrane proteins I and F as vaccine against P. aeruginosa infection. Appl Microbiol Biotechnol 1999; 52(4):524–533.
6. Chow JT, Chen MS, Wu HC, Hwang J. Identification of the carboxyl-terminal amino acids important for the ADP-ribosylation activity of *Pseudomonas* exotoxin A. J Biol Chem 1989; 264(31):18818–18823.
7. Feller I, Vial AB, Callahan W, Waldyke J. Use of vaccine and hyperimmune serum for protection against *Pseudomonas septicemia*. J Trauma 1964; 4(4):451–456.
8. Feng W, Huang Q, Wang Y, Yuan Q, Li X, Xia P, Sun F. Changes in the resistance and epidemiological characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* during a ten-year period. J Microbiol Immunol Infect 2021; 54(2):261–266.
9. Kim DK, Kim JJ, Kim JH, Woo YM, Kim S, Yoon DW, Choi CS, Kim I, Park WJ, Lee N, Jung SB, Ahn BY, Nam SW, Yoon SM, Choi WJ. Comparison of two immunization schedules for a *Pseudomonas aeruginosa* outer membrane proteins vaccine in burn patients. Vaccine 2000; 19(9–10):1274–1283.
10. Langford DT, Hiller J. Prospective, controlled study of a polyvalent pseudomonas vaccine in cystic fibrosis-three year results. Arch Dis Child 1984; 59(12):1131–1134.
11. La Rosa R, Molin S, Johansen HK. *Pseudomonas aeruginosa*: Persistence beyond antibiotic resistance. Trends Microbiol 2025; 33(10):1076–1084.
12. Michalska M, Wolf P. *Pseudomonas* exotoxin A: optimized by evolution for effective killing. Front Microbiol 2015; 6:963. doi: 10.3389/fmicb.2015.00963
13. Polk HC, jr, Borden S, Aldrete JA. Prevention of pseudomonas respiratory infection in a surgical intensive care unit. Ann Surg 1973; 177(5):607–615.
14. Sachs A. Active immunoprophylaxis in burns with a new multivalent vaccine. Lancet 1970; 296(7680):959–961.
15. Santamarina-Fernández R, Fuentes-Valverde V, Silva-Rodríguez A, García P, Moscoso M, Bou G. *Pseudomonas aeruginosa* vaccine development: Lessons, challenges, and future innovations. Int J Mol Sci 2025; 26(5):2012. doi: 10.3390/ijms26052012
16. Staczek J, Gilleland LB, van der Heyde HC, Gilleland HE. DNA vaccines against chronic lung infections by *Pseudomonas aeruginosa*. FEMS Immunol Med Microbiol 2003; 37(2)-3:147–153.
17. Stanislavsky ES, Balayan SS, Sergienko AI, Makarenko TA, Edvabnaya LS, Krohina MA, Rusanov VM. Clinico-immunological trials of *Pseudomonas aeruginosa* vaccine. Vaccine 1991; 9(7):491–494.
18. The QIAexpressionist™: A handbook for high-level expression and purification of 6xHis-tagged proteins. Hilden, Germany: Qiagen, 2001: 136.

CONSTRUCTION OF RECOMBINANT PROTECTIVE ANTIGENS OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA AND EVALUATION OF THEIR VACCINE POTENTIAL

A.A. KALOSHIN

Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia

The development of anti-*Pseudomonas* vaccines is an urgent task, driven by the increasing antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*. Therefore, the aim of this study was to create and perform an immunobiological analysis of the recombinant forms of the key *P. aeruginosa* antigens: the outer membrane proteins OprF, OprL, OprI, and the deletion-based non-toxic form of exotoxin A (toxoid). The recombinant antigens were synthesized in *Escherichia coli*, purified by nickel-sepharose affinity chromatography, and were studied in a murine model. OprF and OprL induced high titers of specific IgG, whereas OprI exhibited weaker immunogenic activity. In models of lethal infection with non-toxigenic (PA170015) and toxigenic (PA103) strains, as well as in a model of intoxication with recombinant exotoxin A, the optimal protective doses were determined to be 25 μg for the recombinant outer membrane proteins (OprF and OprL) and 50 μg for the toxoid. To enhance the efficacy of the immune response, combined immunization was investigated. It was found that the use of a complex of OprF and the toxoid resulted in a synergistic effect. In contrast, complexes of OprL with either OprF or the toxoid were comparable in efficacy to monovalent immunization, and the use of a three-component mixture (OprF, OprL, and the toxoid) showed no advantage over the combination of OprF and the toxoid. Thus, this study demonstrates the potential of using the recombinant OprF protein and the toxoid as components of a combined anti-*Pseudomonas* vaccine.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; immune response; recombinant proteins; outer membrane proteins; OprF; OprL; OprI; exotoxin A; toxoid.

Address:
Kaloshin A.A., Ph.D. in Biology
Leading researcher, laboratory of protective antigens,
I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera
E-mail: alex-k-1973@yandex.ru

Для цитирования:
Калошин А.А. Конструирование рекомбинантных протективных антигенов *Pseudomonas aeruginosa* и оценка их вакцинного потенциала. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2):36–44.

For citation:
Kaloshin A.A. Construction of recombinant protective antigens of *Pseudomonas aeruginosa* and evaluation of their vaccine potential. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2): 36–44 (in Russian).

УДК 579.842.16:578.32:578.52

БИОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ НОВЫХ БАКТЕРИОФАГОВ ПОЛИРЕЗИСТЕНТНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Ю.В. СИЗОВА*, М.П. ПОГОЖОВА, А.В. ТЮРИНА, Н.Е. ГАЕВСКАЯ, М.Г. МЕЛОЯН, А.С. АНИСИМОВА, М.В. ЦИМБАЛИСТОВА

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону

Klebsiella pneumoniae — возбудитель, относящийся к группе ESKAPE патогенов, широко распространенный в природе и в популяции человека, зачастую являющийся причиной развития тяжелых форм пневмонии. В связи с постоянно возрастающим количеством полиантибиотикорезистентных штаммов в последние годы возникла необходимость регулярного поиска эффективных лечебных и профилактических препаратов, в частности, новых рас фагов, что и явилось целью данной работы. В результате проведенного исследования из 30 антибиотикоустойчивых штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из клинического материала (мокроты) от больных с внебольничными пневмониями, были получены 4 бактериофага, отнесенных к классу *Caudoviricetes*, изучены их биологические свойства, и дана генетическая характеристика. Только один из них — Phage-Kl-pnm-6 представляет собой вирулентную форму и может быть использован в качестве компонента фаговых препаратов. Остальные фаги являются умеренными и несут в своем геноме множество интеграз и транспозаз, профаговые плазмид-ассоциированные белки, репрессор транскрипции SOS-ответа LexA, гены токсина и пр. Выявлена высокая степень гомологии Phage-Kl-pnm-3 с фагами из GenBank, полученными из человеческого метагенома при хронических заболеваниях.

Ключевые слова: клебсиеллы, бактериофаги, вирулентные формы, умеренные фаги, антибиотикоустойчивость.

Введение

В последние годы все чаще от больных выделяются полиантибиотикорезистентные штаммы возбудителей инфекций, в том числе *Klebsiella pneumoniae*, в большинстве случаев являющаяся причиной развития тяжелой формы пневмонии как внутрибольничного, так и внебольничного генеза. Данный возбудитель представляет собой широко распространенную в природе (включая воду, почву и живые организмы) грамотрицательную покрытую капсулой неподвижную бактерию, относящуюся к семейству *Enterobacteriaceae*, которые могут контаминировать различные объекты в медицинских организациях, в том числе используемое при работе оборудование, и сохраняться при комнатной температуре длительное время.

Человек является главным резервуаром возбудителя. Клебсиелла считается условно-патогенной бактерией: в популяции около 1—6% населения являются носителями *K. pneumoniae*, локализованной в носоглотке, 5—38% — носителями в кишечнике [5]. При этом главным источником распространения инфекции в больничных условиях является желудочно-кишечное носительство [7].

Как правило, колонизируя слизистую оболочку ротоглотки и желудочно-кишечного тракта, бактерии могут распространяться и на другие ткани, вызывая опасные для жизни инфекционные заболевания, прежде всего пневмонии, что особо актуально в госпитальных условиях, где они способны приобретать множественную антибиотикорезистентность [1, 10]. В связи с этим, возникает необходимость поиска и разработки альтернативных терапевтических и профилактических препаратов, роль которых в последние годы часто отводится вирулентным бактериофагам, являющимся природными антагонистами бактерий, и имеющим важное значение в регуляции численности бактериальных популяций. В 30—40-е годы XX века бактериофаги активно применяли в нашей стране в различных областях медицины, но начало промышленного производства антибактериальных препаратов, а также необходимость подбора бактериофагов под конкретного возбудителя инфекции, отодвинули проведение крупномасштабных исследований и широкое применение бактериофагов на долгое время. Развитие молекулярно-био-

© 2026 г. Сизова Ю.В., Погожова М.П., Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Мелоян М.Г., Анисимова А.С., Цимбалистова М.В.

*** Автор для переписки:**
Сизова Юлия Владимировна
к.б.н., ведущий научный сотрудник ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора
E-mail: sizova_yuv@antiplague.ru

логических методов, а также технологий секвенирования геномов способствовали разработке новых подходов к отбору и применению бактериофагов, что привело к возобновлению научных исследований в этом направлении [2, 9, 11]. В настоящее время бактериофаги рассматриваются многими учеными в качестве альтернативы или дополнения к противомикробной терапии. Бактериофаги для лечения различных инфекций используются давно, однако естественным ограничением их применения является узкий спектр хозяев, обусловливающий необходимость регулярного поиска новых рас фагов активных в отношении полирезистентных штаммов.

Целью исследования явилось выделение новых бактериофагов из полирезистентных штаммов *K. pneumoniae* с последующей их биологической и генетической характеристикой.

Материалы и методы

В работе использовали 30 полиантибиотикорезистентных штаммов *K. pneumoniae*, полученных из клинического материала (мокроты) от больных с внебольничными пневмониями, поступивших в один из стационаров г. Ростова-на-Дону. Изучаемые культуры инактивировали хлороформом с последующим применением двухслойного метода для изоляции фага. Первоначально индикаторной являлась каждая культура исследуемых штаммов возбудителей пневмоний (перекрестный метод выделения бактериофагов), после обнаружения — размножали на отдельных выбранных индикаторных штаммах. Отмечали форму и величину негативных колоний (н.к.), характер краев, степень прозрачности, наличие вторичного роста и зоны неполного лизиса по периферии. Моноизоляты получали последовательным трехкратным выделением из отдельных негативных колоний.

Титр бактериофагов устанавливали по методу Грациа. Литическую активность оценивали на 50 клинических штаммах *K. pneumoniae*, а специфичность — с использованием 50 штаммов: *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter kobei*, *Klebsiella oxytoca*, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* разных серогрупп, *Escherichia coli*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella dysenteriae*, хранящихся в коллекции ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Изучаемые бактериофаги наносили дорожками на двухслойный мясо-пептонный агар с испытуемыми штаммами. Оценку литической активности проводили после инкубации в течение 18–20 часов при 37 °С по крестовой системе [4].

С целью изучения влияния температур бульонную культуру бактериофага (10^9 БОЕ/мл) прогревали при температуре 60 и 70 °С в течение 30 и 60 минут, а также при 80 °С — 10 и 30 мин.

Для исследования морфологической структуры выделенных бактериофагов с помощью электронной микроскопии полученный препарат центрифугировали, в супернатант добавляли полиэтиленгликоль 6000, вновь центрифугировали и ресуспендировали осадок деионизованной водой. Образцы контрастировали 2% водным раствором уранилацетата и после высушивания просматривали в трансмиссионном электронном микроскопе «JEM-1011» (JEOL Ltd, Япония) с использованием CDC-камеры «Olimpus-SIS-Veleta» (EMSIS, Германия) и программного обеспечения «iTEM TEM imaging Platform» (EMSIS, Германия).

Выделение ДНК осуществляли комплектом реагентов «РИБО-преп» (АмплиСенс, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Геномная последовательность бактериофагов была определена с помощью секвенатора DNBSEQ-G50 (MGI, Китай).

При первичном биоинформационном анализе использовали программы:

- FastQC (https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/),
- Trimmomatic (https://anaconda.org/bioconda/trimmomatic),
- Lighter (https://github.com/mourisl/Lighter/),
- SPAdes (https://github.com/ablab/spades).

Визуализацию степени гомологии между фагами в виде дерева осуществляли при помощи программы Unipro UGENE 52.1 (https://ugene.net/ru/). Сравнение собранных геномов бактериофагов с аннотированными последовательностями известных бактериофагов проводили при помощи алгоритма BLASTN 2.2.29 (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov). Прогнозирование функций белков в геноме бактериофагов осуществляли при помощи сравнения с гомологичными последовательностями, функции которых уже известны при помощи алгоритма программы BLASTX 2.12.0+ (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi), а также базы данных кластеров ортологичных генов (COGs) [6]. Наличие или отсутствие генов, характерных для умеренных бактериофагов, проверяли при помощи программы PhageAnalyzer 2.0 (http://antiplague.ru/phageanalyzer/) [3].

Результаты и обсуждения

В результате проведенной работы из 30 антибиотикоустойчивых штаммов *K. pneumoniae* было выделено 4 бактериофага (рабочие названия Phage-Kl-pnm-3,

Phage-Kl-pnm-6, Phage-Kl-pnm-11/4506 и Phage-Kl-pnm-11/4321), которые размножали на отдельных выбранных индикаторных штаммах (таблица 1).

Были получены экспериментальные серии новых бактериофагов с показателями титра в диапазоне $n\times10^8$ – $n\times10^9$ *БОЕ/мл*. При оценке морфологии колоний бактериофагов было отмечено, что бактериофаг 3 образует на газоне штамма 4024 прозрачные н.к. диаметром 0,5–1,0 мм (рисунок 1А). У фага 6 на газоне индикаторной культуры *K. pneumoniae* 4321 отмечены н.к. диаметром 1,0 мм (рисунок 1Б). У фага 11 на обоих индикаторных штаммах (*K. pneumoniae* 4321 и 4506) зарегистрированы прозрачные н.к. круглой формы диаметром 0,5–1,0 мм (рисунок 1В).

При изучении морфологии методом электронной микроскопии выявлено, что выделенные бактериофаги имеют многогранную головку и короткий хвост, что позволило отнести их к классу *Caudoviricetes* (рисунок 2).

Таблица 1

Индикаторные штаммы бактериофагов *K. pneumoniae*

№ п/п	Вид микроорганизма	Phage-Kl-pnm-3	Phage-Kl-pnm-6	Phage-Kl-pnm-11
1.	*K. pneumoniae* 4321	-	++++	+++
2.	*K. pneumoniae* 4506	-	-	+++
3.	*K. pneumoniae* 4024	+++	-	-

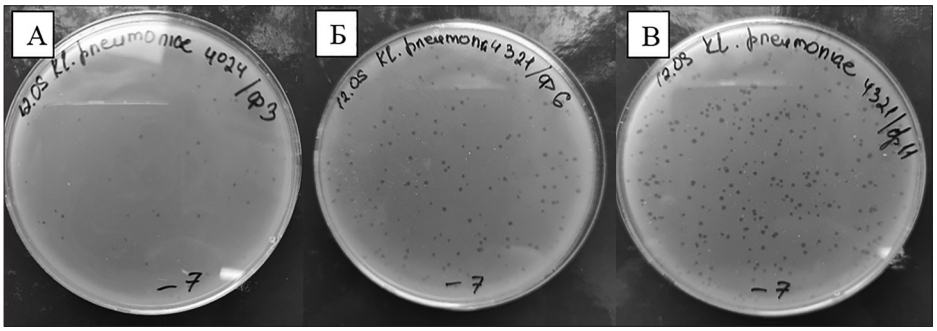


Рис. 1. Негативные колонии фагов *K. pneumoniae* на индикаторных штаммах.
А) Phage-Kl-pnm-3; Б) Phage-Kl-pnm-6; В) Phage-Kl-pnm-11

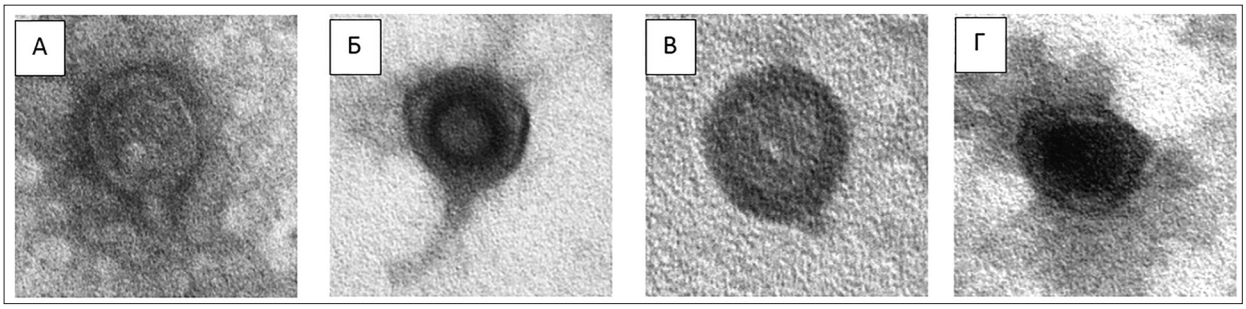


Рис. 2. Морфология бактериофагов в электронном микроскопе (Jeol JEM 1011, увеличение 200000).
А – Phage-Kl-pnm-3 на *K. pneumoniae* 4024; Б – Phage-Kl-pnm-6 на *K. pneumoniae* 4321;
В – Phage-Kl-pnm-11 на *K. pneumonia* 4506; Г – Phage-Kl-pnm-11 на *K. pneumonia* 4321.

Для оценки литической активности в работу взяты 50 штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от больных. Исследуемые бактериофаги обладали средней литической активностью, максимальное значение которой отмечалось у Phage-Kl-pnm-6 и составило 34% от всех исследованных культур клебсиелл, у Phage-Kl-pnm-3 – 24%, Phage-Kl-pnm-11/4506 – 12%, у Phage-Kl-pnm-11/4321 – 20%.

Специфичность бактериофагов в отношении хозяина подтверждена на наборе штаммов семейства *Vibrionaceae* и порядка *Enterobacteriales*. Исследуемые бактериофаги не лизировали культуры *E. cloacae*, *E. kobei*, *K. oxytoca*, *S. typhi*, *V. cholerae* разных серогрупп, *E. coli*, *S. paratyphi*, *S. dysenteriae*. Выделенные фаги были устойчивы к воздействию хлороформа.

Изучение влияния высоких температур на полученные бактериофаги проводили при температуре 60 и 70 °С в течение 30 и 60 минут, а также при 80 °С — 10 и 30 минут. Как оказалось, бактериофаги чувствительны к повышенным температурам: при прогревании в течение 30 минут при 60 °С у наиболее устойчивого Phage-Kl-pnm-3 титр снизился до 3×10^7 БОЕ/мл, а с увеличением экспозиции до 60 минут концентрация составила 6×10^6 БОЕ/мл, в то время как у наиболее чувствительного — Phage-Kl-pnm-6 до 3×10^5 и 3×10^4 БОЕ/мл соответственно. После прогревания при 70 °С в течение 10 минут титры снизились до $n\times10^1$ — 1×10^2 БОЕ/мл, а через 30 минут удалось обнаружить только единичные негативные колонии Phage-Kl-pnm-11. При 80 °С даже через 10 минут колонии бактериофагов обнаружены не были.

Биоинформационный анализ с использованием наиболее значимого выравнивания BLAST подтверждает, что все идентифицированные фаги *K. pneumoniae* отнесены к классу *Caudoviricetes*. Также установлено, что они не гомологичны друг другу (рисунок 3).

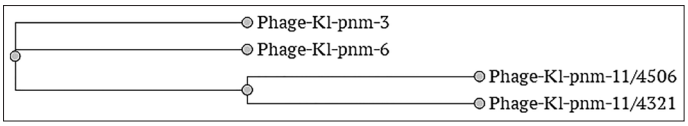


Рис. 3. Кладограмма для исследованных фагов *K. pneumoniae*.

Phage-Kl-pnm-3 имеет размер генома 95061 п.н. и G+C состав 55,4%. Является умеренным, так как содержит множество интеграз (GenBank: AAC39270.1 и др.) и транспозаз (GenBank: WP_420170149.1 и др.); профаговые плазмид-ассоциированные белки; белки, участвующие в установлении лизогении (Cro антирепрессор и CI репрессор транскрипции, репрессор транскрипции SOS-ответа LexA — опосредованная RecA автопептидаза); гены токсина (GenBank: YP_007947961.1). Также фаг кодирует анти-CBASS белок семейства Acb1, который противодействует защите, специфически разрушая циклические нуклеотидные сигналы, активирующие антифаговый иммунитет клетки-хозяина [8]. Примечательным является тот факт, что Phage-Kl-pnm-3 высокогомологичен фагам из GenBank, которые получены из человеческого метагенома при хронических заболеваниях.

Phage-Kl-pnm-6 имеет размер генома 53504 п.н. и G+C состав 53,1%. Является вирулентным и содержит структурные домены вириона и хвоста.

Фаги Phage-Kl-pnm-11/4506 и Phage-Kl-pnm-11/4321 являются умеренными, так как содержат множество интеграз. Также у фага Phage-Kl-pnm-11/4506 имеется токсин и белок анти-CBASS семейства Acb1 (таблица 2).

Таблица 2

Краткая генетическая характеристика Phage-Kl-pnm-11/4506 и Phage-Kl-pnm-11/4321

№ п/п	Название фага	Размер генома, п.н.	G+C состав, %	Значимые детерминанты (номер доступа GenBank, COGs)
1.	Phage-Kl-pnm-11/4506	48001	52,1	белок, содержащий домен литической трансгликозилазы (GenBank: WP_343509569 и др.); анти-CBASS белок семейства Acb1 (GenBank: WP_374171044.1); множество интеграз (GenBank: M31074.1; YP_007004331.1 и др.), токсин (GenBank: YP_007947961.1)
2.	Phage-Kl-pnm-11/4321	35117	51,4	фаг-ассоциированный хвостовой белок (COGs: COG5283); множество интеграз (GenBank: YP_001285625.1; YP_007003495.1 и др.)

В препаратах фагов Phage-Kl-pnm-3 и Phage-Kl-pnm-11/4321 обнаружены прокариотические мобильные элементы (транспозоны: размер геномов мобильных элементов — 5673 и 1058 п.н.; G+C состав — 56,9 и 53,02% соответственно), несущие гены антибиотикорезистентности к канамицину (GenBank: X02527.1; AJ249444.1).

У всех исследованных фагов *K. pneumoniae* обнаружены гены структурных белков вириона и хвоста, такие как терминазы, упаковывающие вирусную ДНК в капсид и фаг-ассоциированные хвостовые белки, а также выявлены бактериальные плазмидные и хромосомные гены, относящиеся к семейству *Enterobacteriaceae* (виды *E. coli*

и *E. cloacae complex*), что теоретически может приводить к единичным случаям межвидовой литической активности.

Заключение

Таким образом, при поиске альтернативных антимикробных агентов, из антибитикоустойчивых изолятов клинического материала были выделены новые бактериофаги, проведена оценка их биологических свойств и генетическая характеристика. Установлено, что изученные бактериофаги обладают умеренной литической активностью против клинических штаммов *K. pneumoniae*, с максимальной эффективностью у Phage-Kl-pnm-6 (34% лизиса). Фаги продемонстрировали узкую специфичность, воздействуя исключительно на *K. pneumoniae* и не проявляя активности в отношении других бактерий. Все исследуемые фаги оказались устойчивы к хлороформу, но показали выраженную термочувствительность – уже при 60 °C наблюдалось значительное снижение титра, а при 80 °C происходила полная инактивация в течение 10 минут. Наибольшей термостабильностью отличался Phage-Kl-pnm-3. Результаты биоинформационного анализа показали, что в основном встречался умеренный тип фагов (Phage-Kl-pnm-3, Phage-Kl-pnm-11/4506 и Phage-Kl-pnm-11/4321), которые несут детерминанты, обходящие антифаговый иммунитет клетки-хозяина, репрессоры транскрипции, токсины и интегразы, транспозоны, содержащие гены антибиотикорезистентности. Phage-Kl-pnm-6, являясь вирулентной формой вируса со средним уровнем литической активности, представляет определенный интерес в качестве нового компонента фагового препарата в связи с увеличением количества фагоустойчивых форм микроорганизмов.

Литература

1. Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Родионова М.С., Анамов Р.И., Поптцов О.И., Валиуллина И.Р., Насыбуллова З.З. Оценка литической активности бактериофагов в отношении *Klebsiella pneumoniae*, выделенных у детей с пневмококковым носительством // Практическая медицина. – 2023. – Т. 21. – № 5. – С. 80–85.
2. Белобородова Н.В., Гречко А.В., Гуркова М.М., Зурабов А.Ю., Зурабов Ф.М., Кузовлев А.Н., Меглей А.Ю., Петрова М.В., Попова В.М., Редкин И.В., Сергеев Н.И., Черневская Е.А., Юрьев М.Ю., Яковлев А.А. Адаптивная фаготерапия пациентов с рецидивирующими пневмониями (пилотное исследование) // Общая реаниматология. – 2021. – Т. 17. – № 6. – С. 4–14.
3. Тюрина А.В. Основные аспекты разработки экспериментального профилактического препарата на основе холерных бактериофагов: дис. канд. биол. наук. Ростов-на-Дону, 2025. – 150 с.
4. Федеральные клинические (методические) рекомендации по рациональному применению бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике. Протокол № 5 от 21.04.2014. URL: https://nasci.confreg.org/libs/files/04m.r_naski_rac._primenenie_bakteriofagov_2022g.pdf.pdf (дата обращения 08.07.26).
5. Фесенко О.В., Швайко С.Н. Пневмонии, вызванные *Klebsiella pneumoniae* (фридлендеровские пневмонии) // Практическая пульмонология. – 2019. – № 1. – С. 22–31.
6. Galperin M.Y., Vera Alvarez R., Karamycheva S., Makarova K.S., Wolf Y.I., Landsman D., Koonin E.V. COG database update 2024 // Nucleic Acids Res. – 2025. – Vol. 53. – No. D1. – P. D356–D363. doi: 10.1093/nar/gkae983.
7. Gorrie C.L., Mirceta M., Wick R.R., Edwards D.J., Thomson N.R., Strugnell R.A., Pratt N.F., Garlick J.S., Watson K.M., Pilcher D.V., McGloughlin S.A., Spelman D.W., Jenney A.W.J., Holt K.E. Gastrointestinal carriage is a major reservoir of *Klebsiella pneumoniae* infection in intensive care patients // Clinical Infectious Diseases. – 2017. – Vol. 65. – No. 2. – P. 208–215.
8. Hobbs S.J., Wein T., Lu A., Morehouse B.R., Schnabel J., Leavitt A., Yirmiya E., Sorek R., Kranzusch P.J. Phage anti-CBASS and anti-Pycsar nucleases subvert bacterial immunity // Nature. – 2022. – Vol. 605. – No. 7910. – P. 522–526.
9. Kutter E. Phage therapy: Bacteriophages as natural, self-replicating antimicrobials // Practical Handbook of Microbiology. – Third Edition. – CRC Press, 2015. – P. 883–908.
10. Paczosa M.K., Mecsas J. Klebsiella pneumoniae: going on the offense with a strong defense // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2016. – Vol. 80. – No. 3. – P. 629–661.
11. Saperkin N.V., Kovalishena O.V., Kvashnina D.V., Ruizendaal E., Scholten R. Efficiency of phage therapy in humans: systematic review // J. Infectology. – 2019. – Vol. 11. – P. 19–30.

References

1. Bayazitova LT, Tyupkina OF, Chazova TA, Rodionova MS, Anamov RI, Poptsov OI, Valiullina IR, Nasybullova ZZ. Otsenka liticheskoy aktivnosti bakteriofagov v otnoshenii *Klebsiella pneumoniae*, vydelennykh u detey s pnevmokokkovym nositel'stvom. Prakticheskaya meditsina 2023; 21(5):80–85 (in Russian).
2. Beloborodova NV, Grechko AV, Gurkova MM, Zurabov AYu, Zurabov FM, Kuzovlev AN, Meglei AYu, Petrova MV, Popova VM, Redkin IV, Sergeev NI, Chernevskaya EA, Yuryev MYu, Yakovlev AA. Adaptivnaya fagoterapiya patsiyentov s retsidiviruyushchimi pnevmoniyami (pilotnoye

issledovaniye). Obshchaya reanimatologiya 2021; 17(6):4—14 (in Russian).
3. Tyurina AV. Osnovnyye aspekty razrabotki eksperimental'nogo profilakticheskogo preparata na osnove kholernykh bakteriofagov: dis kand biol nauk. Rostov-na-Donu, 2025: 150 (in Russian).
4. Federal'nyye klinicheskiye (metodicheskiye) rekomendatsii po ratsional'nomu primeneniyu bakteriofagov v lechebnoy i protivoepidemicheskoy praktike. Protokol № 5 ot 21.04.2014. URL: https://nasci.confreg.org/libs/files/04m.r_naski_rac._primenenie_bakteriofagov_2022g.pdf.pdf (date of access 08.07.26) (in Russian).
5. Fesenko OV, Shvayko SN. Pnevmonii, vyzvannyye *Klebsiella pneumoniae* (fridlenderovskiye pnevmonii). Prakticheskaya pul'monologiya 2019; 1:22—31 (in Russian).
6. Galperin MY, Vera Alvarez R, Karamycheva S, Makarova KS, Wolf YI, Landsman D, Koonin EV. COG database update 2024. Nucleic Acids Res 2025; 53. D1:D356—D363. doi: 10.1093/nar/gkae983.
7. Gorrie CL, Mirceta M, Wick RR, Edwards DJ, Thomson NR, Strugnell RA, Pratt NF, Garlick JS, Watson KM, Pilcher DV, McGloughlin SA, Spelman DW, Jenney AWJ, Holt KE. Gastrointestinal carriage is a major reservoir of *Klebsiella pneumoniae* infection in intensive care patients. Clinical Infectious Diseases 2017; 65(2):208—215.
8. Hobbs SJ, Wein T, Lu A, Morehouse BR, Schnabel J, Leavitt A, Yirmiya E, Sorek R, Kranzusch PJ. Phage anti-CBASS and anti-Pycsar nucleases subvert bacterial immunity. Nature 2022; 605(7910):522—526.
9. Kutter E. Phage therapy: Bacteriophages as natural, self-replicating antimicrobials. Practical Handbook of Microbiology. Third Edition: C Press, 2015:883—908.
10. Paczosa MK, Mecsas J. Klebsiella pneumoniae: going on the offense with a strong defense. Microbiology and Molecular Biology Reviews 2016; 80(3):629—661.
11. Saperkin NV, Kovalishena OV, Kvashnina DV, Ruizendaal E, Scholten R. Efficiency of phage therapy in humans: systematic review. J. Infectology 2019; 11:19—30.

OF MULTIDRUG-RESIS BIOLOGICAL AND GENETIC CHARACTERISTICS OF NEW BACTERIOPHAGES TANT CLINICAL ISOLATES OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

Yu.V. SIZOVA, M.P. POGOZHOVA, A.V. TYURINA, N.E. GAEVSKAYA, M.G. MELOYAN, A.S. ANISIMOVA, M.V. TSIMBALISTOVA

Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don

Klebsiella pneumoniae is a pathogen belonging to the ESKAPE group of pathogens, widespread in nature and in the human population, often causing severe forms of pneumonia. In connection with the constantly increasing number of polyantibiotic-resistant strains in recent years, there is a need for a regular search for effective therapeutic and prophylactic drugs and, in particular, new phage races, which was the purpose of this work. As a result of the study, from 30 antibiotic-resistant strains of *K. pneumonia* isolated from clinical material (sputum) of patients with community-acquired pneumonia, 4 bacteriophages classified as *Caudoviricetes* were obtained, their biological properties were studied and genetic characteristics were given. Only one of them, Phage-Kl-pnm-6, is a virulent form and can be used as a component of phage preparations. The remaining phages are temperate and carry in their genome many integrases and transposases, prophage plasmid-associated proteins, the SOS response transcription repressor LexA, toxin genes, etc. A high degree of homology of Phage-Kl-pnm-3 with phages from GenBank obtained from the human metagenome in chronic diseases was revealed.

Keywords: *Klebsiella*, bacteriophages, virulent forms, temperate phages, antibiotic resistance.

Address:
Sizova Yu.V., Ph.D. in Biology
leading researcher, Rostov-on-Don Anti-Plague
Institute of Rospotrebnadzor
E-mail: sizova_yuv@antiplague.ru

Для цитирования:
Сизова Ю.В., Погожова М.П., Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Мелоян М.Г., Анисимова А.С., Цимбалистова М.В. Биологические и генетические характеристики новых бактериофагов полирезистентных клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2):45—51.

For citation:
Sizova Yu.V., Pogozhova M.P., Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Meloyan M.G., Anisimova A.S., Tsimbalistova M.V. Biological and genetic characteristics of new bacteriophages of multidrug-resistant clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2): 45–51 (in Russian).

УДК 57.083.134

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗАТ ФИБРИНА КАК ОСНОВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В ФКУН РОССИЙСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ «МИКРОБ» РОСПОТРЕБНАДЗОРА (ПОДВЕДЕНИЕ ИТОГОВ ИССЛЕДОВАНИЙ, НОВЫЕ ДАННЫЕ, ПЕРСПЕКТИВЫ)

К.И. ХОЛМАТОВ[1*], М.В. ОВЧИННИКОВА[1], А.В. КОМИССАРОВ[1], О.А. ВОЛОХ[1,2], Н.И. ВАХРУШИНА[1], С.В. АСТАФЬЕВА[1], В.А. БЕНЦЛЕР[1], М.М. ЧАЛБУШЕВ[1], И.М. ЖУЛИДОВ[1], С.В. ГЕНЕРАЛОВ[1], Р.Р. САЛИХОВ[1], В.Р. ВОЛЬНИКОВ[1], Д.Н. БИБИКОВ[1], Г.Н. ГИНЕНКО[1], Е.А. ГЛАЗКОВА[1], О.С. ЗИНИНА[1], Е.Г. АБРАМОВА[1,2], А.К. НИКИФОРОВ [1,2]

[1]ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов.
[2] ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», г. Саратов.

Приведены результаты сравнительного анализа жидкой и сухой форм ферментативного гидролизата фибрина, полученного методом гидролиза с использованием нативной поджелудочной железы крупного рогатого скота по нормируемым физико-химическим показателям качества. Проведено сопоставление результатов изучения их аминокислотного состава. Обобщен опыт использования ферментативного гидролизата фибрина в составе жидких питательных сред в сравнении с традиционно используемыми питательными средами в производстве иммунобиологических препаратов для культивирования бактерий родов *Escherichia, Francisella, Vibrio, Yersinia, Shigella, Salmonella* и клеточных линий *Vero* и *BHK-21* для репродукции вируса бешенства «Москва 3253». Показаны перспективы применения ферментативного гидролизата фибрина в производстве препаратов для фагодиагностики чумы и холеры.

Ключевые слова: ферментативный гидролизат, фибрин, питательная среда, аминокислотный состав, культивирование микроорганизмов, эффективность питательной среды.

Введение

Одной из наиболее критических стадий, влияющих на качество иммунобиологических препаратов, является культивирование продуцентов на производственных питательных средах (ПС) [1, 17], которые должны обеспечивать максимальное накопление жизнеспособной микробной массы или продуктов метаболизма [2, 4]. В качестве основного компонента питания микроорганизмов в бактериальных и, частично, в культуральных ПС используют белковые автолизаты, перевары, настои, но чаще всего гидролизаты [4, 14, 29, 36]. Стабильные показатели качества каждой серии гидролизата, как при производстве, так и в течение срока годности, позволяют изготавливать сбалансированные по компонентному составу ПС, которые обеспечивают устойчивые показатели при культивировании микроорганизмов. Физико-химические и биологические показатели качества ферментативных гидролизатов и ПС регламентированы в нормативной документации (НД) [11, 24]. Производители изготавливают ПС в соответствии с приведенной в фармакопее рецептурой и инструкцией производителя [35], или оценивают пригодность ПС по показателю эффективности и накоплению бактериальной массы или продуктов метаболизма, отвечающих требованиям производственной НД.

В производстве белковых гидролизатов остается актуальной проблема замены дорогостоящего пищевого белкового сырья на альтернативное, экономически выгодное и доступное. Определяющую роль в данном вопросе играют прежде всего биохимические показатели состава

© 2026 г. Холматов К.И., Овчинникова М.В., Комиссаров А.В., Волох О.А., Вахрушина Н.И., Астафьева С.В., Бенцлер В.А., Чалбушев М.М., Жулидов И.М., Генералов С.В., Салихов Р.Р., Вольников В.Р., Бибиков Д.Н., Гиненко Г.Н., Глазкова Е.А., Зинина О.С., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К.

*** Автор для переписки:**
Холматов Константин Игирович
научный сотрудник ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Email: kholmatov_ki@microbe.ru

исходного первичного продукта, от которых зависит выбор способа и режимов его переработки с целью наиболее полного и эффективного использования [9, 14, 22, 36]. Во ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора проводятся экспериментальные работы, направленные на развитие малоотходных технологий в производстве профилактических иммунобиологических лекарственных препаратов, при проведении которых был разработан способ гидролиза белка фибрина нативной поджелудочной железой крупного рогатого скота, получены сухая и жидкая формы ферментативного гидролизата фибрина (ФГФ) [28, 32, 37]. Исследованы физико-химические показатели нескольких серий ФГФ [16, 17, 28], а также разработаны бактериальные и культуральные ПС на их основе [28, 30, 31].

Получение сухого ФГФ вызвало необходимость проведения сравнительного анализа физико-химических показателей качества жидкой и сухой форм ФГФ. В НД [11] на производство панкреатических гидролизатов для бактериальных ПС регламентирован показатель содержания аминокислот в готовых препаратах, что обусловило потребность исследования аминокислотного состава сухого ФГФ и сравнение его с данными литературы. Накопленный опыт использования ФГФ в качестве основы ПС в производстве иммунобиологических препаратов, выпускаемых ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, стимулировал как оценку итогов, так и дальнейшие перспективы его применения.

Цель работы — проведение сравнительного анализа физико-химических показателей качества жидкой и сухой форм ФГФ с определением аминокислотного состава препарата «Ферментативный гидролизат фибрина сухой» и сравнение эффективности жидких ПС на его основе с традиционно используемыми ПС в производстве иммунобиологических препаратов.

Материалы и методы

Производство ФГФ. Сырье получали из иммунной плазмы крови лошадей-продуцентов, предварительно смешав ее с 30% раствором кальция хлорида из расчета 2,6 см^3 на 1 дм^3 плазмы. Плазму выдерживали в течение 18 ч при температуре 6±2 °С, после чего сгусток фибрина разрушали с помощью гомогенизатора (Bosch, Германия). Фибрин от сыворотки отделяли на сепараторе АСГ-3М (Плавский машиностроительный завод, Россия). Накапливали и хранили в морозильном ларе Dancar DK 630 (Италхолод, Россия) при температуре от -20 °С до -16 °С.

Получение жидкой основы бактериальных ПС из фибрина выполняли по способу, приведенному в патенте [28]. После декантации концентрировали на вакуум-выпарной установке УВВ-50 (Техника и технология, Россия) до достижения плотности 15–18 г/см^3. Для получения сухой формы ФГФ высушивание препарата осуществляли конвекционным способом на сушильной установке распылительного типа КЯУЛ 101325.002 (ИТФ Элмаш-Микро, Россия).

Контроль физико-химических показателей ФГФ. Внешний вид сухого ФГФ, показатели цвета, прозрачности и растворимости контролировали визуально в проходящем свете. Определение общего азота по методу Несслера и содержание полипептидов в биуретовой реакции проводили на фотоколориметре КФК-2 (ЗОМЗ, Россия). Аминный азот определяли методом формольного титрования на анализаторе жидкости Эксперт-001 (Эконикс-Эксперт, Россия). Расщепление белка определяли по отношению аминного и общего азота. Для определения сухого остатка использовали электрический колбонагреватель LH-250 (LOIP, Россия), сухожаровой шкаф FED 400 RS (Binder, Германия) и весы лабораторные электронные Adventurer Pro RV313 (Ohaus Europe, Швейцария). Водородный показатель pH определяли потенциометрически на анализаторе жидкости Эксперт-001 (Эконикс-Эксперт, Россия). Влажность определяли в навеске не менее 0,5 г сухого ФГФ на анализаторе влажности МВ-35 (Ohaus, США). Следы непереваренного белка определяли в реакции Требуле с 20% раствором трихлоруксусной кислоты.

Питательные среды. Состав ПС на основе ФГФ варьировался в зависимости от потребностей культивируемых микроорганизмов по показателям аминного азота, содержанию кофакторов органической и неорганической природы, водородному показателю. В качестве контрольных ПС использовали коммерческие составы ПС на основе панкреатического гидролизата рыбокостной муки — ПГРМ (ГНЦ ПМБ, Оболенск), панкреатического гидролизата казеина — ПГК (ГНЦ ПМБ, Оболенск), пептона Мартена (ГНЦ ПМБ, Оболенск), ПС на основе ферментативного гидролизати мяса по Хоттингеру — ГХ и ПГК лабораторного изготовления [11, 14, 20].

Бактерии. В качестве модельных штаммов использовали *Escherichia coli* 3912/41; *Yersinia pestis* EV Научно-исследовательского института эпидемиологии и гигиены (НИИЭГ); *Y. pseudotuberculosis* 6, 31, 68, 69, 70; *Y. entercolitica* 81-79; *Vibrio cholerae* O1 569B, KM68, KM76, M-41, 145, eltor 75, KM234, неO1 105/неO139 169-68; *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ; *Shigella sonnei*

37, 714; *Salmonella typhi abdominalis* 49; *S. paratyphi* B625. Все штаммы получены из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российского противочумного института «Микроб» Роспотребнадзора.

Клеточные линии. Использовали клеточные линии *Vero* (клетки почки африканской зеленой мартышки) и *BHK-21* (клетки почки сирийского хомяка), полученные из коллекции ООО «Биолот» (Россия). Обе культуры предварительно были исследованы на отсутствие микоплазм.

Вирусы. Применяли фиксированный штамм вируса бешенства «Москва 3253» (номер депозита 61/91, пассаж 3), который был получен из ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения (Москва, Россия) и адаптирован к репродукции в клетках *Vero*.

Бактериофаги. Использовали чумные (Покровской и Л-413С) и холерные (XII, XV, С и 182/154) бактериофаги. Все культуры получены из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российского противочумного института «Микроб» Роспотребнадзора.

Методы культивирования. Эффективность жидких ПС определяли в условиях малообъемного культивирования в колбах Эрленмейера (250 мл) на термостатируемом шейкер-инкубаторе Multitron II (Infors, Швейцария) и в лабораторном биореакторе Biostat A (Sartorius, Германия) с рабочим объемом 1 л. Масштабированное глубинное культивирование проводили в пилотном биореакторе F3-50 (Bionet Engineering, Испания) с рабочим объемом 50 л и системой автоматического поддержания параметров культивирования микроорганизмов. Культивирование клеточных культур и дальнейшее накопление вируса бешенства проводили стационарным методом в культуральных флаконах с площадью рабочей поверхности 75 см^2 (Orange Scientific, Бельгия) в CO_2 инкубаторе MCO-15AC (Sanyo, Япония). Накопление чумных (Покровской и Л-413С) и холерных (XII, XV, С и 182/154) бактериофагов проводили в условиях малообъемного культивирования в колбах Эрленмейера (250 мл). Параметры культивирований описаны в ранее опубликованных работах [1, 2, 5, 6, 8, 10, 13, 15–17, 19, 25–27, 33].

Эффективность ПС определяли по накоплению биомассы (по концентрации м.к./мл или г/л), по биосинтезу антигенов (обратные титры реакции пассивного иммунного гемолиза (РПИГ), реакции диффузной преципитации (РДП) и мкг/мл в иммуноферментном анализе дот-иммуноанализ/GM-1 ELISA), по жизнеспособности культуры после высева на плотную среду. Концентрацию биомассы определяли по отраслевым стандартным образцам мутности ОСО-42-28-85-П (5 МЕ и 10 МЕ) и турбидиметрическим методом при OD 600 нм. Контроль адсорбционной активности штаммов-адсорбентов оценивали в реакции агглютинации на стекле. Количество и активность фаговых частиц осуществляли методом агаровых слоев по Грациа. Контроль специфичности действия бактериофагов проводили по методу Фишера.

Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления средней арифметической и стандартной ошибки средней арифметической, для сравнения групп используя t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ физико-химических показателей качества ФГФ. Результаты исследования физико-химических показателей экспериментальных серий ФГФ отражены в таблице 1.

Таблица 1

Физико-химические показатели экспериментальных серий ФГФ

№ п/п	Показатель	Норма для жидкой формы по ГОСТ 29311-92 [11]	ФГФ (жидкая форма) [16, 28]	ФГФ (сухая форма)**
1	Прозрачность (внешний вид*), цвет (растворимость*)	прозрачная жидкость коричневого цвета	прозрачная жидкость коричневого цвета	мелкодисперсный порошок с нежно-желтым оттенком, полностью растворимый в течение 2 мин, прозрачный
3	Сухой остаток, %	не нормируется	7,06±0,56	8,78±0,20
4	Влажность*, %	не более 5	-	2,4±0,2
5	Полипептиды, %	не менее 2,5	2,4±0,1	2,55±0,05
6	Общий азот, %	не менее 1,0	1,10±0,17	1,47±0,03
7	Аминный азот, %	не менее 0,5	0,6±0,1	0,73±0,03
8	Расщепление белка, %	не нормируется	52,00±4,02	53,7±1,7
9	Следы непереваренного белка	не нормируется	отсутствие	отсутствие
17	pH	не нормируется	6,61±0,12	6,8±0,2

Примечание: * – для сухой формы, согласно МУК 4.2.2316-08 [24]; ** – в 5% растворе.

При проведении сравнительного анализа физико-химических показателей качества жидкой и сухой форм ФГФ выявлены равные, в пределах статистической ошибки, количественные значения исследуемых показателей. Это обстоятельство позволяет сделать вывод об отсутствии влияния процесса высушивания на качество ФГФ. Также следует сказать о том, что представленные данные свидетельствуют о соответствии сухой и жидкой форм ФГФ требованиям НД, предъявляемым к панкреатическим гидролизатам для бактериальных ПС [11].

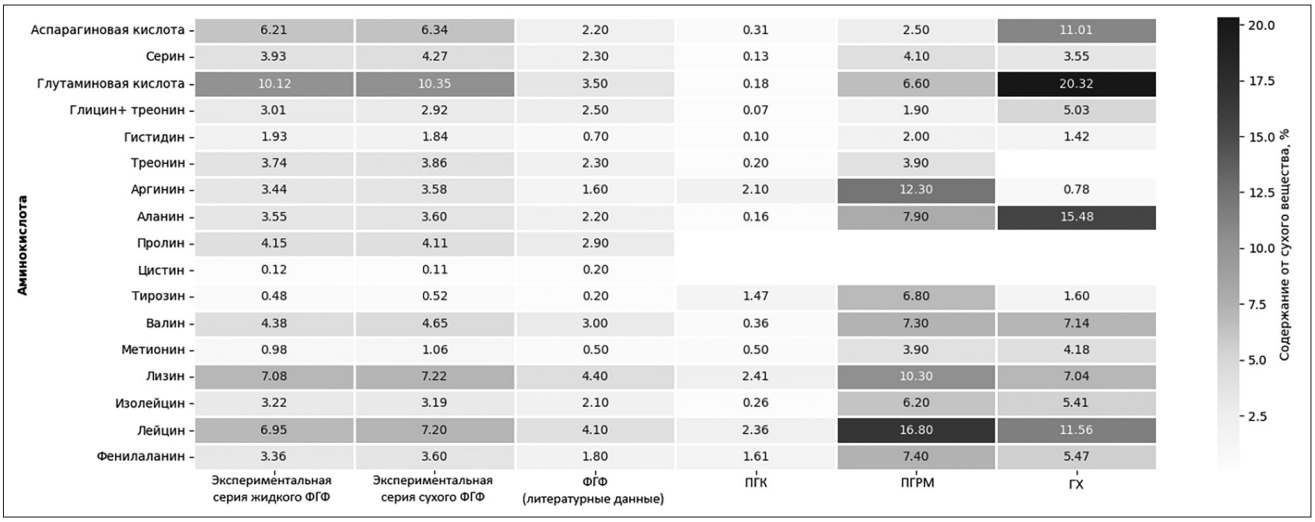


Рис. 1. Тепловая карта содержания общих аминокислот в экспериментальных сериях ФГФ и некоторых белковых гидролизатах [3, 21, 29, 36]

Определение аминокислотного состава препарата «Ферментативный гидролизат фибрина сухой». На рисунке 1 представлены результаты определения содержания общих аминокислот в составе белковых ферментативных гидролизатов, используемых для изготовления бактериальных ПС, в экспериментальных сериях сухого и жидкого ФГФ в сравнении с данными литературы [3, 21, 29, 36].

Обе формы ФГФ содержат необходимый набор основных аминокислот, потребляемых патогенными бактериями [18, 36], в достаточном количестве для использования в качестве основы ПС для культивирования широкого круга микроорганизмов и не уступают гидролизатам казеина, рыбной муки и мяса. Различие в содержании некоторых аминокислот объясняется, по всей видимости, их различным содержанием в исходном сырье и степенью гидролиза [36].

Оценка эффективности жидкой ПС на основе ФГФ в производстве холерной химической вакцины. Холерный вибрион является факультативным анаэробом, показывает хороший рост на простых ПС с повышенным содержанием (0,5–1,0%) NaCl [14, 15]. Авторским коллективом ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора сконструирована ПС на основе ФГФ для культивирования холерных вибрионов [28], которая использовалась при культивировании всех штаммов *V. cholerae*, описанных ниже. Пригодность ПС подтверждалась либо по количеству полученной биомассы либо по количеству целевых продуктов.

В производстве иммунобиологического лекарственного средства (ИЛП) «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой» используются производственные штаммы *V. cholerae* 569B и *V. cholerae* M-41 – продуценты холерного токсина (ХТ) и О-антигена (О-АГ) [8, 25].

Малообъемное глубинное культивирование штамма *V. cholerae* 569B показало, что продукция биомассы, полученной на ПС из ФГФ, сопоставима с этим значением для ПС из ГХ – 15×10^9 м.к./мл и 17×10^9 м.к./мл соответственно. Титры в РДП для всех специфических компонентов показали одинаковый результат – 1:2 [17]. При масштабированном глубинном культивировании штамма *V. cholerae* 569B на ПС из ФГФ наблюдалось повышение уровня урожайности биомассы – конечная концентрация составила $38,5\times10^9$ м.к./мл. Активность О-АГ и ХТ в титрах РДП так же показала более высокие результаты – минимальные значения составили 1:8 и 1:16 соответственно [8].

При малообъемном глубинном культивировании штамма *V. cholerae* O1 M-41 было показано, что по накоплению биомассы ПС из ФГФ превосходит (158×10^9 м.к./мл) ПС из ПГК ($111,4\times10^9$ м.к./мл) [17, 28]. Количество синтезируемого О-АГ на ПС ФГФ по ре-

зультатам РДП было сопоставимо с ПС из ПГК — титр РДП О-АГ 1/32 [25]. При масштабированном глубинном культивировании штамма *V. cholerae* М-41 на ПС из ФГФ было отмечено: объем полученной биомассы — до $38,5\times10^9$ м.к./мл; минимальный титр активности О-АГ в РДП составил 1:16 [8].

Результаты культивирования производственных штаммов *V. cholerae* 569В и *V. cholerae* М-41 доказывают высокую эффективность ПС на основе ФГФ. Установлено, что специфическая анти-ХА активность и О-АГ, полученные с использованием ПС на основе ФГФ, и основные свойства готовой лекарственной формы (внешний вид, распадаемость, активность компонентов) соответствуют требованиям НД [8].

Штаммы *V. cholerae* О1 569В, КМ68, КМ76, eltor и КМ234 являются продуцентами ХТ [11]. При малообъемном глубинном культивировании перечисленных штаммов на ПС из ФГФ [28], AKI (питательная среда для выявления энтеротоксинпродуцирующей активности штаммов холерного вибриона в условиях *in vitro*, состав: 1,5% бакто-пептона, 0,4% дрожжевого экстракта фирмы «Дифко», 0,5% NaCL, 0,3% NaHCO) и ПГК было показано, что культивирование на ПС из ФГФ предпочтительней по выходу биомассы и целевого продукта. В частности, было показано, что у штаммов *V. cholerae* О1 КМ68 и КМ76 наблюдалась наибольшая концентрация биомассы и синтез продукции ХТ [13].

Таким образом, полученные биологические показатели свидетельствуют о высокой эффективности жидкой ПС на основе ФГФ и возможности использования при культивировании штаммов *V. cholerae* — продуцентов протективных антигенов.

Оценка эффективности жидкой ПС на основе ФГФ в производстве живой туляремийной вакцины. Туляремийный микроб является факультативным анаэробом, но оптимальный рост на ПС наблюдается только в аэробных условиях. Туляремийный микроб относится к требовательным микроорганизмам и не растет на простых ПС. На жидких ПС отмечаются более низкие показатели роста по сравнению с плотными ПС [7, 14].

Во ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора проведены исследования по получению жизнеспособной биомассы штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ при глубинном культивировании по усовершенствованной технологии [6], при этом сконструирована жидкая ПС на основе ПГРМ, и описан процесс культивирования вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ [29] с подкормкой раствором глюкозы с витаминами В1 и В5. На основе полученных данных и с целью снижения себестоимости процесса культивирования и увеличения выхода биомассы была разработана жидкая ПС из ФГФ [30], отличающаяся содержанием аминного азота — 0,32% от ПС из ПГРМ с содержанием 0,35%.

При малообъемном глубинном культивировании штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ на ПС из ФГФ [6] было показано, что результаты (80×10^9 м.к./мл; коэффициент жизнеспособности (КЖ) — 67,7±2,7%) превышали показатели, полученные на ПС из ПГРМ ($24,3\times10^9$ м.к./мл; КЖ — 57,7±2,5%) [5]. При глубинном культивировании штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ в биореакторе с автоматическим поддержанием параметров биомасса туляремийного микроба, полученная в результате культивирования на ПС из ФГФ, обладала культурально-морфологическими свойствами, характерными для возбудителя туляремии. Выход биомассы на ПС из ФГФ составил (35±0,5) млрд м.к./мл, что было в два раза выше по сравнению с ПС из ПГРМ — (17±0,5) млрд м.к./мл [3, 5, 30]. Биомасса туляремийного микроба, полученная на ПС из ФГФ, имела следующие характеристики: КЖ — (68±0,5)%; низкая степень диссоциации — (97±1)% SR (белых) иммуногенных колоний от общего количества выросших [5].

Установлено, что ПС на основе ФГФ для глубинного культивирования туляремийного микроба позволяет накапливать жизнеспособную биомассу штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ, которая обладает биологическими характеристиками, соответствующими требованиям, предъявляемым к биомассе вакцинного штамма при производстве живой туляремийной вакцины [6].

Оценка эффективности жидкой ПС на основе ФГФ в производстве антирабического иммуноглобулина. Для культивирования клеточных культур и последующей репродукции вирусов на них применяют ПС определенного химического состава, используемые как с добавлением сыворотки крупного рогатого скота, так и без нее [10]. Для снижения себестоимости процесса культивирования клеточных культур авторским коллективом ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора сконструирована ПС на основе ФГФ [28] для культивирования клеток млекопитающих и репродукции вируса бешенства в них [31]. Фиксированный штамм вируса бешенства «Москва 3253» получают путем культивирования на клеточных культурах [10] и используют для иммунизации лошадей-продуцентов в производстве ИЛП «Иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий, раствор для инъекций». При культивировании клеточ-

ных культур *Vero* и *ВНК-21* ПС из ФГФ в сравнении с контрольными ПС показала лучший результат, индекс пролиферации составил: для *Vero* – (18,4±0,3), для *ВНК-21* – (15,0±0,4). На среде Игла индекс пролиферации был следующим: для *Vero* – (17,0±0,4), для *ВНК-21* – (15,5±0,4). Исследование репродуктивной активности вируса бешенства, полученного при использовании ПС из ФГФ и среде 199, показало сопоставимый уровень накопления вируса [10].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности применения сухого ФГФ в культуральных ПС, по крайней мере, для культивирования клеточных культур *Vero* и *ВНК-21* для репродукции вируса бешенства.

Оценка эффективности жидкой ПС на основе ФГФ для наработки биомассы штаммов-адсорбентов *в* производстве медицинских изделии для *in vitro* диагностики *(*МИ ИВД*)*. Для специфической диагностики возбудителей особо опасных инфекционных болезней *in vitro* применяется ряд препаратов, производимых институтом «Микроб» [23]. Одним из этапов производства данных иммунодиагностических препаратов является проведение сорбции перекрестно реагирующих антител по методу Кастеллани [34]. В качестве адсорбентов используются формалинизированные бактериальные клетки штаммов *Y. pestis* EV НИИЭГ, *Y. pseudotuberculosis* 6, 31, 68, 69, 70, *Y. entercolitica* 81-79, *V. cholerae* неО1 105/неО139, 169-68; *E coli* 3912/41; *Sh. sonnei* 37, 714; *S. typhi abdominalis* 49 и *S. paratyphi* B625. Биомасса данных штаммов нарабатывается в условиях аппаратного периодического глубинного культивирования с применением жидких ПС. Ряд исследований показывает перспективность использования жидкой ПС на основе ФГФ для наработки биомассы штаммов-адсорбентов. Результаты проведенных исследований [1, 2, 16, 28, 33] обобщены на рисунке 2.

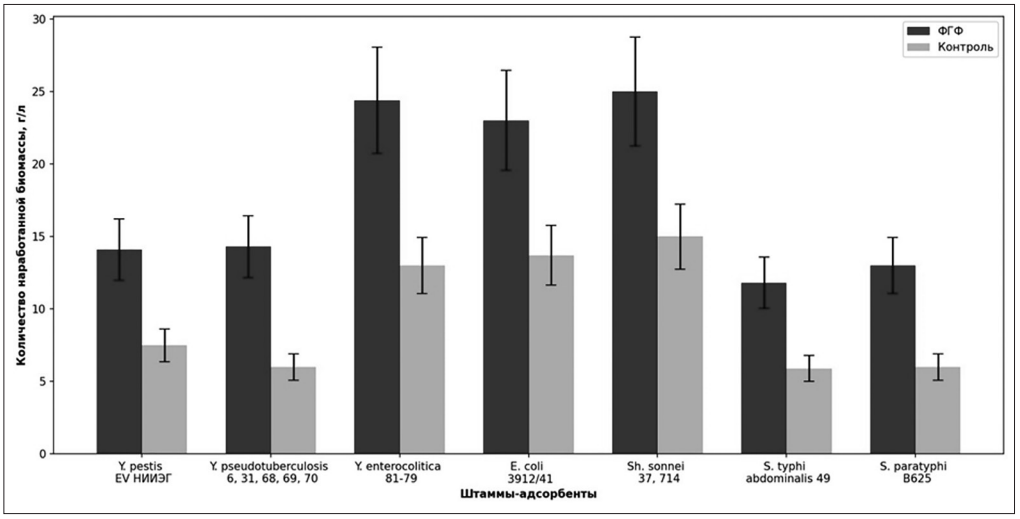


Рис. 2. Прирост биомассы штаммов-адсорбентов при культивировании в условиях биореактора на ПС из ФГФ и контрольных ПС

Так, при культивировании представителей рода *Yersinia* в условиях биореактора на ПС из ФГФ были достигнуты следующие количества наработанной биомассы: для *Y. pestis* EV НИИЭГ (14±1) г/л, для *Y. entercolitica* 81-79 (25±2) г/л, для штаммов *Y. pseudotuberculosis* (13±2) г/л, что превосходит полученные результаты при культивировании на контрольных средах в 1,5–2 раза [1, 33]. При глубинном культивировании штамма *V. cholerae* неО1 105 было показано, что по накоплению биомассы ПС из ФГФ превосходит (40×10^9 м.к./мл) ПС из ГХ (18×10^9 м.к./мл) [16, 28]. При глубинном культивировании штамма *V. cholerae* неО1 169-68 выявлено, что по накоплению биомассы ПС из ФГФ превосходит (22,9–27,14 г/л) ПС из ПГК (11,4–13,57 г/л) [2]. Прирост биомассы был достигнут при культивировании в условиях биореактора штаммов–адсорбентов на ПС на основе ФГФ: для *E. coli* 3912/41 и *Sh. sonnei* 37, 714 составил (27±2) г/л, для *S. typhi abdominalis* 49 (12±2) г/л, для *S. paratyphi* B625 (13±2) г/л, что также превосходит результаты, полученные при использовании стандартных сред [2]. Клетки штаммов-адсорбентов, полученные при культивировании на ПС на основе ФГФ, во всех проведенных исследованиях были стабильны по своим морфологическим и иммунохимическим свойствам, не отличались от биомассы тех же штаммов, полученной при культивировании на контрольных средах [1, 2, 16, 28, 33], и обладали высоким уровнем адсорбционной активности [34].

Оценка эффективности жидкой ПС на основе ФГФ для накопления бактериофагов в производстве препаратов для фагодиагностики чумы и холеры (новые данные). В Российской Федерации единственным производителем препаратов для фагодиагностики чумы и холеры является ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора [12]. Одним из этапов производства указанных препаратов является накопление бактериофагов в клетке-хозяине, где также используют жидкие бактериальные ПС из пищевого белкового сырья. Это послужило основанием для исследований применения ФГФ в производстве МИ ИВД и оценке перспективы использования ПС на основе ФГФ на этапе накопления чумных и холерных бактериофагов.

Технология накопления бактериофагов в клетке-хозяине представляет собой 2-х стадийный процесс. Первая стадия — культивирование гомологичной культуры бактерии-продуцента с целью получения необходимого количества бактериальных клеток. Вторая стадия заключается в накоплении специфичного бактериофага в полученной на первой стадии бульонной культуре инфицированием бактериальных клеток. При оценке ПС на основе ФГФ учитывали эффективность накопления специфичного бактериофага, а так же результативность культивирования гомологичной культуры бактерии-продуцента. Для получения гомологичных культур нами были использованы штаммы *Y. pestis* EV НИИЭГ *V. cholerae* O1 145 и eltor 75, которые в последствии инфицировали бактериофагами Покровской, Л-413С, XII, XV, С и 182/154. Результаты проведенных исследований отражены в таблице 2.

Таблица 2

Результаты накопления бактериофагов на питательных средах из ферментативного гидролизата фибрина

№ п/п	Наименование бактериофага	Концентрация микробных клеток, м.к./мл		Концентрация бактериофага, БОЕ/мл	
		ФГФ	Контроль	ФГФ	Контроль
1	Л-413С (штамм-продуцент *Y. pestis* EV НИИЭГ)	2×10^8	$2{,}5\times10^8$	5×10^7	2×10^8
2	Покровской (штамм-продуцент *Y. pestis* EV НИИЭГ)	$1{,}5\times10^8$	3×10^8	2×10^8	$2{,}5\times10^9$
3	XII (штамм-продуцент *V. cholerae* O1 145)	5×10^7	1×10^8	$6{,}4\times10^7$	$2{,}2\times10^9$
4	XV (штамм-продуцент *V. cholerae* O1 145)	$5{,}7\times10^7$	2×10^8	$6{,}7\times10^7$	$1{,}6\times10^7$
5	С (штамм-продуцент *V. cholerae* O1 145)	5×10^7	$1{,}8\times10^8$	1×10^7	$2{,}2\times10^9$
6	182/154 (штамм-продуцент *V. cholerae* O1 eltor 75)	$5{,}5\times10^7$	2×10^8	4×10^7	7×10^8

Полученные данные позволяют констатировать следующее. Значения показателей концентрации микроорганизмов по окончании культивирования штамма *Y. pestis* EV *НИИЭГ* были соизмеримыми на ПС из ФГФ и составляли $1{,}5–2\times10^8$ м.к./мл, на контрольных ПС концентрация *Y. pestis* EV НИИЭГ была не существенно выше (от $2{,}5\times10^8$ до 3×10^8 м.к./мл). Накопление бактериофагов Л-413С и Покровской на контрольных ПС выявило, что концентрация бактериофага на один порядок превосходила результаты с применением ПС из ФГФ. Результаты культивирования штаммов *V. cholerae* O1 были соизмеримыми на ПС из ФГФ и составляли $5–5{,}7\times10^7$ м.к./мл, на контрольных ПС концентрация штаммов *V. cholerae* O1 была выше (от 1×10^8 до 2×10^8 м.к./мл). Последующее накопление бактериофагов XII, С и 182/154 на контрольных ПС было выше на 1–2 порядка в сравнении с ПС из ФГФ. Результаты репродукции бактериофага XV на ПС из ФГФ были не существенно выше ($6{,}7\times10^7$ м.к./мл) показателей на контрольной ПС ($1{,}6\times10^7$ м.к./мл). Исследование специфичности действия бактериофагов, полученных при накоплении на ПС из ФГФ и контрольных ПС, показало следующее: образцы бактериофагов Л-413С (в цельном виде) и Покровской (в диагностическом рабочем титре) вызывали лизис контрольных штаммов *Y. pestis* и не лизировали штаммы *Y. pseudotuberculosis*. Образцы бактериофагов XII, XV, С и 182/154 в диагностическом рабочем титре лизировали контрольные штаммы *V. cholerae* O1 гомологичного биовара и не лизировали штаммы *V. cholerae* O1 гетерологичного биовара. Результаты проведенного исследования подтвердили возможность использования ФГФ для разработки ПС на этапе накопления чумных и холерных бактериофагов. Дальнейшая перспектива для повышения эффективности репродукции бактериофагов состоит в изыскании оптимальных параметров этого процесса на ПС из ФГФ.

Заключение

Таким образом, проведенные исследования показали, что ФГФ имеет полный набор основных амино-

кислот, потребляемых патогенными бактериями. Сухая и жидкая формы ФГФ соответствуют требованиям НД, предъявляемым к панкреатическим гидролизатам для бактериальных ПС, и не уступают гидролизатам из казеина, рыбной муки и мяса. Показано, что ФГФ может успешно применяться для культивирования широкого спектра микроорганизмов, в том числе для клеток млекопитающих. Это позволяет эффективно утилизировать производственные отходы и повышает рентабельность производства иммунобиологических и диагностических препаратов за счет использования экономически выгодной питательной среды.

Полученные первоначальные результаты по получению чумных и холерных бактериофагов с применением ПС из ФГФ, открывают перспективу дальнейших исследований с целью использования ее в производстве препаратов для фагодиагностики чумы и холеры.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием данной статьи.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Литература

1. Авдеева Н.Г., Самохвалова Ю.И., Вольников В.Р., Холматов К.И., Овчинникова М.В., Волох О.А. Оптимизация технологии получения биомассы бактериальных штаммов-адсорбентов для производства диагностических иммуноглобулинов // Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в государствах-участниках СНГ: Материалы XIV Межгосударственной науч.-практ. конф. Под ред. А.Ю. Поповой, В.В. Кутырева. – 2018. – С. 16–18.
2. Авдеева Н.Г., Самохвалова Ю.И., Воропаева Е.Л., Холматов К.И., Волох О.А. Жидкая питательная среда на основе гидролизата фибрина для глубинного культивирования бактериальных штаммов-адсорбентов // Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: Материалы II Всерос. науч.-практ. конф. Под ред. А.Н. Куличенко. – Ставрополь, 2017. – С. 202–203.
3. Бибиков Д.Н. Разработка новых методических приемов культивирования, концентрирования, лиофилизации и методов оценки качества вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ: дис. канд. биол. наук. – Саратов, 2021. – 162 с.
4. Виноградова И.Н. Производственные питательные среды // Руководство по микробиологии, клинике и эпидемиологии инфекционных болезней. Ред. Н.Н. Жуков-Вережников. – Москва: Медгиз, 1962. – С. 339–384.
5. Волох О.А., Антонычева М.В., Авдеева Н.Г., Кузнецова Е.М. Холматов К.И., Бибиков Д.Н., Никифоров А.К. Жидкая питательная среда для глубинного культивирования туляремийного микроба // Проблемы особо опасных инфекций. – 2017. – № 2. – С. 81–83.
6. Волох О.А., Комиссаров А.В., Антонычева М.В., Лобовикова О.А., Авдеева Н.Г., Вахрушина Н.И., Миронова Н.П., Бибиков Д.Н., Никифоров А.К. Совершенствование технологии получения живой туляремийной вакцины // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – № 3. – С. 81–84.
7. Волох О.А., Комиссаров А.В., Бибиков Д.Н., Холматов К.И., Авдеева Н.Г., Никифоров А.К. Методы и технологии культивирования туляремийного микроба // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2017. – Т. 13. – № 3. – С. 65–70.
8. Вольников В.Р., Дуракова О.С., Салихов Р.Р., Самохвалова Ю.И., Авдеева Н.Г., Клокова О.Д., Киреев М.Н., Волох О.А. Экспериментальное обоснование возможности использования среды на основе ферментативного гидролизата фибрина для получения компонентов холерной химической вакцины // Проблемы особо опасных инфекций. – 2023. – № 2. – С. 101–105.
9. Выбор сырьевых источников для конструирования питательных сред. – URL: https://b2b-ingredient.ru/sprav/shevelukha-sh-biotekhnologiya/1868-5-1-5-4-5-1sterilizatsiya-oborudovaniya-i-ochistka-vozdukha?ysclid=lat6umeob8942337651 (дата обращения 09.07.25).
10. Генералов С.В., Жулидов И.М., Антонычева М.В., Холматов К.И., Гаврилова Ю.К., Абрамова Е.Г., Белоусов А.Д., Усачев Е.А. Разработка питательной среды на основе гидролизата фибрина для культивирования клеточных культур *Vero* и *ВНК-21* и репродукции вируса бешенства // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2018. – Т. 14. – № 3. – С. 50–55.
11. ГОСТ 29311-92. Гидролизаты панкреатические для бактериальных питательных сред. Общие технические условия. – Москва: ИПК Издательство стандартов, 2004. – 11 с.
12. Государственный реестр медицинских изделий и организаций (индивидуальных предпринимателей), осуществляющих производство и изготовление медицинских изделий. – URL: https://roszdravnadzor.gov.ru/services/misearch (дата обращения 07.10.2025).
13. Дуракова О.С., Громова О.В., Ливанова Л.Ф., Авдеева Н.Г., Самохвалова Ю.И., Гаева А.В., Киреев М.Н., Волох О.А. Современные подходы к выделению и очистке холерного тестотоксина // Бактериология. – 2018. – № 3(1). – С. 59–62.
14. Дятлов И.А., Кутырев В.В., Храмов М.В. Питательные среды для выделения, культивирования и идентификации возбудителей особо опасных инфекций бактериальной природы. – Москва: ООО «ТиРу», 2012. – 415 с.
15. Жулидов И.М., Абрамова Е.Г., Антонычева М.В., Никифоров А.К., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Вахруши-

на Н.И., Еремин С.А., Аленкина Т.В. Биотехнологические аспекты переработки фибрина — отхода производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2011. — Т. 7. — № 3. — С. 17—23.

16. Жулидов И.М., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Антонычева М.В., Шульгина И.В., Лобовикова О.А., Вахрушина Н.И., Белоусов А.Д., Еремин С.А., Киреев М.Н., Шарапова Н.А., Савицкая Л.В., Михеева Т.А., Минаева Л.Н., Галкина М.В., Свинцов Р.А., Аленкина Т.В., Васин Ю.Г., Базлов Г.В. Безотходные технологии в производстве гетерологичного антирабического иммуноглобулина // Проблемы особо опасных инфекций. — 2011. — Т. 110. — № 4. — С. 80—84.
17. Жулидов И.М., Антонычева М.В., Лобовикова О.А., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Шульгина И.В., Зайцева Л.В., Миронова Н.П., Вахрушина Н.И., Астафьева С.В., Павлова В.И., Бронникова В.С., Волох О.А., Авдеева Н.Г., Базлов Г.В., Комиссаров А.В. Новая питательная среда на основе сухого гидролизата фибрина для культивирования холерных вибрионов // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАН. — 2012. — № 5(87). — Ч. 1. — С. 220—223.
18. Иерусалимский Н.Д. Основы физиологии микробов. — Москва: Изд-во АН СССР, 1963. — 245 с.
19. Комиссаров А.В., Гиненко Г.Н., Глазкова Е.А., Овчинникова М.В., Лобовикова О.А., Бадарин С.А., Бибиков Д.Н., Синицына Н.В., Зинина О.С., Синягина Ю.В., Гумаюнова К.С., Костылева Н.И., Никифоров А.К. Влияние времени замораживания на качество лиофилизатов диагностических чумных и псевдотуберкулезного бактериофагов // Бактериология. — 2024. — № 1. — С. 30—34.
20. Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллёза, легионеллезаю // Методические указания МУ 3.3.2.2124-06. — Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2007. — 35 с.
21. Коробейников А.Л. Технология приготовления сухих питательных основ для производства биоспорина: дис. канд. биол. наук. — Москва, 2004. — 147 с.
22. Курилова А.А., Таран Т.В., Катунина Л.С., Головнева С.И. Разработка питательных сред из растительного сырья для культивирования возбудителей особо опасных инфекций // Проблемы особо опасных инфекций. — 2009. — Т. 101. — № 3. — С. 66—68.
23. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней: Практическое руководство. Под ред. академика РАН Г.Г. Онищенко, академика РАН В.В. Кутырева. — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва: ЗАО «Шико», 2013. — 560 с.
24. Методы контроля бактериологических питательных сред // Методические указания МУК 4.2.2316-08. — Москва: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. — 67 с.
25. Никифоров А.К., Антонычева М.В., Волох О.А., Еремин С.А., Киреев М.Н., Жулидов И.М., Алешина Ю.А., Авдеева Н.Г., Вахрушина Н.И., Холматов К.И. Разработка питательных сред на основе непищевого сырья для глубинного культивирования штаммов холерного вибриона // Проблемы особо опасных инфекций. — 2015. — № 1. — С. 85—88.
26. Никифоров А.К., Овчинникова М.В., Комиссаров А.В., Зинина О.С., Гумаюнова К.С., Синягина Ю.В. Применение тангенциальной ультрафильтрации в производстве диагностических бактериофагов // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. — 2022. — Т. 18. — № 3. — С. 8—13.
27. Николаев А.А., Болотов О.А., Самохвалова Ю.И., Авдеева Н.Г. Оптимизация метода глубинного культивирования бактериальных штаммов-адсорбентов // Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: Материалы II Всерос. науч.-прак. конф. Под ред. А.Н. Куличенко. — Ставрополь, 2017. — С. 255—256.
28. Патент РФ 2425866. Питательная среда для глубинного культивирования холерного вибриона: № 2010121691/10: заявл. 27.05.2010: опубл. 10.08.2010 / М.В. Антонычева, С.А. Нижегородцев, С.А. Еремин, Т.В. Аленкина, И.В. Шульгина, А.Д. Белоусов, И.М. Жулидов, А.К. Никифоров; заявитель, патентобладатель Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». — Бюл. 22.
29. Патент РФ 2451743. Способ получения биомассы туляремийного микроба: № 2010131275/10: заявл. 26.07.2010: опубл. 10.02.2012 / И.А. Шепелев, О.А. Волох, С.А. Еремин, Н.Г. Авдеева, Е.М. Кузнецова; заявитель, патентобладатель Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». — Бюл. № 4.
30. Патент РФ 2518282. Питательная среда для глубинного культивирования туляремийного микроба: № 2013129148/10: заявл. 25.06.2013: опубл. 25.06.2013 / О.А. Волох, М.В. Антонычева, Н.Г. Авдеева, Н.И. Вахрушина, А.К. Никифоров; заявитель, патентобладатель Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». — Бюл. № 16.
31. Патент РФ 2673718. Питательная среда для культивирования перевиваемых клеточных линий млекопитающих: № 2018102493: заявл. 22.01.2018: опубл. 29.11.2018 / С.В. Генералов, М.В. Антонычева, Е.Г. Абрамова, К.И. Холматов, И.М. Жулидов, А.Д. Белоусов, Ю.К. Гаврилова, А.К. Никифоров; заявитель, патентобладатель Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». — Бюл. № 34.
32. Промышленный регламент ПР №01898109-72-24. Панкреатический гидролизат фибрина жидкий (основа питательных сред для культивирования микроорганизмов) / Российский научно-исследовательский противочумный

институт «Микроб»: сайт. — URL: https://www.microbe.ru/npd/ (дата обращения 10.07.2026).
33. Салихов Р.Р., Борисова С.В., Авдеева Н.Г., Самохвалова Ю.И., Волох О.А. Оптимизация условий культивирования *Y. pseudotuberculosis* в процессе получения клеточной массы // Проблемы особо опасных инфекций. — 2021. — № 4. — С. 137–142.
34. Салихов Р.Р., Кузнецова Е.М., Волох О.А. Оценка адсорбционной активности бактериальных клеток на модели *Yersinia pseudotuberculosis* // Проблемы особо опасных инфекций. — 2024. — № 1. — С. 192–195.
35. Суханова С.М., Захарова Н.Е. Питательные среды в фармакопейном анализе: применение, действующие требования, вопросы стандартизации // Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. — 2019. — Т. 19. — № 3. — С. 136–144.
36. Телишевская Л.Я. Белковые гидролизаты. Получение, состав, применение. — Москва: Аграрная наука, 2000. — 296 с.
37. ТУ 20.59.52-060-01898109-2021. Ферментативный гидролизат фибрина сухой. Технические условия. — М.: ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», 2021.
38. Шепелин А.П. Разработка технологии производства панкреатического гидролизата рыбной муки и конструирование на его основе бактериологических питательных сред: дис. докт. биол. наук. — Москва, 2013. — 206 с.

References

1. Avdeyeva NG, Samokhvalova YuI, Vol'nikov VR, Kholmatov KI, Ovchinnikova MV, Volokh OA. Optimizatsiya tekhnologii polucheniya biomassy bakterial'nykh shtammov-adsorbentov dlya proizvodstva diagnosticheskikh immunoglobulinov. Obespecheniye sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya v gosudarstvakh-uchastnikakh SNG: Materialy XIV Mezhgosudarstvennoy nauch-prakt konf. Pod red. AYu Popovoy, VV Kutyreva 2018:16–18 (in Russian).
2. Avdeyeva NG, Samokhvalova YUI, Voropayeva YeL, Kholmatov KI, Volokh OA. Zhidkaya pitatel'naya sreda na osnove gidrolizata fibrina dlya glubinnogo kul'tivirovaniya bakterial'nykh shtammov-adsorbentov. Aktual'nyye problemy bolezney, obshchikh dlya cheloveka i zhivotnykh: Materialy II Vseros nauch-prakt konf. Pod red AN Kulichenko. Stavropol', 2017:202–203 (in Russian).
3. Bibikov DN. Razrabotka novykh metodicheskikh priyemov kul'tivirovaniya, kontsentrirovaniya, liofilizatsii i metodov otsenki kachestva vaktsinnogo shtamma *Francisella tularensis* 15 NIIEG: dis kand biol nauk. Saratov, 2021: 162 (in Russian).
4. Vinogradova IN. Proizvodstvennyye pitatel'nyye sredy. Rukovodstvo po mikrobiologii, klinike i epidemiologii infektsionnykh bolezney. Red NN Zhukov-Verezhnikov. Moscow: Medgiz, 1962: 339–384 (in Russian).
5. Volokh OA, Antonycheva MV, Avdeeva NG, Kuznetsova EM Kholmatov KI, Bibikov DN, Nikiforov AK. Zhidkaya pitatel'naya sreda dlya glubinnogo kul'tivirovaniya tulyaremiynogo mikroba. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2017; 2:81–83 (in Russian).
6. Volokh OA, Komissarov AV, Antonycheva MV, Lobovikova OA, Avdeeva NG, Vakhrushina NI, Mironova NP, Bibikov DN, Nikiforov AK. Sovershenstvovaniye tekhnologii polucheniya zhivoy tulyaremiynoy vaktsiny. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2016; 3:81–84 (in Russian).
7. Volokh OA, Komissarov AV, Bibikov DN, Kholmatov KI, Avdeeva NG, Nikiforov AK. Metody i tekhnologii kultivirovaniya tulyaremeynogo mikroba. Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii im YuA Ovchinnikova 2017; 13(3):65–70 (in Russian).
8. Vol'nikov VR, Durakova OS, Salikhov RR, Samokhvalova YuI, Avdeyeva NG, Klokova OD, Kireyev MN, Volokh OA. Eksperimental'noye obosnovaniye vozmozhnosti ispol'zovaniya sredy na osnove fermentativnogo gidrolizata fibrina dlya polucheniya komponentov kholernoy khimicheskoy vaktsiny. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2023; 2:101–105 (in Russian).
9. Vybor syr'yevykh istochnikov dlya konstruirovaniya pitatel'nykh sred. URL: https://b2b-ingredient.ru/sprav/shevelukha-sh-biotekhnologiya/1868-5-1-5-4-5-1sterilizat siya-oborudovaniya-i-ochistka-vozdukha?ysclid=lat6umeob8942337651 (data obrashcheniya 09.07.25) (in Russian).
10. Generalov SV, Zhulidov IM, Antonycheva MV, Kholmatov KI, Gavrilova YuK, Abramova YeG, Belousov AD, Usachev YeA. Razrabotka pitatel'noy sredy na osnove gidrolizata fibrina dlya kul'tivirovaniya kletochnykh kul'tur *Vero* i *VNK-21* i reproduktsii virusa beshenstva. Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii im YuA Ovchinnikova 2018; 14(3):50–55 (in Russian).
11. GOST 29311-92. Gidrolizaty pankreaticheskiye dlya bakterial'nykh pitatel'nykh sred. Obshchiye tekhnicheskiye usloviya. Moscow: IPK Izdatel'stvo standartov, 2004: 11 (in Russian).
12. Gosudarstvennyy reyestr meditsinskikh izdeliy i organizatsiy (individual'nykh predprinimateley), osushchestvlyayushchikh proizvodstvo i izgotovleniye meditsinskikh izdeliy. URL: https://roszdravnadzor.gov.ru/services/misearch (date of access 07.10.2025) (in Russian).
13. Durakova OS, Gromova OV, Livanova LF, Avdeeva NG, Samokhvalova YuI, Gaeva AV, Kireev MN, Volokh OA. Sovremennyye podkhody k vydeleniyu i ochistke kholernogo test-toksina. Bakteriologiya 2018; 3(1):59–62 (in Russian).
14. Dyatlov IA, Kutyrev VV, Khramov MV. Pitatel'nyye sredy dlya vydeleniya, kul'tivirovaniya i identifikatsii vozbuditeley osobo opasnykh infektsiy bakterial'noy prirody. Moscow: OOO «TiRu», 2012: 415 (in Russian).
15. Zhulidov IM, Abramova YeG, Antonycheva MV, Nikiforov AK, Shul'gina IV, Lobovikova OA, Vakhrushina NI, Yeremin SA, Alenkina TV. Biotekhnologicheskiye aspekty pererabotki fibrina — otkhoda proizvodstva geterologichnogo antirabicheskogo immunoglobulina. Vestnik biotekhnologii

i fiziko-khimicheskoy biologii im YuA Ovchinnikova 2011; 7(3):17–23 (in Russian).
16. Zhulidov IM, Abramova EG, Nikiforov AK, Antonycheva MV, Shulgina IV, Lobovikova OA, Vakhrushina NI, Belousov AD, Eremin SA, Kireev MN, Sharapova NA, Savitskaya LV, Mikheeva TA, Minaeva LN, Galkina MV, Svintsov RA, Alenkina TV, Vasin YuG, Bazlov GV. Bezotkhodnyye tekhnologii v proizvodstve geterologichnogo antirabicheskogo immunoglobulina. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2011; 110(4):80–84 (in Russian).
17. Zhulidov IM, Antonycheva MV, Lobovikova OA, Abramova EG, Nikiforov AK, Shulgina IV, Zaitseva LV, Mironova NP, Vakhrushina NI, Astafieva SV, Pavlova VI, Bronnikova VS, Volokh OA, Avdeeva NG, Bazlov GV, Komissarov AV. Novaya pitatel'naya sreda na osnove sukhogo gidrolizata fibrina dlya kul'tivirovaniya kholernykh vibrionov. Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra SO RAN 2012; 5(87):220–223 (in Russian).
18. Iyerusalimskiy ND. Osnovy fiziologii mikrobov. Moscow: Izd-vo AN SSSR, 1963: 245 (in Russian).
19. Komissarov AV, Ginenko GN, Glazkova EA, Ovchinnikova MV, Lobovikova OA, Badarin SA, Bibikov DN, Sinitsyna NV, Zinina OS, Sinyagina YuV, Gumayunova KS, Kostyleva NI, Nikiforov AK. Vliyaniye vremeni zamorazhivaniya na kachestvo liofilizatov diagnosticheskikh chumnykh i psevdotuberkuleznogo bakteriofagov. Bakteriologiya 2024; 1:30–34 (in Russian).
20. Kontrol' diagnosticheskikh pitatel'nykh sred po biologicheskim pokazatelyam dlya vozbuditeley chumy, kholery, sibirskoy yazvy, tulyaremii, brutselloza, legionellezayu. Metodicheskiye ukazaniya MU 3.3.2.2124-06. Moscow: Federal'nyy tsentr gigiyeny i epidemiologii Rospotrebnadzora, 2007: 35 (in Russian).
21. Korobeynikov AL. Tekhnologiya prigotovleniya sukhikh pitatel'nykh osnov dlya proizvodstva biosporina: dis. kand. biol. nauk. Moskva, 2004: 147 (in Russian).
22. Kurilova AA, Taran TV, Katunina LS, Golovneva SI. Razrabotka pitatel'nykh sred iz rastitel'nogo syr'ya dlya kul'tivirovaniya vozbuditeley osobo opasnykh infektsiy. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2009; 101(3):66–68 (in Russian).
23. Laboratornaya diagnostika opasnykh infektsionnykh bolezney: Prakticheskoye rukovodstvo. Pod red. akademika RAN G.G. Onishchenko, akademika RAN VV Kutyreva. 2-ye izd, pererab i dop. Moscow: ZAO «Shiko», 2013: 560 (in Russian).
24. Metody kontrolya bakteriologicheskikh pitatel'nykh sred. Metodicheskiye ukazaniya MUK 4.2.2316-08. Moscow: Federal'nyy tsentr gigiyeny i epidemiologii Rospotrebnadzora, 2008: 67(in Russian).
25. Nikiforov AK, Antonycheva MV, Volokh OA, Eremin SA, Kireev MN, Zhulidov IM, Aleshina YuA, Avdeeva NG, Vakhrushina NI, Kholmatov KI. Razrabotka pitatel'nykh sred na osnove nepishchevogo syr'ya dlya glubinnogo kul'tivirovaniya shtammov kholernogo vibriona. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2015; 1:85–88 (in Russian).
26. Nikiforov AK, Ovchinnikova MV, Komissarov AV, Zinina OS, Gumayunova KS, Sinyagina YuV. Primeneniye tangentsial'noy ul'trafil'tratsii v proizvodstve diagnosticheskikh bakteriofagov. Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii im YuA Ovchinnikova 2022; 18(3):8–13 (in Russian).
27. Nikolayev AA, Bolotov OA, Samokhvalova YUI, Avdeyeva NG. Optimizatsiya metoda glubinnogo kul'tivirovaniya bakterial'nykh shtammov-adsorbentov. Aktual'nyye problemy bolezney, obshchikh dlya cheloveka i zhivotnykh: Materialy II Vseros nauch-prak konf. Pod red AN Kulichenko. Stavropol', 2017:255–256 (in Russian).
28. Patent RF 2425866. Pitatel'naya sreda dlya glubinnogo kul'tivirovaniya kholernogo vibriona: № 2010121691/10: zayavl 27.05.2010: opubl 10.08.2010. MV Antonycheva, SA Nizhegorodtsev, SA Yeremin, TV Alenkina, IV Shul'gina, AD Belousov, IM Zhulidov, AK Nikiforov; zayavitel', patentobladatel' Rossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy protivochumnyy institut «Mikrob». Byul 22 (in Russian).
29. Patent RF 2451743. Sposob polucheniya biomassy tulyaremiynogo mikroba: № 2010131275/10: zayavl 26.07.2010: opubl 10.02.2012. IA Shepelev, OA Volokh, SA Yeremin, NG Avdeyeva, YeM Kuznetsova; zayavitel', patentobladatel' Rossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy protivochumnyy institut «Mikrob». Byul № 4 (in Russian).
30. Patent RF 2518282. Pitatel'naya sreda dlya glubinnogo kul'tivirovaniya tulyaremiynogo mikroba: № 2013129148/10: zayavl. 25.06.2013: opubl 25.06.2013. OA Volokh, MV Antonycheva, NG Avdeyeva, NI Vakhrushina, AK Nikiforov; zayavitel', patentobladatel' Rossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy protivochumnyy institut «Mikrob». Byul № 16 (in Russian).
31. Patent RF 2673718. Pitatel'naya sreda dlya kul'tivirovaniya perevivayemykh kletochnykh liniy mlekopitayushchikh: № 2018102493: zayavl 22.01.2018: opubl 29.11.2018. SV Generalov, MV Antonycheva, YeG Abramova, KI Kholmatov, IM Zhulidov, AD Belousov, YuK Gavrilova, AK Nikiforov; zayavitel', patentobladatel' Rossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy protivochumnyy institut «Mikrob». Byul № 34 (in Russian).
32. Promyshlennyy reglament PR №01898109-72-24. Pankreaticheskiy gidrolizat fibrina zhidkiy (osnova pitatel'nykh sred dlya kul'tivirovaniya mikroorganizmov). Rossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy protivochumnyy institut «Mikrob»: sayt. URL: https://www.microbe.ru/npd/ (date of access 10.07.2026) (in Russian).
33. Salikhov RR, Borisova SV, Avdeyeva NG, Samokhvalova YuI, Volokh OA. Optimizatsiya usloviy kul'tivirovaniya *Y. pseudotuberculosis* v protsesse polucheniya kletochnoy massy. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2021; 4:137–142 (in Russian).
34. Salikhov RR, Kuznetsova YeM, Volokh OA. Otsenka adsorbtsionnoy aktivnosti bakterial'nykh kletok na modeli Yersinia pseudotuberculosis. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2024; 1:192–195 (in Russian).

35. Sukhanova SM, Zakharova NYe. Pitatel'nyye sredy v farmakopeynom analize: primeneniye, deystvuyushchiye trebovaniya, voprosy standartizatsii. Biopreparaty. Profilaktika, diagnostika, lecheniye 2019; 19(3):136–144 (in Russian).
36. Telishevskaya LYa. Belkovyye gidrolizaty. Polucheniye, sostav, primeneniye. Moscow: Agrarnaya nauka, 2000: 296 (in Russian).
37. TU 20.59.52-060-01898109-2021. Fermentativnyy gidrolizat fibrina sukhoy. Tekhnicheskiye usloviya. Moscow: FKUZ RosNIPCHI «Mikrob», 2021 (in Russian).
38. Shepelin AP. Razrabotka tekhnologii proizvodstva pankreaticheskogo gidrolizata rybnoy muki i konstruirovaniye na yego osnove bakteriologicheskikh pitatel'nykh sred: dis. dokt. biol. nauk. Moskva, 2013: 206 (in Russian).

ENZYMATIC FIBRIN HYDROLYSATE AS THE BASIS OF NUTRIENT MEDIA FOR THE PRODUCTION OF IMMUNOBIOLOGICAL PREPARATIONS AT THE RUSSIAN ANTI-PLAGUE INSTITUTE «MICROB» OF ROSPOTREBNADZOR (SUMMING UP RESEARCH, NEW DATA, PROSPECTS)

K.I. KHOLMATOV[1], M.V. OVCHINNIKOVA[1], A.V. KOMISSAROV[1], O.A. VOLOKH[1,2], N.I. VAKHRUSHINA[1], S.V. ASTAFIEVA[1], V.A. BENZLER[1], M.M. CHALBUSHEV[1], I.M. ZHULIDOV[1], S.V. GENERALOV[1], R.R. SALIKHOV[1], V.R. VOLNIKOV[1], D.N. BIBIKOV[1], G.N. GINENKO[1], E.A. GLAZKOVA[1], O.S. ZININA[1], E.G. ABRAMOVA[1,2], A.K. NIKIFOROV[1,2]

[1] Russian Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor, Saratov.
[2] Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov.

The results of a comparative analysis of liquid and dry forms of enzymatic fibrin hydrolysate obtained by hydrolysis using native gastric gland of cattle according to standardized physico-chemical quality indicators are presented. The results of studying their amino acid composition were compared. The experience of using enzymatic fibrin hydrolysate in liquid nutrient media is summarized in comparison with traditionally used nutrient media in the production of immunobiological preparations for the cultivation of bacteria of the genera *Escherichia*, *Francisella*, *Vibrio*, *Yersinia*, *Shigella*, *Salmonella* and *Vero* and *BHK-21* cell lines for the reproduction of rabies virus «*Moscow 3253*». The prospects of using enzymatic fibrin hydrolysate in the production of drugs for the phage diagnosis of plague and cholera are shown.

Keywords: enzymatic hydrolysate, fibrin, nutrient medium, amino acid composition, cultivation of microorganisms, effectiveness of nutrient medium.

Address:
K.I. Kholmatov
Researcher Russian Anti-Plague Institute «Microbe»
of Rospotrebnadzor
E-mail: kholmatov_ki@microbe.ru

Для цитирования:
Холматов К.И., Овчинникова М.В., Комиссаров А.В., Волох О.А., Вахрушина Н.И., Астафьева С.В., Бенцлер В.А., Чалбушев М.М., Жулидов И.М., Генералов С.В., Салихов Р.Р., Вольников В.Р., Бибиков Д.Н., Гиненко Г.Н., Глазкова Е.А., Зинина О.С., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К. Ферментативный гидролизат фибрина как основа питательных сред для производства иммунобиологических препаратов в ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (подведение итогов исследований, новые данные, перспективы). Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2): 52–63.

For citation:
Kholmatov K.I., Ovchinnikova M.V., Komissarov A.V., Volokh O.A., Vakhrushina N.I., Astafieva S.V., Benzler V.A., Chalbushev M.M., Zhulidov I.M., Generalov S.V., Salikhov R.R., Volnikov V.R., Bibikov D.N., Ginenko G.N., Glazkova E.A., Zinina O.S., Abramova E.G., Nikiforov A.K. Enzymatic fibrin hydrolysate as the basis of nutrient media for the production of immunobiological preparations at the Russian Anti-Plague institute «Microb» of Rospotrebnadzor (summing up research, new data, prospects). Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2):52–63 (in Russian).

УДК: 616.932:615.371

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ХОЛЕРНЫХ ВАКЦИН

О.А. ШАМИНА[1*], О.В. ГРОМОВА[1], О.А. ВОЛОХ[1,2], С.А. ВОРОБЬЕВА[1]

[1] ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов
[2] ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», г. Саратов

Холера — это острое диарейное заболевание, вызванное грамотрицательной бактерией *Vibrio cholerae*. Одним из средств профилактики холеры является иммунизация с использованием оральных противохолерных вакцин. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» является производителем единственного зарегистрированного в России препарата для профилактики холеры — «Вакцина холерная бивалентная химическая». Каждая серия выпускаемой вакцины подвергается тщательному контролю эффективности и безопасности. В статье представлен обзор данных по методам оценки эффективности и безопасности зарубежных и российской вакцин против холеры. Для контроля готового препарата вакцины применяют комплекс методов *in vivo* и *in vitro*. Однако многостадийность и длительность, применение нескольких видов лабораторных животных, а также современные требования Всемирной организации здравоохранения определяют необходимость внедрения альтернативных методов контроля *in vitro*.

Ключевые слова: вакцина холерная; методы контроля; эффективность противохолерных вакцин; специфическая безопасность.

Введение

Холера — это острая бактериальная желудочно-кишечная инфекция, вызываемая попаданием возбудителя *Vibrio cholerae* в организм. Напряженная эпидемическая ситуация по холере в мире обуславливает возможность заноса этой болезни на территорию любого государства. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ежегодно происходит от 1,3 до 4,0 млн случаев заражения холерой, включая 21000–143000 случаев со смертельным исходом, преимущественно в развивающихся странах Африки, Азии и Америки [5]. С середины 2021 г. наблюдается активный рост седьмой пандемии холеры, которая отличается количеством, масштабом и одновременностью многочисленных вспышек, распространением на территориях, которые были свободны от холеры в течение десятилетий, и тревожно высокими показателями смертности. Зарегистрированный в 2021 г. среднемировой показатель коэффициента летальности от холеры, составлял 1,9% (в Африке — 2,9%), что значительно превышает допустимый уровень (<1%) и является высоким показателем за последние 10 лет. Учитывая все предварительные данные, ВОЗ оценивает риск на глобальном уровне как очень высокий [3]. В 2017 г. Глобальная целевая группа по борьбе с холерой (ГЦГБХ) опубликовала стратегию «Ликвидация холеры: дорожная карта до 2030 г.». Стратегия предусматривает сокращение смертности от холеры на 90% и элиминацию холеры не менее чем в 20 странах к 2030 г. [4].

Первая вакцина против холеры, представляющая собой живой цельноклеточный препарат для инъекций, была разработана в 1885 г. [24]. В последующие годы были разработаны и другие вакцины против холеры, однако все они обладали низким уровнем защитной эффективности и значительным количеством побочных эффектов [41]. С 2013 г. важным шагом ВОЗ являлось создание запаса противохолерных вакцин [30]. На сегодняшний день для профилактики холеры в разных странах разрабатываются и выпускаются различные типы оральных холерных вакцин: инактивированные цельноклеточные, обогащенные рекомбинантной В-субъединицей холерного токсина (В-ХТ) и живые [14]. Важнейшим аспектом требований надлежащей производственной практики (GMP – Good

© 2026 г. Шамина О.А., Громова О.В., Волох О.А., Воробьева С.А.
*** Автор для переписки:**
Шамина Ольга Александровна
младший научный сотрудник ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
E-mail: Olga.serebryakova.1989@mail.ru

manufacturing practice) является проведение контроля качества продукции для подтверждения соответствия лекарственного препарата документам регистрационного досье, что гарантирует безопасность и эффективность для пациентов. Безопасность вакцин оценивается системой из пяти уровней контроля, один из которых — контроль качества вакцин на предприятии-изготовителе, предусматривает обязательный поэтапный контроль материала на безопасность на разных стадиях технологического процесса (контроль исходного сырья, полуфабриката, готовой продукции) [15].

Целью данной работы является обзор используемых в настоящее время методов контроля безопасности и эффективности противохолерных вакцин, а также анализ данных литературы о возможности улучшения и внедрения альтернативных методов контроля специфической безопасности в производстве холерной химической вакцины.

Современные оральные вакцины против холеры. В настоящее время существуют импортные оральные вакцины против холеры, прошедшие преквалификацию ВОЗ: Dukoral (SBL, Швеция), Shanchol (Shantha Biotechnics, Индия), Euvichol и Euvichol-Plus (Eubiologics, Сеул, Республика Корея). В апреле 2024 г. ВОЗ провела преквалификацию вакцины Euvichol-S, производителем которой также является EuBiologicals, Республика Южная Корея. Все они предполагают двукратную вакцинацию и относительно просты в применении.

Первым из этих препаратов была вакцина Dukoral, которая получила разрешение к применению в Швеции в 1991 г. В последующие годы вакцина была зарегистрирована более чем в 60 странах, препарат стал первой оральной противохолерной вакциной, получившей мировую лицензию. Вакцина Dukoral представляет собой четырехвалентную оральную вакцину, состоящую из инактивированных формалином или нагреванием клеток *V. cholerae* O1 серогруппы классического и Эль-Тор биоваров сероваров Инаба и Огава (классический штамм Inaba Cairo 48, классический штамм Ogawa Cairo 50 и штамм El Tor Inaba Phil 6973) и обогащенная рекомбинантной B-XT. Вакцина выпускается в комплекте с бикарбонатным буфером, необходимым для нейтрализации соляной кислоты в желудке [31]. Эта вакцина может вводиться лицам старше 2 лет, и для достижения оптимальной эффективности требуется, по крайней мере, две дозы. Защитная эффективность этой вакцины была продемонстрирована в ходе нескольких полевых испытаний в разных странах, в результате которых в первые 6 месяцев было достигнуто более 80% защиты, а затем она постепенно снижалась, в конечном итоге обеспечивая незначительную защиту через 2 года. Безопасность вакцины Dukoral была подтверждена при проведении мониторинга эффективности препарата более чем на 240000 привитых. Никаких значительных серьезных побочных эффектов от применения этой вакцины обнаружено не было [29, 37, 43]. Для того чтобы сделать вакцину доступной для международного использования, технология производства была передана в компанию Shantha Biotechnics в Индии, которая получила одобрение ВОЗ на использование вакцины и зарегистрировала препарат под названием Shanchol [33].

Вакцина Shanchol (Индия) создавалась на основе вакцины Dukoral, но без использования рекомбинантной B-XT. Она содержит инактивированные нагреванием или формалином клетки штаммов *V. cholerae* O1 и O139 сероваров классического и Эль Тор биоваров. В 2009 г. эта вакцина была лицензирована в Индии, а в 2011 г. получила преквалификацию ВОЗ [23, 45]. Вакцина предназначена для людей в возрасте от 1 года и старше в количестве двух доз с интервалом 14 дней. Проведенные клинические испытания вакцины Shanchol в Калькутте подтвердили ее безопасность, хорошую переносимость и эффективность. Проведенное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование в г. Дакка (Бангладеш), также показало безопасность и эффективность вакцины Shanchol [42]. Позже технология производства вакцины Shanchol была перенесена на компанию Eubiologics в Сеуле, Республика Корея, в результате чего был получен препарат под названием Euvichol.

Препарат Euvichol имеет состав, идентичный вакцине Shanchol. Вакцина получила лицензию и преквалификацию ВОЗ в 2015 г. Исследования, проведенные в 2014 г. на Филиппинах, подтверждают, что вакцины Euvichol и Shanchol обладают одинаковыми профилями безопасности и эффективности. Показатели иммунного ответа вакцины Euvichol не отличаются от соответствующих показателей вакцины Shanchol [22]. Вакцина Euvichol-Plus идентична по составу Euvichol, но вместо стеклянных флаконов используется пластиковая туба, что обеспечивает лучшие условия для хранения, транспортировки и использования. Это изменение способствовало доставке этой вакцины в чрезвычайных ситуациях. В 2017 г. препарат Euvichol-Plus прошел преквалификацию ВОЗ [40]. Вакцина Euvichol-S (Eubiologics, Сеул, Республика Корея), прошедшая процедуру преквалификации ВОЗ в 2024 г., является модернизированной версией вакцины Euvichol-Plus.

Одна доза Euvichol-Plus или Euvichol-S дает хорошую кратковременную защиту. Для применения вакцин Euvichol-Plus и Euvichol-S не требуется буферного раствора, и их можно назначать всем лицам старше одного года [47].

Вакцина OraVacs производства Shanghai United Cell Biotechnology (Китай) представляет собой сухую капсульную вакцину с кишечнорастворимой оболочкой, по составу идентична вакцине Dukoral. Она лицензирована в Китае и на Филиппинах [25]. Для оценки безопасности и эффективности вакцины OraVacs были проведены 4 клинических испытания на 6815 взрослых и детях старше 11 лет. Полученные данные подтверждают, что вакцина OraVacs, также как и Dukoral, предохраняет против энтеротоксигенной кишечной палочки [7].

Препарат Cholvax (Incepta Vaccine Limited, Дакка), лицензирован в Народной Республике Бангладеш и используется в национальной программе по борьбе с холерой. В ходе клинических испытаний продемонстрировал безопасность и иммуногенность, сравнимые с вакциной Shanchol [28].

Живая аттенуированная вакцина Vaxchora, разработанная и одобренная в США, применяется в Европе для вакцинации взрослых туристов в возрасте от 18 до 64 лет, планирующих посещение территории с высоким риском заражения холерой [39]. Эта вакцина основана на генетически модифицированном штамме *V. cholerae* CVD 103-HgR, серогруппа O1, серотип Inaba, классический биотип, который получен из штамма 569B путем удаления 94% гена *ctxA*, ответственного за синтез A-субъединицы, и сохранением способности к продукции B-XT [36]. Безопасность вакцины была доказана во многих сравнительных клинических исследованиях. Эффективность вакцины была оценена в рандомизированном контролируемом двойном слепом исследовании, проведенном на 197 добровольцах в возрасте от 18 до 45 лет [26].

В результате совместного партнерства между лабораториями Хиллемана (Индия), Гетеборгским университетом и Gotovax AB (Швеция) в настоящее время разрабатывается препарат Hillchol на основе штамма MS1568 Hikojima. В результате оценки иммуногенности, проведенной на мышах, был получен положительный вибриоцидный ответ в сыворотках крови против *V. cholerae* O1 Inaba и Ogawa. GM1 ELISA использовался для обнаружения XT в готовых партиях препарата. Препарат Hillchol завершил исследование I/II фазы, в ходе которого оценивались его безопасность, переносимость и иммуногенность. Исследование показало, что он не уступает Shanchol в эффективности у людей разных возрастных групп, проживающих в эндемичном по холере регионе [34, 44].

В Российской Федерации единственным препаратом для профилактики холеры является «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой». Вакцина разработана и внедрена в производство в противочумном научно-исследовательском институте «Микроб», лицензирована на национальном уровне. Для производства вакцины используют антигенные компоненты, полученные из инактивированных формалином бульонных культур штаммов *V. cholerae* O1 классического биовара 569B серовара Инаба и M-41 Огава: холероген-анатоксин (ХА), отвечающий за формирование антитоксического иммунитета, и О-антиген (О-АГ) сероваров Инаба и Огава, определяющий образование антибактериального иммунитета при холере [18]. В доклинических испытаниях на биомоделях (кролики, белые мыши) была показана безвредность и высокая эффективность вакцины [8]. Результаты проведенных клинических исследований показали ареактогенность и безопасность вакцины бивалентной химической [19].

Методы контроля безопасности и эффективности вакцин против холеры. Статус лицензированных и преквалифицированных вакцин подтверждает их качество, эффективность и безопасность в соответствии с требованиями ВОЗ. Для демонстрации протективной эффективности вакцин обычно используются релевантные модели с заражением животных. Наиболее часто используемыми видами в исследованиях являются крысы, кролики и мыши. При этом в некоторых случаях адекватный иммунный ответ может быть показан только на приматах [6]. Оценка безопасности заключается во введении продукта лабораторным животным и, если ни одно животное не погибнет или не проявит признаков болезни, серия считается безвредной [32]. Но в последние годы тест на безвредность ставят под сомнение, так как использование значительного количества лабораторных животных для него не может быть оправдано ввиду его недоказанной и сомнительной пригодности. Испытание на увеличение веса мыши, которое в настоящее время используется для мониторинга токсичности вакцинных партий, считается недостаточно чувствительным и научно не обоснованным [35]. Полное исключение из Европейской фармакопеи испытаний на аномальную токсичность с 1 января 2019 г. было одобрено в ходе проведения 159 пленарной сессии Европейской комиссии по фармакопее, проходившей в Страсбурге 21–22 ноября 2017 г., и за-

креплено в Приложении 9.6 Европейской фармакопеи (Ph. Eur. Suppl. 9.6).

Остаточную токсичность в готовой лекарственной форме вышеперечисленных зарубежных вакцин определяют с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) GM1 ELISA, с использованием GM1-ганглиозидов специфически связывающихся с ХТ: остаточная токсичность должна составлять менее 50 нг/10^{11} [45]. Эффективность этих вакцин определяют в ИФА с использованием моноклональных антител по уровню содержания (в условных единицах) липополисахаридов Огава и Инаба, в вакцине Dukoral дополнительно определяют содержание В-ХТ методом GM1 ELISA [33].

При производстве отечественной холерной химической вакцины в тестировании специфических компонентов и готовых серий препарата используют ряд методов *in vivo* на лабораторных животных и *in vitro* [16]. Безопасность вакцины контролируется поэтапно. На первом этапе оценивается специфическая безвредность ХА по показателю «отсутствие синдрома холерогенности» на модели крольчат-сосунков. На втором этапе определяют безопасность готового препарата холерной вакцины. Согласно Государственной фармакопее РФ ОФС.1.1.1.0018 и ФС.3.3.1.0020.15 безопасность холерной вакцины определяют в тесте на «аномальную токсичность» на беспородных белых мышах и по показателю «специфическая безопасность» в кожной пробе по Craig на взрослых кроликах.

Эффективность холерной химической вакцины оценивается на стадии получения специфических компонентов и в готовом препарате. Специфическую активность ХА оценивают в реакции анатоксиносвязывания (ЕС) на кроликах и методом дот-иммуноанализа с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А, меченного коллоидным золотом (ДИА ЗНЧ). Оценку активности О-АГ Инаба и Огава проводят иммунохимическим методом в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с использованием «Набора реагентов для определения содержания О-антигена в РНГА» и методом ДИА ЗНЧ с применением сыворотки антихолерогенной кроличьей для определения содержание ХА, и с сывороткой диагностической холерной О1 адсорбированной сухой для определения содержание О-АГ. Специфическую активность готовой лекарственной формы оценивают по содержанию О-АГ в РНГА, по антигенной активности в реакции ЕС на кроликах, и в тесте «иммуногенность» на белых мышах.

В таблице 1 представлены методы контроля безопасности и эффективности описанных выше вакцин.

Таблица 1

Методы контроля безопасности и эффективности вакцин

Наименование	Dukoral	Shanchol	Euvichol Euvichol-Plus Euvichol-S	Vaxchora	Cholvax	OraVacs	Hillchol	Химическая холерная вакцина
Тип вакцины	Инактивированная комбинированная	Инактивированная цельно-клеточная	Инактивированная цельно-клеточная	Живая	Инактивированная цельно-клеточная	Инактивированная цельно-клеточная	Инактивированная одношгаммная	Химическая
Аномальная токсичность	*in vivo* мыши	нет	нет	нет	нет	нет	нет	*in vivo* белые мыши
Специфическая безопасность	*in vitro* GM1 ELISA	*in vitro* GM1 ELISA	*in vitro* GM1 ELISA	*in vitro* GM1 ELISA	*in vitro* GM1 ELISA	*in vitro* GM1 ELISA	*in vitro* GM1 ELISA	*in vivo* кролики
Методы контроля эффективности	*in vitro* ELISA ЛПС и В-ХТ	–	–	–	–	–	–	*in vivo* кролики белые мыши

Следует отметить, что на данном этапе актуальным вопросом остается совершенствование методов контроля компонентов вакцины, поскольку применяемые в настоящее время методы имеют ряд недостатков: многостадийность и длительность, применение нескольких видов лабораторных животных.

Возможность использования альтернативных методов контроля. Так как *V. cholerae* является антропонозным патогеном, не существует подходящей живой модели для оценки безопасности или иммуногенности противохолерных вакцин. Поэтому сегодня вопросы этического, разумного и экономного использования животных в исследованиях в области медицины, биологии и ветеринарии привлекают все большее внимание специалистов и общественности. В 1959 г. У. Рассел и Р. Берч издали книгу «Принципы гуманной экспериментальной техники», в которой обоснована концепция гуманного использования животных в экспериментах, получившая название «Концепция трех R» [38]. В связи с этим возникает необходимость максимального сокращения количества экспериментальных животных, используемых в процессе производства и контроля препаратов. Внедрение способов контроля методами *in vitro* на стадиях производства вакцины поможет снизить временные и материальные затраты.

Специалистами института «Микроб» была проведена работа по возможности усовершенствования методов контроля безопасности и специфической активности холерной бивалентной химической вакцины. Ранее Сыровой Н.А. с соавт. [20] и Фёдоровой В.А. с соавт. [21] были показаны преимущества применения вариантов твердофазного иммуноферментного анализа и ДИА для контроля биосинтеза антигенов на этапах производства химической вакцины против холеры. Были проведены опыты по разработке иммуноферментной тест-системы для детекции ХТ на основе сэндвич-варианта ИФА [17]. Дураковой О.С. с соавт. [10] была проведена работа по оценке возможности использования иммунохимических методов для определения специфической активности антигенов в специфических компонентах и готовой лекарственной форме холерной химической вакцины. Были разработаны варианты GM1 ELISA и непрямой ДИА ЗНЧ [12]. Экспериментально были обоснованы условия пробоподготовки, рабочие разведения и условия постановки реакций [1]. Показана возможность использования метода GM1 ELISA для определения специфической безопасности готовой лекарственной формы, применения перевиваемой линии клеток CHO-K1 и ДИА ЗНЧ для определения специфической активности компонентов [2, 9]. По результатам проведенной работы экспериментально обоснована возможность использования альтернативных методов контроля в производстве холерной химической вакцины [11].

Заключение

Одной из проблем при оценке качества лекарственных препаратов является широкое применение методов *in vivo*. В последнее время ведутся активные исследования, направленные на замену методов *in vivo* на более этичные и эффективные методы *in vitro*. Это позволяет ведущим мировым фармакопеям рассматривать альтернативные методы испытаний как для количественного определения вакцин и анатоксина, так и для оценки безопасности биологических лекарственных препаратов. В настоящее время при участии некоторых фармакопейных комиссий проводится активная работа по научно обоснованному исключению испытания на аномальную токсичность из спецификаций на биологические лекарственные препараты. В рамках Фармакопеи США вместо отдельной монографии по испытаниям на аномальную токсичность ранее использовалась методика определения общей безопасности, указанная в Своде законов США, которая также в настоящее время исключена. В Японской и Корейской фармакопеях общая монография по аномальной токсичности отсутствует. Для Фармакопеи Евразийского экономического союза такие испытания не включены в качестве обязательной процедуры стандартизации биологических лекарственных препаратов. В России, с учетом современной тенденции, обосновано исключение испытаний на аномальную токсичность в проекте общей фармакопейной статьи «Биологические лекарственные препараты» [13]. Проводимые в этой области исследования показывают, что иммунохимические методы обнаружения и количественного анализа различных токсинов, в частности ИФА-системы, остаются наиболее используемыми и достоверными. Отказ от практики использования лабораторных животных при контроле таких показателей, как иммуногенная активность, безвредность, специфическая активность и токсичность на методы *in vitro*, будет итогом гармонизации российских требований с требованиями международных фармакопей. Необходимо отметить преимущество предлагаемых методов перед методом *in vivo*, используемом в производстве холерной вакцины. Изученные методы контролей с использованием ДИА ЗНЧ и GM1 ELISA легко воспроизводимы, требуют меньшего времени на постановку и учет результата. Постановка реакций этими методами открывает возможность проводить быструю оценку

специфической безопасности, эффективности и оптимизирует процесс производства холерной химической вакцины. Корреляция и анализ исторических данных с точки зрения качества, безопасности и эффективности для вакцин может помочь подтвердить применимость новых подходов, не связанных с животными. Все вышеизложенное говорит о необходимости дальнейших исследований в разработке схем применения данных методов в производстве холерной химической вакцины.

Литература

1. Воробьева С.А., Дуракова О.С., Волох О.А., Громова О.В. Возможность определения специфической активности О-АГ в производстве холерной химической вакцины с помощью дот-анализа // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2018. – Т. 18. – Вып. 3. – С. 318–319.
2. Воробьева С.А., Дуракова О.С., Громова О.В., Волох О.А., Клокова О.Д., Никифоров А.К. Антигенные компоненты холерной бивалентной химической вакцины, методы их выделения и контроля // Проблемы особо опасных инфекций. – 2022. – № 2. – С. 12–19.
3. Всемирная организация здравоохранения (11 февраля 2023 г.). Новости о вспышках болезней. Холера – ситуация в мире. – URL: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON437 (дата обращения: 29.05.2026.).
4. Всемирная организация здравоохранения. Дефицит вакцин против холеры на фоне подъема заболеваемости во всем мире вынуждает временно отказаться от двухдозовой схемы профилактики: сайт. – 2022. – URL: https://www.who.int/ru/news/item/19-10-2022-shortage-of-cholera-vaccines-leads-to-temporary-suspension-of-two-dose-strategy-as-cases-rise-worldwide (дата обращения 31.05.2026).
5. Всемирная организация здравоохранения. Холера: сайт. – 2024. – URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cholera (дата обращения 31.05.2026).
6. Горенков Д.В., Комаровская Е.И., Солдатов А.А. и др. Современные нормативные требования к проведению доклинических исследований профилактических вакцин // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2023. – Т. 23. – № 1. – С. 7–25.
7. Горяев А.А., Саяпина Л.В., Обухов Ю.И., Бондарев В.П. Эффективность и безопасность вакцин для профилактики холеры // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2018. – Т. 18. – № 1. – С. 42–49.
8. Джапаридзе М.Н., Егорова В.Д., Корнева Л.Т. и др. Изучение иммунохимической эффективности оральной холерной химической вакцины на экспериментальных животных // ЖМЭИ. – 1976. – № 11. – С. 115–121.
9. Дуракова О.С., Громова О.В., Гаева А.В., Генералов С.В., Ливанова Л.Ф., Клокова О.Д., Волох О.А. Экспериментальное обоснование возможности использования перевиваемой линии клеток CHO-K1 для определения специфической активности компонентов холерной химической вакцины // Проблемы особо опасных инфекций. – 2019. – № 4. – С. 113–116.
10. Дуракова О.С., Громова О.В., Киреев М.Н. и др. Применение дот-иммуноанализа для определения специфической активности антигенов в производстве холерной вакцины // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2018. – Т. 14. – № 4. – С. 10–13.
11. Дуракова О.С. Совершенствование методических подходов для оценки специфической активности антигенов холерной химической вакцины: автореферат дис. канд. биол. наук. ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. – Оболенск, 2023. – 24 с.
12. Дыкман Л.А., Богатырев В.А., Щеголев С.Ю. и др. Золотые наночастицы: синтез, свойства, биомедицинские применения. – Москва: Наука, 2008.
13. Корнилова О.Г., Багирова В.Л. Фармакопейная стандартизация биологических лекарственных препаратов: основные принципы в условиях единого фармацевтического рынка стран Евразийского экономического союза // БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. – 2025. – Т. 25. – № 1. – С. 71–82.
14. Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Кутырев В.В. и др. Актуальные проблемы эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики и профилактики холеры в Российской Федерации // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2016. – № 1. – С. 89–101.
15. ОФС.1.1.1.0018. Аномальная токсичность // Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд. – М., 2025.
16. ОФС.1.7.2.0001.15. Безопасность пробиотиков в тестах *in vivo* // Государственная фармакопея РФ. – XIII изд. – М., 2015.
17. Патент RU 2611359. Способ и набор для определения продукции холерного токсина и дифференциации эпидемически значимых штаммов холерных вибрионов классического и эльтор биоваров: № 2016109320: заявл. 15.03.2016: опубл. 21.02.2017 / Е.А. Михеева, Н.А. Осина, З.Л. Девдариани и др.; заявитель, патентообладатель Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». – Бюл. № 6.
18. Патент РФ 2159128. Оральная химическая вакцина против холеры: № 2000104378/13: заявл. 24.02.2000: опубл. 20.12.2000 / О.В. Громова, М.Н. Джапаридзе, И.А. Дятлов и др.; заявитель, патентообладатель Федеральное государственное учреждение Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» МЗ РФ.

19. Сумароков А.А., Джаперидзе М.Н., Резников Ю.Б. и др. Реактогенность и иммунологическая эффективность новой оральной холерной химической бивалентной вакцины в ограниченном контролируемом опыте ревакцинации людей // Проблемы особо опасных инфекций. — 1993. — Вып. 76. — С. 143—148.
20. Сырова Н.А. Получение, характеристика и биотехнологические аспекты применения поли- и моноклональных антител к антигенам *Vibrio cholerae* O1 Инаба и Огава: дис. канд. биол. наук: 03.00.07. — Саратов, 2005. — 156 с.
21. Федорова В.А., Сырова Н.А., Громова О.В. и др. Применение дот-иммуноанализа для контроля синтеза иммуногенов при производстве оральной химической холерной вакцины // Биотехнология. — 2000. — № 4. — С. 87—94.
22. Baik Y.O., Choi S.K., Olveda R.M. et al. A randomized, non-inferiority trial comparing two bivalent killed, whole cell, oral cholera vaccines (Euvichol vs Shanchol) Philippines // Vaccine. — 2015. — Vol. 33. — No. 46. — P. 6360—6365.
23. Bhattacharya S.K., Sur D., Ali M. et al. 5 year efficacy of a bivalent killed whole-cell oral cholera vaccine in Kolkata, India: a cluster-randomised, double-blind, placebo-controlled trial // Lancet Infect. Dis. — 2013. — Vol. 13. — P. 1050—1056.
24. Bornside G.H. Jaime Ferran and preventive inoculation against cholera // Bull. Hist. Med. — 1981. — Vol. 55. — P. 516—532.
25. Chen Q., Yu S., Wang Y. Community trial for safety and immunogenicity of oral-administered lyophilized rBS-WC cholera vaccine // Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi. — 1996. — Vol. 30. — No. 6. — P. 330—333.
26. Chen W.H., Cohen M.B., Kirkpatrick B.D. et al. Single-dose live oral cholera vaccine CVD 103-HgR protects against human experimental infection with *Vibrio cholera*e O1 El Tor // Clin. Infect. Dis. — 2016. — Vol. 62. — No. 11. — P. 1329—1335.
27. Chowdhury F., Akter A., Bhuiyan T.R. et al. A non-inferiority trial comparing two killed, whole cell, oral cholera vaccines (Cholvax vs. Shanchol) in Dhaka, Bangladesh // Vaccine. — 2022. — Vol. 40. — P. 640—649.
28. Chowdhury F., Ali Syed K., Akter A. et al. A phase I/II study to evaluate safety, tolerability and immunogenicity of Hillchol®, an inactivated single Hikojima strain based oral cholera vaccine, in a sequentially age descending population in Bangladesh // Vaccine. — 2021. — Vol. 39. — P. 4450—4457.
29. Clemens J.D., Sack D.A., Harris J.R. et al. Field trial of oral cholera vaccines in Bangladesh: Results from three-year follow-up // Lancet. — 1990. — Vol. 335. — P. 270—273.
30. Desai S.N., Pezzoli L., Alberti K.P. et al. Achievements and challenges for the use of killed oral cholera vaccines in the global stockpileera. Hum // Vaccin. Immunother. — 2016. — Vol. 13. — No. 3. — P. 579—587
31. Dukoral, INN — Oral Cholera vaccine. — URL: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2021/20210107150191/anx_150191_en.pdf (date of access 23.05.2026)
32. Garbe J.H.O., Ausborn S., Beggs C. et al. Historical data analyses and scientific knowledge suggest complete removal of the abnormal toxicity test as a quality control // J. Pharmaceut. Sci. — 2014. — Vol. 103. — No. 11. — P. 3349—3355.
33. Holmgren J. An update on cholera immunity and current and future cholera vaccines // Trop. Med. Infec. Dis. — 2021. — Vol. 6. — Art. 64. doi: 10.3390/tropicalmed6020064.
34. Karlsson S.L., Ax E., Nygren E. et al. Development of stable *Vibrio cholerae* O1 Hikojima type vaccine strains co-expressing the Inaba and Ogawa lipopolysaccharide antigens // PLoS one. — 2014. — Vol. 9. — No. 11. — e108521. doi: 10.1371/journal.pone.0108521.
35. Lei D., Schmidt H., Knezevic I. et al. Removal of the innocuity test from The International Pharmacopoeia and WHO recommendations for vaccines and biological products // Biologicals. — 2020. — Vol. 66. — P. 17—20.
36. Levine M.M., Chen W.H., Kaper J.B. et al. PaxVax CVD 103-HgR single-dose live oral cholera vaccine // Expert Rev. Vaccines. — 2017. — Vol. 16. — P. 197—213.
37. Lucas M.E.S., Deen J.L., von Seidlein L. et al. Effectiveness of mass oral cholera vaccination in Beira, Mozambique // N. Engl. J. Med. — 2005. — Vol. 352. — P. 757—767.
38. Mattia F.D., Chapsal J.-M., Descamps J. et al. The consistency approach for quality control of vaccines — A strategy to improve quality control and implement 3Rs // Biologicals. — 2011. — Vol. 39. — P. 59—65.
39. McCarty J., Bedell L., De Lame P.-A., Cassie D., Lock M., Bennett S., Haney D. Update on CVD 103-HgR single-dose, live oral cholera vaccine // Expert Rev. Vaccines. — 2022. — Vol. 21. — No. 1. — P. 9—23.
40. Odevall L., Hong D., Digilio L. et al. The Euvichol story — development and licensure of a safe, effective and affordable oral cholera vaccine through global public private partnerships // Vaccine. — 2018. — Vol. 36. — P. 6606—6614.
41. Sack D.A., Sack R.B., Nair G.B., Siddique A. Cholera (the lancet) // Lancet. — 2004. — Vol. 363. — P. 223—233.
42. Saha A., Chowdhury M.I., Khanam F. et al. Safety and immunogenicity study of a killed bivalent (O1 and O139) whole-cell oral cholera vaccine Shanchol, in Bangladeshi adults and children as young as 1 year of age // Vaccine. — 2011. — Vol. 29. — No. 46. — P. 8285—8292.
43. Sanchez J.L., Vasquez B., Begue R.E. et al. Protective efficacy of oral whole-cell/recombinant-B-subunit cholera vaccine in Peruvian military recruits // Lancet. — 1994. — Vol. 344. — P. 1273—1276.
44. Sharma T., Joshi N., Kumar Mandyal A. et al. Development of Hillchol®, a low-cost inactivated single strain Hikojima oral cholera vaccine // Vaccine. — 2020. — Vol. 38. — No. 50. — P. 7998—8009.

45. Sur D., Lopez A.L., Kanungo S. et al. Efficacy and safety of a modified killed-whole-cell oral cholera vaccine in India: An interim analysis of a cluster-randomised, double-blind, placebo-controlled trial // Lancet. – 2009. – Vol. 374. – P. 1694–1702.
46. Svennerholm A.M., Wiklund G. Rapid GM1-enzyme-linked immunosorbent assay with visual reading for identification of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin // J. Clin. Microbiol. – 1983. – Vol. 17. – No. 4. – P. 596–600.
47. Weekly Epidemiological Record = Relevé épidémiologique hebdomadaire. World Health Organization = Organisation mondiale de la Santé. – 2024. – Vol. 99. – No. 36. – P. 481–496. – URL: https://iris.who.int/handle/10665/378714 (дата обращения: 14.05.2026).

References

1. Vorob'yeva SA, Durakova OS, Volokh OA, Gromova OV. Vozmozhnost' opredeleniya spetsificheskoy aktivnosti O-AG v proizvodstve kholernoy khimicheskoy vaktsiny s pomoshch'yu dot-analiza. Izv Sarat un-ta Nov ser Ser. Khimiya. Biologiya. Ekologiya 2018; 18(3):318–319 (in Russian).
2. Vorob'yeva SA, Durakova OS, Gromova OV, Volokh OA, Klokova OD, Nikiforov AK. Antigennyye komponenty kholernoy bivalentnoy khimicheskoy vaktsiny, metody ikh vydeleniya i kontrolya. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2022; 2:12–19 (in Russian).
3. Vsemirnaya organizatsiya zdravookhraneniya (11 fevralya 2023 g). Novosti o vspyshkakh bolezney. Kholera – situatsiya v mire. URL: https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON437 (date of access: 29.05.2026) (in Russian).
4. Vsemirnaya organizatsiya zdravookhraneniya. Defitsit vaktsin protiv kholery na fone pod»yema zabolevayemosti vo vsem mire vynuzhdayet vremenno otkazat'sya ot dvukhdozovoy skhemy profilaktiki. 2022; URL: https://www.who.int/ru/news/item/19-10-2022-shortage-of-cholera-vaccines-leads-to-temporary-suspension-of-two-dose-strategy-as-cases-rise-worldwide (date of access 31.05.2026) (in Russian).
5. Vsemirnaya organizatsiya zdravookhraneniya. Kholera. 2024; URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cholera (data obrashcheniya 31.05.2026) (in Russian).
6. Gorenkov DV, Komarovskaya YeI, Soldatov AA i dr. Sovremennyye normativnyye trebovaniya k provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy profilakticheskikh vaktsin. BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lecheniye 2023; 23(1):7–25 (in Russian).
7. Goryayev AA, Sayapina LV, Obukhov YUI, Bondarev VP. Effektivnost' i bezopasnost' vaktsin dlya profilaktiki kholery. BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lecheniye 2018; 18(1):42–49 (in Russian).
8. Dzhaparidze MN, Yegorova VD, Korneva LT i dr. Izucheniye immunokhimicheskoy effektivnosti oral'noy kholernoy khimicheskoy vaktsiny na eksperimental'nykh zhivotnykh. ZHMEI 1976; 11:115–121 (in Russian).
9. Durakova OS, Gromova OV, Gayeva AV, Generalov SV, Livanova LF, Klokova OD, Volokh OA. Eksperimental'noye obosnovaniye vozmozhnosti ispol'zovaniya perevivayemoy linii kletok SNO-K1 dlya opredeleniya spetsificheskoy aktivnosti komponentov kholernoy khimicheskoy vaktsiny. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2019; 4:113–116 (in Russian).
10. Durakova OS, Gromova OV, Kireyev MN i dr. Primeneniye dot-immunoanaliza dlya opredeleniya spetsificheskoy aktivnosti antigenov v proizvodstve kholernoy vaktsiny. Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii im YuA Ovchinnikova 2018; 14(4):10–13 (in Russian).
11. Durakova OS. Sovershenstvovaniye metodicheskikh podkhodov dlya otsenki spetsificheskoy aktivnosti antigenov kholernoy khimicheskoy vaktsiny: avtoreferat dis. kand. biol. nauk. FBUN Gosudarstvennyy nauchnyy tsentr prikladnoy mikrobiologii i biotekhnologii. Obolensk, 2023: 24 (in Russian).
12. Dykman LA, Bogatyrev VA, Shchegolev SYu i dr. Zolotyye nanochastitsy: sintez, svoystva, biomeditsinskiye primeneniya. – Moscow: Nauka, 2008 (in Russian).
13. Kornilova OG, Bagirova VL. Farmakopeynaya standartizatsiya biologicheskikh lekarstvennykh preparatov: osnovnyye printsipy v usloviyakh yedinogo farmatsevticheskogo rynka stran Yevraziyskogo ekonomicheskogo soyuza. BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lecheniye 2025; 25(1):71–82 (in Russian).
14. Onishchenko GG, Popova AYu, Kutyrev VV i dr. Aktual'nyye problemy epidemiologicheskogo nadzora, laboratornoy diagnostiki i profilaktiki kholery v Rossiyskoy Federatsii. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii 2016; 1:89–101 (in Russian).
15. OFS.1.1.1.0018. Anomal'naya toksichnost'. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. XV izd. Moscow, 2025 (in Russian).
16. OFS.1.7.2.0001.15. Bezopasnost' probiotikov v testakh *in vivo*. Gosudarstvennaya farmakopeya RF. XIII izd. Moscow, 2015 (in Russian).
17. Patent RU 2611359. Sposob i nabor dlya opredeleniya produktsii kholernogo toksina i differentsiatsii epidemicheski znachimykh shtammov kholernykh vibrionov klassicheskogo i el'tor biovarov: № 2016109320: zayavl. 15.03.2016: opubl. 21.02.2017. YeA Mikheyeva, NA Osina, ZL Devdariani i dr; zayavitel', patentobladatel' Rossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy protivochumnyy institut «Mikrob». Byul № 6 (in Russian).
18. Patent RF 2159128. Oral'naya khimicheskaya vaktsina protiv kholery: № 2000104378/13: zayavl. 24.02.2000: opubl. 20.12.2000. OV Gromova, MN Dzhaparidze, IA Dyatlov i dr; zayavitel', patentoobladatel' Federal'noye gosudarstvennoye uchrezhdeniye Rossiyskiy nauchno-issledovatel'skiy protivochumnyy institut «Mikrob» MZ RF (in Russian).
19. Sumarokov A.A., Dzhaparidze M.N., Reznikov YU.B. i dr. Reaktogennost' i immunologicheskaya effektivnost' no-

voy oral'noy kholernoy khimicheskoy bivalentnoy vaktsiny v ogranichennom kontroliruyemom opyte revaktsinatsii lyudey. Problemy osobo opasnykh infektsiy 1993;76):143–148 (in Russian).
20. Syrova NA. Polucheniye, kharakteristika i biotekhnologicheskiye aspekty primeneniya poli- i monoklonal'nykh antitel k antigenam *Vibrio cholerae* O1 Inaba i Ogava: dis kand biol nauk. Saratov, 2005: 156 (in Russian).
21. Fedorova VA, Syrova NA, Gromova OV i dr. Primeneniye dot-immunoanaliza dlya kontrolya sinteza immunogenov pri proizvodstve oral'noy khimicheskoy kholernoy vaktsiny. Biotekhnologiya 2000; 4:87–94 (in Russian).
22. Baik YO, Choi SK, Olveda RM et al. A randomized, non-inferiority trial comparing two bivalent killed, whole cell, oral cholera vaccines (Euvichol vs Shanchol) Philippines. Vaccine 2015; 33(46):6360–6365.
23. Bhattacharya SK, Sur D, Ali M et al. 5 year efficacy of a bivalent killed whole-cell oral cholera vaccine in Kolkata, India: a cluster-randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet Infect Dis 2013; 13:1050–1056.
24. Bornside GH. Jaime Ferran and preventive inoculation against cholera. Bull Hist Med 1981; 55:516–532.
25. Chen Q, Yu S, Wang Y. Community trial for safety and immunogenicity of oral-administered lyophilized rBS-WC cholera vaccine. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi 1996; 30(6):330–333.
26. Chen WH, Cohen MB, Kirkpatrick BD et al. Single-dose live oral cholera vaccine CVD 103-HgR protects against human experimental infection with *Vibrio cholera*e O1 El Tor. Clin Infect Dis 2016; 62(11):1329–1335.
27. Chowdhury F, Akter A, Bhuiyan TR et al. A non-inferiority trial comparing two killed, whole cell, oral cholera vaccines (Cholvax vs. Shanchol) in Dhaka, Bangladesh. Vaccine 2022; 40:640–649.
28. Chowdhury F, Ali Syed K, Akter A et al. A phase I/II study to evaluate safety, tolerability and immunogenicity of Hillchol®, an inactivated single Hikojima strain based oral cholera vaccine, in a sequentially age descending population in Bangladesh. Vaccine 2021; 39:4450–4457.
29. Clemens JD, Sack DA, Harris JR et al. Field trial of oral cholera vaccines in Bangladesh: Results from three-year follow-up. Lancet 1990; 335:270–273.
30. Desai SN, Pezzoli L, Alberti KP et al. Achievements and challenges for the use of killed oral cholera vaccines in the global stockpileera. Hum Vaccin Immunother 2016; 13(3):579–587
31. Dukoral, INN – Oral Cholera vaccine. URL: https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2021/20210107150191/anx_150191_en.pdf (date of access 23.05.2026)
32. Garbe JHO, Ausborn S, Beggs C et al. Historical data analyses and scientific knowledge suggest complete removal of the abnormal toxicity test as a quality control. J Pharmaceut Sci 2014; 103(11):3349–3355.
33. Holmgren J. An update on cholera immunity and current and future cholera vaccines. Trop Med Infec Dis 2021; 6:64. doi: 10.3390/tropicalmed6020064.
34. Karlsson SL, Ax E, Nygren E et al. Development of stable *Vibrio cholerae* O1 Hikojima type vaccine strains co-expressing the Inaba and Ogawa lipopolysaccharide antigens. PLoS one 2014; 9(11):e108521. doi: 10.1371/journal.pone.0108521.
35. Lei D, Schmidt H, Knezevic I et al. Removal of the innocuity test from The International Pharmacopoeia and WHO recommendations for vaccines and biological products. Biologicals 2020; 66:17–20.
36. Levine MM, Chen WH, Kaper JB et al. PaxVax CVD 103-HgR single-dose live oral cholera vaccine. Expert Rev Vaccines 2017; 16:197–213.
37. Lucas MES, Deen JL, von Seidlein L et al. Effectiveness of mass oral cholera vaccination in Beira, Mozambique. N Engl J Med 2005; 352:757–767.
38. Mattia FD, Chapsal J-M, Descamps J et al. The consistency approach for quality control of vaccines – A strategy to improve quality control and implement 3Rs. Biologicals 2011; 39:59–65.
39. McCarty J, Bedell L, De Lame P-A, Cassie D, Lock M, Bennett S, Haney D. Update on CVD 103-HgR single-dose, live oral cholera vaccine. Expert Rev Vaccines 2022; 21(1):9–23.
40. Odevall L, Hong D, Digilio L et al. The Euvichol story – development and licensure of a safe, effective and affordable oral cholera vaccine through global public private partnerships. Vaccine 2018; 36:6606–6614.
41. Sack DA, Sack RB, Nair GB, Siddique A. Cholera (the lancet). Lancet 2004; 363:223–233.
42. Saha A, Chowdhury MI, Khanam F et al. Safety and immunogenicity study of a killed bivalent (O1 and O139) whole-cell oral cholera vaccine Shanchol, in Bangladeshi adults and children as young as 1 year of age. Vaccine 2011; 29(46):8285–8292.
43. Sanchez JL, Vasquez B, Begue RE et al. Protective efficacy of oral whole-cell/recombinant-B-subunit cholera vaccine in Peruvian military recruits. Lancet 1994; 344:1273–1276.
44. Sharma T, Joshi N, Kumar Mandyal A et al. Development of Hillchol®, a low-cost inactivated single strain Hikojima oral cholera vaccine. Vaccine 2020; 38(50):7998–8009.
45. Sur D, Lopez AL, Kanungo S et al. Efficacy and safety of a modified killed-whole-cell oral cholera vaccine in India: An interim analysis of a cluster-randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet 2009; 374:1694–1702.
46. Svennerholm AM, Wiklund G. Rapid GM1-enzyme-linked immunosorbent assay with visual reading for identification of *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. J Clin Microbiol 1983; 17(4):596–600.
47. Weekly Epidemiological Record = Relevé épidémiologique hebdomadaire. World Health Organization = Organisation mondiale de la Santé 2024; 99(36):481–496. – URL: https://iris.who.int/handle/10665/378714 (дата обращения: 14.05.25.).

MODERN METHODS FOR EVALUATING THE SPECIFIC SAFETY AND EFFICACY OF CHOLERA VACCINES

O.A. SHAMINA[1], O.V. GROMOVA[1], O.A. VOLOKH[1,2], S.A. VOROBEVA[1]

[1] Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor, Saratov;
[2] Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov

Cholera is an acute diarrheal disease caused by the Gram-negative bacterium *Vibrio cholerae*. One of the means of cholera prevention is immunization using oral cholera vaccines. The Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» is the manufacturer of the only drug registered in Russia for the prevention of cholera — «Bivalent Chemical Cholera Vaccine». Each batch of the manufactured vaccine undergoes rigorous efficacy and safety testing. This article presents a review of data on methods for evaluating the efficacy and safety of foreign and Russian cholera vaccines. A combination of in vivo and *in vitro* methods is used for the quality control of the finished vaccine product. However, the multi-stage and time-consuming nature of these processes, the use of several laboratory animal species, as well as modern requirements of the World Health Organization determine the need to implement alternative *in vitro* control methods.

Keywords: cholera vaccine; control methods; efficacy of cholera vaccines; specific safety.

Address:
Shamina O.A.
Junior researcher Russian Anti-Plague Institute «Microbe»
of Rospotrebnadzor
E-mail: Olga.serebryakova.1989@mail.ru

Для цитирования:
Шамина О.А., Громова О.В., Волох О.А., Воробьева С.А. Современные методы оценки специфической безопасности и эффективности холерных вакцин. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2):64–73.

For citation:
Shamina O.A., Gromova O.V., Volokh O.A., Vorobeva S.A. Modern methods for evaluating the specific safety and efficacy of cholera vaccines. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2):64–73 (in Russian).

УДК 628.9.041; 628.93; 579.6

ВЛИЯНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ИСТОЧНИКА ОСВЕЩЕНИЯ НА РОСТ ЦИАНОБАКТЕРИИ *LIMNOSPIRA PLATENSIS* B-12619 И СИНТЕЗ ФИКОБИЛИПРОТЕИНОВ

О.И. ОДНОРАЛ[1,2], А.Н. ТУРКИН[1,3], Я.Э. СЕРГЕЕВА[2,4*]

[1] ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет «МЭИ», г. Москва
[2] Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», г. Москва
[3] ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва
[4] ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), г. Долгопрудный

Освещение является одним из основных параметров культивирования фототрофных микроорганизмов, оказывающий существенное влияние как на процессы роста и накопления биомассы, так и на синтез и содержание ценных соединений. Проведено исследование влияния спектральных характеристик источника освещения (люминесцентной лампы для фотосинтеза; светодиодов различного спектрального состава: белые, красные, зеленые, синие, а также вариант смешанного освещения красные-синие светодиоды (3:1)) на рост цианобактерии *Limnospira platensis* B-12619 и содержание фикобилипротеинов. В результате проведенного исследования установлено, что спектральные характеристики источника освещения оказывали влияние на скорость роста цианобактерии: наибольшая скорость роста была достигнута при использовании люминесцентной лампы и белых светодиодов. Самая низкая скорость — при использовани синих светодиодов, а при культивировании с красными светодиодами скорость роста была в два раза выше, чем при использовании зеленых. Максимальная плотность клеток и выход биомассы были отмечены при культивировании в условиях смешанного освещения (порядок: красный-синий (3:1) > красный > белый > люминесцентная лампа > зеленый > синий). Наибольший выход фикобилипротеинов (мг/л) был достигнут также при использовании смешанного освещения.

Ключевые слова: цианобактерии; *Limnospira platensis*; культивирование; биомасса; фикобилипротеины; С-фикоцианин; аллофикоцианин; освещение; спектры излучения; люминесцентная лампа; светодиоды.

Введение

Объем мирового рынка фототрофных микроорганизмов (ФМО) в 2025 году составил 13,7 млрд долларов США, согласно прогнозам к концу 2026 года он достигнет 14,8 млрд долларов США и к 2036 году он достигнет примерно 31,9 млрд долларов США, при среднегодовом темпе роста в период с 2026 по 2036 год 8,0% [16]. Прогнозируемая динамика обусловлена в первую очередь, расширяющимися перспективами применения биомассы ФМО и ее компонентов для производства продуктов питания, кормов для животноводства, биологически активных добавок, биотоплив, биоудобрений, биополимеров, биостимуляторов, биопестицидов, а также соединений с высокой добавленной стоимостью [15, 22, 24].

Следует отметить, что на рынке ФМО в 2023 году преобладал сегмент цианобактерии р. *Arthrospira* (согласно обновленной классификации *Limnospira* [18, 23]), биомасса которой является основным промышленным источником ценного соединения с высокой добавленной стоимостью С-фикоцианина (С-ФЦ). Следует отметить, что именно С-ФЦ способствует активной коммерциализации цианобактерий р. *Arthrospira*/*Limnospira* в последние годы. С-ФЦ — синий водорастворимый пигмент-белковый комплекс (билипротеин), содержащийся в фотосинтетическом аппарате некоторых цианобактерий. И сама биомасса цианобактерии, и С-ФЦ одобрены Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (FDA) как пищевая добавка и натуральный синий пищевой краситель, соответственно. Однако С-ФЦ может использоваться не только в пищевой промышленности,

© 2026 г. Однорал О.И., Туркин А.Н., Сергеева Я.Э.

*** Автор для переписки:**
Сергеева Яна Эдуардовна
кандидат химических наук, начальник лаборатории, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
E-mail: yanaes2005@gmail.com

но и в косметике, биомедицине (как терапевтическое средство) и лабораторных исследованиях (как биомаркер или флуоресцентная метка). Столь широкие перспективы использования данного соединения объясняются его биоактивными свойствами. Так, в исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что С-ФЦ обладает антиоксидантными, нейропротекторными, антимикробными, противоопухолевыми, противовоспалительными, иммуностимулирующими и гепатопротекторными свойства [8, 11].

Свет является одним из важнейших факторов окружающей среды, влияющих на рост, морфологию клеток и накопление внутриклеточных метаболитов ФМО.

При промышленном культивировании ФМО в открытых бассейных используется солнечный свет, тогда как для производства некоторых дорогостоящих продуктов в закрытых фотобиореакторах используется искусственное освещение. По сравнению с естественным освещением искусственное освещение позволяет лучше контролировать длину волны и интенсивность, а также продолжительность фотопериода. Искусственное освещение устраняет неизбежные суточные и сезонные колебания естественного освещения.

Преимущества светодиодов перед другими источниками искусственного света включают более высокую энергоэффективность, более длительный срок службы источника света, пониженное тепловыделение и более точный спектральный контроль, то есть узко определенные длины волн освещения. По сравнению с естественным освещением светодиоды можно лучше интегрировать с различными типами фотобиореакторов для получения более равномерного распределения света на поверхности фотобиореактора и улучшения проникновения света в культуру [12].

Изменяя параметры освещения можно эффективно влиять и регулировать процессы метаболизма клеток с целью усиления синтеза ценных соединений, а изменяя интенсивность освещения можно эффективно регулировать индукцию их метаболизма. Качество света, т. е. спектральный состав фотосинтетически активного излучения (ФАР), является еще одним важным фактором, влияющим на продуктивность биомассы и состав биомассы. Состав внутриклеточных пигментов ФМО, которые поглощают свет на определенных длинах волн, определяет эффективность поглощения различных областей спектра ФАР [19, 27]. В последние годы число исследований по влиянию условий освещения неуклонно растет, однако имеющиеся на данный момент результаты исследований по влиянию спектральных характеристик источников освещения, используемых при культивировании ФМО, весьма противоречивы, что может быть обусловлено индивидуальными особенностями организмов (следует отметить, что небольшие различия отмечены даже среди разных штаммов *A. platensis/L. platensis*), постановкой опыта, составом питательной среды, скорости аэрации, значении pH, температурой культивирования [9].

Цель работы — исследование влияния спектральных характеристик источника освещения на рост и продуктивность цианобактерии *Limnospira platensis* B-12619, а также содержание и выход фикобилипротеинов.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования была выбрана нитчатая цианобактерия *L. platensis* B-12619 (ВКПМ). Культивирование проводили в колбах Эрленмейера рабочим объёмом 100 мл с 25 мл модифицированной среды Зарука [20] (самостоятельное приготовление) в шейкерах-термостатах при постоянном перемешивании, температуре 30 °C и круглосуточном освещении: люминесцентными лампами (ЛЛ) для фотосинтеза (Sylvania Gro-Lux); светодиодами (СД) различного спектрального состава (светодиоды SMD 5050 RGB и Warm White со следующими характеристиками: 14,4 Вт/м, 700 лм, 3000 К (для белых СД), CRI 80, 50000 ч). Все эксперименты были стандартизированы: засев проводили 4-х суточной культурой, начальная величина OD_{750} составляла 0,05±0,02. Длительность опыта была ограничена 35 сутками.

Рост и накопление биомассы контролировали по изменению оптической плотности суспензии клеток при 750 нм (OD_{750}) (Thermo Scientific TM Varioskan LUX, США). Величины OD750 были преобразованы в концентрацию биомассы (г сухого веса на литр питательной среды) с помощью следующей предварительно установленной калибровочной кривой: биомасса (г/л)=1,054·OD_{750} - 0,330, для построения которой отбирали аликвоты суспензии клеток цианобактерии, биомассу отделяли центрифугированием (6000g, 20 °C, 10 мин), дважды отмывали от солей дистиллированной водой и помещали на -70 °C. Далее биомассу сушили лиофильно до достижения постоянного веса.

Продуктивность биомассы (ПБ) рассчитывали по формуле:

$$ПБ\ (мг/(л{\cdot}сутки)) = \frac{(DW_2 - DW_1)}{(\tau_2 - \tau_1)},$$

где DW_1 и DW_2 количество биомассы (г/л) в начальный и конечный (τ_1 и τ_2 соответственно) момент времени (сутки).

Для выделения фикобилипротеинов из биомассы цианобактерии проводили исчерпывающую экстракцию фосфатным буфером (pH 7,0), согласно [1]. Концентрацию фикобилипротеинов (С-ФЦ и аллофикоцианина (АФЦ)) в полученном экстракте определяли по спектру поглощения, согласно [3]:

$$\text{С-ФЦ (мг/мл)} = \frac{OD_{620} - 0{,}474 \cdot OD_{650}}{5{,}34};$$

$$\text{АФЦ (мг/мл)} = \frac{OD_{650} - 0{,}208 \cdot OD_{620}}{5{,}09},$$

где OD_{λ} — оптическая плотность при соответствующей длине волны λ.

Содержание индивидуальных фикобилипротеинов (ФБП) в биомассе (% от сухого веса) рассчитывали по формуле

$$\text{ФБП (\%)} = \frac{\text{ФБП(мг/мл)} \cdot V\text{(мл)} \cdot P \cdot 100}{m\text{(г)}},$$

где ФБП — С-ФЦ или АФЦ, ФБП(мг/мл) — концентрация С-ФЦ или АФЦ, V (мл) — объем суммарного экстракта, P — коэффициент, учитывающий разбавление экстракта при снятии спектра поглощения, m(г) — масса навески, взятой для экстракции.

Измерения спектров светодиодов проводились на монохроматоре МДР-206 (ООО «ЛОМО ФОТОНИКА плюс», Россия). Для которого в качестве спектрального элемента используется дифракционная решётка 1200 штр./мм, это позволяет охватить спектральных диапазон измерений от 190 нм до 1250 нм (область максимальной концентрации энергии 500 нм). Обратная линейная дисперсия составляет 4,3 нм/мм. Пределы раскрытия щелей (входной и выходной) от 0 мм до 4,2 мм. Приёмным устройством является кремниевый фотодиод ФПУ-ФД. Измерения проводили в номинальном режиме. Светодиодные ленты закрепляли на держателе, размещающемся на оптической скамье перед входной щелью монохроматора, проводили регистрацию спектра в автоматическом режиме в заданном диапазоне длин волн (от 400 нм до 700 нм).

Статистическая обработка результатов. Численные результаты представлены как среднее значение не менее чем трех независимых повторов ($n \geqslant 3$). Планки погрешностей представляют собой стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение

На рисунке 1 представлены спектры излучения использованных в исследовании источников освещения.

Люминесцентная лампа характеризовалась 4-я основными пиками при 437, 547, 612 и 660 нм (рис. 1а). Белый светодиод — наличием двух пиков при 446 нм и 582 нм соответственно (рис. 1б). Пиковая длина волны излучения цветных светодиодов, использованных в исследовании, составляла 463 нм для синего светодиода (рис. 1д), 512 нм для зеленого светодиода (рис. 1в) и 633 нм для красного светодиода (рис. 1г).

Спектр поглощения суспензии клеток цианобактерии *A. platensis* характеризуется максимумами поглощения в синей и красной части спектра (440 и 680 нм), обусловленные наличием хлорофилла *a*, в оранжевой области (620 нм и 650 нм), обусловленные наличием фикобилипротеинов.

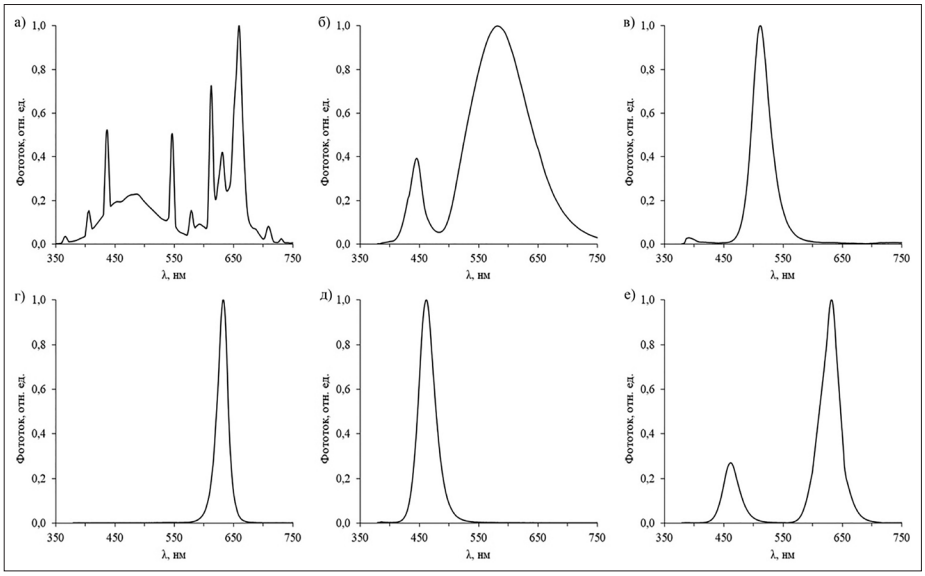


Рис. 1. Спектральные характеристики испытанных источников освещения: люминесцентная лампа (а); светодиоды: белый (б), зеленый (в), красный (г), синий (д); смешанное освещение красный-синий (е)

На рисунке 2 приведены кривые роста цианобактерии при всех испытанных вариантах освещения, на рисунке 3 – продуктивность (г/(л·сутки)) и максимальный выход биомассы с литра питательной среды (г/л) для всех опытных вариантов культивирования.

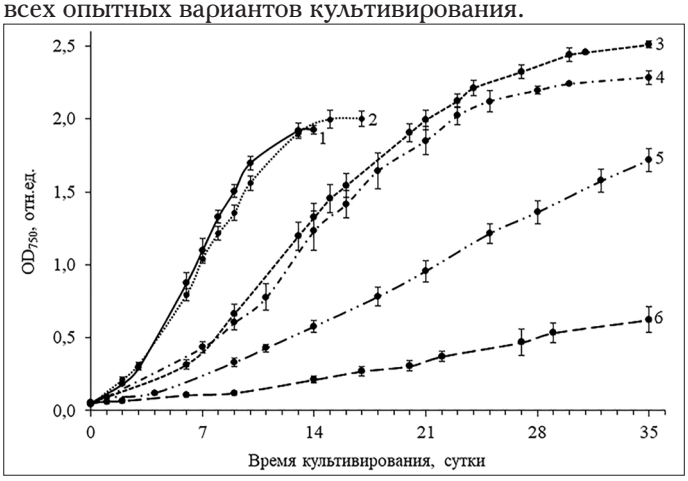
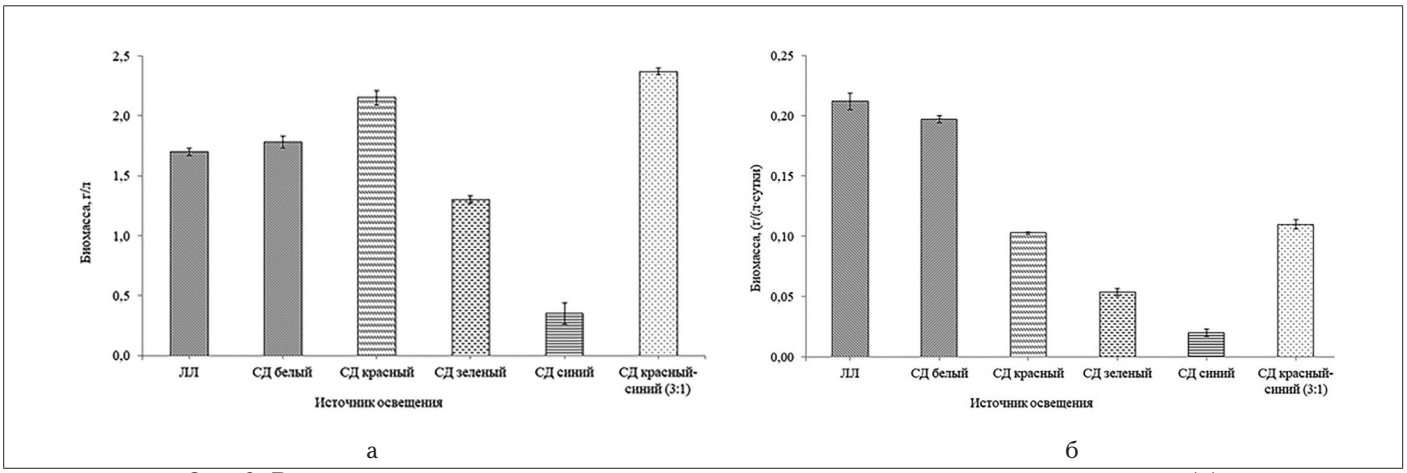


Рис. 2. Кривые роста цианобактерии *L. platensis* при культивировании в условиях освещения: 1 – люминесцентная лампа; светодиоды: 2 – белый, 3 – смешанное освещение красный-синий (3:1), 4 – красный, 5 – зеленый, 6 – синий

Как видно на рисунке 2 при использовании в качестве источника освещения ЛЛ и белых светодиодов, стационарная фаза развития была достигнута на 13 и 14 сутки соответственно, при этом существенных различий как в скорости роста, так и величине выхода биомассы (около 1,7 г/л) выявлено не было. Максимальная продуктивность из всех испытанных источников освещения была отмечена при культивировании в условиях освещения ЛЛ (рис. 3).

При сравнении вариантов культивирования в условиях освещения красными, зелеными и синими светодиодами была выявлена закономерность снижения скорости роста культуры при смещении пика светодиодов в более коротковолновую область (см. рис. 2). При культивировании в условиях не монохромного, а смешанного освещения красный-синий (3:1) скорость роста также была ниже, чем при использовании ЛЛ и белых светодиодов, но соизмерима с вариантом освещения красными светодиодами. Наименьший выход биомассы (0,35 г/л) был отмечен при культивировании в условиях освещения синими светодиодами (463 нм). Смещение пика освещения в более длинноволновую область сопровождалось повышением выхода биомассы цианобактерии: при зеленом освещении (512 нм) до 1,30 г/л, при красном (633 нм) до 2,15 г/л. При использовании смешанного освещения красный-синий (3:1) как продуктивность, так и максимальный выход биомассы были несколько выше, чем при использовании в качестве источника освещения красных светодиодов (см. рис. 3).

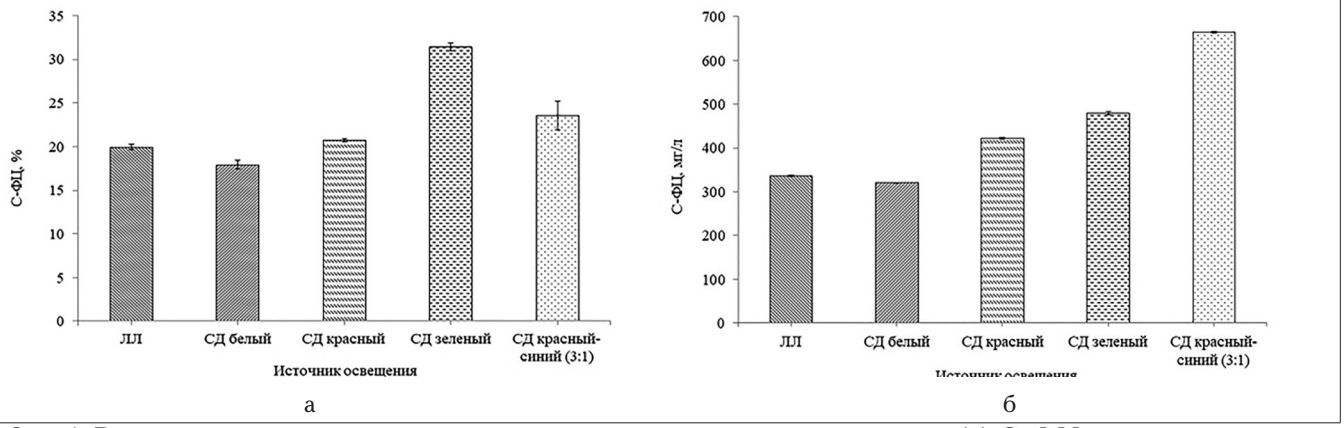


а б

Рис. 3. Влияние спектральных характеристик источников освещения величину биомассы (а) и продуктивность (б) по биомассе цианобактерии *L. platensis*

Ранее уже упоминалось, что скорость роста цианобактерии при освещении синими диодами была крайне низка, следовательно, было принято решение исключить из дальнейших исследований данный вариант культивирования.

При исследовании влияния параметров освещения на содержание фикобилипротеинов было установлено, что независимо от использованного источника и его спектральных характеристик, содержание АФЦ в клетках цианобактерии было неизменным и составляло 6–7% (данные не приведены). На рисунке 4 приведены данные о максимальном содержании С-ФЦ в клетках цианобактерии, из которого следует, что при культивировании в условиях освещения ЛЛ содержание С-ФЦ клетках цианобактерии достигало 20%, при использовании белых светодиодов была отмечена незначительная тенденция снижения содержания (до 18%).



а б

Рис. 4. Влияние спектральных характеристик источников освещения на содержание (а) С-ФЦ в клетках цианобактерии *L. platensis* и выход (б) с литра питательной среды (мг/л)

Интересным представляется тот факт, что при использовании зеленых светодиодов содержание С-ФЦ почти в 1,6 раза превысило соответствующий параметр, полученный в условиях освещения ЛЛ (31,5% и 20,0% соответственно). При культивировании в условиях монохромного освещения красными светодиодами содержание С-ФЦ было на уровне контроля (ЛЛ), тогда как добавление синего при использовании смешанного красно-синего (3:1) освещения привело к небольшому увеличению содержания С-ФЦ (см. рис. 4).

Поскольку величина выхода целевого соединения с единицы объема питательной среды зависит как от количества накопленной за анализируемый интервал времени биомассы (г/л), так и от относительного содержания в биомассе (%), то выход С-ФЦ при культивировании в условиях освещения ЛЛ и белыми светодиодами был на одном уровне — свыше 320 мг/л (рис. 4). Отмеченное повышение количества биомассы при использовании красных светодиодов привело к увеличению выхода С-ФЦ по сравнению с ЛЛ на 25% (до 420 мг/л). По сравнению с ЛЛ, отмеченное при использовании зеленых светодиодов повышение содержания С-ФЦ в клетках на фоне пониженного количества биомассы также привело к увеличению выхода С-ФЦ до 480 мг/л (на 40% выше соответсвующей величины, полученной при культивировании с ЛЛ). Максимальный выход С-ФЦ, превысивший почти в два раза выход при освещении ЛЛ, был достигнут при использовании смешанного красный-синий (3:1) — 665 мг/л (рис. 4).

Ранее было показано, что использование при культивировании цианобактерий р. *Spirulina/Arthrospira/Limnospira* белых, красных, зеленых, синих, оранжевых, желтых и розовых светодиодов влияет как на продуктивность биомассы, так и на содержание ценных биологически активных соединений, в том числе и различных пигментов (главным образом фикобилипротеинов и хлорофиллов) [2, 4–6, 10, 13, 14, 21, 25, 26]. Была установлена общая для ряда исследований тенденция увеличения выхода биомассы при освещении красным светом по сравнению с культивированием в условиях белых светодиодов, тогда как, напротив, при использовании синих светодиодов рост был ограничен.

Молекулы фикоцианина отвечают за поглощение энергии в видимом спектре, который плохо используется хлорофиллами, и передают энергию в фотосинтетический реакционный центр для использования хлорофиллом *a* [17]. И в ряде случаев наблюдали повышение содержания фикоцианина при освещении синими светодиодами. Полученные нами результаты согласуются с результатами [6, 7], когда освещение зеленым светом привело к максимальному содержанию С-ФЦ в клетках цианобактерии.

Следует особо подчеркнуть, что при культивировании ФМО с целью получения того или иного ценного (целевого) продукта часто возникает проблема: идеальные условия культивирования для получения высокого выхода биомассы, как правило, не совпадают с идеальными условиями для активного синтеза и накопления целевых соединений [7]. В нашем случае освещение красными и красно-синими (3:1) светодиодами привело к повышению продуктивности биомассы по сравнению с освещением ЛЛ, а выход С-ФЦ был увеличен в два раза по сравнению с ЛЛ при использовании смешанного освещения.

Заключение

Таким образом, при исследовании влияния параметров освещения при культивировании нитчатой цианобактерии *L. platensis* B-12619 была выявлена зависимость активности ростовых процессов от спектральных характеристик используемых светодиодов: увеличение величины пиковой

длины волны используемого светодиода сопровождалось повышением скорости роста и повышением выхода (г/л) биомассы в ряду синий, зеленый, красный. Исследуемые параметры освещения не оказали какого-либо влияния на содержание АФЦ в клетках цианобактерии, тогда как использование зеленых светодиодов привело к повышению содержания С-ФЦ в клетках *L. platensis*. Использование смешанного освещения светодиодами красного и синего цвета (3:1) привело как к повышению выхода биомассы, так и С-ФЦ: максимальные величины составили соответственно 2,4 г/л и 665 мг/л (соответственно), что превысило соответствующие показатели при культивировании в условиях освещения ЛЛ в 1,4 и в 2 раза соответственно.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования. Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

Благодарности. Авторы выражают благодарность за техническую поддержку и помощь при проведении экспериментов научному сотруднику НИЦ «Курчатовский институт» Мигалёву А.С.

Литература

1. Труфанова А.С., Бабиченко Н.П., Сергеева Я.Э. Оптимизация процесса выделения фикоцианина из цианобактерии *Arthrospira platensis* // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова. – 2019. – Т. 15. – № 4. – С. 11–16.
2. Bachchhav M.B., Kulkarni M.V., Ingale A.G. Enhanced phycocyanin production from *Spirulina platensis* using light emitting diode // J. Inst. Eng. India: Ser. E. – 2017. – Vol. 98. – P. 41–45.
3. Bennett A., Bogorad L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga // The Journal of Cell Biology. – 1973. – Vol. 58. – No. 2. – P. 419–435.
4. Chainapong T., Traichaiyaporn S., Deming R.L. Effect of light quality on biomass and pigment production in photoautotrophic and mixotrophic cultures of *Spirulina platensis* // J. Agric. Technol. – 2012. – Vol. 8. – P. 1593–1604.
5. Chen F., Zhang Y., Guo S. Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photoheterotrophic culture // Biotechnol. Lett. – 1996. – Vol. 18. – P. 603–608.
6. Chen H.B., Wu J.Y., Wang C.F., Fu C.C., Shieh C.J., Chen C.I.,Wang C.Y., Liu Y.C. Modeling on chlorophyll a and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes // Biochem. Eng. J. – 2010. – Vol. 53. – P. 52–56.
7. da Fontoura Prates D., Radmann E.M., Duarte J.H., de Morais M.G., Costa J.A.V. *Spirulina* cultivated under different light emitting diodes: Enhanced cell growth and phycocyanin production // Bioresource Technology. – 2018. – Vol. 256. – P. 38–43.
8. Fernández-Rojas B., Hernández-Juárez J., Pedraza-Chaverri J. Phycocyanin a nutraceutical with antioxidant activity // In Improving Health and Nutrition through Bioactive Compounds (editor M.R.S. Campos). – Woodhead Publishing, 2025. – P. 67–78.
9. Jung C.H.G., Waldeck P., Sykora S., Braune S., Petrick I., Küpper J.-H., Jung F. Influence of different light-emitting diode colors on growth and phycobiliprotein generation of *Arthrospira platensis* // Life. – 2022. – Vol. 12. – No. 6. – Art. 895. doi: 10.3390/life12060895.
10. Lima G.M., Teixeira P.C.N., Teixeira C.M.L.L., Filócomo D., Lage C.L.S. Influence of spectral light quality on the pigment concentrations and biomass productivity of *Arthrospira platensis* // Algal Research. – 2018. – Vol. 31. – P. 157–166.
11. Liu R., Qin S., Li W. Phycocyanin: Anti-inflammatory effect and mechanism // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2022. – Vol. 153. – Art. 113362. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113362.
12. Mahari W.A.W., Razali W.A.W., Waiho K., Wong K.Y., Foo S.S., Kamaruzzan A.S., Derek C.J.C., Ma N.L., Chang J.-S., Dong C.-D., Chisti Y., Lam S.S. Light-emitting diodes (LEDs) for culturing microalgae and cyanobacteria // Chemical Engineering Journal. – 2024. – Vol. 485. – Art. 149619. doi:10.1016/j.cej.2024.149619.
13. Mao R., Guo S. Performance of the mixed LED light quality on the growth and energy efficiency of *Arthrospira platensis* // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2018. – Vol. 102. – P. 5245–5254.
14. Markou G. Effect of various colors of light-emitting diodes (LEDs) on the biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi-continuous mode // Appl. Biochem. Biotechnol. – 2014. – Vol. 172. – P. 2758–2768.
15. Masojídek J., Lhotský R., Štěrbová K., Zittelli G.C., Torzillo G. Solar bioreactors used for the industrial production of microalgae // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2023. – Vol. 107. – P. 6439–6458.
16. Microalgae Market: Global Industry Analysis and Opportunity Assessment, 2036. – URL: https://www.futuremarketinsights.com/reports/microalgae-market (date of access 13.06.2026).
17. Nosratimovafagh A., Fereidouni A.E., Krujatz F. Modeling and optimizing the effect of light color, sodium chloride and glucose concentration on biomass production and the quality of *Arthrospira platensis* using response surface methodology (RSM) // Life. – 2022. – Vol. 12(3). – Art. 371. doi: 10.3390/life12030371.

18. Nowicka-Krawczyk P., Mühlsteinová R., Hauer T. Detailed characterization of the *Arthrospira* type species separating commercially grown taxa into the new genus *Limnospira* (Cyanobacteria) // Science Reportes. — 2019. — Vol. 9. — Art. 694. doi:10.1038/s41598-018-36831-0.
19. Schulze P.S.C., Barreira L. A, Pereira H.G.C., Perales J.A., Varela J.C.S. Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production // Trends Biotechnol. — 2014. — Vol. 32. — P. 422—430.
20. Sergeeva Ya. E., Sukhinov D.V., Pozhidaev V.M. Optimization of microelements composition of culture medium for the cyanobacterium *Arthrospira platensis* cultivation // Nanobiotechnology Reports. — 2023 — Vol. 18. — Suppl. 1. — P. S6—S10.
21. Shi W.Q., Li S.D., Li G.R., Wang W.H., Chen Q.X., Li Y.Q., Ling X.W. Investigation of main factors affecting the growth rate of *Spirulina* // Optik. — 2016. — Vol. 127. — P. 6688—6694.
22. Show P.L. Global market and economic analysis of microalgae technology: Status and perspectives // Bioresource Technology. — 2022. — Vol. 357. — Art. 127329. doi: 10.1016/j.biortech.2022.127329.
23. Sinetova M.A., Kupriyanova E.V., Los D.A. *Spirulina/Arthrospira/Limnospira* — three names of the single organism. // Foods. — 2024. — Vol. 13. — Art. 2762. doi: 10.3390/foods13172762.
24. Tanvir R.U., Zhang J., Canter T., Chen D., Lu J., Hu Z. Harnessing solar energy using phototrophic microorganisms: A sustainable pathway to bioenergy, biomaterials, and environmental solutions // Renewable and Sustainable Energy Reviews. — 2021. — Vol. 146. — Art. 111181. doi: 10.1016/j.rser.2021.111181.
25. Walter A., de Carvalho J.C., Soccol V.T., de Faria A.B.B., Ghiggi V., Soccol C.R. Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra // Braz. Arch. Biol. Technol. — 2011. — Vol. 54. — P. 675—682.
26. Wang C.Y., Fu C.C., Liu Y.C. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis* // Biochem. Eng. J. — 2007. — Vol. 37. — P. 21—25.
27. Wang S.K., Stile A.R., Guo C., Liu C.Z. Microalgae cultivation in photobioreactors: An overview of light characteristics // Eng. Life Sci. — 2014. — Vol. 14. — P. 550—559.

References

1. Trufanova AS, Babichenko NP, Sergeyeva YaE. Optimizatsiya protsessa vydeleniya fikotsianina iz tsianobakterii *Arthrospira platensis*. Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii imeni YuA Ovchinnikova 2019; 15(4):11—16 (in Russian).
2. Bachchhav MB, Kulkarni MV, Ingale AG. Enhanced phycocyanin production from *Spirulina platensis* using light emitting diode. J Inst Eng India: Ser E. 2017; 98:41—45.
3. Bennett A, Bogorad L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. The Journal of Cell Biology 1973; 58(2):419—435.
4. Chainapong T, Traichaiyaporn S, Deming RL. Effect of light quality on biomass and pigment production in photoautotrophic and mixotrophic cultures of *Spirulina platensis*. J Agric Technol 2012; 8:1593—1604.
5. Chen F, Zhang Y, Guo S. Growth and phycocyanin formation of *Spirulina platensis* in photoheterotrophic culture. Biotechnol. Lett 1996; 18:603—608.
6. Chen HB, Wu JY, Wang CF, Fu CC, Shieh CJ, Chen CI,Wang CY, Liu YC. Modeling on chlorophyll a and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes. Biochem Eng J 2010; 53:52—56.
7. da Fontoura Prates D, Radmann EM, Duarte JH, de Morais MG, Costa JAV. *Spirulina* cultivated under different light emitting diodes: Enhanced cell growth and phycocyanin production. Bioresource Technology 2018; 256:38—43.
8. Fernández-Rojas B, Hernández-Juárez J, Pedraza-Chaverri J. Phycocyanin a nutraceutical with antioxidant activity. In Improving Health and Nutrition through Bioactive Compounds (editor M.R.S. Campos). Woodhead Publishing, 2025: 67—78.
9. Jung CHG, Waldeck P, Sykora S, Braune S, Petrick I, Küpper J-H, Jung F. Influence of different light-emitting diode colors on growth and phycobiliprotein generation of *Arthrospira platensis*. Life 2022; 12(6):895. doi: 10.3390/life12060895.
10. Lima GM, Teixeira PCN, Teixeira CMLL, Filócomo D, Lage CLS. Influence of spectral light quality on the pigment concentrations and biomass productivity of *Arthrospira platensis*. Algal Research 2018; 31:157—166.
11. Liu R, Qin S, Li W. Phycocyanin: Anti-inflammatory effect and mechanism. Biomedicine & Pharmacotherapy 2022; 153:113362. doi: 10.1016/j.biopha.2022.113362.
12. Mahari WAW, Razali WAW, Waiho K, Wong KY, Foo SS, Kamaruzzan AS, Derek CJC, Ma NL, Chang J-S, Dong C-D, Chisti Y, Lam SS. Light-emitting diodes (LEDs) for culturing microalgae and cyanobacteria. Chemical Engineering Journal 2024; 485:149619. doi:10.1016/j.cej.2024.149619.
13. Mao R, Guo S. Performance of the mixed LED light quality on the growth and energy efficiency of *Arthrospira platensis*. Appl Microbiol Biotechnol 2018; 102:5245—5254.
14. Markou G. Effect of various colors of light-emitting diodes (LEDs) on the biomass composition of *Arthrospira platensis* cultivated in semi-continuous mode. Appl Biochem Biotechnol 2014; 172:2758—2768.
15. Masojídek J, Lhotský R, Štěrbová K, Zittelli GC, Torzillo G. Solar bioreactors used for the industrial production of microalgae. Applied Microbiology and Biotechnology 2023; 107:6439—6458.
16. Microalgae Market: Global Industry Analysis and Opportunity Assessment, 2036. URL: https://www.futuremarketinsights.com/reports/microalgae-market (date of access 13.06.2026).

17. Nosratimovafagh A, Fereidouni AE, Krujatz F. Modeling and optimizing the effect of light color, sodium chloride and glucose concentration on biomass production and the quality of *Arthrospira platensis* using response surface methodology (RSM). Life 2022; 12(3):371. doi: 10.3390/life12030371.
18. Nowicka-Krawczyk P, Mühlsteinová R, Hauer T. Detailed characterization of the *Arthrospira* type species separating commercially grown taxa into the new genus *Limnospira* (Cyanobacteria). Science Reportes 2019; 9:694. doi:10.1038/s41598-018-36831-0.
19. Schulze PSC, Barreira L A, Pereira HGC, Perales JA, Varela JCS. Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production. Trends Biotechnol 2014; 32:422–430.
20. Sergeeva Ya E, Sukhinov DV, Pozhidaev VM. Optimization of microelements composition of culture medium for the cyanobacterium *Arthrospira platensis* cultivation. Nanobiotechnology Reports 2023;18(Suppl. 1):S6–S10.
21. Shi WQ, Li SD, Li GR, Wang WH, Chen QX, Li YQ, Ling XW. Investigation of main factors affecting the growth rate of *Spirulina*. Optik 2016; 127:6688–6694.
22. Show PL. Global market and economic analysis of microalgae technology: Status and perspectives. Bioresource Technology 2022; 357:127329. doi: 10.1016/j.biortech.2022.127329.
23. Sinetova MA, Kupriyanova EV, Los DA. *Spirulina/Arthrospira/Limnospira* — three names of the single organism.. Foods 2024; 13:2762. doi: 10.3390/foods13172762.
24. Tanvir RU, Zhang J, Canter T, Chen D, Lu J, Hu Z. Harnessing solar energy using phototrophic microorganisms: A sustainable pathway to bioenergy, biomaterials, and environmental solutions. Renewable and Sustainable Energy Reviews 2021; 146:111181. doi: 10.1016/j.rser.2021.111181.
25. Walter A, de Carvalho JC, Soccol VT, de Faria ABB, Ghiggi V, Soccol CR. Study of phycocyanin production from *Spirulina platensis* under different light spectra. Braz Arch Biol Technol 2011; 54:675–682.
26. Wang CY, Fu CC, Liu YC. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. Biochem Eng J 2007; 37:21–25.
27. Wang SK, Stile AR, Guo C, Liu CZ. Microalgae cultivation in photobioreactors: An overview of light characteristics. Eng. Life Sci 2014; 14:550–559.

THE EFFECT OF LIGHT SPECTRAL CHARACTERISTICS ON CYANOBACTERIA *LIMNOSPIRA PLATENSIS* B-12619 GROWTH AND THE PHYCOBILIPROTEIN SYNTHESIS

O.I. ODNORAL[1,2], A.N. TURKIN[1,3], Ya.E. SERGEEVA[2,4]

[1] National Research University «Moscow Power Engineering Institute», Moscow
[2] National Research Centre «Kurchatov Institute», Moscow
[3] Lomonosov Moscow State University, Moscow
[4] Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny

Illumination is a key parameter in the cultivation of phototrophic microorganisms, significantly influencing both growth and biomass accumulation, as well as the synthesis and content of valuable compounds. The study investigated how the spectral characteristics of the light source (photosynthetic fluorescent lamps and various LEDs: white, red, green, blue, and a 3:1 red-blue combination) affect the growth of the cyanobacterium *Limnospira platensis* B-12619 and its phycobiliprotein content. The study found that the spectral characteristics of the light source influenced the growth rate of the cyanobacterium: the highest growth rate was achieved using a fluorescent lamp and white LEDs. The lowest rate was achieved using blue LEDs, and when culturing with red LEDs, the growth rate was twice as high as when using green LEDs. The highest cell density and biomass yield were achieved with mixed irradiation (order: red-blue (3:1) > red > white > fluorescent lamp > green > blue). The highest yield of phycobiliproteins (mg/L) was also achieved using mixed irradiation.

Keywords: cyanobacteria; *Limnospira platensis*; cultivation; biomass; phycobiliproteins; C-phycocyanin; allophycocyanin; illumination; emission spectra; fluorescent lamp; light-emitting diodes.

Address:
Sergeeva Ya.E.,
Head of laboratory, National Research Centre
«Kurchatov Institute»
E-mail: yanaes2005@gmail.com

Для цитирования:
Однорал О.И., Туркин А.Н., Сергеева Я.Э. Влияние спектральных характеристик источника освещения на рост цианобактерии *Limnospira platensis* B-12619 и синтез фикобилипротеинов. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2):74–82.

For citation:
Odnoral O.I., Turkin A.N., Sergeeva Ya.E. The effect of light spectral characteristics on cyanobacteria *Limnospira platensis* B-12619 growth and the phycobiliprotein synthesis. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2):74–82 (in Russian).

УДК 577.121.7

ПРИРОДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ КАК МИТОПРОТЕКТОРЫ: ОТ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ К ТЕРАПЕВТИЧЕСКОМУ ПОТЕНЦИАЛУ

А.П. КУВЫРЧЕНКОВА, А.Г. РОГОВ*, Т.Н. ГОЛЕВА, Р.Г. ВАСИЛОВ

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

Митохондриальная дисфункция и сопутствующий ей окислительный стресс служат фундаментальными патогенетическими звеньями широкого спектра социально значимых заболеваний, включая нейродегенеративные расстройства (болезни Альцгеймера и Паркинсона), сердечно-сосудистые патологии, сахарный диабет 2 типа и процессы системного старения. Природные биологически активные соединения, такие как полифенолы (ресвератрол, куркумин, EGCG), алкалоиды (берберин, пальматин) и терпеноиды, рассматриваются как перспективные митопротекторы благодаря их способности эффективно улавливать активные формы кислорода, ингибировать открытие митохондриальной поры переменной проницаемости (mPTP) и модулировать ключевые сигнальные пути (Keap1/Nrf2, SIRT1/PGC-1α, АМФ-активируемая протеинкиназа AMPK, митофагия). Тем не менее, терапевтическое применение нативных фитохимических веществ существенно ограничено их низкой системной биодоступностью, быстрой элиминацией и отсутствием избирательного накопления в митохондриальном матриксе. Для преодоления этого трансляционного барьера разработан ряд нанотехнологических и синтетических решений: адресные молекулы, конъюгированные с проникающими катионами (ионы Скулачева серии SkQ, MitoQ), кардиолипин-таргетные пептиды (SS-31/эламипретид), а также наноструктурированные системы доставки (липосомы, полимерные и хитозановые наночастицы). В настоящем обзоре подробно систематизированы молекулярные мишени основных классов природных митопротекторов, проведен критический анализ результатов их клинических испытаний, очерчены рамки применения синтетических производных и сформулированы ключевые направления дальнейших исследований в области митохондриально-направленной фармакотерапии. Особое внимание уделено роли кишечного микробиома в метаболической активации полифенолов и синергетическим эффектам при комбинированной терапии. Представленный материал очерчивает перспективы практического внедрения инновационных нанопрепаратов для направленной коррекции клеточной биоэнергетики.

Ключевые слова: митохондрии, митопротекторы, окислительный стресс, ионы Скулачева, SkQ3, митофагия, Nrf2.

Введение

Митохондрии — центральные органеллы эукариотической клетки, выполняющие функции интегративного хаба клеточного метаболизма, биоэнергетики и сигнализации [37]. Помимо их классической роли в синтезе аденозинтрифосфата (АТФ) посредством окислительного фосфорилирования, митохондрии регулируют внутриклеточный гомеостаз кальция (Ca^{2+}), координируют пути программируемой клеточной гибели (апоптоз, некроптоз) и служат основным источником и мишенью активных форм кислорода (АФК) [26]. Структурная и функциональная целостность митохондрий критична для жизнедеятельности высокометаболических органов и тканей, таких как головной мозг, миокард, скелетные мышцы и почки. Нарушение функционирования этих органелл лежит в основе широкого спектра патологий, включая нейродегенеративные расстройства, сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет 2 типа и синдром старения [41]. Таким образом, терапевтические стратегии, направленные на защиту и восстановление митохондриального пула, представляют собой одно из наиболее перспективных направлений современной фармакологии и трансляционной медицины.

Окислительный стресс и митохондриальная дисфункция

Митохондриальная дисфункция — многофакторный патологический процесс, инициируемый избыточной продукцией АФК дыхательной цепью органелл и снижением эффективности эндогенных систем антиоксидантной защиты [26]. Основными локусами генерации супероксид-анион радикала ($O_2^{\cdot-}$) являются комплексы I (NADH-убихинон-оксидоредуктаза) и III

©2026 г. Кувырченкова А.П., Рогов А.Г., Голева Т.Н., Василов Р.Г.

*** Автор для переписки:**
Рогов Антон Геннадьевич
к.б.н., начальник лаборатории молекулярной биоэнергетики,
НИЦ «Курчатовский институт»
E-mail: lloss@rambler.ru

(убихинол-цитохром-с-редуктаза) дыхательной цепи, где происходит одноэлектронное восстановление кислорода [38]. Избыток АФК вызывает окислительное повреждение митохондриальной ДНК (мтДНК), белков дыхательных комплексов и мембранных липидов, в частности кардиолипина, что приводит к нарушению сопряжения окисления и фосфорилирования, снижению мембранного потенциала ($\Delta\psi_m$) и прогрессирующему увеличению генерации АФК по принципу «порочного круга» [33]. Важнейшим следствием окислительного стресса является индукция открытия митохондриальной поры переменной проницаемости (mitochondrial permeability transition pore, mPTP) во внутренней мембране органелл. Открытие mPTP приводит к набуханию митохондриального матрикса, разрыву наружной мембраны, выходу проапоптогенных факторов (цитохром с, Smac/DIABLO) в цитозоль и запуску каспазозависимого апоптоза.

Концепция митопротекции: определение и критерии

Митопротекция — комплекс фармакологических и физиологических воздействий, направленных на предотвращение повреждения структуры и функций митохондрий, сохранение их биоэнергетической емкости и оптимизацию процессов контроля качества митохондриального пула. Целесообразно разделять митопротекторы на прямые (непосредственно взаимодействующие с компонентами митохондрий, например, поглотители АФК, модуляторы mPTP, проникающие катионы) и косвенные (активирующие эндогенные защитные сигнальные пути, такие как Keap1/Nrf2, SIRT1/PGC-1α).

Для признания соединения эффективным митопротектором оно должно соответствовать следующим ключевым критериям:

1. Биодоступность и проникновение: Способность преодолевать гистогематические барьеры (включая гематоэнцефалический) и плазматическую мембрану клеток.

2. Адресность накопления: например, электрофоретическое накопление во внутренней митохондриальной мембране в соответствии с разностью потенциалов в матриксе и межмембранном пространстве.

3. Широкое антиоксидантное «окно»: Способность тушить АФК в низких концентрациях без индукции прооксидантных эффектов при повышении дозы.

4. Сохранение биоэнергетической функции: Отсутствие ингибирующего влияния на комплексы дыхательной цепи и АТФ-синтазу в терапевтическом диапазоне концентраций.

5. Поддержка митохондриального контроля качества: отсутствие нарушений процессов митохондриального биогенеза и митофагии.

Природные соединения, обладающие уникальным химическим разнообразием и высокой биосовместимостью, служат неисчерпаемым источником для поиска и разработки таких высокоэффективных митопротекторных средств. Однако применение нативных фитохимических соединений в качестве терапевтических агентов часто лимитировано их низкой системной биодоступностью, быстрой элиминацией и недостаточной адресностью накопления в целевом компартменте — митохондриальном матриксе. Для преодоления этих ограничений в дизайне митопротекторов сформировался закономерный эволюционный путь: переход от природных молекул-предшественников к их синтетическим адресным аналогам. Данная стратегия включает создание конъюгатов природных антиоксидантных фрагментов (например, пластохинона или убихинона) с липофильными проникающими катионами (в частности, трифенилфосфонием, TPP^+), обеспечивающими направленное накопление молекул во внутренней мембране митохондрий под действием мембранного потенциала (серии соединений SkQ и MitoQ). Параллельно развиваются альтернативные подходы, направленные на повышение митохондриальной адресности и стабильности, такие как разработка специализированных пептидов, селективно связывающихся с кардиолипином (SS-31), и использование наноразмерных систем доставки (хитозановых и полимерных наноносителей). Таким образом, рассмотрение природных митопротекторов неотделимо от анализа их синтетических и гибридных производных, представляющих собой вершину рационального дизайна митохондриально-направленных препаратов. Общая карта молекулярных мишеней и путей сигнальной регуляции митопротекции при воздействии различных классов природных и митохондриально-направленных соединений представлена на рисунке 1.

1. Полифенолы

Полифенолы (стильбены, флавоноиды, катехины) являются эффективными донорами протонов и электронов, проявляют прямую антиоксидантную активность и модулируют сигнальные пути [39].

Ресвератрол (3,5,4'-тригидроксистильбен) активирует SIRT1, деацетилирует PGC-1α, стимулирует биогенез митохондрий и снижает открытие mPTP [6]. Его иминовые производные также модулируют редокс-статус [17]. Эффективные концентрации в клетках — 10–50 мкМ.

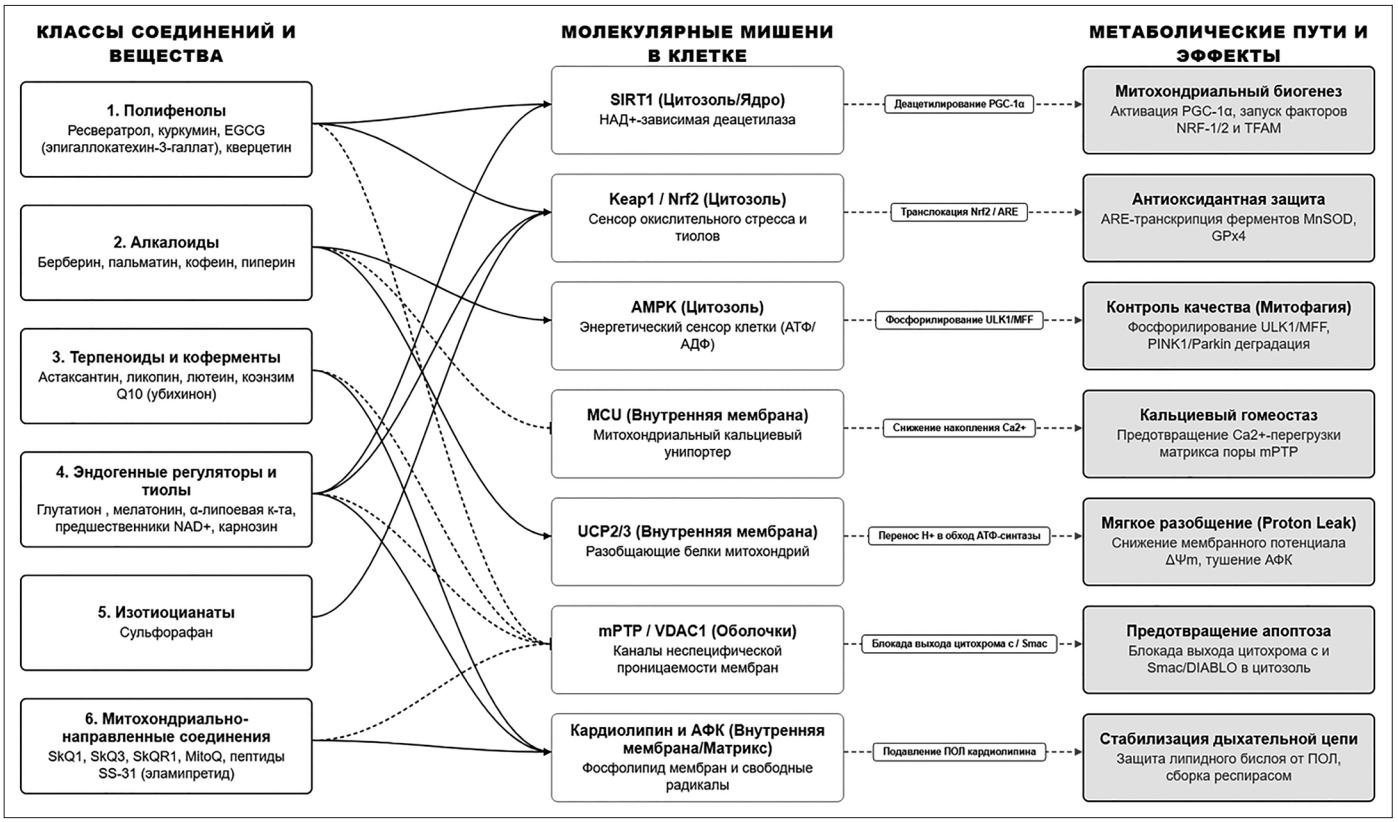


Рис. 1. Карта-граф внутриклеточных мишеней, путей сигнальной регуляции и физиологических эффектов основных классов природных и митохондриально-направленных митопротекторов. Сплошные стрелки — пути активации/стабилизации, пунктирные стрелки — пути ингибирования каналов или пор.

Куркумин (диферулоилметан) проявляет антиоксидантное и антиапоптотическое действие, стабилизирует трансмембранный потенциал на внутренней мембране митохондрий, тушит супероксид и гидроксил [49]. Однако низкая растворимость и быстрый метаболизм ограничивают его применение; разработаны конъюгаты с TPP^+ для направленной доставки.

Кверцетин и другие флавоноиды (лютеолин, байкалин, скутелларин) ингибируют АФК-генерирующие ферменты, предотвращают Ca^2-зависимое открытие mPTP, активируют AMPK-зависимую митофагию [12, 20, 44, 46]. Процианидин С1 обладает сенолитической активностью, избирательно индуцируя апоптоз стареющих клеток [43].

Эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG) регулирует динамику митохондрий (слияние/деление), активирует Mfn1/2 и OPA1, подавляет Drp1, защищая нейроны от липотоксичности [5].

Механизмы митопротекции полифенолов включают: 1) активацию оси SIRT1/PGC-1α [19], 2) активацию Keap1/Nrf2/ARE через митогормезис [9], 3) AMPK-зависимую стимуляцию митофагии (PINK1/Parkin), 4) регуляцию mPTP через ингибирование митохондриального кальциевого унипортера (MCU) [7]. Дозозависимый дуализм: низкие концентрации — протекция, высокие — прооксидантный эффект.

2. Алкалоиды

Алкалоиды (изохинолины, метилксантины) благодаря положительному заряду легко накапливаются в митохондриях.

Берберин — четвертичный изохинолиновый алкалоид, ингибирует Drp1-опосредованное деление митохондрий, активирует PGC-1α, защищает подоциты и кардиомиоциты [28, 29, 35]. В низких концентрациях (0,1–1 мкМ) проявляет митопротекцию, в высоких (>10 мкМ) ингибирует комплекс I и MCU, проявляя цитотоксичность [50].

Пальматин — структурный аналог берберина, обладает сходными свойствами, но менее токсичен. Конъюгаты берберина и пальматина с пластохиноном (SkQBerb, SkQPalm) проявляют мощную антиоксидантную активность в пико-наномолярных концентрациях, эффективно защищая митохондрии от перекисного окисления [6].

Кофеин и метилксантины влияют на митохондриальный метаболизм через ингибирование фосфодиэстераз и повышение цАМФ, активируя PKA и дыхательную

цепь. Тригонеллин предотвращает окислительное повреждение эндотелия при гипергликемии.

Механизмы алкалоидов: 1) электрофоретический транспорт через мембраны, 2) мягкое разобщение окисления и фосфорилирования, 3) антиоксидантное действие хиноновых конъюгатов, блокирующих окисление кардиолипина и ферроптоз [6].

3. Терпеноиды и каротиноиды

Терпеноиды и каротиноиды обладают высокой липофильностью и локализуются в мембранах.

Астаксантин — ксантофилл, располагается в мембранах, нейтрализует свободные радикалы в бислое и на границе с водой [16]. Защищает клетки от кардиотоксичности через модуляцию VDAC1 и снижение Ca^2-перегрузки, активирует Akt/mTOR, предотвращая избыточный митофагический распад [45]. Нанофомы (гликозилированные белки) улучшают доставку в гепатоциты.

Урсоловая и олеаноловая кислоты — пентациклические тритерпеноиды, активируют Keap1/Nrf2 и стимулируют биогенез митохондрий через PGC-1α, NRF-1 и TFAM, увеличивая плотность крист [48].

Гинкголиды (A, B, билобалид) защищают дыхательную цепь при ишемии-реперфузии, предотвращают инактивацию комплексов I и II, блокируют mPTP [3, 21].

Артемизинин проявляет двойственный эффект: в раковых клетках индуцирует окислительный стресс через реакцию Фентона, а в нормальных тканях активирует Nrf2, снижая АФК.

Бетулин **и** бетулиновая кислота в опухолевых клетках индуцируют апоптоз через открытие mPTP [11], а в здоровых клетках проявляют антиоксидантные свойства и стимулируют биогенез митохондрий через Nrf2.

Коэнзим Q10 (убихинон) — эндогенный переносчик электронов и антиоксидант [23]. Его дефицит ассоциирован с нейродегенерациями. В клинических испытаниях (QE3) высокие дозы не замедляли прогрессирование болезни Паркинсона [1], но эффективны при кардиопротекции и защите от статиновой миопатии [10].

4. Другие классы природных соединений

Сульфорафан (изотиоцианат брокколи) — мощный индуктор Nrf2, защищает нейроны, почки и мышцы, активирует аутофагию и митофагию, улучшает сопряжение дыхания [8, 18].

Мелатонин — эндогенный гормон, накапливается в митохондриях через PEPT1/2, является прямым поглотителем АФК (превосходит витамины C и E), стабилизирует мембранный потенциал, повышает активность комплексов I, III и IV [31, 32].

α-Липоевая кислота — кофактор дегидрогеназ, нейтрализует радикалы и регенерирует антиоксиданты [25]. В моделях диабетической кардиомиопатии восстанавливает активность MnSOD и GPx, стимулирует биогенез через AMPK/SIRT3.

Салицилаты (включая аспирин) действуют как мягкие протонофоры, снижают $\Delta\psi_m$, активируют AMPK, подавляют NF-κB и предотвращают открытие mPTP [13].

Омега-3 жирные кислоты (EPA, DHA) встраиваются в мембраны, изменяют микровязкость, стабилизируют кардиолипин, повышают порог открытия mPTP, ингибируют транслокацию NF-κB и экспрессию Drp1 [24].

Предшественники NAD^+ (никотинамидмононуклеотид и никотинамидрибозид) восполняют пул NAD^+, активируют SIRT1 и SIRT3, деацетилируют PGC-1α и ферменты матрикса, стимулируя биогенез и снижая АФК [30, 47].

5. Эндогенные митопротекторные системы

Глутатион (GSH) и тиоредоксин — основные неферментативные системы матрикса. GSH служит кофактором глутатионпероксидаз, его истощение повышает чувствительность к апоптозу [22]. Тиоредоксин-2 восстанавливает окисленные белки.

Митохондриальные ферменты MnSOD и GPx4 — первая линия защиты. MnSOD дисмутирует супероксид, GPx4 восстанавливает гидропероксиды липидов, предотвращая ферроптоз. Активация этих ферментов полифенолами обеспечивает органопротекцию.

Митофагия — процесс удаления повреждённых митохондрий. При деполяризации PINK1 стабилизируется на внешней митохондриальной мембране, рекрутирует Parkin, убиквитинирует белки, что приводит к деградации в лизосомах [4, 42]. Природные митопротекторы (байкалин, скутелларин) стимулируют митофагию через AMPK, интегрируясь с PINK1.

Разобщающие белки UCP2/3 осуществляют мягкое разобщение, снижая $\Delta\psi_m$ на 10–15 мВ и резко уменьшая продукцию АФК [2, 15]. Их активность регулируется жирными кислотами и продуктами перекисного окисления липидов.

Обобщенные сведения о классификации, природных источниках и молекулярных мишенях основных изученных классов природных митопротекторов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Основные природные митопротекторы: классификация, источники и механизмы действия

Соединение	Класс	Природный источник	Молекулярный механизм митопротекции	Основная мишень	Эффективная концентрация/ EC_{50}
Ресвератрол	Полифенол (Стильбен)	Красный виноград (*Vitis vinifera*)	Активация SIRT1, деацетилирование PGC-1α	Ось SIRT1/ PGC-1α, биогенез митохондрий	10–50 мкМ (культура клеток)
Куркумин	Полифенол	Куркума (*Curcuma longa*)	Прямой антиоксидант, блокирование апоптоза	Матрикс митохондрий, мтДНК	0,5–10 мкМ (культура клеток)
Лютеолин	Флавоноид	Сельдерей, тимьян	Восстановление активности комплексов I/IV	Дыхательная цепь, PI3K/Akt	5–20 мкМ (культура клеток)
Скутелларин	Флавоноид	*Erigeron breviscapus*	Активация AMPK-зависимой митофагии	AMPK/ULK1 ось, митофагия	10–40 мкМ (культура клеток)
Берберин	Алкалоид (Изохинолин)	Барбарис (*Berberis vulgaris*)	Блокирование входа Ca^{2+}; мягкое разобщение	Кальциевый унипортер (MCU), Drp1	0,1–1 мкМ (культура клеток / изолир. митохондрии)
Пальматин	Алкалоид	Коптис (*Coptis chinensis*)	Стабилизация $\Delta\psi_m$, снижение утечки АФК	Внутренняя мембрана	1–10 мкМ (культура клеток)
Астаксантин	Каротиноид (Ксантофилл)	*Haematococcus pluvialis*	Тушение синглетного кислорода, защита липидов	Внутренняя мембрана, кардиолипин	0,1–5 мкМ (культура клеток / изолир. митохондрии)
Урсоловая кислота	Тритерпеноид	Яблоки (*Malus domestica*)	Активация селективной митофагии и слияния	Митохондриальный контроль качества	5–20 мкМ (культура клеток)
Коэнзим Q10	Эндогенный бензохинон	Дрожжи, мясные продукты	Переносчик электронов, антиоксидант	Дыхательные комплексы I-III	1–10 мкМ (культура клеток)
Сульфорафан	Изотиоцианат	Брокколи (*Brassica oleracea*)	Активация Nrf2/ARE оси, ингибирование деления	Сенсор Keap1, Nrf2, Drp1	1–10 мкМ (культура клеток)
Мелатонин	Индоламин (Гормон)	Фитомелатонин растений, эпифиз	Многоступенчатый поглотитель АФК и РФА	Транспортеры PEPT1/2, матрикс	25–100 мкМ (клеточные тест-системы)
α-Липоевая кислота	Органический дисульфид	Шпинат, капуста	Кофактор дегидрогеназ	Пируват-дегидрогеназный комплекс	10–50 мкМ (культура клеток)

6. От природных соединений к синтетическим аналогам

Низкая биодоступность природных соединений стимулировала создание полусинтетических адресных молекул [6] (рисунок 2).

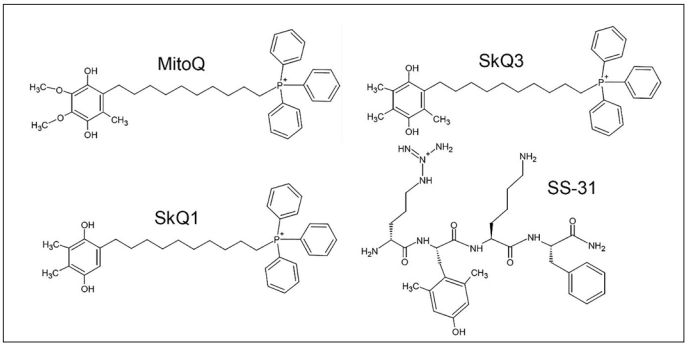


Рис. 2. Структурные формулы митохондриально-направленных антиоксидантов MitoQ, SkQ1, SkQ3 и пептида SS-31.

Серия SkQ (ионы Скулачева) включает пластохинон, соединённый через децильный линкер с катионом TPP^+. SkQ1 — базовое соединение, SkQR1 — флуоресцентный аналог, SkQThy — производное тимохинона, SkQ3 — метилпластохиноновый конъюгат. SkQ3 проявляет наиболее выраженную антиоксидантную активность в наномолярных концентрациях, не проявляет прооксидантных эффектов даже при 1–2 мкМ, в отличие от SkQ1 и MitoQ [34]. SkQ1 применяется в глазных каплях «Визомитин» [27].

MitoQ — конъюгат убихинона с TPP^+. Накапливается в матриксе, восстанавливается комплексом II, подавляет пероксидное окисление липидов (ПОЛ), активирует Nrf2/PINK1, защищает почки при диабете, сердце при ишемии [42]. Однако имеет узкое антиоксидантное окно и склонность к автоокислению.

Стратегии доставки основаны на TPP^+, обеспечивающем 100–1000-кратное накопление по уравнению Нернста. Альтернатива — использование природных катионов берберина и пальматина как векторов для хинонов [6]. Также разрабатываются наночастицы с двойным таргетингом.

Пептидные митопротекторы (SS-31/эламипретид) — тетрапептид D-Arg-Dmt-Lys-Phe-NH_2, связывается с кардиолипином, предотвращает его окисление, сохраняет кристы. Накопление не зависит от $\Delta\psi_m$. Прошёл фазу III клинических испытаний при первичных митохондриальных миопатиях (MMPOWER-3), показал безопасность и улучшение качества жизни, хотя первичные конечные точки не достигнуты [14].

Сравнительная эффективность: синтетические аналоги обладают высокой селективностью накопления, широким антиоксидантным окном (особенно SkQ3), способностью к регенерации дыхательной цепью, тогда как природные молекулы диффузно распределяются и быстро расходуются [34].

Перспективные исследования и механизмы действия синтетических митопротекторов**.** Исследования синтетических митохондриально-направленных антиоксидантов охватывают широкий спектр биологических моделей. Эффективность SkQ1 продемонстрирована на моделях старения *Drosophila melanogaster*, где препарат увеличивал продолжительность жизни, а на крысах линии OXYS замедлял развитие возрастных патологий. SkQ1 и его аналоги эффективны при аритмиях, инфаркте миокарда, ишемии почек и инсульте, а флуоресцентный аналог SkQR1 снижал неврологический дефицит после черепно-мозговой травмы. MitoQ ослабляет острое повреждение лёгких через модуляцию оси Nrf2/Drp1 и снижает возрастные биомаркеры в кровотоке. Фундаментальные исследования подчеркивают важность понимания взаимодействия синтетических протекторов с путями митохондриального импорта, контроля качества белков и регуляции ферроптоза и воспалительных ответов. Таким образом, модификации молекулярной структуры природных соединений позволяют значительно повысить их биодоступность и селективность, делая серию SkQ и MitoQ высокоэффективными инструментами таргетной терапии.

7. Фармакокинетика, микробиом и комбинированная терапия

Роль кишечного микробиома критична для активации полифенолов. Около 90–95% пероральных полифенолов не абсорбируются в тонком кишечнике и достигают толстой кишки, где бактерии (*Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) гидролизуют гликозиды, деметилируют и расщепляют сложные структуры до низкомолекулярных метаболитов (уролитины, эквол, фенолпропионовые кислоты). Например, куркумин восстанавливается до дигидрокуркумина. Эти метаболиты легче проникают в кровоток и митохондрии.

Синергетические комбинации: сочетание прямых антиоксидантов (SkQ, MitoQ) с косвенными (ресвератрол, сульфорафан) обеспечивает двойную защиту. Совместное применение берберина с предшественниками NAD^+ усиливает биогенез через SIRT1/PGC-1α. Стимуляция митофагии (скутелларин) и блокирование mPTP (кверцетин) повышает выживаемость при ишемии-реперфузии. Однако следует избегать антиок-

сидантного перегруза, подавляющего физиологические уровни АФК и митогормезис.

8. Терапевтический потенциал и клинические перспективы

Нейродегенеративные заболевания. При болезни Альцгеймера накопление β-амилоида вызывает деполяризацию и активацию mPTP. Ресвератрол, сульфорафан, салидрозид, гинкголиды защищают нейроны через Nrf2/SIRT3 и митофагию [3, 8]. При болезни Паркинсона (ингибирование комплекса I) мягкие разобщители и антиоксиданты (коэнзим Q10, стильбены) восстанавливают функцию дофаминергических нейронов [1]. SS-31 стабилизирует кристы при нейродегенерации.

Сердечно-сосудистые заболевания. Основной объём повреждений происходит при реперфузии. Митохондриально-направленные антиоксиданты (астаксантин, CoQ10, MitoQ, SkQ) снижают зону инфаркта, предотвращают окисление кардиолипина, подавляют открытие mPTP [16, 42]. Берберин и полифенолы бергамота активируют Notch1 и ингибируют Drp1.

Метаболический синдром и диабет. Гипергликемия перегружает дыхательную цепь, вызывая гиперполяризацию и АФК. MitoQ и берберин улучшают состояние почек при диабетической нефропатии [29, 42], стимулируют GLP-1 и митохондриальное дыхание. Сульфорафан снижает глюкозу и гликированный гемоглобин у пациентов с диабетом 2 типа.

Офтальмология. SkQ1 («Визомитин») эффективен при синдроме сухого глаза, стимулирует эпителизацию роговицы, увеличивает стабильность слёзной плёнки [27]. MitoQ защищает эндотелий роговицы. CoQ10 проявляет нейропротекцию при глаукоме.

Клинические испытания показывают, что ресвератрол [40], куркумин [36] и CoQ10 [1] имеют ограниченную эффективность в крупных РКИ, тогда как MitoQ, SS-31 [14] и SkQ1 [27] демонстрируют обнадёживающие результаты, хотя первичные конечные точки не всегда достигаются. При интерпретации результатов клинических исследований митопротекторов необходимо учитывать систематическую ошибку публикаций («publication bias»), при которой положительные данные публикуются значительно чаще отрицательных или нулевых, что может создавать завышенное представление об эффективности, а также высокую гетерогенность пациентов по возрасту, генетическим полиморфизмам, сопутствующей патологии и составу кишечного микробиома, которая способна существенно модулировать фармакокинетику и терапевтический ответ на природные соединения.

Критический анализ. Большинство доклинических данных получено *in vitro* с микромолярными концентрациями, недостижимыми in vivo. Биодоступность полифенолов <1%. Прооксидантные эффекты и токсичность TPP-производных при передозировке требуют осторожности. EGCG в дозах >800 мг/сут вызывает гепатотоксичность.

Заключение и перспективы

Митопротекторная терапия является перспективным направлением для лечения социально значимых заболеваний. Природные соединения (полифенолы, алкалоиды, терпеноиды) обладают многогранными механизмами действия, но их клиническая ценность ограничена фармакокинетикой. Переход к синтетическим адресным аналогам (SkQ, MitoQ, SS-31) позволил многократно повысить эффективность и безопасность. Особо выделяется SkQ3, сочетающий высокую антиоксидантную активность с отсутствием прооксидантных эффектов [34].

Перспективные направления: 1) разработка биосовместимых наноносителей для преодоления ГЭБ, 2) поиск селективных разобщителей для терапии ожирения и диабета, 3) долгосрочные токсикологические исследования TPP-производных, 4) NAD-реплетирующая терапия для замедления старения [30, 47], 5) пептидные регуляторы (SS-31) для защиты кардиолипина [14]. Необходимы крупные РКИ для подтверждения эффективности и безопасности новых соединений. Комбинированные и мультитаргетные подходы, интегрирующие прямые антиоксиданты с индукторами биогенеза и митофагии, представляют наиболее перспективную стратегию для создания нового поколения высокоселективных лекарственных средств.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

Литература

1. Beal M.F., Oakes D., Shoulson I., et al. A randomized clinical trial of high-dosage coenzyme Q10 in early Parkinson disease: no evidence of benefit // JAMA Neurol. – 2014. – Vol. 71. – P. 543–552.
2. Brand M.D. Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inefficiency in ageing // Exp. Gerontol. – 2000. – Vol. 35. – P. 811–820.
3. Chaturvedi R.K., Beal M.F. Mitochondrial approaches for neuroprotection // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 2008. – Vol. 1147. – P. 113–124.

4. Chen M., Zhong G., Liu M., et al. Integrating network analysis and experimental validation to reveal the mitophagy-associated mechanism of Yiqi Huoxue prescription in the treatment of myocardial ischemia/reperfusion injury // Pharmacol Res. — 2023. — Vol. 193. — Art. 106682. doi: 10.1016/j.phrs.2023.106682.
5. Chen Y., Chen J., Sun X., et al. Evaluation of the neuroprotective effect of EGCG: A potential mechanism of mitochondrial dysfunction and mitochondrial dynamics after subarachnoid hemorrhage // Food Funct. — 2018. — Vol. 9. — P. 6242—6254.
6. Chernyak B.V., Antonenko Y.N., Galimov E.R., et al. Novel mitochondria-targeted compounds composed of natural constituents: Conjugates of plant alkaloids berberine and palmatine with plastoquinone // Biochemistry (Mosc). — 2012. — Vol. 77. — P. 983—999.
7. Daniel O.O., Adeoye A.O., Ojowu J., Olorunsogo O.O. Inhibition of liver mitochondrial membrane permeability transition pore opening by quercetin and vitamin E in streptozotocin-induced diabetic rats // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2018. — Vol. 504. — P. 460—469.
8. de Oliveira M.R., de Bittencourt Brasil F., Fürstenau C.R. Sulforaphane promotes mitochondrial protection in SH-SY5Y cells exposed to hydrogen peroxide by an Nrf2-dependent mechanism // Mol. Neurobiol. — 2018. — Vol. 55. — P. 9361—9374.
9. Dinkova-Kostova A.T., Abramov A.Y. The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function // Free Radic Biol. Med. — 2015. — Vol. 88. — P. 179—188.
10. Fišar Z., Hroudová J., Singh N., et al. Effect of Simvastatin, Coenzyme Q10, Resveratrol, Acetylcysteine and Acetylcarnitine on mitochondrial respiration // Folia Biol. — 2016. — Vol. 62. — P. 34—43.
11. Fulda S., Friesen C., Los M., et al. Betulinic acid triggers CD95 (APO-1/Fas)- and p53-independent apoptosis via activation of caspases in neuroectodermal tumors // Cancer Res. — 1997. — Vol. 57. — P. 4956—4964.
12. Imran M., Rauf A., Abu-Izneid T., et al. Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review // Biomed. Pharmacother. — 2019. — Vol. 112. — Art. 108612. doi: 10.1016/j.biopha.2019.108612.
13. Jinesh G.G., Chunduru S., Kamat A.M. Smac mimetic enables the anticancer action of BCG-stimulated neutrophils through TNF-α but not through TRAIL and FasL // J. Leukoc. Biol. — 2012. — Vol. 92. — P. 233—244.
14. Karaa A., Bertini E., Carelli V., et al. Efficacy and safety of Elamipretide in individuals with primary mitochondrial myopathy: The MMPOWER-3 randomized clinical trial // Neurology. — 2023. — Vol. 101. — P. e238-e252. doi: 10.1212/WNL.0000000000207402.
15. Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria // FEBS Lett. — 1997. — Vol. 416. — P. 15—18.
16. Krestinin R.R., Kobyakova M.I., Baburina Y.L., et al. Astaxanthin Reduces H_2O_2- and doxorubicin-induced cardiotoxicity in H9c2 cardiomyocyte cells // Biochemistry (Mosc). — 2024. — Vol. 89. — P. 1750—1765.
17. Ksila M., Ghzaiel I., Pires V., et al. Characterization of cell death induced by imine analogs of trans-resveratrol: Induction of mitochondrial dysfunction and overproduction of reactive oxygen species leading to, or not, apoptosis without the increase in the S-phase of the cell cycle // Molecules. — 2023. — Vol. 28. — Art. 3178. doi: 10.3390/molecules28073178.
18. Li D., Shao R., Wang N., et al. Sulforaphane activates a lysosome-dependent transcriptional program to mitigate oxidative stress // Autophagy. — 2021. — Vol. 17. — P. 3300—3320.
19. Liu Y., Fang M., Tu X., et al. Dietary Polyphenols as anti-aging agents: Targeting the Hallmarks of aging // Nutrients. — 2024. — Vol. 16. — Art. 3305. doi: 10.3390/nu16193305.
20. Liu Y., Jin X., Li C., et al. Baicalin attenuates corticosterone-induced hippocampal neuronal injury by activating mitophagy in an AMPK-dependent manner // Eur. J. Pharmacol. — 2024. — Vol. 982. — Art. 177091. doi: 10.1016/j.ejphar.2024.177091.
21. Lucke-Wold B., Zasler N.D., Ruchika F., et al. Supplement and nutraceutical therapy in traumatic brain injury // Nutr Neurosci. — 2025. — Vol. 28. — No. 6. — P. 709—743.
22. Marí M., Morales A., Colell A., et al. Mitochondrial glutathione: Features, regulation and role in disease // Biochim. Biophys. Acta. — 2013. — Vol. 1830. — P. 3317—3328.
23. Matthews R.T., Yang L., Browne S., et al. Coenzyme Q10 administration increases brain mitochondrial concentrations and exerts neuroprotective effects // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1998. — Vol. 95. — P. 8892—8897.
24. O'Shea K.M., Khairallah R.J., Sparagna G.C., et al. Dietary omega-3 fatty acids alter cardiac mitochondrial phospholipid composition and delay Ca^2-induced permeability transition // J. Mol. Cell Cardiol. — 2009. — Vol. 47. — P. 819—827.
25. Packer L., Witt E.H., Tritschler H.J. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant // Free Radic. Biol. Med. — 1995. — Vol. 19. — P. 227—250.
26. Peoples J.N., Saraf A., Ghazal N., Pham T.T., Kwong J.Q. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease // Exp. Mol. Med. — 2019. — Vol. 51. — P. 1—13. doi: 10.1038/s12276-019-0355-7.
27. Petrov A., Perekhvatova N., Skulachev M., et al. SkQ1 ophthalmic solution for dry eye treatment: Results of a phase 2 safety and efficacy clinical study in the environment and during challenge in the controlled adverse environment model // Adv. Ther. — 2016. — Vol. 33. — P. 96—115.
28. Qin X., Jiang M., Zhao Y., et al. Berberine protects against diabetic kidney disease via promoting PGC-1α-regulated mitochondrial energy homeostasis // Br. J. Pharmacol. — 2020. — Vol. 177. — P. 4526—4542.
29. Qin X., Zhao Y., Gong J., et al. Berberine protects glomerular podocytes via inhibiting Drp1-mediated mitochondrial fission

and dysfunction // Theranostics. – 2019. – Vol. 9. – P. 321–339.
30. Rajman L., Chwalek K., Sinclair D.A. Therapeutic potential of NAD-boosting molecules: The *in vivo* evidence // Cell Metab. – 2018. – Vol. 27. – P. 529–547.
31. Reiter R.J., Mayo J.C., Tan D.X., et al. Melatonin as an antioxidant: Under promises but over delivers // J. Pineal Res. – 2016. – Vol. 61. – P. 253–278.
32. Reiter R.J., Rosales-Corral S., Tan D.X., et al. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: One of evolution's best ideas // Cell Mol. Life Sci. – 2017. – Vol. 74. – P. 3863–3881.
33. Rocha M., Hernandez-Mijares A., Garcia-Malpartida K., et al. Mitochondria-targeted antioxidant peptides // Curr. Pharm. Des. – 2010. – Vol. 16. – P. 3124–3131.
34. Rogov A.G., Goleva T.N., Aliverdieva D.A., Zvyagilskaya R.A. SkQ3 exhibits the most pronounced antioxidant effect on isolated rat liver mitochondria and yeast cells // Int. J. Mol. Sci. – 2024. – Vol. 25. – Art. 1107. doi: 10.3390/ijms25021107.
35. Shen Q., Yuan Y., Li Z., et al. Berberine ameliorates septic cardiomyopathy through protecting mitochondria and upregulating Notch1 signaling in cardiomyocytes // Front. Pharmacol. – 2024. – Vol. 15. – Art. 1502354. doi: 10.3389/fphar.2024.1502354.
36. Small G.W., Siddarth P., Li Z., et al. Memory and brain amyloid and Tau effects of a bioavailable form of curcumin in non-demented adults: A double-blind, placebo-controlled 18-month trial // Am. J. Geriatr. Psychiatry. – 2018. – Vol. 26. – P. 266-277. DOI: 10.1016/j.jagp.2017.10.010.
37. Supinski G.S., Schroder E.A., Callahan L.A. Mitochondria and critical illness // Chest. – 2020. – Vol. 157. – P. 310–322.
38. Taylor N.L., Day D.A., Millar A.H. Targets of stress-induced oxidative damage in plant mitochondria and their impact on cell carbon/nitrogen metabolism // J. Exp. Bot. – 2004. – Vol. 55. – P. 1–10. doi: 10.1093/jxb/erh001.
39. Teixeira J., Chavarria D., Borges F., et al. Dietary polyphenols and mitochondrial function: Role in health and disease // Curr. Med. Chem. – 2019. – Vol. 26. – P. 3376–3407.
40. Turner R.S., Thomas R.G., Craft S., et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of resveratrol for Alzheimer disease // Neurology. – 2015. – Vol. 85. – P. 1383–1391.
41. Valero T. Mitochondrial biogenesis: Pharmacological approaches // Curr. Pharm. Des. – 2014. – Vol. 20. – P. 5507–5509.
42. Xiao L., Xu X., Zhang F., et al. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ ameliorated tubular injury mediated by mitophagy in diabetic kidney disease via Nrf2/PINK1 // Redox Biol. – 2017. – Vol. 12. – P. 1047–1059.
43. Xu Q., Fu Q., Li Z., et al. The flavonoid procyanidin C1 has senotherapeutic activity and increases lifespan in mice // Nat. Metab. – 2021. – Vol. 3. – P. 1669–1681.
44. Yang L., Liu X., Chen S., et al. Scutellarin ameliorates mitochondrial dysfunction and apoptosis in OGD/R-insulted HT22 cells through mitophagy induction // Biomed. Pharmacother. – 2024. – Vol. 178. – Art. 117340. doi: 10.1016/j.biopha.2024.117340.
45. Yan T., Ding F., Zhang Y., et al. Astaxanthin inhibits H2O2-induced excessive mitophagy and apoptosis in SH-SY5Y cells by regulation of akt/mTOR activation // Mar. Drugs. – 2024. – Vol. 22. – Art. 57. doi: 10.3390/md22020057.
46. You Y.P., Yan L., Ke H.Y., et al. Baicalin inhibits PANoptosis by blocking mitochondrial Z-DNA formation and ZBP1-PANoptosome assembly in macrophages // Acta Pharmacol. Sin. – 2025. – Vol. 46. – No. 2. – P. 430–447.
47. Zhang H., Ryu D., Wu Y., et al. NAD^+ repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice // Science. – 2016. – Vol. 352. – P. 1436–1443.
48. Zhang S., Li M., Li Y., et al. Mitochondria-targeted nanovesicles for ursodeoxycholic acid delivery to combat neurodegeneration by ameliorating mitochondrial dysfunction // J. Nanobiotechnology. – 2025. – Vol. 23. – Art. 129. doi: 10.1186/s12951-025-03258-5.
49. Zhang S.H., Wang Z.F., Tan H. Novel zinc(II)-curcumin molecular probes bearing berberine and jatrorrhizine derivatives as potential mitochondria-targeting anti-neoplastic drugs // Eur. J. Med. Chem. – 2022. – Vol. 242. – Art. 114736. doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114736.
50. Zhao H., Chen S., Cao N., et al. Berberine is a novel mitochondrial calcium uniporter inhibitor that disrupts MCU-EMRE assembly // Adv. Sci. – 2025. – Vol. 12. – e2412311. doi: 10.1002/advs.202412311.

References

1. Beal MF, Oakes D, Shoulson I, et al. A randomized clinical trial of high-dosage coenzyme Q10 in early Parkinson disease: no evidence of benefit. JAMA Neurol 2014; 71:543–552.
2. Brand MD. Uncoupling to survive? The role of mitochondrial inefficiency in ageing. Exp Gerontol 2000; 35:811–820.
3. Chaturvedi RK, Beal MF. Mitochondrial approaches for neuroprotection. Ann N Y Acad Sci 2008; 1147:113–124.
4. Chen M, Zhong G, Liu M, et al. Integrating network analysis and experimental validation to reveal the mitophagy-associated mechanism of Yiqi Huoxue prescription in the treatment of myocardial ischemia/reperfusion injury. Pharmacol Res 2023; 193:106682. doi: 10.1016/j.phrs.2023.106682.
5. Chen Y, Chen J, Sun X, et al. Evaluation of the neuroprotective effect of EGCG: A potential mechanism of mitochondrial dysfunction and mitochondrial dynamics after subarachnoid hemorrhage. Food Funct 2018; 9:6242–6254.
6. Chernyak BV, Antonenko YN, Galimov ER, et al. Novel mitochondria-targeted compounds composed of natural constituents: Conjugates of plant alkaloids berberine and palmatine with plastoquinone. Biochemistry (Mosc) 2012; 77:983–999.

7. Daniel OO, Adeoye AO, Ojowu J, Olorunsogo OO. Inhibition of liver mitochondrial membrane permeability transition pore opening by quercetin and vitamin E in streptozotocin-induced diabetic rats. Biochem Biophys Res Commun 2018; 504:460–469.
8. de Oliveira MR, de Bittencourt Brasil F, Fürstenau CR. Sulforaphane promotes mitochondrial protection in SH-SY5Y cells exposed to hydrogen peroxide by an Nrf2-dependent mechanism. Mol Neurobiol 2018; 55:9361–9374.
9. Dinkova-Kostova AT, Abramov AY. The emerging role of Nrf2 in mitochondrial function. Free Radic Biol Med 2015; 88:179–188.
10. Fišar Z, Hroudová J, Singh N, et al. Effect of Simvastatin, Coenzyme Q10, Resveratrol, Acetylcysteine and Acetylcarnitine on mitochondrial respiration. Folia Biol 2016; 62:34–43.
11. Fulda S, Friesen C, Los M, et al. Betulinic acid triggers CD95 (APO-1/Fas)- and p53-independent apoptosis via activation of caspases in neuroectodermal tumors. Cancer Res 1997; 57:4956–4964.
12. Imran M, Rauf A, Abu-Izneid T, et al. Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review. Biomed Pharmacother 2019; 112:108612. doi: 10.1016/j.biopha.2019.108612.
13. Jinesh GG, Chunduru S, Kamat AM. Smac mimetic enables the anticancer action of BCG-stimulated neutrophils through TNF-α but not through TRAIL and FasL. J Leukoc Biol 2012; 92:233–244.
14. Karaa A, Bertini E, Carelli V, et al. Efficacy and safety of Elamipretide in individuals with primary mitochondrial myopathy: The MMPOWER-3 randomized clinical trial. Neurology 2023; 101:e238-e252. doi: 10.1212/WNL.0000000000207402.
15. Korshunov SS, Skulachev VP, Starkov AA. High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. FEBS Lett 1997; 416:15–18.
16. Krestinin RR, Kobyakova MI, Baburina YL, et al. Astaxanthin Reduces H_2O_2- and doxorubicin-induced cardiotoxicity in H9c2 cardiomyocyte cells. Biochemistry (Mosc) 2024; 89:1750–1765.
17. Ksila M, Ghzaiel I, Pires V, et al. Characterization of cell death induced by imine analogs of trans-resveratrol: Induction of mitochondrial dysfunction and overproduction of reactive oxygen species leading to, or not, apoptosis without the increase in the S-phase of the cell cycle. Molecules 2023; 28:3178. doi: 10.3390/molecules28073178.
18. Li D, Shao R, Wang N, et al. Sulforaphane activates a lysosome-dependent transcriptional program to mitigate oxidative stress. Autophagy 2021; 17:3300–3320.
19. Liu Y, Fang M, Tu X, et al. Dietary Polyphenols as anti-aging agents: Targeting the Hallmarks of aging. Nutrients 2024; 16:3305. doi: 10.3390/nu16193305.
20. Liu Y, Jin X, Li C, et al. Baicalin attenuates corticosterone-induced hippocampal neuronal injury by activating mitophagy in an AMPK-dependent manner. Eur J Pharmacol 2024; 982:177091. doi: 10.1016/j.ejphar.2024.177091.
21. Lucke-Wold B, Zasler ND, Ruchika F, et al. Supplement and nutraceutical therapy in traumatic brain injury. Nutr Neurosci 2025; 28(6):709–743.
22. Marí M, Morales A, Colell A, et al. Mitochondrial glutathione: Features, regulation and role in disease. Biochim Biophys Acta 2013; 1830:3317–3328.
23. Matthews RT, Yang L, Browne S, et al. Coenzyme Q10 administration increases brain mitochondrial concentrations and exerts neuroprotective effects. Proc Natl Acad Sci USA 1998; 95:8892–8897.
24. O'Shea KM, Khairallah RJ, Sparagna GC, et al. Dietary omega-3 fatty acids alter cardiac mitochondrial phospholipid composition and delay Ca^2-induced permeability transition. J Mol Cell Cardiol 2009; 47:819–827.
25. Packer L, Witt EH, Tritschler HJ. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. Free Radic Biol Med 1995; 19:227–250.
26. Peoples JN, Saraf A, Ghazal N, Pham TT, Kwong JQ. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart disease. Exp Mol Med 2019; 51:1–13. doi: 10.1038/s12276-019-0355-7.
27. Petrov A, Perekhvatova N, Skulachev M, et al. SkQ1 ophthalmic solution for dry eye treatment: Results of a phase 2 safety and efficacy clinical study in the environment and during challenge in the controlled adverse environment model. Adv Ther 2016; 33:96–115.
28. Qin X, Jiang M, Zhao Y, et al. Berberine protects against diabetic kidney disease via promoting PGC-1α-regulated mitochondrial energy homeostasis. Br J Pharmacol 2020; 177:4526–4542.
29. Qin X, Zhao Y, Gong J, et al. Berberine protects glomerular podocytes via inhibiting Drp1-mediated mitochondrial fission and dysfunction. Theranostics 2019; 9:321–339.
30. Rajman L, Chwalek K, Sinclair DA. Therapeutic potential of NAD-boosting molecules: The *in vivo* evidence. Cell Metab 2018; 27:529–547.
31. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, et al. Melatonin as an antioxidant: Under promises but over delivers. J Pineal Res 2016; 61:253–278.
32. Reiter RJ, Rosales-Corral S, Tan DX, et al. Melatonin as a mitochondria-targeted antioxidant: One of evolution's best ideas. Cell Mol Life Sci 2017; 74:3863–3881.
33. Rocha M, Hernandez-Mijares A, Garcia-Malpartida K, et al. Mitochondria-targeted antioxidant peptides. Curr Pharm Des 2010; 16:3124–3131.
34. Rogov AG, Goleva TN, Aliverdieva DA, Zvyagilskaya RA. SkQ3 exhibits the most pronounced antioxidant effect on isolated rat liver mitochondria and yeast cells. Int J Mol Sci 2024; 25:1107. doi: 10.3390/ijms25021107.
35. Shen Q, Yuan Y, Li Z, et al. Berberine ameliorates septic cardiomyopathy through protecting mitochondria and upregulating Notch1 signaling in cardiomyocytes. Front Pharmacol 2024; 15:1502354. doi: 10.3389/fphar.2024.1502354.
36. Small GW, Siddarth P, Li Z, et al. Memory and brain amyloid and Tau effects of a bioavailable form of curcumin

in non-demented adults: A double-blind, placebo-controlled 18-month trial. Am J Geriatr Psychiatry 2018; 26:266-277. DOI: 10.1016/j.jagp.2017.10.010.
37. Supinski GS, Schroder EA, Callahan LA. Mitochondria and critical illness. Chest 2020; 157:310–322.
38. Taylor NL, Day DA, Millar AH. Targets of stress-induced oxidative damage in plant mitochondria and their impact on cell carbon/nitrogen metabolism. J Exp Bot 2004; 55:1–10. doi: 10.1093/jxb/erh001.
39. Teixeira J, Chavarria D, Borges F, et al. Dietary polyphenols and mitochondrial function: Role in health and disease. Curr Med Chem 2019; 26:3376–3407.
40. Turner RS, Thomas RG, Craft S, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of resveratrol for Alzheimer disease. Neurology 2015; 85:1383–1391.
41. Valero T. Mitochondrial biogenesis: Pharmacological approaches. Curr Pharm Des 2014; 20:5507–5509.
42. Xiao L, Xu X, Zhang F, et al. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ ameliorated tubular injury mediated by mitophagy in diabetic kidney disease via Nrf2/PINK1. Redox Biol 2017; 12:1047–1059.
43. Xu Q, Fu Q, Li Z, et al. The flavonoid procyanidin C1 has senotherapeutic activity and increases lifespan in mice. Nat Metab 2021; 3:1669–1681.
44. Yang L, Liu X, Chen S, et al. Scutellarin ameliorates mitochondrial dysfunction and apoptosis in OGD/R-insulted HT22 cells through mitophagy induction. Biomed Pharmacother 2024; 178:117340. doi: 10.1016/j.biopha.2024.117340.
45. Yan T, Ding F, Zhang Y, et al. Astaxanthin inhibits H2O2-induced excessive mitophagy and apoptosis in SH-SY5Y cells by regulation of akt/mTOR activation. Mar Drugs 2024; 22:57. doi: 10.3390/md22020057.
46. You YP, Yan L, Ke HY, et al. Baicalin inhibits PANoptosis by blocking mitochondrial Z-DNA formation and ZBP1-PANoptosome assembly in macrophages. Acta Pharmacol Sin 2025; 46(2):430–447.
47. Zhang H, Ryu D, Wu Y, et al. NAD^+ repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice. Science 2016; 352:1436–1443.
48. Zhang S, Li M, Li Y, et al. Mitochondria-targeted nanovesicles for ursodeoxycholic acid delivery to combat neurodegeneration by ameliorating mitochondrial dysfunction. J Nanobiotechnology 2025; 23:129. doi: 10.1186/s12951-025-03258-5.
49. Zhang SH, Wang ZF, Tan H. Novel zinc(II)-curcumin molecular probes bearing berberine and jatrorrhizine derivatives as potential mitochondria-targeting anti-neoplastic drugs. Eur J Med Chem 2022; 242:114736. doi: 10.1016/j.ejmech.2022.114736.
50. Zhao H, Chen S, Cao N, et al. Berberine is a novel mitochondrial calcium uniporter inhibitor that disrupts MCU-EMRE assembly. Adv Sci 2025; 12:e2412311. doi: 10.1002/advs.202412311.

NATURAL COMPOUNDS AS MITOPROTECTORS: FROM MECHANISMS OF ACTION TO THERAPEUTIC POTENTIAL

A.P. KUVYRCHENKOVA, A.G. ROGOV, T.N. GOLEVA, R.G. VASILOV

National Research Center «Kurchatov Institute», Moscow

Mitochondrial dysfunction and the concomitant oxidative stress serve as fundamental pathogenetic links for a wide range of socially significant diseases, including neurodegenerative disorders (Alzheimer's and Parkinson's diseases), cardiovascular pathologies, type 2 diabetes mellitus, and systemic aging processes. Natural biologically active compounds such as polyphenols (resveratrol, curcumin, EGCG), alkaloids (berberine, palmatine), and terpenoids are considered promising mitoprotectors due to their ability to efficiently scavenge reactive oxygen species, inhibit the opening of the giant mPTP pore, and modulate key signaling pathways (Keap1/Nrf2, SIRT1/PGC-1α, AMPK/mitophagy). Nevertheless, the therapeutic application of native phytochemicals is significantly limited by their low systemic bioavailability, rapid elimination, and lack of selective accumulation in the mitochondrial matrix. To overcome this translational barrier, a number of nanotechnological and synthetic solutions have been developed: targeted molecules conjugated with penetrating cations (Skulachev ions of the SkQ series, MitoQ), cardiolipin-targeted peptides (SS-31/elamipretide), as well as nanostructured delivery systems (liposomes, polymeric and chitosan nanoparticles). This review systematically details the molecular targets of the main classes of natural mitoprotectors, provides a critical analysis of the results of their clinical trials, outlines the scope of application of synthetic derivatives, and formulates key directions for further research in the field of mitochondria-targeted pharmacotherapy. Special attention is paid to the role of the gut microbiome in the metabolic activation of polyphenols and synergistic effects in combination therapy. The presented material outlines the prospects for the practical implementation of innovative nanodrugs for the targeted correction of cellular bioenergetics.

Keywords: mitochondria, mitoprotectors, oxidative stress, Skulachev ions, SkQ3, mitophagy, Nrf2.

Address:
Rogov A.G.
Head of the laboratory of molecular bioenergetics
National Research Centre «Kurchatov Institute»
E-mail: lloss@rambler.ru

Для цитирования:
Кувырченкова А.П., Рогов А.Г., Голева Т.Н., Василов Р.Г. Природные соединения как митопротекторы: от механизмов действия к терапевтическому потенциалу. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2):83–94.

For citation:
Kuvyrchenkova A.P., Rogov A.G., Vasilov R.G. Natural compounds as mitoprotectors: from mechanisms of action to therapeutic potential. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2):83–94 (in Russian).

УДК: 615.246.2:616.9-084

ЭНТЕРОСОРБЕНТЫ КАК КОМПОНЕНТЫ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ИНФЕКЦИОННЫХ И НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Н.Д. ОМЕЛЬЧЕНКО[1*], И.А. ИВАНОВА[1], А.В. ФИЛИППЕНКО[1], А.А. ТРУФАНОВА[1], О.Г. ЖУКОВА[1], Е.А. ГЛАЗКОВА[2]

[1] ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону
[2] ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, г. Саратов

Обзор посвящён анализу отечественных и зарубежных данных об использовании энтеросорбентов в комплексной терапии и профилактике заболеваний инфекционного и неинфекционного генеза. Рассмотрены патогенетические основы синдрома эндотоксиновой агрессии, механизмы прямого и опосредованного действия энтеросорбентов, а также современная классификация препаратов по химической структуре (углеродные, кремнийсодержащие, химические, на основе природных и синтетических смол, природные органические и комбинированные сорбенты). Особое внимание уделено технологиям придания сорбентам селективности за счёт иммобилизации специфических лигандов, пробиотических микроорганизмов и иммуноглобулинов, в том числе разработкам противочумных институтов Роспотребнадзора по созданию антитоксических иммуноэнтеросорбентов для профилактики холеры. Проанализирована эффективность энтеросорбентов при бактериальных и вирусных острых кишечных инфекциях в сочетании с антибактериальной и пробиотической терапией, а также их роль в лечении неинфекционных заболеваний — воспалительных заболеваний кишечника, онкопатологии, аллергических состояний, нарушений микроэлементного и липидного обмена. Сделан вывод о накопленном значительном клиническом опыте применения сорбционных технологий и перспективности разработки новых селективных энтеросорбентов, сочетающих детоксикационное, иммуномодулирующее и этиотропное действие.

Ключевые слова: энтеросорбенты; энтеросорбция; синдром эндотоксиновой агрессии; липополисахарид; острые кишечные инфекции; холера; иммуносорбенты; пробиотики; иммобилизация; дисбиоз кишечника.

Введение

Инфекционные и неинфекционные заболевания могут сопровождаться нарушением барьерной функции кишечника, разрушением и гибелью его грамотрицательной микрофлоры с высвобождением эндотоксина (липополисахарида — ЛПС) [29]. Накапливающийся токсин является мощным стимулятором синтеза цитокинов, особенно фактора некроза опухоли (ФНО) и интерлейкинов (ИЛ). Они усиливают реакцию иммунной системы на эндотоксин, активируя нейтрофилы, эндотелиальные клетки, тромбоциты и вызывают выброс других медиаторов: фактора активации тромбоцитов, компонентов комплемента, кининов, гистамина, эндорфинов. В результате снижается общее периферическое сосудистое сопротивление, артериальное давление, возрастает сердечный выброс. ЛПС активирует внутренние механизмы свертывания и систему фибринолиза, вызывая отложение фибрина в микроциркуляторном русле, нарушение кровотока и усиление ишемии тканей. В результате свертывания крови возникают тромбозы и эмболии мелких сосудов [12, 18]. Липид А эндотоксинов обусловливает лихорадку, синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдром) и шок. ЛПС также активирует макрофаги, вызывая выброс ими медиаторов ИЛ-1 и ФНО-α в кровь, в результате чего увеличивается сосудистая проницаемость, изменяются свойства эндотелия, а стимуляция ими терморегуляторного центра гипоталамуса приводит к гипертермии [18]. Показано, что уровень ЛПС в сыворотке крови при неинфекционных заболеваниях зависит от активности воспаления, а определение концентрации токсина в динамике может быть одним из критериев для оценки эффективности и коррекции проводимой терапии

© 2026 г. Омельченко Н.Д., Иванова И.А., Филиппенко А.В., Труфанова А.А., Жукова О.Г., Глазкова Е.А.

*** Автор для переписки:**
Омельченко Наталья Дмитриевна*
к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунологии, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора
E-mail: natalya.omelchenko@yandex.ru

[33]. При этом современные методы лечения, направленные на нейтрализацию эффектов токсина (использование антител к липиду А и ФНО-α, блокатора рецепторов ИЛ-1), малоэффективны [3]. При недостаточной эффективности антиэндотоксинового иммунного ответа, когда концентрация ЛПС в общем кровотоке превышает физиологически допустимые нормы, развивается синдром эндотоксиновой агрессии [12, 18, 19, 29]. Клинически он проявляется утяжелением течения заболевания, увеличением продолжительности и частоты приступов, укорочением периода ремиссии и снижением основных показателей жизнедеятельности. Бесконтрольное применение антибиотиков, нестероидных противовоспалительных препаратов, а также экологическое неблагополучие усугубляют патологию барьерной системы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [18, 19, 39]. Нарушение водно-электролитного баланса и гиповолемия вовлекают в инфекционно-воспалительный процесс не только органы сердечно-сосудистой, но и нервной и мочевыделительной систем. В особо тяжелых случаях интоксикация приводит к дистрофическим изменениям органов и формированию патологии, требующей специального лечения (энцефалиты, церебеллиты, миокардиты, кардиомиопатии, нефропатии и др. заболевания) [19]. Целесообразность антибиотикотерапии подтверждена для шигеллеза, холеры, кампилобактериоза, иерсиниоза и некоторых других бактериальных диарейных инфекционных болезней, а при вирусных диареях она противопоказана, так как является причиной развития дисбактериоза [19]. В связи с этим поиск новых средств и методов для лечения и профилактики таких заболеваний не утрачивает актуальности.

Цель настоящего обзора — анализ данных литературных источников, посвященных использованию энтеросорбентов в профилактике и лечении различных заболеваний инфекционного и неинфекционного генеза.

1. Механизмы лечебного действия энтеросорбентов

Современный подход к профилактике и лечению инфекционных болезней связан с постоянной необходимостью усовершенствования схем этиопатогенетической терапии. Возникновение вышеописанных симптомов системной эндотоксинемии является показанием к включению в состав комплексной эфферентной терапии препаратов, оказывающих энтеросорбционное, детоксикационное и цитопротекторное действия, а также благоприятно влияющих на микрофлору кишечника. Такими лекарственными средствами являются энтеросорбенты [13, 42]. Современные препараты имеют достаточно высокую сорбционную емкость и не разрушаются в ЖКТ. Они эффективно связывают и выводят из организма эндогенные и экзогенные токсичные соединения, надмолекулярные структуры и клетки разных размеров и масс. Перечень заболеваний, при которых показаны сорбционные технологии, обширен. Это острые отравления, аллергические и иммунозависимые заболевания, болезни печени и желчных путей, почек, легких, острые воспалительные и гнойно-септические заболевания, психоневрологические и психические заболевания, абстинентные синдромы, последствия травм, острые нарушения кровообращения, онкологические заболевания, лучевые поражения, кожные и эндокринные болезни и др. [13].

Энтеросорбция является наиболее эффективной и наименее изученной составляющей элиминационной терапии. Целенаправленные клинические исследования активности различных групп энтеросорбентов с целью создания отечественных препаратов начались с середины 80-х годов прошлого века [41]. Это расширило возможности применения метода в комплексной терапии острых кишечных инфекций (ОКИ). Одним из первых был изучен препарат низкомолекулярного поливинилпирролидона — Энтеродез. Исследование его действия при комплексной терапии больных с пищевой токсикоинфекцией и шигеллезом средней степени тяжести показало отсутствие побочных реакций и 100-процентный клинический эффект, не требующий проведения парентеральной регидратации. В настоящее время этот препарат включен в комплексную терапию острых диарейных инфекций [1].

Механизм лечебного действия энтеросорбентов реализуется прямым и опосредованным воздействием на патогенетические механизмы. Прямое действие — способность к связыванию и элиминации непосредственно из просвета органов пищеварения бактериальных токсинов, поступающих *per os*, поглощение эндогенных продуктов секреции и гидролиза, биологически активных веществ (нейропептидов, простагландинов, серотонина, гистамина), сорбция патогенных, условно-патогенных микроорганизмов, вирусов, связывание газов, образующихся при гнилостном процессе. В контакте с сорбентом участвуют слюна, желудочный сок, желчь, панкреатический сок, сок тощей и подвздошной кишки. В кислой среде желудка происходит важный этап сорбции — равномерное распределение сорбента в жидкой фазе секрета и пищевых компонентов, с которыми препарат поступает в двенадцатиперстную кишку. При этом сорбент не насыщен и имеет максимальную способность

к связыванию токсических продуктов. В тонкой кишке происходит сорбция как веществ, принятых перорально, так и компонентов секрета слизистой оболочки, печени и поджелудочной железы. При длительном приеме энтеросорбента в тонкой кишке на 1 г препарата приходится в среднем 100 мл химуса. Площадь контакта с химусом обратно пропорциональна размерам частиц сорбента. В связи с этим скорость сорбции и насыщения сорбента будет большей при использовании мелкодисперсных препаратов, а увеличение размера частиц приводит к пролонгированию процесса сорбции в дистальных отделах кишечника. По мере продвижения энтеросорбента по кишечнику соотношение между количеством препарата и химусом увеличивается за счет концентрации кишечного содержимого и составляет в терминальном отделе толстой кишки 1:2 – 1:4. Это изменяет условия сорбции: сорбционная емкость препарата снижается. Компоненты, поступающие из сосудистого русла через интерстиций в просвет кишки, достигают гликокаликса и транспортируются в слизистом слое за счет диффузии. В просвете кишки транспорт веществ к сорбенту осуществляется путем облегченной диффузии по градиенту концентрации за счет конвективных потоков, поддерживаемых перистальтикой кишечника. Начиная с двенадцатиперстной кишки, процесс сорбции идет в щелочной среде [44]. Энтеросорбент не вступает с сорбируемыми веществами в химическую реакцию, а фиксирует их на своей поверхности, не вызывая при этом биохимических изменений крови, и вместе с токсическими продуктами выводится из организма. Опосредованное действие – подавление или ослабление токсико-аллергических реакций, воспалительных процессов, уменьшение нагрузки на органы детоксикации и экскреции, устранение метеоризма и улучшение трофики стенки кишечника. Оно начинается с поглощения токсических веществ, попадающих в ЖКТ как извне, так и диффундирующих в просвет кишечника из крови, выделяющихся с пищеварительными соками, образующихся в ЖКТ (индол, скатол и др.). Впоследствии происходит связывание токсических метаболитов, избирательное поглощение аминокислот и свободных желчных кислот, фиксация и перенос физиологически активных веществ (ферментов, желчных кислот и т.д.), изменение объёма неперевариваемого остатка по типу пищевых волокон, каталитическое действие. Благодаря опосредованному действию энтеросорбента в кишечнике поддерживается нормальный микробиоценоз, обеспечивается высокая метаболическая активность энтероцитов [16, 19, 44]. Дополнительными механизмами действия энтеросорбентов являются обволакивающее и цитопротекторное действие, способность образовывать агрегаты и флокуляты с микроорганизмами, прямое бактерицидное действие, комплексообразование и хелатирование, а также подавление размножения патогенов за счёт преобразования химического состава кишечного содержимого [16, 19]. Патогенетические механизмы энтеросорбции напрямую зависят от вида сорбента и структуры сорбируемых частиц [25].

2. Классификация энтеросорбентов по химической структуре

Группа энтеросорбентов представлена большим количеством препаратов, отличающихся по основному действующему веществу и химическому составу.

Согласно Международной анатомо-терапевтической и химической классификационной системе Всемирной организации здравоохранения (Государственный реестр лекарственных средств, 2022; КлассИнформ, 2022, ATC/DDD Index, 2022), по действующему веществу препараты энтеросорбентов делятся на 2 основные группы: первая группа (A07BA) представлена препаратами угля; вторую группу составляют «адсорбционные кишечные препараты другие» [4]. На основании данной международной классификации и статистических данных, полученных из Государственных реестров лекарственных средств России (2022), Евросоюза (EMA, 2021), Франции (ANSM, 2022), Италии (IMA, 2022), Алжира (Pharm'Net, ALGERIE EXPRESS SERVICE, 2021), Ливии (LEML, 2019), Саудовской Аравии (SFDA, 2022), российские учёные проводили сравнительный анализ использования зарегистрированных энтеросорбентов на вышеуказанных территориях. Установлено, что во всех рассматриваемых странах первая группа препаратов угля (A07BA) является востребованной. Группа A07BC суммарно для всех стран представлена 7 подгруппами действующих веществ: смектитом диоктаэдрическим, лигнином гидролизным, полиметилсилоксана полигидратом, кремния диоксидом коллоидным, повидоном, пектином, каолином. Подгруппу смектита диоктаэдрического составляют препараты с разным минеральным действующим веществом: диосмектит, монмектит, монтмориллонит, бейделлитик и аттапульгит. Выявлены различия по номенклатурному составу в группе A07BC: в России используются представители 5 подгрупп – смектит диоктаэдрический, лигнин гидролизный, полиметилсилоксана полигидрат, кремния диоксид коллоидный, повидон. В Евросоюзе из этой группы применяются также 5 зарегистрированных подгрупп, однако их состав отличается от российского:

это смектит диоктаэдрический, кремния диоксид коллоидный, повидон, пектин и каолин. Лигнин гидролизный и полиметилсилоксана полигидрат не зарегистрированы в странах Евросоюза. В арабских странах группа A07BC представлена лишь 2 зарегистрированными подгруппами — смектитом диоктаэдрическим и каолином. В России и в Евросоюзе наиболее востребованы и производятся препараты угля и препараты из подгруппы смектита диоктаэдрического, в арабских странах используются энтеросорбенты группы активированного угля, подгруппы смектита диоктаэдрического и каолин [4].

В российской классификации энтеросорбентов по их химической структуре выделяют следующие основные группы:

1. Углеродные: «Активированный уголь», «Карболонг», «Карбовит», «Карбосфер», «Антрален», «Сорбекс», «Ультра-адсорб», БАДы «СКТ-6А», «СУГС», «СКАН», пищевые добавки «Ваулен», «Актилен» и др. на основе активированного угля, гранулированных углей и углеволокнистых материалов. Все представители этой группы поглощают газы, токсины, соли металлов, продукты метаболизма лекарств, но могут оказаться травматичными для слизистой оболочки ЖКТ, что ограничивает их применение.

2. Кремнийсодержащие: «Полисорб МП», «Силлард П», «Белая глина», «Смекта», «Неосмектин», «Белый уголь» и др. Они созданы на основе природных и синтетических веществ: белой глины («Каолин», «Каопектат»), смектитов («Смекта»), монтлорилонитов натрия («Бентонит») и др.

3. Химические: «Энтеродез», «Энтеросорб», «Энтеросгель» и др. Примером является синтезированный гель гидроокиси метилкремниевой кислоты — «Энтеросгель», который связывает и выводит из организма только средне-молекулярные токсические вещества.

4. Энтеросорбенты на основе природных и синтетических смол, синтетических полимеров и неперевариваемых липидов: «Холестирамин», «Холестипол», «Холезивилам», БАД «Олестра» и др. Это ионообменные материалы, связывающие конкретные вещества. Например, вещества аниониты сорбируют пепсин, бактериальные токсины и снижают кислотность желудочного сока, катиониты снижают концентрацию ионов натрия, калия, кальция, а холестерамин сорбируют желчные кислоты. «Олестра» применяется для элиминации из организма гидрофобных токсинов (например, диоксинов).

5. Природные органические: «Микрокристаллическая целлюлоза», «Полифепан», «Мультисорб», «Экстралакт», «Альгисорб», «Зостерин», «Микотон», «Фильтрум-СТИ» и др. Основу их составляют пищевые волокна, лигнин гидролизный, хитин, пектин и альгинат. Они активно впитывают и удерживают воду (адсорбция) и другие вещества: нитриты, нитраты, канцерогенные вещества, бактериальные токсины. Хитин (главный компонент панцирей ракообразных и насекомых) по структуре идентичен целлюлозе. Его производное — хитозан — имеет антикоагулянтный, антитромбогенный, бактерицидный и противоопухолевый эффекты и способствует заживлению ран. Пектин — комплекс коллоидных полисахаридов (галактуроновая кислота с боковыми цепями из рамнозы, арабинозы, ксилозы и фруктозы), желирующее вещество, почти полностью гидролизуется микрофлорой толстого кишечника. Выводит радионуклиды и соли тяжелых металлов из организма.

6. Комбинированные: «Ультрасорб», «Энтегнин-Н», «Лактофильтрум», «Фильтрум-Сафари», «Рекицен-РД», «Эубикор», «Токсфайтер люкс» и др. Имеют в составе два и более типов сорбентов или дополнительных компонентов (витамин С, ферменты, пробиотики, фруктоолигосахариды, лактулоза и др.), что расширяет спектр лечебного или профилактического действия энтеросорбента.

3. Селективность и иммобилизация энтеросорбентов

Важной задачей здравоохранения является оптимизация лечения и профилактики носительства бактериальных ОКИ, особенно с инвазивным типом диареи. Это подтверждают факты обнаружения новых эпидемических вариантов возбудителей, высокая частота формирования хронической патологии органов ЖКТ и гепатобилиарной системы, утяжеление клинических проявлений у детей, особенно на фоне приёма антибиотиков при отсутствии показаний [2, 40]. Обнаружено, что несвоевременное восстановление баланса микрофлоры быстро приводит к росту условно-патогенной флоры, влияющей на развитие функциональных нарушений, синдрома раздраженного кишечника и сепсиса. У пациентов формируется высокая резистентность флоры ко многим антибактериальным препаратам, что затрудняет лечение [19, 25]. Для её решения изучается эффективность и целесообразность включения в терапевтические схемы разных групп энтеросорбентов. Тактика их применения основана на двух противоположных подходах: на начальных стадиях лечения, когда на фоне хорошей переносимости антибактериальных препаратов энтеросорбентами можно усилить фармакологическую чувствительность и добиться тем са-

мым высокой эффективности терапии. Основной задачей энтеросорбентной терапии при втором подходе является увеличение фазы ремиссии заболевания. Подключение энтеросорбентов осуществляется после предварительного лечения антибиотиками при переходе обострения в стадию «затухания» [5]. Исследователи отмечают, что при острых инфекционных диарейных болезнях инвазивного типа раннее применение энтеросорбентов оказывает быстрый и выраженный дезинтоксикационный, гипотермический и антидиарейный эффект, особенно при их комбинированном лечении с антибактериальными препаратами или пробиотиками [7, 42].

Недостатком большинства давно известных энтеросорбентов является их неселективность. Неспецифическая сорбция нужных для организма веществ (витаминов, ферментов, гормонов и т.д.) иногда приводит к негативным последствиям. Новые технологии сорбционной терапии основаны на придании сорбентам селективности путем иммобилизации на их поверхности специфических лигандов и рецепторов. В качестве лигандов может быть использован широкий круг соединений: микро- и макроэлементы, кластеры металлов, витамины, ферменты, аффинные рецепторы на конкретные биомолекулы (например, холестерин), адаптогены, БАДы, антибиотики, цитокины, иммуномодуляторы, иммуноглобулины, антигены, вирусы и бактерии или их фрагменты и т.д. [13, 19].

Исследуется возможность иммобилизации на энтеросорбентах микроорганизмов-пробиотиков. Выявлено, что для прикрепления бактерий можно применять органические (целлюлоза, лигнин, хитин) или неорганические носители (глины, песок, кремнеземы, угли), искусственные неорганические носители (углеродные материалы), синтетические полимеры (полиэтилен, нейлон), а также природные биодеградируемые материалы (альгинат, фукоидан, хитозан, каррагинан, пектин) [11]. Производятся препараты пробиотических бифидобактерий, иммобилизованных на частицах активированного угля: «Бифидумбактерин форте», «Пробифор», «Бифилактрин», «Флорин форте», «Кальцидум». Их клинические испытания на взрослых пациентах и детях различного возраста с острыми и хроническими поражениями кишечника показали высокую эффективность, отсутствие побочных реакций [46], а также устойчивость пробиотических бактерий к желудочному соку и желчным кислотам [21]. Терапевтический эффект достигался за счёт высокой локальной концентрации бифидобактерий, хорошей колонизации ЖКТ и сохранности микроорганизмов при его прохождении. Это стимулировало процессы репарации в слизистой оболочке кишечника, в том числе у грудных детей, имеющих пониженную бактерицидную активность *parva intestini*, низкую кислотность желудочного сока (pH 4,0–4,5), неспособного подавить экзогенную микрофлору, поступающую *per os*. Однако препараты пробиотиков, иммобилизованных на угольных сорбентах, нельзя принимать продолжительными курсами, поскольку активированный уголь не обладает селективностью связывания и способен снижать уровни витаминов, гормонов и микроэлементов [49]. Данные препараты также способны повреждать биопленки и усиливать дисбиотический процесс [49]. Показано, что лиофильно высушенные пробиотики или другие вещества, иммобилизованные на сорбентах с развитой пористой структурой, могут доставляться в кишечник не одной большой капсулой с кишечнорастворимой оболочкой, а множеством маленьких капсул [10]. Установлено, что углерод-минеральный энтеросорбент «СУМС-1» с развитой структурой макро-, мезо- и микропор и поверхностью, составляющий основу препаратов «Биосорб-бифидум» и «Экофлор», обладает определенными буферными антацидными свойствами и дополнительно защищает клетки от повреждающего действия желудочного сока. Сорбент работает по всей длине ЖКТ и считается более приемлемым для получения иммобилизованных препаратов по сравнению с активированным углём [6]. Препарат «Литовит С» в качестве носителя для бактерий содержит комбинированную матрицу «литовит» — комплекс природного адсорбента цеолита и пищевых волокон (пшеничные и ржаные отруби). Цеолит связывает низкомолекулярые токсины, а пищевые волокна способствуют нормальному функционированию пищеварительной системы [6]. Идет разработка целевых (целенаправленных) пробиотических препаратов, в которых иммобилизованные на разных энтеросорбентах бифидо- и лактобактерии сочетаются с фармацевтическими субстанциями. Например, «Гепафор», в состав которого входят сорбированные на коллоидном диоксиде кремния микроорганизмы-пробиотики, а также экстракт из плодов расторопши, направленный на лечение токсических поражений печени [48]. В пробиотическом поликомпонентном препарате «Рисо-Лакт» носителем является карбонизованная рисовая шелуха, на которой сорбирована сухая биомасса лактобактерий [20]. Установлено, что карбонизированные сорбенты (зауглероженные виноградные косточки или рисовая шелуха) позволяют ускорить терапевтическое действие лактобактерий более чем в 50 раз по сравнению с подобным жидким концентратом из свободных бактерий. Микроколонии лактобактерий, фиксированные на энтеросорбентах, обладали устойчивостью к воздействию желудочного сока и быстрой адгезией к

поверхности слизистой кишечника [20]. Актуальным направлением является использование коллагена в качестве сорбента, поскольку он обладает высокой сорбционной способностью. Создан препарат в виде пластинок для лечения дисбиоза полости рта, в котором лактобактерии иммобилизованы на коллагене, выделенном из мантии кальмара *Dosidicus gigas* [35]. Разработаны технологии создания коллагеновых каркасов для культивирования живых клеток. На их основе получают препараты с улучшенными механическими свойствами для использования в хирургии. Такой биорезорбируемый барьерный материал имеет высокую биосовместимость, заданное время сорбции и контролируемую биодеградацию и не является цитотоксичным [37]. Также на основе минерального энтеросорбента из семейства цеолитов создан новый иммобилизованный жидкий мультипробиотик IV поколения «LB-комплекс Л» (СГР No RU77.99.88.003.E.000946.01.15 от 26.01.2015 г. (из пробиотических штаммов родов *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*), обладающий протективным действием при низких значениях pH среды и в определенной степени обеспечивающий усиление противовоспалительного эффекта проводимой комплексной противотуберкулезной терапии [3].

4. Энтеросорбенты в терапии бактериальных ОКИ

Доказано, что при легком и среднетяжелом течении бактериальных ОКИ клиническая эффективность энтеросорбентов имеет достаточно высокий уровень и не уступает широко используемым в клинической практике антибактериальным препаратам [7, 25, 40]. Так, сравнивая клинический эффект от монотерапии легких и среднетяжелых ОКИ у детей выявлено, что они эффективнее лечатся таблетированным препаратом лигнина гидролизного «Фильтрум-СТИ», чем фуразолидоном. Сочетанная терапия данными препаратами показала ещё большую антибактериальную, детоксикационную и санирующую лечебную эффективность: повторный высев возбудителей ОКИ отсутствовал. При этом после завершения 5-дневного курса монотерапии антибиотиком у одной трети больных фиксировался повторный высев сальмонелл и синегнойной палочки. Таким образом, обнаруженная способность энтеросорбента «Фильтрум-СТИ» создавать благоприятные условия для купирования инфекционного процесса и снижать антигенную перегрузку на иммунную систему позволила авторам говорить о наличии у данного сорбента опосредованного иммуномодулирующего действия [25]. Также выраженный дезинтоксикационный эффект был зарегистрирован при раннем включении энтеросорбента «Полисорб» в схему комплексной терапии при сальмонеллезе, пищевой токсикоинфекции, обусловленной условно-патогенными бактериями, и ботулизме [32]. При лечении инфекционных заболеваний ЖКТ, сопровождающихся развитием выраженного эндотоксикоза, а также при дисбиозах кишечника патогенетически обоснованным и клинически перспективным считают применение сорбентов на основе SiO_2, обладающих рядом положительных фармакологических эффектов. Например, многолетними исследованиями и клиническими наблюдениями доказано, что кремнеземный энтеросорбент «Белый уголь Актив» (Кремния диоксид коллоидный, ООО «ОФМ», Москва, свидетельство о государственной регистрации №77.99.23.3.У.9197.9.09), действует в кишечнике избирательно без потерь полезных микронутриентов, поглощает патогенные бактерии и токсины, некротизированные эпителиальные клетки и другие токсические продукты, образующиеся в кишечнике (фенол, индол, скатол, ароматические аминокислоты и др.), не вызывает запоров, не обладает токсичностью [38].

5. Специфические противохолерные иммуносорбенты и бактериофаги

Проводятся исследования по включению энтеросорбентов в традиционные схемы лечения и профилактики особо опасных инфекций. Актуальной задачей остаётся оптимизация подходов к лечению и профилактике холеры, седьмая пандемия которой продолжается в настоящее время. Основополагающим направлением работы является конструирование стабильных специфических противохолерных препаратов иммуносорбентов — энтеросорбентов, выполняющих не только функцию «очищения», но и целевого носителя для доставки, выделения и пролонгации действия биологически активных продуктов. Такие препараты должны являться как патогенетическим средством терапии, так и этиотропным, и обладать способностью поглощать холерный энтеротоксин, фиксировать на своей поверхности возбудителя и выключать его таким образом из патологического процесса [27]. Существующая универсальная технология получения препаратов позволяет создать доступные иммуносорбенты для лечения различных кишечных инфекций путем варьирования типа антител по единой схеме, поскольку источниками антител могут являться гетерологичные гипериммунные сыворотки животных или моноклональные антитела. Эти препараты способны безопасно и удобно доставить специфические иммуноглобулины локально в очаг инфекции, создавая там большую

концентрацию. На них не развиваются анафилактические реакции, а эвакуация антигенов и токсинов естественным путем снижает нагрузку на органы детоксикации (печень, почки, иммунную систему). Кроме того, перспективным направлением исследований может стать создание пероральных иммуносорбентов для активной иммунизации (вакцинации) посредством иммобилизации на энтеросорбентах антигенов или вакцинных штаммов микроорганизмов, защищённых таким образом от повреждающего действия желудочного сока.

В Российском научно-исследовательском противочумном институте «Микроб» Овчинниковой М.В. с соавт. [26] разрабатывалась технология получения нового лечебно-профилактического препарата – антитоксического иммуноэнтеросорбента для интраинтестинальной нейтрализации экзотоксина холерного вибриона [26]. Основу данного препарата составлял высокомолекулярный энтеросорбент «Хитозан», на микрочастицах которого были иммобилизованы специфические иммуноглобулины, выделенные из высокоактивных противохолерных антитоксических сывороток. Об эффективности его применения свидетельствовал сравнительный анализ уровня токсиннейтрализующей активности антитоксических иммуноглобулинов и противохолерного энтеросорбента, который выявил высокий коэффициент корреляции (0,93 и 0,97 соответственно) между данными подходами. Установлено, что антитоксический энтеросорбент в дозе 1000 мг защищал опытных животных от заболевания холерой при внутрикишечном заражении вирулентным штаммом *Vibrio cholerae* 569B O1 серогруппы в заражающей дозе 1×10^5 м.к./мл. Практическим выходом работы было создание стабильной лекарственной формы антитоксического иммуноэнтеросорбента в виде таблетки, покрытой кишечнорастворимой оболочкой.

Сотрудники ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, совместно с ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, работают над созданием новых иммунобиологических препаратов, изучая безопасность, эффективность и целесообразность применения специфического энтеросорбентного препарата и противохолерных бактериофагов с направленным антибактериальным действием в отношении *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп [15].

Идею использования коктейлей из бактериофагов для расширения возможностей в тактике профилактических и лечебных мероприятий успешно воплотили в жизнь ученые «Московского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского». На основе вирулентных штаммов эшерихиозных V18 и EcD7, сальмонеллезных ST11, Si3, SE40, стафилококкового CH1 и листериозного Lm1 бактериофагов ими был создан специализированный продукт диетического профилактического питания с широким спектром специфической антибактериальной эффективности в отношении *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (EHEC), *Shigella flexneri* и *Shigella sonnei* (патент на изобретение РФ № 2518303). Безопасность его была подтверждена в доклинических исследованиях, разработана оптимальная технология культивирования производственных штаммов бактериофагов для получения фагового коктейля [30].

Приоритетной задачей в процессе отбора многочисленных сорбентов в качестве кандидатов для основы будущего иммунобиологического противохолерного препарата решено было остановиться на веществах с натуральным и безопасным составом, полезных в том числе и здоровым людям с целью профилактики заболеваний органов пищеварения и предотвращения метаболических расстройств. Препаратами выбора стал растительный пектин с достаточно мощным сорбционным действием и сорбент «Полисорб» на основе высокодисперсного кремнезема (размер частиц 5–20 нм, активная поверхность 300 $м^2/г$). Эффективность пектина доказана в лечении кишечной недостаточности, в ликвидации эндотоксикоза в процессе дегельминтизации и др. [14, 47]. Также у пектина выявлен дозозависимый иммуномодулирующий эффект, который проявляется в угнетении выработки провоспалительных цитокинов [50]. «Полисорб МП» активно выводит из организма токсины различной природы, антигены, пищевые аллергены, лекарственные препараты и яды, соли тяжелых металлов [7].

Принимая во внимание накопленный опыт, во ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора сконструированы четыре экспериментальных препарата на основе смеси бактериофагов (Rostov 13 и Rostov M3), энтеросорбентов («Полисорба» и «Пектина» в концентрациях 2,5% и 5%) и иммуноглобулинов холерных O1 лошадиных (5 мг/мл). В настоящее время исследовательская работа продолжается.

6. Энтеросорбция при вирусных ОКИ

Проводятся исследования по включению энтеросорбентов в традиционные схемы лечения и профилактики ОКИ вирусной природы, в том числе диарейного типа, занимающих значительную долю среди кишечных болезней. Их этиологическими агентами могут становиться ротавирусы, параротавирусы, вирусы Норволк

и группа им подобных, коронавирусы, калицивирусы, энтеровирусы, парвовирусы, кишечные аденовирусы, возбудитель гепатита А и др. [34]. Нередко инфекционный процесс сопровождается «цитокиновым штормом», обусловленным продукцией ФНО-α, ИЛ-1 и ряда других провоспалительных цитокинов, усиливающих сосудистую проницаемость и поддерживающих лихорадку. Проблема химиотерапии вирусных ОКИ гораздо более сложная, поскольку вирусы не чувствительны к действию антибиотиков, в отличие от бактерий. Введение специфических антител при вирусной патологии часто становится единственным эффективным лечебным средством и препаратом экстренной профилактики. Однако для вирусных диарейных болезней традиционное парентеральное введение иммуноглобулинов малоэффективно, так как циркуляция антител в кровеносном русле не защищает от патогена. Основными средствами этиотропной терапии являются специфические иммуноглобулины, находящиеся непосредственно в воротах инфекции — в просвете кишечника, а также индукторы интерферона и препараты с иммуномодулирующим действием [34]. В связи с этим, этиопатогенетическая терапия вирусных ОКИ нуждается в оптимизации, в том числе посредством включения в схемы комплексного лечения современных энтеросорбентов и пробиотиков. В отечественной научной литературе последних лет можно найти сравнительно небольшой перечень рекомендуемых энтеросорбентов для борьбы с вирусными инфекциями, поскольку не все препараты показывают эффективность при вирусных диареях. Наибольшее количество исследований по этой тематике проведено инфекционистами-педиатрами, что вполне закономерно с учетом более широкого распространения вирусных диарейных болезней среди детей. Так, подтверждена эффективность «Неосмектина» (смектина диоктаэдрического), включенного в комплексную терапию ОКИ вирусной (осмотической) и вирусно-бактериальной этиологии (инвазивно-осмотического типа диареи) у детей [23, 24]. Зарегистрировано быстрое исчезновение симптомов интоксикации и эксикоза, лихорадки, купирование метеоризма, абдоминальных болей и диарейного синдрома, по сравнению с контрольной группой, не получавшей «Неосмектин», а также быстрое восстановление нормальной микрофлоры кишечника (бифидобактерий, лактобактерий, энтерококков) [23, 24]. Хороший терапевтический эффект «Неосмектина» также регистрировали при бактериальных ОКИ, вызванных *Proteus mirabilis*, *P. vulgaris*, *Citrobacter freundi*, *Klebsiella pneumoniae* и др. условно-патогенных бактерий [17]. Проводили сравнительное изучение действия этого препарата с другими энтеросорбентами — «Полимектинсилоксана полигидратом», «Кремния диоксидом коллоидным» и «Лингином гидролизным», включёнными в комплексную этиопатогенетическую терапию ротавирусной инфекции у детей. Доказано, что «Неосмектин» обладает самым высоким уровнем цитомукопротективного действия, так как показал оптимальное соотношение сорбционной емкости и клинической эффективности. Другие энтеросорбенты имели несколько меньший уровень активности с приемлемым уровнем клинической эффективности, однако целесообразность их применения подтверждена исследователями [9, 31]. Выраженное этиотропное действие в процессе лечения ротавирусной и бактериальной ОКИ у детей, в том числе грудного возраста, зарегистрировано у энтеросорбента «Фильтрум-СТИ» на основе растительного полимера лигнина гидролизного [25]. Терапевтический эффект препарата отмечен с первых дней лечения за счет высокой сорбционной активности, быстрой элиминации из кишечника токсинов, вирусов и условно-патогенных бактерий, продуктов их жизнедеятельности, а также благодаря способности восстанавливать микрофлору и стабилизировать моторику кишечника [25]. Другой энтеросорбент с цитомукопротективным действием — «Адиарин» показал эффективность в доклинических и клинических исследованиях. Являясь комплексным препаратом дубильной кислоты (танина) и желатина, он обладает способностью образовывать на поверхности кишечника пленку, благодаря чему уменьшается повреждение слизистой оболочки ЖКТ возбудителями ОКИ разной этиологии, в том числе ротавирусной. Клинический и пробиотический эффект этого препарата сопоставим с терапией пробиотиками: даже короткие сроки приема препарата приводили к снижению активности популяций факультативной и условно-патогенной анаэробной и аэробной микрофлоры, восстановлению функциональной и метаболической активности облигатной микрофлоры толстого кишечника (бифидо- и лактобактерий), нормализации процессов протеолиза и элиминации патогенов. Авторы рекомендуют использование желатина танната для лечения и восстановления нарушений микробиоценоза кишечника у детей с ОКИ [9]. Заслуживает внимания отечественный комбинированный препарат «Фильтрум-Сафари» со свойствами энтеросорбента и пребиотика, который используется в педиатрии для комплексного лечения детей в возрасте от трех до 13 лет с установленной ротавирусной инфекцией и практически не имеет побочных реакций. Он обеспечивает высокую степень колонизации кишечника по сравнению с жидкими концентратами бифидо- и лактобактерий, так как иммобилизованные бактерии более устойчивы к инактивирующим

факторам внешней среды и ЖКТ. Энтеросорбент в этом препарате выполняет детоксикационную функцию и уменьшает метаболическую нагрузку на органы детоксикации (печень, почки, иммунную систему), что приводит к усилению терапевтического эффекта. Эффективность «Фильтрум-Сафари» объясняется сорбционными и детоксикационными свойствами лигнина, находящегося в препарате, а также наличием фруктоолигосахарида, восстанавливающего количественный и качественный состав собственной микрофлоры кишечника. Клиническую эффективность и целесообразность включения этого препарата в схему комплексного лечения доказали Новокшонов А.А. с соавторами [25], выявив статистически достоверное сокращение продолжительности симптомов интоксикации, токсикоза, диарейного синдрома и средней продолжительности острого периода заболевания. В литературе имеются также сведения об эффективном применении энтеросорбента «Энтеросгель» в комплексной терапии больных корью, быстро снижающего уровни провоспалительных цитокинов ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-2 и ИЛ-6 в сыворотке крови [36]. Появились данные о применении энтеросорбентов и сорбированных пробиотиков для коррекции гастроинтестинальных проявлений COVID-19. Выявлено, что в образцах стула больных нередко обнаруживается РНК SARS-CoV-2, регистрируются обострения и декомпенсация хронической патологии, особенно у пожилых пациентов [7]. Необоснованное применение антибиотиков (азитромицин, цефтриаксон и т.п.) и других лекарственных средств (ритонавир, лопинавир, гидроксихлорохин) на ранней стадии заболевания может вызывать избыточную контаминацию тонкой кишки — синдром избыточного бактериального роста, а также псевдомембранозный колит. Установлено, что наряду с этиотропной терапией для коррекции гастроинтестинальных проявлений COVID-19 целесообразно применение современных энтеросорбентов («Полисорб МП») и пробиотиков [7]. Энтеросорбенты нашли свое применение при гельминтозах с метаболическим синдромом и нарушениями углеводного и липидного обмена [8].

Кроме того, при угрозе возникновения заболевания вирусными ОКИ на фоне неблагоприятной эпидемиологической обстановки сочетают использование энтеросорбции и иммуносорбции. Это помогает сформировать у человека местный пассивный иммунитет и улучшить результат терапии. Например, в конце прошлого века при лечении клещевого энцефалита обнаружен подобный эффект у гемосорбента «СУМС-1» с иммобилизованными на его поверхности противоклещевыми антителами [10]. В это же время были созданы иммуносорбенты на основе специфических моноклональных антител для терапии вирусного гепатита [10].

7. Энтеросорбция при неинфекционных заболеваниях

Синдром эндотоксиновой агрессии регистрируется также при заболеваниях неинфекционного генеза: воспалительных заболеваниях кишечника (язвенном колите, болезни Крона), колоректальном раке и раке молочной железы, заболеваниях дыхательной системы (бронхиальной астме, хроническом бронхите), аллергии и даже нервно-психических расстройствах [29]. Исследования показывают, что энтеросорбция помогает эффективно устранить клинические симптомы интоксикации и улучшить течение заболеваний. Подтверждена эффективность энтеросорбента «Полиметилсилоксана полигидрата» в комплексной терапии неинфекционных заболеваний, сопровождающихся диарейным синдромом [29]. Учёные обнаружили устойчивую связь между кишечным дисбактериозом и аллергическим поражением респираторного тракта при бронхиальной астме. Так, нарушения в иммунной системе кишечника негативно влияют на иммунитет в легких, поскольку иммунная система слизистых представляет собой единое целое и слизистые оболочки этих двух систем могут через лимфатические пути обмениваться микроорганизмами, их метаболитами, а также различными факторами иммунной системы. ЛПС грамотрицательной микрофлоры является облигатным фактором патогенеза бронхиальной астмы независимо от входных ворот (через ЖКТ или ингаляционно) [22]. Энтеросорбция при аллергической патологии обеспечивает дезинтоксикацию, устраняет клинические симптомы кожного аллергического синдрома при токсикодермии, крапивнице, атопическом дерматите [16], облегчает течение бронхиальной астмы и улучшает лабораторные показатели и уменьшает количество приступов бронхиальной обструкции [22]. Энтеросорбентная терапия показана при злокачественных опухолях толстого кишечника, поскольку одним из характерных проявлений кишечной непроходимости является диарея в сочетании с болью в животе и субфебрилитетом. Показано, что «Полисорб МП» сокращает длительность симптомов интоксикации и устраняет последствия лучевой и химиотерапии, в целом улучшая клиническое состояние онкологических больных [28]. Также доказана целесообразность применения энтеросорбентов для коррекции умеренного микроэлементного дисбаланса, возникающего на фоне каких-либо хронических заболеваний (в частности, хронического гастродуоденита,

панкреатита, холецистита, хронических заболеваний почек, при нарушении процессов всасывания и выведения металлов), и людям, проживающим в неблагоприятных условиях антропогенного загрязнения [2]. Исследованиями последнего десятилетия выявлена взаимосвязь различных социально-значимых заболеваний (болезнь Альцгеймера, паркинсонизм, рассеянный склероз и др.) с воздействием на организм человека тяжелых металлов, в связи с чем идёт работа по созданию препаратов энтеросорбентов, способных быстро и безопасно выводить из организма эти токсичные вещества [45]. Энтеросорбцию также включают в программы санаторного лечения пациентов с сахарным диабетом, поскольку диарея может быть одним из ведущих проявлений диабетической энтеропатии [7]. Она используется при заболеваниях щитовидной железы, при нарушениях липидного обмена и для профилактики заболеваний позвоночника с временной утратой трудоспособности, что позволяет оптимизировать сроки лечения и улучшить эффективность терапии [2]. Доказано, что сорбенты могут выступать не только носителями биологически активных веществ, но и в роли дозаторов, обеспечивая пролонгированное высвобождение терапевтических агентов по мере продвижения сорбента по ЖКТ. Например, при применении быстро всасывающихся препаратов лития для корректировки психоэмоциональных состояний и способных вызывать побочные эффекты [2].

Заключение

Таким образом, из всего вышесказанного можно констатировать, что накоплен большой клинический опыт по использованию сорбентов в различных областях медицины и доказана эффективность применения методов адсорбции. Показано, что современные сорбенты позволяют осуществлять прицельное модифицирование и воздействовать направленно на иммунную реактивность организма. Многочисленными исследованиями подтверждено, что их применение является во многих случаях эффективным и целесообразным при лечении многих заболеваний инфекционной и неинфекционной природы. Очевидно, что на современном этапе они могут помочь в решении задачи по оптимизации патогенетической терапии инфекционных болезней. Безусловно, должен продолжаться поиск и других возможных альтернативных средств, с новым механизмом действия, работающих в синергии с существующими антимикробными средствами и вакцинами, которые сочетают в себе высокую эффективность и универсальную активность в отношении болезнетворных микроорганизмов независимо от их вида, стимулируют неспецифический иммунитет, не оказывают повреждающее действие на организм и уменьшают общую лекарственную нагрузку от терапии.

Литература

1. Авдошенкова О.Г., Иванов Р.В., Максвитис Р.Й. Применение препарата Энтеродез® в терапии интоксикационного синдрома инфекционной этиологии. — Регистр лекарственных средств России [сайт]. — 2021. — С. 1—8. — URL: https://www.rlsnet.ru/library/articles/infekcionnye-bolezni/primenenie-preparata-enterodez-v-terapii-intoksikacionnogo-sindroma-infekcionnoi-etiologii-47 (дата обращения 11.03.2026).
2. Антипов М.О., Миндлина А.Я. Эпидемиологическая характеристика наиболее актуальных болезней органов пищеварения инфекционной природы в регионах России // Профилактическая медицина. — 2020. — № 3. — С. 76—80.
3. Белова И.В., Соловьева И.В., Точилина А.Г., Барболина С.Ф., Павлунин А.В., Шпрыков А.С. Эффективность использования нового иммобилизованного пробиотика в комплексе лечения больных туберкулезом легких // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2017. — Т. 95. — № 5. — С. 34—40.
4. Бондарев А.В., Жилякова Е.Т., Риффиа М. Энтеросорбенты России, Евросоюза и арабских стран // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения: сб. мат. X Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых (Москва, 15—16 декабря 2022 года). — Москва, 2022. — С. 236—242.
5. Бородин Ю.И., Коненков В.И., Пармон В.Н., Любарский М.С., Рачковская Л.Н., Бгатова Н.П., Летягин А.Ю. Биологические свойства сорбентов и перспективы их применения // Успехи современной биологии. — 2014. — Т. 134. — № 3. — С. 236—248.
6. Бурмистров В.А. Специфические сорбенты для профилактики и лечения различных заболеваний // Нанотехнологии и наноматериалы для биологии и медицины: сб. мат. науч.-практ. конф. с междунар. участием. — Новосибирск, 2007. — С. 23—36.
7. Ватутина О.В., Лучшев В.И., Бурова С.В. Влияние энтеросорбента Фильтрум на уровень специфической эндотоксемии у больных шигеллезом Флекснера // Человек и лекарство: Сб. мат. XIV конгр. — Москва, 2007. — С. 536.
8. Головач Е.А., Федорова О.С., Саприна Т.В., Иванов В.В., Перина Е.А., Ковширина Ю.В., Огородова Л.М. Метаболический синдром, нарушения углеводного и липидного обмена при гельминтозах: обзор современных данных // Бюллетень сибирской медицины. — 2018. — Т. 17. — № 4. — С. 187—198.
9. Горбунов С.Г., Мазанкова Л.Н., Дегтярева Е.А., Минаева Л.А., Оськин А.Н. Опыт комплексной этиопатогенетической терапии ротавирусной инфекции у детей:

эффективность инноваций // Детские инфекции. – 2020. – Т. 19. – № 2. – С. 38–41.
10. Гордиенко П.А., Чуешов В.И., Гордиенко А.Д., Кудокоцева Е.В. Научное обоснование создания новых лекарственных форм пробиотиков (обзор литературы и результаты собственных экспериментов) // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2015. – Т. 22. – № 219. – С. 121–127.
11. Грицинская В.Л. Пробиотики: классификация, основные характеристики, требования к пробиотическим штаммам и сфера их применения // Children's medicine of the North-West. – 2022. – Т. 10. – № 3. – С. 12–20.
12. Достанко Н.Ю., Ягур В.Е., Зыбалова Т.С. Вклад микробиоты в развитие, прогрессирование и исходы сердечно-сосудистых заболеваний. Обзор литературы // Cardiology in Belarus. – 2022. – Т. 14. – № 5. – С. 642–652.
13. Екимова И.А., Ерофеев В.И., Тимофеева Л.П., Огнева Т.П. Новые возможности использования наносорбентов для энтеросорбции // Нейронаука для медицины и психологии: Сб. тез. XV Междунар. междисциплинар. конгресса (Судак, 30 мая – 10 июня 2019). – Судак, 2019. – С. 169.
14. Емельянов С.И., Брискин Б.С., Демидов Д.А., Демидова Т.И. Влияние пектин-содержащего препарата на слизистую оболочку пищеварительного тракта при кишечной недостаточности // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2012. – № 2. – С. 67–72.
15. Жукова О.Г., Иванова И.А., Гаевская Н.Е., Овчинникова М.В., Гумаюнова К.С., Синягина Ю.В., Глазкова Е.А., Зинина О.С., Тюрина А.В., Погожова М.П., Сизова Ю.В., Омельченко Н.Д., Филиппенко А.В., Труфанова А.А. Изучение терапевтического потенциала экспериментальных комплексных противохолерных препаратов // V Междунар. науч.-практ. конф. по вопросам противодействия инфекционным заболеваниям: Сб. мат. – Санкт-Петербург; Саратов, 2024. – С. 113–115.
16. Закирова А.М., Мороз Т.Б., Сабирзянова М.Ф., Шаяпова Д.Т., Кадриев А.Г., Рашитова Э. Л, Клюшкина А.И. Энтеросорбция диоксидом кремния коллоидного в комплексной терапии патологи.ческих состояний, сопровождающихся синдромом диспепсии и кожным синдромом, в практике врача-педиатра // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 3. – С. 128.
17. Иоанниди Е.А., Макарова И.В., Тимонова М.С. Клиническое применение энтеросорбента при острых кишечных инфекциях // III Ежегодный Всероссийский конгресс по инфекционным болезням: Материалы (Москва, 28–30 марта 2011 г.). – Москва, 2011. – С. 152–153.
18. Калашникова С.А., Полякова Л.В. Использование бактериального липополисахарида для моделирования патологических процессов в медико-биологических исследованиях (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. – 2017. – Т. 24. – № 2. – С. 209–219.
19. Карпухин О.Ю., Шакуров А.Ф., Копорулина М.О. Уровень эндотоксина как критерий оценки тяжести хронического запора и эффективности его лечения // Практическая медицина. – 2014. – Т. 5. – № 81. – С. 58–61.
20. Кистаубаева А.С., Савицкая И.С., Ибраева Д.Х., Абдулжанова М.А., Исабекова А.Ш., Воронова Н.В. Создание иммобилизованного пробиотика в таблетированной форме // Вестник КазНУ. Серия биол. – 2014. – № 1–2(60). – С. 257–260.
21. Ланских А.Г. Исследование устойчивости пробиотических бактерий, входящих в состав препаратов «Флорин форте» порошок для приема внутрь, «Бифидумбактерин» и «Пробифор» к желудочному соку и желчным кислотам // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2013. – № 3–4. – С. М8–М8а.
22. Маталыгина О.А. Роль кишечного эндотоксина в формировании и течении бронхиальной астмы // Медицина: теория и практика. – 2022. – Т. 7. – № 2. – С. 29–37.
23. Новокшонов А.А., Мазанкова Л.Н., Учайкин В.Ф. Клинические рекомендации по диагностике и лечению ОКИ у детей в зависимости от типа диареи // Лечение и профилактика. – 2013. – Т. 4. – № 8. – С. 62–73.
24. Новокшонов А.А., Соколова Н.В. Клиническая эффективность смектита диоктаэдрического в составе комплексной терапии острых кишечных инфекций у детей // Детские инфекции. – 2016. – № 2. – С. 30–33.
25. Новокшонов А.А., Соколова Н.В. Метод энтеросорбции и его клиническая эффективность в комплексной терапии ОКИ у детей // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10. – № 1. – С. 140–147.
26. Овчинникова М.В., Исляева М.Н., Николаев В.Г., Бардахивская К.И., Никифоров А.К. Оценка функциональной активности специфического противохолерного энтеросорбента // Проблемы особо опасных инфекций. – 2015. – № 2. – С. 83–86.
27. Овчинникова М.В., Киреев М.Н., Никифоров А.К. Сорбционные свойства полимерного энтеросорбента и его специфического модификанта в модельных растворах холерного токсина *in vitro* // Проблемы особо опасных инфекций. – 2014. – № 4. – С. 71–74.
28. Орлова Р.В., Топузов Э.Э., Варанкина А.А., Андросова А.В., Беляк Н.П., Иванова А.К., Кутукова С.И. Возможности снижения токсичности у больных раком толстой кишки, получающих адъювантную полихимиотерапию // Медицинский алфавит. – 2023. – № 17. – С. 65–72.
29. Павлов А.И., Хованов А.В., Хаваншанов А.К., Фадина Ж.В., Шамес А.Б. Современная энтеросорбция в коррекции уровня эндотоксинов при неинфекционной диарее // Современная медицина. – 2019. – Т. 15. – № 3. – С. 56–60.
30. Патент РФ №2518303 Композиция антибактериальная, штамм бактериофага *Escherichia coli*, используемый для получения такой композиции: № 2012127139/10: заявл. 29.06.2012: опубл. 10.06.2014 / И.А. Дятлов, В.А.

Алёшкин, А.В. Алёшкин и др.; заявитель, патентообладатель Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского; Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии.
31. Плоскирева А.А., Руженцова Т.А., Щербаков И.Т., Исаева Е.И., Чебышев Н.В., Бондарева А.В., Горелов А.В. Патогенетические аспекты цитомукопротективной терапии острых кишечных инфекций // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2016. — № 1. — С. 65—73.
32. Ратникова Л.И., Пермитина М.И. Эффективность энтеросорбентов при острых кишечных инфекциях // Поликлиника. — 2008. — № 5. — С. 14—16.
33. Руженцова Т.А., Хавкина Д.А., Попова Р.В., Горелов А.В., Плоскирева А.А. Осложнения острых кишечных инфекций у детей в период реконвалесценции: подходы к лечению и профилактике. Учебное пособие для врачей. — Москва: Издательство «Радуница», 2021. — 48 с.
34. Сергевнин В.И. Современные тенденции в многолетней динамике заболеваемости острыми кишечными инфекциями бактериальной и вирусной этиологии // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2020. — Т. 19. — № 4. — С. 14—19.
35. Соколова С.И., Елизарова В.М., Ковылина О.С., Воложин А.И. Применение Лактобактерина, иммобилизованного на коллагене, в комплексном лечении хронического катарального гингивита у детей с первичным гуморальным иммунодефицитным состоянием // Российский стоматологический журнал. — 2007. — № 6. — С. 37—45.
36. Сухов Ю.А., Гебеш В.В. Влияние энтеросорбции на уровень провоспалительных цитокинов при кишечной инфекции и кори // Клиническая иммунология. — 2007. — Т. 1. — № 6. — С. 76—78.
37. Тарасова Д.В., Бородина М.М., Лиходзиевская М.В., Черенков Д.А., Путинцева О.В., Антипова Л.В., Наквасина М.А., Антипов С.С. Коллагены гидробионтов как потенциальный сорбент металлов и наночастиц // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2023. — № 1. — С. 75—81.
38. Терешин В.А., Круглова О.В., Могиленец Е.И., Меркулова Н.Ф. Эффективность сорбентов на основе диоксида кремния в инфекционной практике // Инфекционные болезни. — 2016. — Т. 14. — № 2. — С. 47—54.
39. Тихонова Е.П., Кузьмина Т.Ю., Андронова Н.В. Диагностика и лечение кишечных инфекций на современном этапе. Неотложные состояния при острых кишечных инфекциях: учебное пособие. — Красноярск: КрасГМУ, 2017. — 128 с.
40. Тихонова Е.П., Кузьмина Т.Ю., Миноранская Н.С., Липнягова С.В., Калинина Ю.С., Левицкий С.В., Гулик В.В. Сальмонеллёз у взрослых: клинико-эпидемиологические особенности, оптимизация терапии // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. — 2020. — Т. 9. — № 4. — С. 98—102.
41. Токмалаев А.К., Половинкина Н.А., Безбородов Н.Г., Попова С.П., Голуб В.П., Барышева И.В. Современные подходы к применению энтеросорбентов в лечении острых кишечных инфекций // Вестник РУДН. Серия Медицина. — 2012. — № 4. — С. 59—64.
42. Трухан Д.И., Деговцов Е.Н., Голошубина В.В., Попилов М.А. Синдром диареи: актуальные аспекты дифференциальной диагностики и лечения на этапе оказания первичной медико-санитарной помощи // Медицинский совет. — 2023. — Т. 17. — № 18. — С. 115—126.
43. Файзуллина Р.А., Валиев В.С., Тунакова Ю.А. Современные подходы к использованию сорбционных технологий в коррекции микроэлементных нарушений у детей // Эффективная фармакотерапия. — 2011. — № 5. — С. 49—55.
44. Фомичев А.В., Сосюкин А.Е., Малышева Е.В., Литвинцев Б.С., Лапина Н.В., Пимбурски В.Ф., Чухарев А.Е. Настоящее и будущее применения энтеросорбентов в профилактике и лечении неблагоприятного воздействия соединений тяжелых металлов // Токсикологический вестник. — 2020. — № 2. — С. 41—46.
45. Целипанова Е.Е., Русанова Е.Е. Коррекция дисбиотических нарушений у детей, больных острыми респираторными заболеваниями // Альманах клинической медицины. — 2015. — № 42 — С. 66—71.
46. Чернышёва Е.С., Бабаева Е.Ю., Юрьева А.Е. Растительные сорбенты в комплексной антигельминтной терапии // Врач. — 2020. — Т. 31. — № 6. — С. 44—48.
47. Эргешов А.Э., Мацулевич Т.В. Оценка эффективности нового лекарственного гепатопротектора с пробиотическим компонентом при лечении лекарственного поражения печени // Инфекционные болезни. — 2014. — Т. 12. — № 2. — С. 54—58.
48. Янковский Д.С., Широбоков В.Л., Даймент Дж.С. Создание новых комплексных препаратов на основе биомассы пробиотических бактерий и геля смектита // Профілактична медицина. — 2013. — Т. 3—4. — № 21. — С. 108—115.
49. Salman H., Bergman M., Djaldetti M., Orlin J. et al. Citrus pectin affects cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells // Biomed. Pharmacother. — 2008. — Vol. 62. — No. 9. — P. 579—582.

References

1. Avdoshenkova OG, Ivanov RV, Maksvitis RY. Primeneniye preparata Enterodez® v terapii intoksikatsionnogo sindroma infektsionnoy etiologii. Registr lekarstvennykh sredstv Rossii. 2021: 1—8. URL: https://www.rlsnet.ru/library/articles/infekcionnye-bolezni/primenenie-preparata-enterodez-v-terapii-intoksikacionnogo-sindroma-infekcionnoi-etiologii-47 (date of access 11.03.2026) (in Russian).

2. Antipov MO, Mindlina AYa. Epidemiologicheskaya kharakteristika naiboleye aktual'nykh bolezney organov pishchevareniya infektsionnoy prirody v regionakh Rossii. Profilakticheskaya meditsina 2020; 3:76–80 (in Russian).
3. Belova IV, Solov'yeva IV, Tochilina AG, Barbolina SF, Pavlunin AV, Shprykov AS. Effektivnost' ispol'zovaniya novogo immobilizovannogo probiotika v komplekse lecheniya bol'nykh tuberkulezom legkikh. Tuberkuloz i bolezni logkikh 2017; 95(5):34–40 (in Russian).
4. Bondarev AV, Zhilyakova YeT, Riffia M. Enterosorbenty Rossii, Yevrosoyuza i arabskikh stran. Sovremennyye tendentsii razvitiya tekhnologiy zdorov'yesberezheniya: sb mat X Mezhdunar nauch-prakt konf molodykh uchenykh (Moskva, 15–16 dekabrya 2022 goda). Moscow, 2022:236–242 (in Russian).
5. Borodin YuI, Konenkov VI, Parmon VN, Lyubarskiy MS, Rachkovskaya LN, Bgatova NP, Letyagin AYu. Biologicheskiye svoystva sorbentov i perspektivy ikh primeneniya. Uspekhi sovremennoy biologii 2014; 134(3):236–248 (in Russian).
6. Burmistrov VA. Spetsificheskiye sorbenty dlya profilaktiki i lecheniya razlichnykh zabolevaniy. Nanotekhnologii i nanomaterialy dlya biologii i meditsiny: sb mat nauch-prakt konf s mezhdunar uchastiyem. Novosibirsk, 2007: 23–36 (in Russian).
7. Vatutina OV, Luchshev VI, Burova SV. Vliyaniye enterosorbenta Fil'trum na uroven' spetsificheskoy endotoksemii u bol'nykh shigellezom Fleksnera. Chelovek i lekarstvo: Sb mat KHIV kongr. Moscow, 2007: 536 (in Russian).
8. Golovach YeA, Fedorova OS, Saprina TV, Ivanov VV, Perina YeA, Kovshirina YuV, Ogorodova LM. Metabolicheskiy sindrom, narusheniya uglevodnogo i lipidnogo obmena pri gel'mintozakh: obzor sovremennykh dannykh. Byulleten' sibirskoy meditsiny 2018; 17(4):187–198 (in Russian).
9. Gorbunov SG, Mazankova LN, Degtyareva YeA, Minayeva LA, Os'kin AN. Opyt kompleksnoy etiopatogeneticheskoy terapii rotavirusnoy infektsii u detey: effektivnost' innovatsiy. Detskiye infektsii 2020; 19(2):38–41 (in Russian).
10. Gordiyenko PA, Chuyeshov VI, Gordiyenko AD, Kudokotseva YeV. Nauchnoye obosnovaniye sozdaniya novykh lekarstvennykh form probiotikov (obzor literatury i rezul'taty sobstvennykh eksperimentov). Nauchnyye vedomosti. Seriya Meditsina. Farmatsiya 2015; 22(219):121–127 (in Russian).
11. Gritsinskaya V.L. Probiotiki: klassifikatsiya, osnovnyye kharakteristiki, trebovaniya k probioticheskim shtammam i sfera ikh primeneniya. Children's medicine of the North-West 2022; 10(3):12–20 (in Russian).
12. Dostanko NYu, Yagur VYe, Zybalova TS. Vklad mikrobioty v razvitiye, progressirovaniye i iskhody serdechno-sosudistykh zabolevaniy. Obzor literatury. Cardiology in Belarus 2022; 14(5):642–652 (in Russian).
13. Yekimova IA, Yerofeyev VI, Timofeyeva LP, Ogneva TP. Novyye vozmozhnosti ispol'zovaniya nanosorbentov dlya enterosorbtsii. Neyronauka dlya meditsiny i psikhologii: Sb. tez. XV Mezhdunar. mezhdistsiplinar. kongressa (Sudak, 30 maya – 10 iyunya 2019). Sudak, 2019: 169 (in Russian).
14. Yemel'yanov SI, Briskin BS, Demidov DA, Demidova TI Vliyaniye pektin-soderzhashchego preparata na slizistuyu obolochku pishchevaritel'nogo trakta pri kishechnoy nedostatochnosti. Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiy 2012; 2:67–72 (in Russian).
15. Zhukova OG, Ivanova IA, Gayevskaya NYe, Ovchinnikova MV, Gumayunova KS, Sinyagina YuV, Glazkova YeA, Zinina OS, Tyurina AV, Pogozhova MP, Sizova YuV, Omel'chenko ND, Filippenko AV, Trufanova AA. Izucheniye terapevticheskogo potentsiala eksperimental'nykh kompleksnykh protivokholernykh preparatov. V Mezhdunar nauch-prakt konf po voprosam protivodeystviya infektsionnym zabolevaniyam: Sb mat. St. Petersburg; Saratov, 2024: 113–115 (in Russian).
16. Zakirova AM, Moroz TB, Sabirzyanova MF, Shayapova DT, Kadriev AG, Rashitova EL, Klyushkina AI. Enterosorbtsiya dioksidom kremniya kolloidnogo v kompleksnoy terapii patologi.cheskikh sostoyaniy, soprovozhdayushchikhsya sindromom dispepsii i kozhnym sindromom, v praktike vracha-pediatra. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya 2020; 3:128 (in Russian).
17. Ioannidi YeA, Makarova IV, Timonova MS. Klinicheskoye primeneniye enterosorbenta pri ostrykh kishechnykh infektsiyakh. III Yezhegodnyy Vserossiyskiy kongress po infektsionnym boleznyam: Materialy (Moskva, 28–30 marta 2011 g). Moscow, 2011: 152–153 (in Russian).
18. Kalashnikova SA, Polyakova LV. Ispol'zovaniye bakterial'nogo lipopolisakharida dlya modelirovaniya patologicheskikh protsessov v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh (obzor literatury). Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy 2017; 24(2):209–219 (in Russian).
19. Karpukhin OYu, Shakurov AF, Koporulina MO. Uroven' endotoksina kak kriteriy otsenki tyazhesti khronicheskogo zapora i effektivnosti yego lecheniya. Prakticheskaya meditsina 2014; 5(81):58–61 (in Russian).
20. Kistaubaeva AS, Savitskaya IS, Ibraeva DH, Abdulzhanova MA, Isabekova ASh, Voronova NV. Sozdaniye immobilizovannogo probiotika v tabletirovannoy forme. Vestnik KazNU. Seriya biol 2014; 1–2(60):257–260 (in Russian).
21. Lanskikh AG. Issledovaniye ustoychivosti probioticheskikh bakteriy, vkhodyashchikh v sostav preparatov «Florin forte» poroshok dlya priyema vnutr', «Bifidumbakterin» i «Probifor» k zheludochnomu soku i zhelchnym kislotam. Gastroenterologiya Sankt-Peterburga 2013; 3–4:M8–M8a (in Russian).
22. Matalygina OA. Rol' kishechnogo endotoksina v formirovanii i techenii bronkhial'noy astmy. Meditsina: teoriya i praktika 2022; 7(2):29–37 (in Russian).
23. Novokshonov AA, Mazankova LN, Uchaykin VF. Klinicheskiye rekomendatsii po diagnostike i lecheniyu OKI u detey v zavisimosti ot tipa diarei. Lecheniye i profilaktika 2013; 4(8):62–73 (in Russian).

24. Novokshonov AA, Sokolova NV. Klinicheskaya effektivnost' smektita dioktaedricheskogo v sostave kompleksnoy terapii ostrykh kishechnykh infektsiy u detey. Detskiye infektsii 2016; 2:30–33 (in Russian).
25. Novokshonov AA, Sokolova NV. Metod enterosorbtsii i yego klinicheskaya effektivnost' v kompleksnoy terapii OKI u detey. Voprosy sovremennoy pediatrii 2011; 10(1):140–147 (in Russian).
26. Ovchinnikova MV, Islyayeva MN, Nikolayev VG, Bardakhivskaya KI, Nikiforov AK. Otsenka funktsional'noy aktivnosti spetsificheskogo protivokholernogo enterosorbenta. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2015; 2:83–86 (in Russian).
27. Ovchinnikova MV, Kireyev MN, Nikiforov AK. Sorbtsionnyye svoystva polimernogo enterosorbenta i yego spetsificheskogo modifikanta v model'nykh rastvorakh kholernogo toksina *in vitro*. Problemy osobo opasnykh infektsiy 2014; 4:71–74 (in Russian).
28. Orlova RV, Topuzov EE, Varankina AA, Androsova AV, Belyak NP, Ivanova AK, Kutukova SI. Vozmozhnosti snizheniya toksichnosti u bol'nykh rakom tolstoy kishki, poluchayushchikh ad»yuvantnuyu polikhimioterapiyu. Meditsinskiy alfavit 2023; 17:65–72 (in Russian).
29. Pavlov AI, Khovanov AV, Khavanshanov AK, Fadina ZhV, Shames AB. Sovremennaya enterosorbtsiya v korrektsii urovnya endotoksinov pri neinfektsionnoy diareye. Sovremennaya meditsina 2019; 15(3):56–60 (in Russian).
30. Patent RF №2518303 Kompozitsiya antibakterial'naya, shtamm bakteriofaga *Escherichia coli*, ispol'zuyemyy dlya polucheniya takoy kompozitsii: № 2012127139/10: zayavl. 29.06.2012: opubl. 10.06.2014. IA Dyatlov, VA Aloshkin, AV Aloshkin i dr.; zayavitel', patentobladatel' Moskovskiy nauchno-issledovatel'skiy institut epidemiologii i mikrobiologii im GN Gabrichevskogo; Gosudarstvennyy nauchnyy tsentr prikladnoy mikrobiologii i biotekhnologii (in Russian).
31. Ploskireva AA, Ruzhentsova TA, Shcherbakov IT, Isayeva YeI, Chebyshev NV, Bondareva AV, Gorelov AV. Patogeneticheskiye aspekty tsitomukoprotektivnoy terapii ostrykh kishechnykh infektsiy. Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya 2016; 1:65–73 (in Russian).
32. Ratnikova LI, Permitina MI. Effektivnost' enterosorbentov pri ostrykh kishechnykh infektsiyakh. Poliklinika 2008; 5:14–16 (in Russian).
33. Ruzhentsova TA, Khavkina DA, Popova RV, Gorelov AV, Ploskireva AA. Oslozhneniya ostrykh kishechnykh infektsiy u detey v period rekonvalestsentsii: podkhody k lecheniyu i profilaktike. Uchebnoye posobiye dlya vrachey. Moscow: Izdatel'stvo «Radunitsa», 2021: 48 (in Russian).
34. Sergevnin VI. Sovremennyye tendentsii v mnogoletney dinamike zabolevayemosti ostrymi kishechnymi infektsiyami bakterial'noy i virusnoy etiologii. Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika 2020; 19(4):14–19 (in Russian).
35. Sokolova SI, Yelizarova VM, Kovylina OS, Volozhin AI. Primeneniye Laktobakterina, immobilizovannogo na kollagene, v kompleksnom lechenii khronicheskogo kataral'nogo gingivita u detey s pervichnym gumoral'nym immunodefitsitnym sostoyaniyem. Rossiyskiy stomatologicheskiy zhurnal 2007; 6:37–45 (in Russian).
36. Sukhov YuA, Gebesh VV. Vliyaniye enterosorbtsii na uroven' provospalitel'nykh tsitokinov pri kishechnoy infektsii i kori. Klinicheskaya immunologiya 2007; 1(6):76–78 (in Russian).
37. Tarasova DV, Borodina MM, Likhodziyevskaya MV, Cherenkov DA, Putintseva OV, Antipova LV, Nakvasina MA, Antipov SS. Kollageny gidrobiontov kak potentsial'nyy sorbent metallov i nanochastits. Vestnik VGU. Seriya: Khimiya. Biologiya. Farmatsiya 2023; 1:75–81 (in Russian).
38. Tereshin VA, Kruglova OV, Mogilenets YeI, Merkulova NF. Effektivnost' sorbentov na osnove dioksida kremniya v infektsionnoy praktike. Infektsionnyye bolezni 2016; 14(2):47–54 (in Russian).
39. Tikhonova YeP, Kuz'mina TYu, Andronova NV. Diagnostika i lecheniye kishechnykh infektsiy na sovremennom etape. Neotlozhnyye sostoyaniya pri ostrykh kishechnykh infektsiyakh: uchebnoye posobiye. Krasnoyarsk: KrasGMU, 2017: 128 (in Russian).
40. Tikhonova YeP, Kuz'mina TYu, Minoranskaya NS, Lipnyagova SV, Kalinina YuS, Levitskiy SV, Gulik VV. Sal'monelloz u vzroslykh: kliniko-epidemiologicheskiye osobennosti, optimizatsiya terapii. Infektsionnyye bolezni: novosti, mneniya, obucheniye 2020; 9(4):98–102 (in Russian).
41. Tokmalayev AK, Polovinkina NA, Bezborodov NG, Popova SP, Golub VP, Barysheva IV. Sovremennyye podkhody k primeneniyu enterosorbentov v lechenii ostrykh kishechnykh infektsiy. Vestnik RUDN. Seriya Meditsina 2012; 4:59–64 (in Russian).
42. Trukhan DI, Degovtsov YeN, Goloshubina VV, Popilov MA. Sindrom diarei: aktual'nyye aspekty differentsial'noy diagnostiki i lecheniya na etape okazaniya pervichnoy mediko-sanitarnoy pomoshchi. Meditsinskiy sovet 2023; 17(18):115–126 (in Russian).
43. Fayzullina RA, Valiyev VS, Tunakova YuA. Sovremennyye podkhody k ispol'zovaniyu sorbtsionnykh tekhnologiy v korrektsii mikroelementnykh narusheniy u detey. Effektivnaya farmakoterapiya 2011; 5:49–55 (in Russian).
44. Fomichev AV, Sosyukin AYe, Malysheva YeV, Litvintsev BS, Lapina NV, Pimburski VF, Chukharev AYe. Nastoyashcheye i budushcheye primeneniya enterosorbentov v profilaktike i lechenii neblagopriyatnogo vozdeystviya soyedineniy tyazhelykh metallov. Toksikologicheskiy vestnik 2020; 2:41–46 (in Russian).
45. Tselipanova YeYe, Rusanova YeYe. Korrektsiya disbioticheskikh narusheniy u detey, bol'nykh ostrymi respiratornymi zabolevaniyami. Al'manakh klinicheskoy meditsiny 2015; 4:66–71 (in Russian).

46. Chernysheva ES, Babaeva EYu, Yuryeva AE. Rastitel'nyye sorbenty v kompleksnoy antigel'mintnoy terapii. Vrach 2020; 31(6):44–48 (in Russian).
47. Ergeshov AE, Matsulevich TV. Otsenka effektivnosti novogo lekarstvennogo gepatoprotektora s probioticheskim komponentom pri lechenii lekarstvennogo porazheniya pecheni. Infektsionnyye bolezni 2014; 12(2):54–58 (in Russian).
48. Yankovskiy DS, Shirobokov VL, Dayment DzhS. Sozdaniye novykh kompleksnykh preparatov na osnove biomassy probioticheskikh bakteriy i gelya smektita. Profilaktichna meditsina 2013; 3–4(21):108–115 (in Russian).
49. Salman H, Bergman M, Djaldetti M, Orlin J et al. Citrus pectin affects cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells. Biomed Pharmacother 2008; 62(9):579–582.

ENTEROSORBENTS AS COMPONENTS OF DOMESTIC PREPARATIONS FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF INFECTIOUS AND NON-INFECTIOUS DISEASES

N.D. OMELCHENKO[1], I.A. IVANOVA[1], A.V. FILIPPENKO[1], A.A. TRUFANOVA[1], O.G. ZHUKOVA[1], E.A. GLAZKOVA[2]

[1] Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don;
[2] Russian Anti-Plague Institute «Mikrobe» of Rospotrebnadzor, Saratov

This review analyzes Russian and international data on the use of enterosorbents in the complex therapy and prevention of infectious and non-infectious diseases. It examines the pathogenetic basis of endotoxin aggression syndrome, the direct and mediated mechanisms of enterosorbent action, and the current classification of preparations by chemical structure (carbon-based, silicon-containing, chemical, resin- and polymer-based, natural organic, and combined sorbents). Particular attention is given to technologies for imparting selectivity to sorbents through immobilization of specific ligands, probiotic microorganisms, and immunoglobulins, including developments by Russian anti-plague institutes aimed at creating antitoxic immunoenterosorbents for cholera prevention. The efficacy of enterosorbents in bacterial and viral acute intestinal infections, both as monotherapy and in combination with antibacterial and probiotic agents, is analyzed, along with their role in managing non-infectious conditions such as inflammatory bowel disease, oncological pathology, allergic states, and disorders of trace-element and lipid metabolism. The review concludes that substantial clinical experience has accumulated on the use of sorption technologies and that developing new selective enterosorbents combining detoxification, immunomodulatory, and etiotropic action remains a promising research direction.

Keywords: enterosorbents; enterosorption; endotoxin aggression syndrome; lipopolysaccharide; acute intestinal infections; cholera; immunosorbents; probiotics; immobilization; intestinal dysbiosis

Address:
Omelchenko N.D., Ph.D. in Medicine
Senior researcher laboratory of immunology, Rostov-on-Don
Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor
E-mail: natalya.omelchenko@yandex.ru

Для цитирования:
Омельченко Н.Д., Иванова И.А., Филиппенко А.В., Труфанова А.А., Жукова О.Г., Глазкова Е.А. Энтеросорбенты как компоненты отечественных препаратов для профилактики и лечения инфекционных и неинфекционных заболеваний. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2):95–109.

For citation:
Omelchenko N.D., Ivanova I.A., Filippenko A.V., Trufanova A.A., Zhukova O.G., Glazkova E.A. Enterosorbents as components of domestic drugs for the prevention and treatment of infectious and non-infectious diseases. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2):95–109 (in Russian).

УДК 579.67; 664.3

МИКРОВОДОРОСЛИ И ЦИАНОБАКТЕРИИ КАК ПРОДУЦЕНТЫ ПИЩЕВОГО БЕЛКА И ЛИПИДОВ

Я.Э. СЕРГЕЕВА[1,2*], К.В. ГОРИН[1], Д.В. СУХИНОВ[1], В.С. ХЛЕВНАЯ[1,3], М.Г. ПЕТРОВА[1], М.В. КРЮКОВА[1], В.Г. СУЧКОВ[1], В.М. ПОЖИДАЕВ[1], Р.Г. ВАСИЛОВ[1]

[1] Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», г. Москва
[2] ФГАОУ ВО Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), г. Долгопрудный
[3] ФГБОУ ВО Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, г. Москва

Проведена оценка биотехнологического потенциала представителей цианобактерий и микроводорослей-продуцентов пищевого белка и липидов на основании следующих показателей и параметров: скорость роста и продуктивность биомассы, содержание общего белка и липидов, качественный и количественный состав жирных кислот, пищевые индексы. Установлено, что все исследуемые штаммы микроводорослей характеризовались более высокой относительной скоростью роста (0,23–0,27 сутки$^{-1}$) и более коротким периодом удвоения (2,57–3,01), тогда как цианобактерии — величиной максимально достигнутой концентрации биомассы (1,58–1,96 г/л) и продуктивностью биомассы (75–93 мг/(л·сутки)). Содержание белка было выше в клетках цианобактерий, а липидов, наоборот, в биомассе микроводорослей, в составе жирных кислот которых преобладали полиненасыщенные жирные кислоты, тогда как в липидах цианобактерий — насыщенные жирные кислоты. Микроводоросли синтезировали α-линоленовую кислоту (C18:3ω3), тогда как цианобактерии — γ-линоленовую (C18:3ω6). Согласно величинам пищевых индексов (индекс атерогенности, индекс тромбогенности, соотношение гипо-/гиперхолестеринемических жирных кислот) липиды исследованных микроорганизмов сопоставимы с животными источниками (мясом, молочными продуктами и рыбьим жиром). Эти данные подтверждают потенциал использования биомассы цианобактерий и микроводорослей в качестве функционального ингредиента в пищевых продуктах и кормах. В целом, результаты показывают, что цианобактерии и микроводоросли являются перспективными устойчивыми источниками белка и ценных липидов, которые могут способствовать решению проблем продовольственной безопасности и разработке новых функциональных пищевых продуктов.

Ключевые слова: цианобактерии; микроводоросли; пищевые белки; пищевые липиды; питательная ценность.

Введение

Фототрофные микроорганизмы (ФМО) — одноклеточные микроводоросли и цианобактерии — демонстрируют исключительную эффективность в фиксации CO_2 и конверсии солнечной энергии в биомассу, богатую ценными соединениями, превосходя по продуктивности высшие растения [19, 21]. Также эти организмы способны синтезировать широкий спектр ценных биологически активных соединений. Количество белков, содержащих все незаменимые аминокислоты, может достигать 70% от веса сухой биомассы (для сравнения у зерновых культур содержание белка не превышает 20%, мяса и рыбы — 25%). Липиды (водорослевое масло), содержание которых может превышать 20%, характеризуются наличием эссенциальных жирных кислот (ЖК), в том числе полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) семейств ω3 и ω6, включая линолевую (C18:2ω6) α- и γ-линоленовую (α-C18:3ω3 и γ-C18:3), арахидоновую (C20:4ω6), эйкозапентаеновую (C20:5ω3) и докозагексаеновую (C22:6ω3). В биомассе микроводорослей содержатся различные типы антиоксидантов, относящихся к классам фикобилипротеинов, каротиноидов, хлорофиллов, а также углеводы, витамины (группы A; группы B: B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12; групп C; K; E; провитамин D) [7, 10, 15, 21]. Кроме того, следует упомянуть и наличие микроэлементов таких как, железо, кальций, калий, марганец, магний, цинк, медь, никель, кобальт, селен, молибден, йод и пр., которые присутствуют в легко усвояемой форме [25].

© 2026 г. Сергеева Я.Э., Горин К.В., Сухинов Д.В., Хлевная В.С., Петрова М.Г., Крюкова М.В., Сучков В.Г., Пожидаев В.М., Василов Р.Г.

*** Автор для переписки:**
Сергеева Яна Эдуардовна
кандидат химических наук, начальник лаборатории,
Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
E-mail: yanaes2005@gmail.com

Следует отметить, что биомасса некоторых видов микроводорослей издревле используется человеком в пищу. Увеличивающийся спрос на продовольственную безопасность в условиях роста населения и изменения климата представляет собой одну из самых насущных проблем нашего времени [12]. Согласно прогнозам Продовольственной и сельскохозяйственной организации объединенных наций (United Nations Food and Agriculture Organization, FAO), к 2050 году численность мирового населения может достичь 9,8 млрд человек [23], что на фоне роста потребления продуктов питания на душу населения приведет к 50%-му увеличению мирового спроса на продовольствие [16], в связи с чем в число первоочередных задач входит обеспечение устойчивых продовольственных систем. Кроме того, для поддержки населения, и в то же время достижения Целей устойчивого развития Организации Объединенных Наций (ЦУР), существует потребность в выявлении альтернативных источников белка, которые могут дополнять продукты животного происхождения в рационе людей [20]. Альтернативные источники белка, которые могут выступать в качестве аналогов мяса и молочных продуктов, привлекают интерес со стороны исследований в качестве разработок, инноваций и инвестиций во всем мире [5]. Это привело к разработке различных стратегий, включая принятие более устойчивых альтернативных источников белка на основе насекомых, белков растительного происхождения (например, микопротеины), культивируемого мяса, а также так называемых одноклеточных белков (single-cell protein, SCP) из биомассы одноклеточных микроорганизмов [11]. Следует отметить, что ранее термин «одноклеточный белок» относился к использованию обезвоженных клеток (биомассы), произведенных естественным или биотехнологическим путем и используемых для питания человека и животных. На данный момент термин «одноклеточный белок» подразумевает не только белки, но и другие компоненты биомассы (углеводы, липиды, минералы и пигменты) [6]. Также наблюдается смещение потребительских предпочтений в сторону вегетарианских диет, как в силу врачебных рекомендаций ввиду проблем со здоровьем, так и в силу личностных убеждений [4].

Среди альтернативных источников белка биомасса фототрофных микроорганизмов (к которым относятся микроводоросли и цианобактерии) зарекомендовала себя как перспективный и устойчивый вариант благодаря своему исключительному питательному профилю, быстрому циклу роста (1–2 недели) и низкому воздействию на окружающую среду. Кроме того, способность культивировать данные микроорганизмы без необходимости использования плодородных земель дополнительно повышает их способность к устойчивому развитию. Согласно литературным данным, потенциал производства белка из видов водорослей (22–44 тонны/гектар/год) превышает производство белка из говядины (37 кг/га/год), арахиса (667 кг/га/год) и сои (914 кг/га/год) [18]. Таким образом, растущая потребность в устойчивых и богатых питательными веществами источниках пищи делает микроводоросли перспективным ингредиентом для пищевой промышленности. Богатые высококачественными белками, незаменимыми ЖК, витаминами и биоактивными соединениями микроводоросли обладают огромным потенциалом в качестве функциональных ингредиентов для разработки продуктов питания, полезных для здоровья. Однако нормативные, технологические и потребительские барьеры по-прежнему ограничивают их широкое мировое распространение. Хотя некоторые виды уже давно употребляются в пищу, многим из них до сих пор требуется одобрение со стороны мировых агентств по регулированию пищевых продуктов [14].

Цель исследования — оценка биотехнологического потенциала представителей цианобактерий и микроводорослей — продуцентов пищевого белка и липидов.

Материалы и методы

В качестве объектов исследований были выбраны представители фототрофных микроорганизмов, получивших статус GRAS (Generally Recognized as Safe, т.е. одобренные к применению в пищу) — микроводоросли (из коллекции Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева, IPPAS): *Chlorella sorokiniana* Shihira&R.W. Krauss, IPPAS) C1, *Chlorella vulgaris* Beijer. IPPAS C2, *Parachlorella kessleri* (Fott& Novakova) IPPAS C9, *Chlorella* sp. Bejer IPPAS C1210 и *Chlorella vulgaris* GKV1 из коллекции НИЦ «Курчатовский институт», а также цианобактерии из коллекции IPPAS ИФР РАН: *Limnospira* sp. IPPAS B-256, *Limnospira* sp. IPPAS B-287, *Limnospira* sp. IPPAS B-1526 и *Limnospira platensis* B-12619 (Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов).

Культивирование микроводорослей проводили согласно [9] на модифицированной питательной среде ½ Тамия (самостоятельное приготовление) следующего состава (г/л): $NaNO_3$ – 2,1, $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 1,25, KH_2PO_4 – 0,625, $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,009, ЭДТА – 0,037. К 1 литру готовой питательной среды добавляли 1 мл стокового раствора микроэлементов по Пфеннингу [17] следующего состава (г/л): $ZnSO_4 \times 7H_2O$ – 0,1,

$MnCl_2$ – 0,03, H_3BO_3 – 0,3, $CoCl_2 \times 6H_2O$ – 0,2, $CuCl_2$ – 0,03, $NiCl_2 \times 2H_2O$ – 0,02, $Na_2MoO_4 \times 2H_2O$ – 0,02.

Для культивирования цианобактерий использовали питательную среду Заррука (самостоятельное приготовление) следующего состава (г/л): $NaHCO_3$ – 16,8, K_2HPO_4 – 0,5, $NaNO_3$ – 2,5, K_2SO_4 – 1,0, NaCl – 1,0, $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,2, $CaCl_2$ – 0,03, $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,01, Na_2EDTA – 0,08. К готовой питательной среде добавляли раствор микроэлементов [24].

Культивирование микроводорослей проводили в колбах Эрленмейера рабочим объемом 500 мл с 300 мл питательной среды при постоянном перемешивании (100 об/мин) и дополнительным барботажем атмосферным воздухом (расход 200 мл/мин) при температуре 23±1 °С и круглосуточном освещении (5±1 мкмоль/(м^2·с)) светодиодами (3000К, теплый белый). Контроль роста осуществляли посредством измерения оптической плотности суспензии при 750 нм (Thermo Scientific TM Varioskan LUX, США).

Культивирование цианобактерий проводили в колбах Эрленмейера рабочим объемом 250 мл со 100 мл питательной среды в шейкере-инкубаторе (Eppendorf New Brunswick Innova 42R, Германия) при постоянном перемешивании (140 об/мин), температуре 30 °С и круглосуточном освещении люминисцентными лампами для фотосинтеза (20±2,5 мкмоль/(м^2·с)). В качестве посевного материала использовали 4-х суточную суспензию клеток. Засев питательной среды проводили до достижения начальной оптической плотности 0,05 при 750 нм (OD_{750}). Контроль роста и накопления биомассы проводили по изменению оптической плотности суспензии клеток при 750 нм (спектрофотометр Genesys 10S UV-Vis, Thermo Scientific, США) и величине pH (pH-метр/иономер Mettler Toledo S220-Kit, США). Культивирование проводили в течение 21 суток. Для каждого из исследуемых штаммов цианобактерий были получены зависимости количества биомассы (г/л) от OD_{750}, которые и были использованы при всех дальнейших расчетах.

Скорость роста оценивали по изменению OD_{750} суспензии клеток (в случае микроводорослей) и по накоплению биомассы (в случае цианобактерий). Относительную скорость роста (μ) оценивали по изменению оптической плотности культуры (OD_{750}) или по сухой массе:

$$\mu(\text{сутки}^{-1}) = \frac{ln(\frac{N_2}{N_1})}{t_2 - t_1}, \quad (1)$$

где N_1 и N_2 – OD_{750} или абсолютно сухая биомасса (г/л) в начальный (1) и конечный (2) момент времени t соответственно.

По относительной скорости рассчитывали время удвоения биомассы:

$$T_{удв.} = \frac{\ln(2)}{\mu} \quad (2)$$

Максимальную относительную скорость роста рассчитывали для экспоненциальной фазы роста.

Продуктивность биомассы (ПБМ) рассчитывали по формуле:

$$ПБМ(\frac{г}{л \cdot сут}) = \frac{(X - X_0)}{(t - t_0)}, \quad (3)$$

где X_0 и X – количество абсолютно сухой биомассы (г/л) соответственно в начальный (t_0) и конечный (t) момент времени.

Сбор биомассы микроводорослей проводили центрифугированием (11180g, Awel MF 20 Domel, Словения), надосадок декантировали и клетки дважды отмывали дистиллированной водой от солей. Биомассу цианобактерий собирали центрифугированием (12500g, 15 мин, SL40R Thermo Scientific, США), дважды промывали дистиллированной водой. Собранные образцы биомассы помещали в морозильную камеру на -70 °С (CryoCube F101h Eppendorf, Германия) и далее лиофильно высушивали до постоянного веса в лиофильной сушилке (FreeZone 2.5 Labconco, США).

Определение содержания белка в клетках исследуемых штаммов ФМО проводили по методу Лоури [1].

Количественное содержание общих (суммарных) липидов проводили в пересчёте на этерифицированные ЖК. Точные навески сухой биомассы (5–10 мг) подвергали метанолизу *in situ* с добавлением внутреннего стандарта (IS): $C_{12:0}$ для микроводорослей и $C_{17:0}$ для цианобактерий согласно [2].

Анализ метиловых эфиров ЖК проводили на газовом хроматографе «Хроматэк-Кристалл 5000» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия), снабженном кварцевой капиллярной колонкой Macherey-Nagel™ Optima™ 240 (60 м × 0,25 мм × 0,25 мкм) и масс-спектрометрическим детектором. Условия проведения анализа: 160 °С (в начальный момент времени); 160 °С → 260 °С (5 °С/мин); 260 °С (5 мин). Газ-носитель – гелий (2 мл/мин). Температура испарителя 260 °С, детектора 260 °С. Объем вводимой пробы – 1 мкл. Детектирование проводили в режиме сканирования по полному ионному току в диапазоне 50–300 m/z.

Идентификацию индивидуальных ЖК осуществляли как в сравнении со временами удерживания смеси стандартных ЖК Supelco 37 Component FAME Mix (Supelco), так и с использованием масс-спектров базы данных NIST 14 2014/EPA/NIH.

Количественное содержание ЖК в биомассе (мг/г) определяли в сравнении со внутренним стандартом.

На основании данных о качественном и количественном составе ЖК были рассчитаны следующие показатели: суммарное содержание насыщенных (∑НасЖК), ненасыщенных (∑НЖК), мононенасыщенных (∑МНЖК) и полиненасыщенных (∑ПНЖК) жирных кислот, а также суммарное содержание ПНЖКω6 (∑ПНЖКω6) и ПНЖКω3 (∑ПНЖКω3) и их соотношение (∑ПНЖКω6/∑ ПНЖКω3), а также пищевые индексы [3].

$$\text{Степень ненасыщенности (СН)} = \frac{1\times\Sigma\text{моноеновых ЖК(\%)} + 2\times\Sigma\text{диеновых ЖК(\%)} + 3\times\Sigma\text{триеновых ЖК(\%)}}{100} \quad (4)$$

$$\text{Индекс укрепления здоровья(ИУЗ)} = \frac{\Sigma\text{НЖК}}{\text{C12:0} + (4 \times \text{C14:0}) + \text{C16:0}} \quad (5)$$

$$\text{Индекс атерогенности (ИА)} = \frac{\text{C12:0} + (4 \times \text{C14:0}) + \text{C16:0}}{\Sigma\text{НЖК}} \quad (6)$$

$$\text{Индекс тромбогенности (ИТ)} = \frac{\text{C14:0} + \text{C16:0} + \text{C18:0}}{0{,}5\times\Sigma\text{МНЖК} + 0{,}5\times\text{ПНЖК}\omega6 + 3\times\Sigma\text{ПНЖК}\omega3 + \frac{\Sigma\omega3}{\Sigma\omega6}} \quad (7)$$

$$\text{Индекс гипохолестеринемических и гиперхолестеринемических жирных кислот (Г/Г)} = \frac{\text{цис C18: 1} + \Sigma\text{ПНЖК}}{\text{C12:0} + \text{C14:0} + \text{C16:0}} \quad (8)$$

Статистическая обработка результатов. Численные результаты представлены как среднее значение не менее трех независимых повторов ($n \geqslant 3$). Планки погрешностей представляют собой стандартное отклонение.

Результаты и обсуждение

Кривые роста исследуемых штаммов представителей фототрофных микроорганизмов представлены на рисунке 1, численные значения показателей ростовой активности — в таблице 1.

Как видно из кривых роста цианобактерий (рисунок 1а) при сравнении активности ростовых процессов в рассматриваемых условиях культивирования наиболее активный рост был отмечен для штамма B-12619 — стационарная фаза развития была достигнута на 20 сутки культивирования, при этом выход биомассы составил 1,96 г/л. Самой медленно растущей культурой был штамм B-256, тогда как B-287 и B-1526 характеризовались соизмеримыми скоростями роста и накопления биомассы (таблица 1, рисунок 1а).

Все рассматриваемые штаммы микроводорослей имели схожие кривые роста (рисунок 1б), и стационарная фаза развития была достигнута на 8–9-е сутки культивирования, при этом наибольшее количество биомассы было накоплено штаммом культуры C9, наименьшая — GKV 1, однако количество накопленной биомассы при культивировании в испытанных условиях культивирования не превышало 0,52 г/л (таблица 1).

Таким образом, все штаммы микроводорослей характеризовались более высокой относительной скоростью роста (μ) и более коротким периодом удвоения ($T_{удв}$), тогда как цианобактерии — максимально достигнутой величиной биомассы (г/л) и ПБМ (мг/(л·сутки)).

При анализе биотехнологически значимых показателей содержания в клетках суммарного белка и общих липидов (рисунок 2) установлено, что исследуемые штаммы цианобактерий характеризовались более высоким содержанием белка (от 30 до 40%) по сравнению со штаммами микроводорослей (от 16 до 33%). При этом клетки микроводорослей накапливали больше липидов (от 9,4 до 14,3%) по сравнению с цианобактериями, содержание липидов в клетках которых находилось приблизительно на одно и том же уровне (от 4,5 до 5,8%).

Анализ состава ЖК исследуемых штаммов показал, что как для нитчатых цианобактерий, так и для одноклеточных микроводорослей характерно наличие C_{16} и C_{18} ЖК (таблица 2).

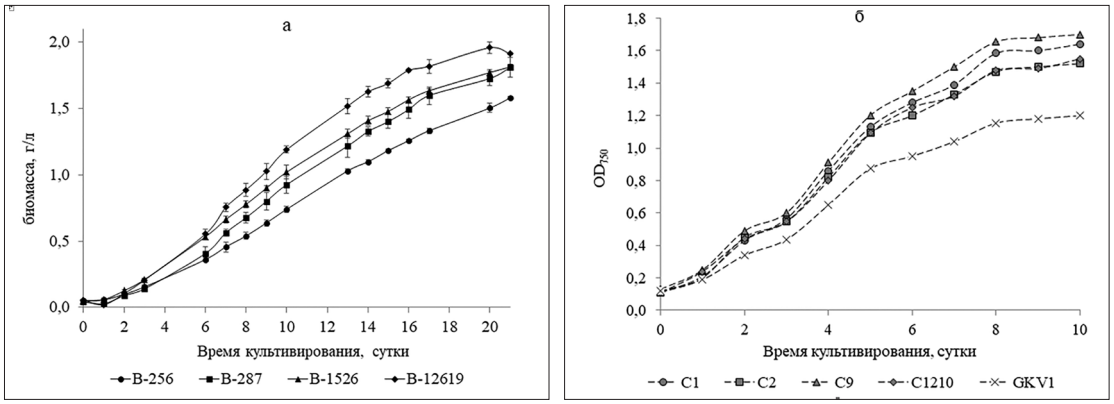


Рис. 1. Кривые роста цианобактерий (а) и микроводорослей (б)

Таблица 1

Показатели роста цианобактерий и микроводорослей

Показатель \ Организм	Цианобактерии				Микроводоросли				
	B-256	B-287	B-1526	B-12619	C1	C2	C9	C1210	GKV 1
Биомасса, г/л	1,58±0,01	1,81±0,07	1,82±0,02	1,96±0,04	0,50±0,01	0,47±0,01	0,52±0,01	0,48±0,01	0,36±0,01
ПБМ, мг/(л·сутки)	75,27±0,58	86,18±3,52	86,17±0,94	93,26±1,99	50±0,34	47±1,3	52±1,9	48±1,7	36±1,2
μ, сутки$^{-1}$	0,15±0,01	0,16±0,01	0,14±0,01	0,16±0,01	0,27±0,02	0,26±0,02	0,26±0,02	0,26±0,02	0,23±0,02
$T_{удв}$	4,77±0,16	4,39±0,18	4,93±0,12	4,26±0,14	2,57±0,07	2,64±0,08	2,70±0,08	2,62±0,08	3,01±0,09

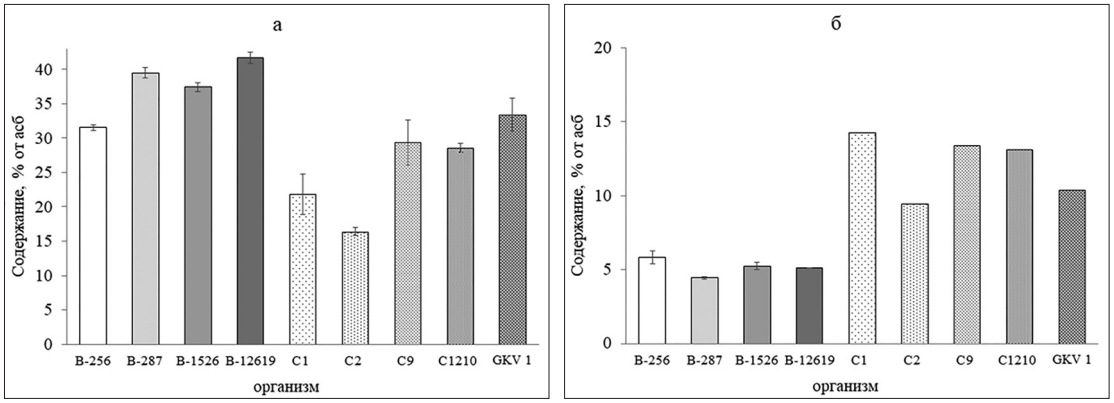


Рис. 2. Содержание белков (а) и липидов (б) в биомассе исследуемых штаммов цианобактерий и микроводорослей

Таблица 2

Состав и содержание жирных кислот цианобактерий и микроводорослей

ЖК \ Организм	Цианобактерии				Микроводоросли				
	B-256	B-287	B-1526	B-12619	C1	C2	C9	C1210	GKV 1
$C_{16:0}$	53,46±0,26	49,36±2,03	49,17±0,44	50,79±0,18	29,31±0,16	29,06±0,15	24,20±0,23	25,96±0,14	28,39±0,15
$C_{16:1}$	3,10±0,40	3,12±0,11	2,69±0,06	3,82±0,04	3,17±0,23	—	0,25±0,02	—	5,42±0,04
$C_{16:2}$	—	—	—	—	15,43±0,21	7,61±0,08	11,05±0,21	14,06±0,18	19,13±0,19
$C_{16:3}$	—	—	—	—	5,78±0,41	6,98±0,33	2,27±0,09	7,48±0,19	3,42±0,12
$C_{18:0}$	1,31±0,11	1,63±0,08	1,57±0,09	1,45±0,05	1,59±0,05	1,23±0,11	1,19±0,07	0,72±0,05	0,56±0,07
$C_{18:1}$	7,41±0,13	8,15±0,39	11,73±0,20	12,72±0,10	6,04±0,17	2,74±0,15	2,13±0,08	1,92±0,05	6,69±0,81
$C_{18:2}$	3,02±0,23	13,83±0,59	27,76±0,27	15,74±0,12	27,94±0,62	23,01±0,44	38,37±0,45	35,89±1,21	30,52±0,75
α-$C_{18:3}$	—	—	—	—	10,75±1,91	29,37±1,19	20,53±1,72	13,98±1,24	5,87±0,95
γ-$C_{18:3}$	25,70±0,57	23,90±1,29	7,09±0,12	15,47±0,05	—	—	—	—	—

Однако в отличие от цианобактерий, в липидах которых присутствуют насыщенная пальмитиновая ($C_{16:0}$) и мононенасыщенная пальмитолеиновая ($C_{16:1}$) ЖК, исследуемые штаммы микроводорослей способны к синтезу C_{16}-ПНЖК: 7,10-гексадекадиеновой ($C_{16:2\omega6}$) и 7,10,13-гексадекатриеновой ($C_{16:3\omega3}$) кислот, причем суммарное их содержание могло достигать порядка 20% от суммы всех ЖК. Интересным является и тот факт, что в составе ЖК штамма С9 отмечено наименьшее для всех штаммов микроводорослей содержание C_{16}-ПНЖК (около 13%), при этом на фоне следового (не более 1,5%) количества стеариновой ($C_{18:0}$) кислоты, в составе липидов данного штамма отмечено максимальное содержание C_{18}-ПНЖК (около 60%), т.е. содержание C_{18}-ПНЖК в 4,4 раза превышает содержание C_{16}-ПНЖК. При рассмотрении аналогичных показателей штамма GKV1, для которого отмечено максимальное из всех штаммов микроводорослей содержание C_{16}-ПНЖК (23%), содержание С18-ПНЖК было всего лишь в 1,6 раза выше (36%). Таким образом, среди штаммов микроводорослей можно четко выделить штаммы, характеризующиеся либо существенным (более чем в 3,5 раза) преобладанием (это штаммы С2 и С9), либо незначительным преобладанием C_{18}-ПНЖК по отношению к C_{16}-ПНЖК.

При рассмотрении C_{18}-ПНЖК, синтезируемых микроводорослями, а именно линолевой ($C_{18:2\omega6}$) и α-линоленовой ($C_{18:3\omega3}$) также можно выделить штамм С2, характеризующийся незначительным преобладанием в сумме C_{18}-ПНЖК α-линоленовой кислоты, тогда как для прочих штаммов преобладала линолевая.

В отличие от исследуемых одноклеточных микроводорослей, рассматриваемые штаммы цианобактерий синтезируют γ-линоленовую ($C_{18:3\omega6}$) кислоту. Среди исследуемых штаммов цианобактерий можно выделить штамм В-12619, который характеризуется приблизительно одинаковым содержанием линолевой и γ-линоленовой кислот, тогда как в составе липидов штамма В-1526 содержание линолевой кислоты почти в 4 раза превышает содержание γ-линоленовой. А штаммы В-256 и В-287 характеризуются, напротив, преобладанием γ-линоленовой, более ярко выраженным у первого из упомянутых штаммов. Для прочих кислот (пальмитиновой, пальмитолеиновой и стеариновой) значительных колебаний содержания отмечено не было, при этом у всех исследованных штаммов около половины от суммы ЖК приходится на долю пальмитиновой кислоты ($C_{16:0}$).

На рисунке 3 представлены данные о содержании отдельных групп ЖК, характеризующихся разной степенью ненасыщенности. Очевидно, что в составе ЖК исследованных штаммов цианобактерий преобладают насыщенные ЖК, тогда как в составе липидов микроводорослей преобладают ПНЖК.

Для определения пищевой и/или лечебной ценности ЖК исследуемых штаммов ФМО были рассчитаны такие показатели как: индекс атерогенности, индекс тромбогенности, соотношение гипохолестеринемических и гиперхолестеринемических ЖК, а также соотношения суммарного содержания ПНЖК к сумме насыщенных жирных кислот и степень ненасыщенности (рисунок 4).

Величина соотношения ΣПНЖК/ΣНасЖК обычно используется для оценки влияния рациона питания на здоровье сердечно-сосудистой системы. В общем случае величины данного показателя для большинства пищевых продуктов лежат в пределах от 0,02 до 0,18, для мяса – от 0,11 до 2,04, рыбы – от 0,50 до 1,62. Согласно полученным данным для цианобактерий величины данного показателя лежат в узком пределе от 0,63 до 0,74, тогда как в случае микроводорослей величины данного показателя выше и отмечен больший разброс – от 1,94 до 2,84.

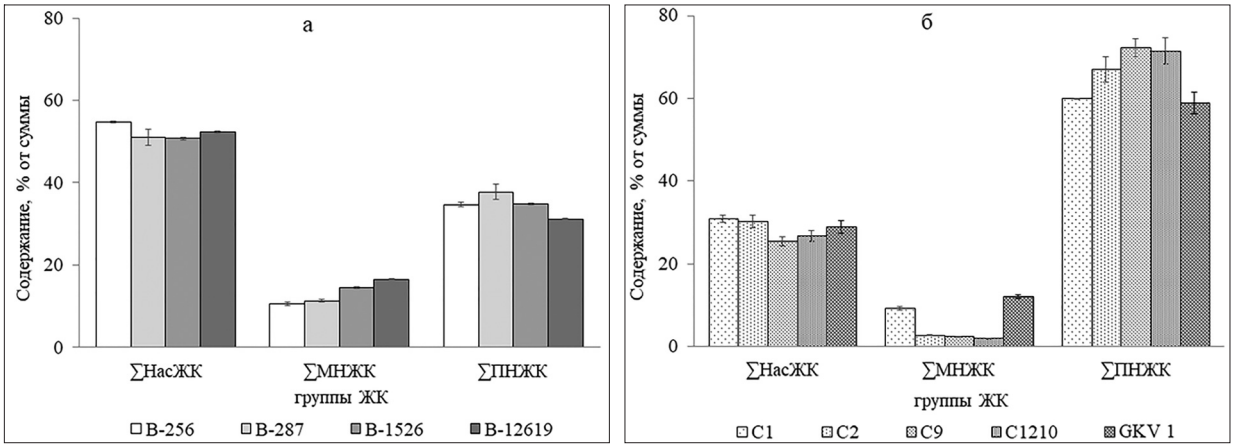


Рис. 3. Содержание отдельных групп жирных кислот липидов цианобактерий (а) и микроводорослей (б)

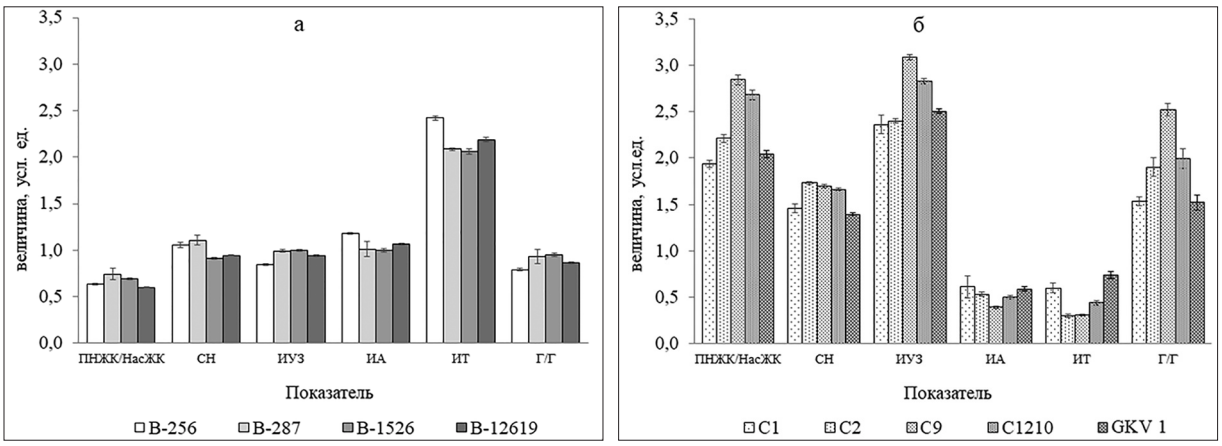


Рис. 4. Индексы питательной ценности липидов цианобактерий (а) и микроводорослей (б)

Степень ненасыщенности липидов более точно отражает долю ЖК с различной степенью ненасыщенности в общем составе ЖК рассматриваемого типа липидов и может служить стандартом для оценки содержания высококачественных ПНЖК, при этом фототрофные микроорганизмы могут использоваться в качестве альтернативных источников высококачественных ПНЖК вместо рыбы или рыбьего жира [13].

Индекс укрепления здоровья был предложен для оценки пищевой ценности жиров в рационе, принимая во внимание влияние состава жирных кислот на сердечно-сосудистые заболевания [8].

Индекс атерогенности характеризует атерогенный потенциал жирных кислот [22]. Основные классы НасЖК, которые включают $C_{12:0}$, $C_{14:0}$ и $C_{16:0}$, за исключением $C_{18:0}$, считаются проатерогенными, так как способствуют адгезии липидов к клеткам кровеносной и иммунной систем, тогда как НЖК считаются антиатерогенными, поскольку они ингибируют накопление бляшек и снижают уровни фосфолипидов, холестерина и этерифицированных ЖК [8]. ИА липидов микроводорослей сходен с данными показателями для мясных продуктов: мясо курицы (0,165–1,634), говядина (0,50–0,63), свинина (0,27–0,31), баранина (0,49–0,52).

Индекс тромбогенности характеризует тромбогенный потенциал ЖК, указывая на тенденцию к образованию тромбов в кровеносных сосудах, и обеспечивает вклад различных ЖК, что обозначает связь между протромбогенными ($C_{12:0}$, $C_{14:0}$ и $C_{16:0}$) и антитромбогенными ЖК (ПНЖК семейства $\omega 3$ и $\omega 6$) [22]. При сравнении собственных результатов с литературными данными [8], можно сделать вывод о том, что липиды цианобактерий близки к молочным продуктам (например, молоку коров (1,00–2,72) или коровьему творогу (2,02–4,35)), тогда как данный показатель липидов микроводорослей – к рыбе и прочим морепродуктам (0,13–0,87).

Соотношение гипохолестеринемических и гиперхолестеринемических ЖК – индекс, используемый для оценки влияния состава ЖК на уровень холестерина, характеризует взаимосвязь между гипохолестеринемическими ЖК (*цис*-$C_{18:1}$ и ПНЖК) и гиперхолестеринемическими ЖК. По сравнению с соотношением ΣПНЖК/ΣНасЖК, соотношение Г/Г может более точно отражать влияние состава ЖК на сердечно-сосудистые заболевания. Для мяса и молочных продуктов диапазоны составляют 1,27–2,79 и 0,32–1,29 соответственно [8], следовательно, липиды цианобактерий соответствуют молочным продуктам, тогда как микроводорослей – мясным.

Заключение

Таким образом, проведено исследование представителей ФМО в качестве альтернативных источников пищевых белков и липидов, установлено, что в испытанных условиях культивирования выход (г/л) и продуктивность (мг/(л·сутки)) биомассы выше у представителей цианобактерий, биомасса которых характеризовалась более высоким содержанием белка по сравнению с биомассой микроводорослей, которая, в свою очередь, характеризовалась более высоким содержанием липидов. Также выявлены индивидуальные особенности исследованных штаммов по качественному и количественному составу ЖК.

Полученные на данном этапе исследований результаты могут являться основой для дальнейшей разработки биотехнологической концепции для решения прикладных задач в области промышленной биотехнологии и пищевой промышленности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (грант № 075-15-2025-578).

Литература

1. Геворгиз Р.Г., Железнова С.Н., Нехорошев М.В. Количественное определение массовой доли суммарных белков в воздушно-сухой биомассе микроводорослей методом Лоури: учебно-методическое пособие. – Севастополь, 2017. – 43 с.
2. Сергеева Я.Э., Мостова Е.Б., Горин К.В., Комова А.В., Конова И.А., Пожидаев В.М., Готовцев П.М., Василов Р.Г., Синеокий С.П. Расчет характеристик биодизельного топлива на основе жирнокислотного состава липидов некоторых биотехнологически значимых микроорганизмов // Биотехнология. – 2017. – Т. 33. – № 1. – С. 53–61.
3. Сергеева Я.Э. Биомасса фототрофных микроорганизмов как альтернативный источник пищевых белков и жиров: критерии и параметры оценки пищевой ценности // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. – 2025. – Т. 21. – № 3. – С. 121–133.
4. Alcorta A., Porta A., Tárrega A., Alvarez M.D., Vaquero M.P. Foods for plant-based diets: Challenges and innovations // Foods. – 2021. – Vol. 10. – No. 2. – Art. 293. doi: 10.3390/foods10020293.
5. Alternative proteins top the bill for the latest FAO–International Sustainable Bioeconomy Working Group webinar. – 2022. – URL: https://www.fao.org/in-action/sustainable-and-circular-bioeconomy/resources/news/details/en/c/1507553/ (date of access 18.05.26).
6. Barbosa M.J., Janssen M., Südfeld C., D'Adamo S., Wijffels R.H. Hypes, hopes, and the way forward for microalgal biotechnology // Trends Biotechnol. – 2023. – Vol. 41. – No. 3. – P. 452–471.
7. Bohrer B.M. Nutrient density and nutritional value of meat products and non-meat foods high in protein // Trends Food Sci. Technol. – 2017. – Vol. 65. – P. 103–112.
8. Chen J., Liu H. Nutritional indices for assessing fatty acids: A mini-review // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21. – No. 16. – Art. 5695. doi: 10.3390/ijms21165695.
9. Gabrielyan D.A., Sinetova M.A., Gabel B.V., Gabrielian A.K., Markelova A.G., Rodionova M.V., Bedbenov V.S., Shcherbakova N.V., Los D.A. Cultivation of *Chlorella sorokiniana* IPPAS C-1 in flat-panel photobioreactors: From a laboratory to a pilot scale // Life. – 2022. – Vol. 12. – No. 9. – Art. 1309. doi: 10.3390/life12091309.
10. Gallego I., Medic N., Pedersen J.S., Ramasamy P.K., Robbens J., Vereecke E., Romeis J. The microalgal sector in Europe: Towards a sustainable bioeconomy // New Biotechnol. – 2025. – Vol. 86. – P. 1–13. doi: 10.1016/J.NBT.2025.01.002.
11. Gao L., Zhang Z., Zhang Z., Bao T., Ren F., Wu X. The future of food bio-manufacturing: Unleashing the potential of single-cell protein from low-cost raw materials // Future Foods. – 2025. – Vol. 12. – Art. 100793. doi: 10.1016/j.fufo.2025.100793.
12. Girotto F., Scapini A. Microalgal biomass in the European food industry: Navigating regulation, technological innovation, and consumer acceptance // Algal Res. – 2025. – Vol. 91. – Art. 104288. doi: 10.1016/j.algal.2025.104288.
13. Logue J.A., de Vries A.L., Fodor E., Cossins A.R. Lipid compositional correlates of temperature-adaptive interspecific differences in membrane physical structure // J. Exp. Biol. – 2000. – Vol. 203. – No. 14. – P. 2105–2115.
14. Nakadai M., Ramasamy P.K., Jepsen P.M. Regulatory landscape of microalgae-based novel foods in the European Union: Current status, trends, and challenges // Algal Research. – 2026. – Art. 104765. doi:10.1016/j.algal.2026.104765.
15. Niccolai A., Zittelli G.C., Rodolfi L., Biondi N., Tredici M.R. Microalgae of interest as food source: Biochemical composition and digestibility // Algal Res. – 2019. – Vol. 42. – Art. 101617. doi: 10.1016/J.ALGAL.2019.101617.
16. Onyeaka H., Anumudu C.K., Okpe C., Okafor A., Ihenetu F., Miri T., Odeyemi O.A., Anyogu A. Single cell protein for foods and feeds: A review of trends // Open Microbiol. J. – 2022. – Vol. 16. – No. 1. – e187428582206160. doi: 10.2174/18742858-v16-e2206160.
17. Pfennig N., Lippert K.D. Über das vitamin B 12-bedürfnis phototropher Schwefelbakterien // Archiv für Mikrobiologie. – 1966. – Vol. 55. – No. 3. – P. 245–256.
18. Samarathunga J., Le T.P.L., Gabard M., Strazdins K., Rens J., Adhikari B. Microalgal proteins as ingredients for creating dairy mimetic products: Prospects for substituting bovine milk proteins // Future Foods. – 2025. – Vol. 11. – Art. 100556. doi: 10.1016/j.fufo.2025.100556.
19. Sarker N.K., Kaparaju P. Microalgal bioeconomy: A green economy approach towards achieving sustainable development goals // Sustainability. – 2024. – Vol. 16. – No. 24. – Art. 11218. doi: 10.3390/SU162411218.
20. Severo I.A., de Lira G.S., Ambati R.R., Gokare R.A., Vargas J.V.C., Ordonez J., Mariano A.B. Disruptive potential of microalgae proteins: Shaping the future of the food industry // Future Foods. – 2024. – Vol. 9. – Art. 100318. doi: 10.1016/j.fufo.2024.100318.
21. Sukhinov D.V., Gotovtsev P.M., Sergeeva Y.E. Phototrophic microorganisms in bioregenerative life support systems for long-term crewed expeditions: Prospects and challenges // Acta Astronaut. – 2023. – Vol. 211. – P. 518–538.
22. Ulbricht T.L., Southgate D.A. Coronary heart disease: Seven dietary factors // Lancet. – 1991. – Vol. 338. – No. 8773. – P. 985–992.

23. World population projected to reach 9.8 billion in 2050, and 11.2 billion in 2100. — URL: https://www.un.org/development/desa/en/news/population/world-population-prospects-2017.html (date of access 28.05.26).
24. Zarrouk C. Contribution a L'etude D'une cyanobacterie: Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina maxima*. — Paris: Université de Paris, 1966. — 109 p.
25. Zdziebłowska S., Czarnecki M., Ciosek-Skibinska P., Rubik L. The microalgae's ability to accumulate selected trace elements studied by ICP-MS/MS and chemometric methods // J. Trace Elem. Med. Biol. — 2024. — Vol. 81. — Art. 127351. doi: 10.1016/J.JTEMB.2023.127351.

References

1. Gevorgiz RG, Zheleznova SN, Nekhoroshev MV. Kolichestvennoye opredeleniye massovoy doli summarnykh belkov v vozdushno-sukhoy biomasse mikrovodorosley metodom Louri: uchebno-metodicheskoye posobiye. Sevastopol', 2017: 43 (in Russian).
2. Sergeyeva YaE, Mostova YeB, Gorin KV, Komova AV, Konova IA, Pozhidayev VM, Gotovtsev PM, Vasilov RG, Sineokiy SP. Raschet kharakteristik biodizel'nogo topliva na osnove zhirnokislotnogo sostava lipidov nekotorykh biotekhnologicheski znachimykh mikroorganizmov. Biotekhnologiya 2017; 33(1):53–61 (in Russian).
3. Sergeyeva YaE. Biomassa fototrofnykh mikroorganizmov kak al'ternativnyy istochnik pishchevykh belkov i zhirov: kriterii i parametry otsenki pishchevoy tsennosti. Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii im YuA Ovchinnikova 2025; 21(3):121–133 (in Russian).
4. Alcorta A, Porta A, Tárrega A, Alvarez MD, Vaquero MP. Foods for plant-based diets: Challenges and innovations. Foods 2021; 10(2):293. doi: 10.3390/foods10020293.
5. Alternative proteins top the bill for the latest FAO–International Sustainable Bioeconomy Working Group webinar 2022; URL: https://www.fao.org/in-action/sustainable-and-circular-bioeconomy/resources/news/details/en/c/1507553/ (date of access 18.05.26).
6. Barbosa MJ, Janssen M, Südfeld C, D'Adamo S, Wijffels RH. Hypes, hopes, and the way forward for microalgal biotechnology. Trends Biotechnol 2023; 41(3):452–471.
7. Bohrer BM. Nutrient density and nutritional value of meat products and non-meat foods high in protein. Trends Food Sci Technol 2017; 65:103–112.
8. Chen J, Liu H. Nutritional indices for assessing fatty acids: A mini-review. Int J Mol Sci 2020; 21(16):5695. doi: 10.3390/ijms21165695.
9. Gabrielyan DA, Sinetova MA, Gabel BV, Gabrielian AK, Markelova AG, Rodionova MV, Bedbenov VS, Shcherbakova NV, Los DA. Cultivation of *Chlorella sorokiniana* IPPAS C-1 in flat-panel photobioreactors: From a laboratory to a pilot scale. Life 2022; 12(9):1309. doi: 10.3390/life12091309.
10. Gallego I, Medic N, Pedersen JS, Ramasamy PK, Robbens J, Vereecke E, Romeis J. The microalgal sector in Europe: Towards a sustainable bioeconomy. New Biotechnol 2025; 86:1–13. doi: 10.1016/J.NBT.2025.01.002.
11. Gao L, Zhang Z, Zhang Z, Bao T, Ren F, Wu X. The future of food bio-manufacturing: Unleashing the potential of single-cell protein from low-cost raw materials. Future Foods 2025; 12:100793. doi: 10.1016/j.fufo.2025.100793.
12. Girotto F, Scapini A. Microalgal biomass in the European food industry: Navigating regulation, technological innovation, and consumer acceptance. Algal Res 2025; 91:104288. doi: 10.1016/j.algal.2025.104288.
13. Logue JA, de Vries AL, Fodor E, Cossins AR. Lipid compositional correlates of temperature-adaptive interspecific differences in membrane physical structure. J Exp Biol 2000; 203(14):2105–2115.
14. Nakadai M, Ramasamy PK, Jepsen PM. Regulatory landscape of microalgae-based novel foods in the European Union: Current status, trends, and challenges. Algal Research 2026:104765. doi:10.1016/j.algal.2026.104765.
15. Niccolai A, Zittelli GC, Rodolfi L, Biondi N, Tredici MR. Microalgae of interest as food source: Biochemical composition and digestibility. Algal Res 2019; 42:101617. doi: 10.1016/J.ALGAL.2019.101617.
16. Onyeaka H, Anumudu CK, Okpe C, Okafor A, Ihenetu F, Miri T, Odeyemi OA, Anyogu A. Single cell protein for foods and feeds: A review of trends. Open Microbiol J 2022; 16(1):e187428582206160. doi: 10.2174/18742858-v16-e2206160.
17. Pfennig N, Lippert KD. Über das vitamin B 12-bedürfnis phototropher Schwefelbakterien. Archiv für Mikrobiologie 1966; 55(3):245–256.
18. Samarathunga J, Le TPL, Gabard M, Strazdins K, Rens J, Adhikari B. Microalgal proteins as ingredients for creating dairy mimetic products: Prospects for substituting bovine milk proteins. Future Foods 2025; 11:100556. doi: 10.1016/j.fufo.2025.100556.
19. Sarker NK, Kaparaju P. Microalgal bioeconomy: A green economy approach towards achieving sustainable development goals. Sustainability 2024; 16(24):11218. doi: 10.3390/SU162411218.
20. Severo IA, de Lira GS, Ambati RR, Gokare RA, Vargas JVC, Ordonez J, Mariano AB. Disruptive potential of microalgae proteins: Shaping the future of the food industry. Future Foods 2024; 9:100318. doi: 10.1016/j.fufo.2024.100318.
21. Sukhinov DV, Gotovtsev PM, Sergeeva YE. Phototrophic microorganisms in bioregenerative life support systems for

long-term crewed expeditions: Prospects and challenges. Acta Astronaut 2023; 211:518—538.
22. Ulbricht TL, Southgate DA. Coronary heart disease: Seven dietary factors. Lancet 1991; 338(8773):985—992.
23. World population projected to reach 9.8 billion in 2050, and 11.2 billion in 2100. URL: https://www.un.org/development/desa/en/news/population/world-population-prospects-2017.html (date of access 28.05.26).
24. Zarrouk C. Contribution a L'etude D'une cyanobacterie: Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthese de *Spirulina maxima*. Paris: Université de Paris, 1966: 109.
25. Zdziebłowska S, Czarnecki M, Ciosek-Skibinska P, Rubik L. The microalgae's ability to accumulate selected trace elements studied by ICP-MS/MS and chemometric methods. J Trace Elem Med Biol 2024; 81:127351. doi: 10.1016/J.JTEMB.2023.127351.

MICROALGAE AND CYANOBACTERIA AS PRODUCERS OF FOOD PROTEIN AND LIPIDS

Ya.E. SERGEEVA[1,2], K.V. GORIN[1], D.V. SUKHINOV[1], V.S. KHLEVNAYA[1,3], M.G. PETROVA[1], M.V. KRYUKOVA[1], V.G. SUCHKOV[1], V.M. POJIDAEV[1], R.G. VASILOV[1]

[1] National Research Centre «Kurchatov institute», Moscow
[2] Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny
[3] Lomonosov Moscow State University, Moscow

The biotechnological potential of cyanobacteria and microalgae producing food proteins and lipids was assessed based on the following indicators and parameters: biomass growth rate and productivity, total protein and lipid content, qualitative and quantitative composition of fatty acids, and food indices. It was found that all the studied microalgae strains were characterized by a higher relative growth rate (0.23—0.27 day^{-1}) and a shorter doubling period (2.57—3.01), while cyanobacteria had a higher maximum achieved biomass concentration (1.58—1.96 g/L) and biomass productivity (75—93 mg/(L·day)). Protein content was higher in cyanobacterial cells, while lipid content, conversely, was higher in the microalgae biomass. The fatty acids in these microalgae were dominated by polyunsaturated fatty acids (PUFAs), while the lipids in cyanobacteria were dominated by saturated fatty acids. Microalgae synthesized α-linolenic acid (C18:3ω3), while cyanobacteria synthesized γ-linolenic acid (C18:3ω6). According to nutritional indices (atherogenicity index, thrombogenicity index, and hypo-/hypercholesterolemic fatty acid ratios), the lipids of the microorganisms under study were comparable to animal sources (meat, dairy products, and fish oil). These data confirm the potential of cyanobacterial and microalgal biomass to be used as a functional ingredient in food and feed. Overall, the results indicate that cyanobacteria and microalgae are promising sustainable sources of protein and high value lipids, which can contribute to addressing food-security challenges and the development of novel functional food products.

Keywords: cyanobacteria, microalgae, food proteins, food lipids, nutritional value.

Address:
Sergeeva Ya.E.,
Head of laboratory National Research Centre
«Kurchatov Institute»
E-mail: yanaes2005@gmail.com

Для цитирования:
Сергеева Я.Э., Горин К.В., Сухинов Д.В., Хлевная В.С., Петрова М.Г., Крюкова М.В., Сучков В.Г., Пожидаев В.М., Василов Р.Г. Микроводоросли и цианобактерии как продуценты пищевого белка и липидов. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова 2026; 22(2):110—119.

For citation:
Sergeeva Ya.E., Gorin K.V., Sukhinov D.V., Khlevnaya V.S., Petrova M.G., Kryukova M.V., Suchkov V.G., Pojidaev V.M., Vasilov R.G. Microalgae and cyanobacteria as producers of food protein and lipids. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov 2026; 22(2):110—119 (in Russian).

1. *Предметная область*. Принимаются оригинальные и обзорные научные работы по теории, методологии и практике биотехнологии и сопряженных дисциплин: физико-химическая (молекулярная) биология, генная инженерия, геномные и постгеномные технологии, биохимия, биофизика, биоинформатика, микробиология и др.
2. *Общие положения*. Рукописи оформляются в соответствии с общепринятыми требованиями, предъявляемыми к научному исследованию в отношении авторских прав, преемственности, обоснованности целеполагания, достоверности, доказательности, орфографической и стилистической корректности и т.д. В статье должны быть четко обозначены актуальность, научная значимость, методология, цель исследования, результаты и выводы, а также исчерпывающий анализ литературы.
3. Статьи принимаются на русском и английском языках.
4. Объем статьи не должен превышать от 14 до 26 страниц.
5. Оригинальность текста должна составлять не менее 80% (статьи проходят проверку по системе «Антиплагиат»).
6. Для набора текста, формул и таблиц необходимо использовать редактор Microsoft Word для Windows. Параметры текстового редактора: все поля по 2 см; шрифт Times New Roman, размер — 12; межстрочный интервал — 1,5; выравнивание по ширине; абзацный отступ — 1 см; ориентация листа — книжная.
7. Все визуальные объекты должны быть предоставлены в формате, допускающем форматирование. Все файлы рисунков должны быть пронумерованы, а названия рисунков должны быть приведены в конце статьи (например: Рисунок 1. Название рисунка). Любые рисунки (в том числе графики и диаграммы) должны быть информативными как в цветном, так и черно-белом исполнении. Иллюстрации прилагаются в электронном виде в формате JPEG или TIF.
8. Таблицы размещаются в самой статье. Ниже таблицы нужно дать номер таблицы и название (например: Таблица 3. Название таблицы).
9. Оформление мета-данных статьи: 1. Полное название статьи. 2. Укороченный вариант названия статьи (Running title). 3. Ф.И.О. автора статьи. 4. Ученое звание, ученая степень, должность. 5. Место работы: кафедра, факультет, название вуза. 6. Город, страна. 7. Рабочий адрес с почтовым индексом, рабочий телефон. 8. E-mail. 9. Информация о гранте (если есть).
   - Если авторов статьи несколько, то информация повторяется для каждого автора.
   - Возможно при желании сопроводить статью кратким биографическим описанием автора как исследователя (не более 50 слов на английском языке, не более 60 слов на русском языке).
10. Текст статьи должен быть разбит на части, заголовки должны быть подписаны: Аннотация (Abstract). Ключевые слова (Keywords). Введение (Introduction). Материалы и методы (Materials and methods). Литературный обзор (Literature Review). Результаты (Results). Обсуждение (Discussion). Заключение (Conclusion). Благодарности (Acknowledgements). Список литературы (References).
11. Аннотация — оптимальный объем 150 слов (не более 250 слов на русском языке или 200 на английском языке). При этом в случае несоответствия требованию издательство оставляет за собой право частичного изменения и сокращения аннотации. Это же касается и редактирования всего текста рукописи. Аннотация должна включать в себя информацию о цели исследования, методологии, результатах.
12. Ключевые слова — 5—10 слов. Ключевые слова отделяются друг от друга точкой с запятой. Требуется УДК, а также сопроводительное письмо из учреждения.
13. Включить JEL-коды, если применимо.
14. Список литературы приводится в алфавитном порядке, со сквозной нумерацией. Ссылки в тексте на соответствующий источник из списка литературы оформляются в квадратных скобках, например: [1, с. 277]. Использование автоматических постраничных ссылок не допускается. Список литературы

должен содержать не менее 20 источников за последние 3 года (для работ исторического характера могут быть сделаны исключения). Иностранных источников — не менее 15. Преимуществом станет использование статей, опубликованных в базах Scopus и Web of Science.

- Информация о цитируемой статье в журнале должна включать в себя: фамилию и имя автора, год публикации, название статьи, название журнала, том/номер/выпуск, страницы.
- Информация об упоминаемой книге должна включать в себя: фамилию и имя автора, год публикации, название книги, название издательства, место публикации.
- В случае с электронным источником информации обязательны ссылка и дата доступа.
- Необходимо указать тип каждого источника: например, материалы конференции, и т.д. для исключения путаницы при оформлении списка литературы в соответствии с требованиями журнала.

15. Не допускается публикация работ, уже напечатанных или посланных в редакции других изданий.
16. При несоблюдении указанных правил статьи редакцией не принимаются.
17. Принятые к публикации рукописи проходят рецензирование, после чего принимается окончательное решение о возможности печатания. Отклоненные рукописи не возвращаются.
18. Редакция не несет ответственности за достоверность фактов, выводы и суждения, приведенные в представленном к печати и опубликованном ранее материале авторов.
19. Редакция оставляет за собой право делать научную и литературную правку, в том числе сокращать объем статей.
20. Адрес редакции указан на титульном листе журнала.
21. Журнал является безгонорарным. Редакция резервирует для автора статьи по 1 экземпляру журнала. По вопросам приобретения отдельных номеров журнала следует обращаться в редакцию.
22. Имеется электронный архив журнала на сайте Общества биотехнологии России им. Ю.А. Овчинникова (www.biorosinfo.ru).

ISSN 1996-4741

Подписано к печати 23.06.2026
Формат $60/90^{1}/_{8}$. Бумага офсетная № 1.
Печать офсетная. Гарнитура Академия.
Печ. л. 7,6. Тираж 1000 экз.

ООО «ИЛЬПРЕСС»
105005 Москва, ул. Радио, 23/9, стр. 2