



**Государственный научно-исследовательский
испытательный институт военной медицины
Министерства обороны Российской Федерации**

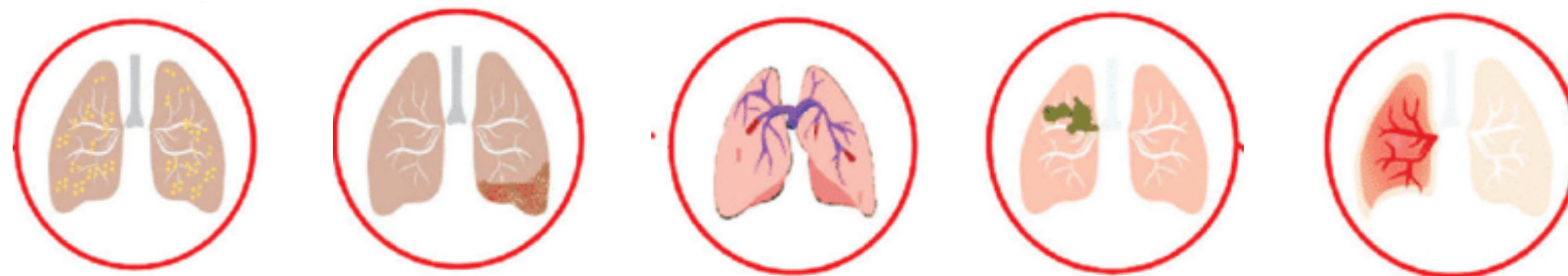
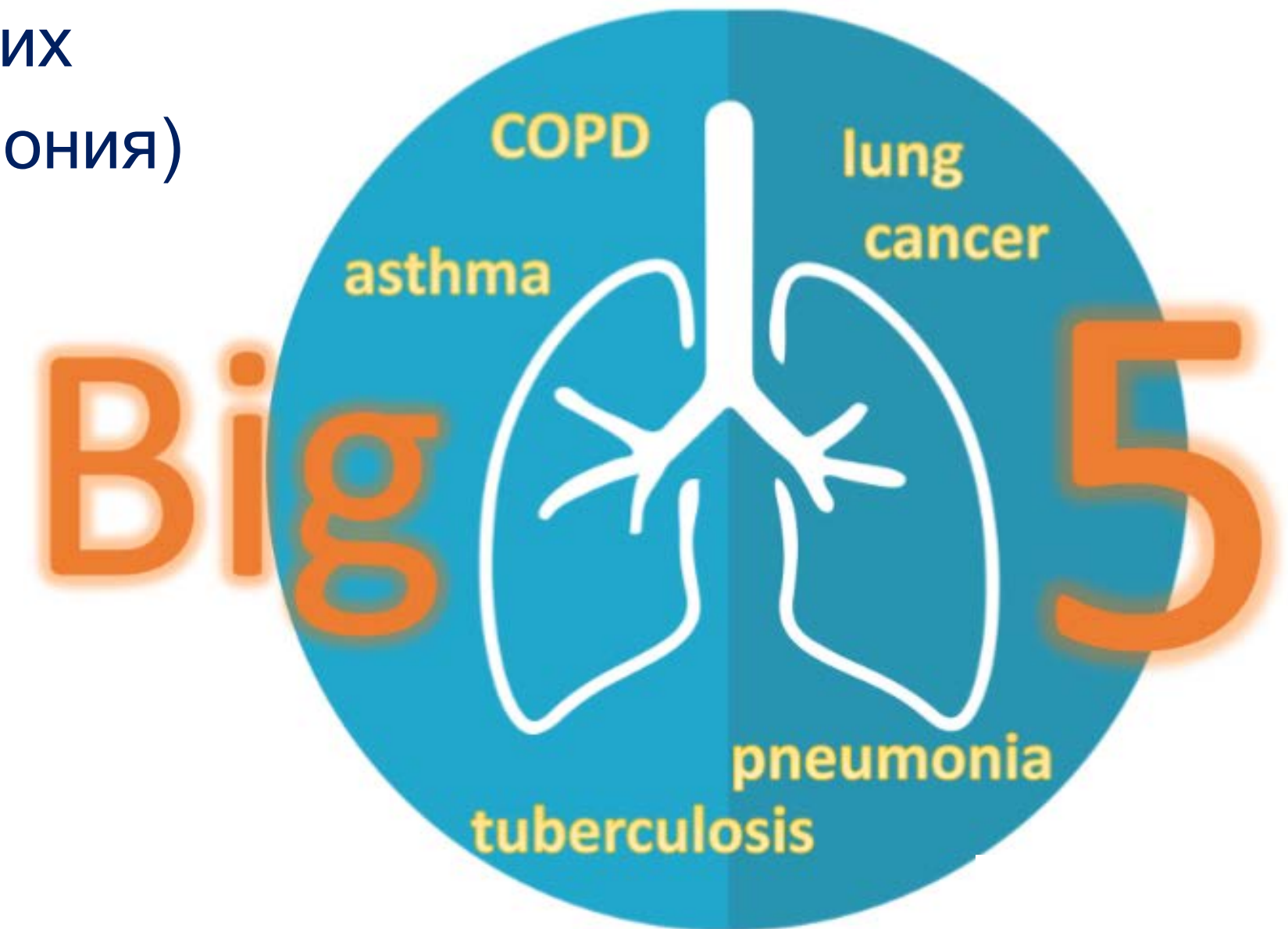
«Современные парадигмы в экспериментальной патологии лёгких»

Докладчик: Пугач Виктория Александровна
канд. биол. наук, старший научный сотрудник

Большая «пятерка» заболеваний легких в мире



1. Хроническая обструктивная болезнь легких
2. Острые респираторные инфекции (пневмония)
3. Астма
4. Рак легких
5. Туберкулез



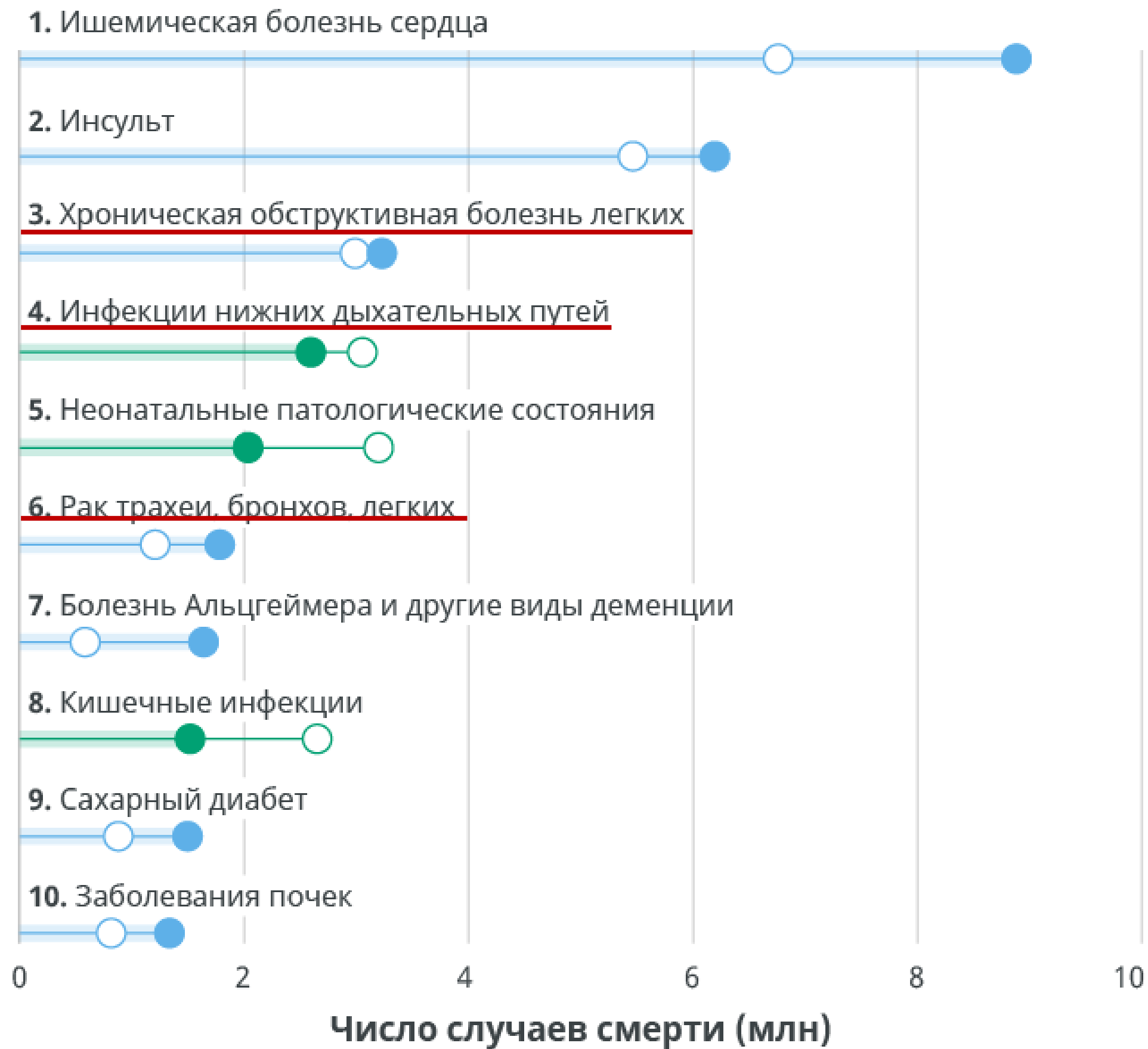
Основные причины смерти в мире (статистика с 2000 по 2020 гг.)

○ 2000 г.

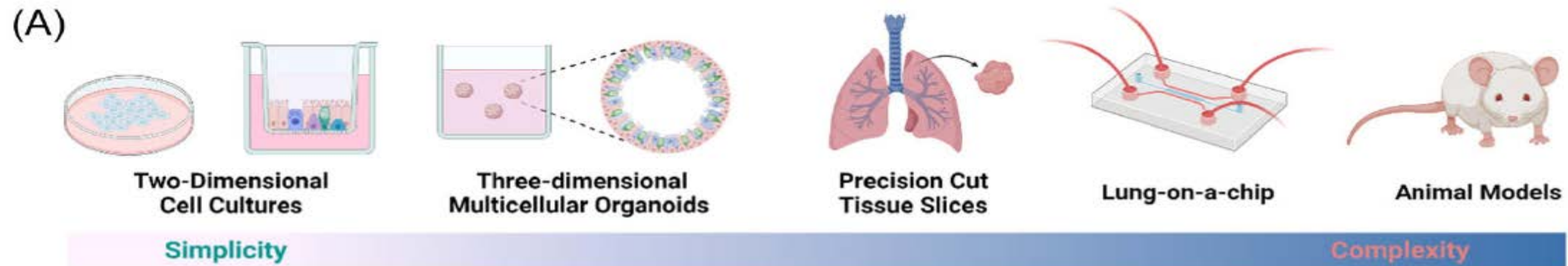
● 2020 г.

● Неинфекционные заболевания ● Инфекционные болезни

Источник: WHO Global Health Estimates.



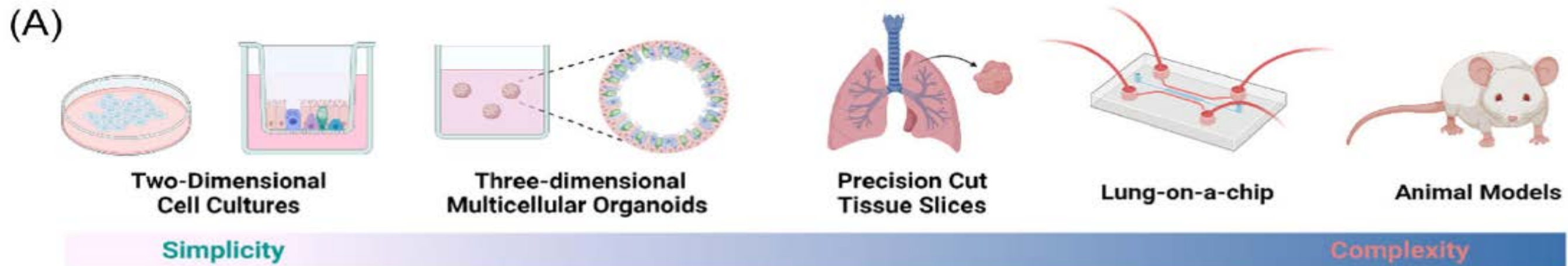
Методы биомоделирования в экспериментальной патологии легких



(B)

Specifications	2D cell culture	Air exposed systems	Organoids	Lung-on-a-chip	Animal models	Human body
Human cells	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★	✗	★ ★ ★
Circulating immune cells	✗	★	✗	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
3D tissue architecture	✗	★	★ ★	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Full cell differentiation	★	★ ★	★ ★	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Physiological biomechanics	✗	★	★	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Hemodynamic system	✗	✗	✗	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Multi-organ interaction	✗	✗	✗	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Real-time monitoring	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★	★	✗
Long term cell viability	★ ★ ★	★ ★	★ ★	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Disease phenotype	★	★	★ ★	★ ★	★	★ ★ ★
Low cost	★ ★ ★	★ ★	★	★	✗	✗
High-throughput	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★	★	✗	✗

Методы биомоделирования в экспериментальной патологии легких



(B)

Specifications	2D cell culture	Air exposed systems	Organoids	Lung-on-a-chip	Animal models	Human body
Human cells	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★	✗	★ ★ ★
Circulating immune cells	✗	★	✗	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
3D tissue architecture	✗	★	★ ★	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Full cell differentiation	★	★ ★	★ ★	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Physiological biomechanics	✗	★	★	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Hemodynamic system	✗	✗	✗	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Multi-organ interaction	✗	✗	✗	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Real-time monitoring	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★	★	✗
Long term cell viability	★ ★ ★	★ ★	★ ★	★ ★	★ ★ ★	★ ★ ★
Disease phenotype	★	★	★ ★	★ ★	★	★ ★ ★
Low cost	★ ★ ★	★ ★	★	★	✗	✗
High-throughput	★ ★ ★	★ ★ ★	★ ★	★	✗	✗

Использование лабораторных животных для моделирования заболеваний легких позволяет:

- 1) Детально изучить патогенез болезней органов дыхания по основным звеньям развития.
- 2) Определить особенности течения и исхода заболевания в зависимости от этиологического фактора.
- 3) Идентифицировать новые мишени для фармакологического воздействия.
- 4) Изучить эффективность и безопасность перспективных лекарственных средств.



Основные отличительные особенности дыхательной системы различных видов животных

(Каргопольцева Д.Р., Кательникова А.Е., Крышень К.Л., Гуцин Я.А. Особенности дыхательной системы животных, используемых в доклинических исследованиях, которые необходимо учитывать при моделировании патологий легких. *Лабораторные животные для научных исследований.* 2020; 04: 71–85)

Особенности легких	Мыши	Крысы	Человек
Общий объем легких, мл	1	10	6000
Паренхима, %	18	24	12
Средний линейный перехват альвеол (MLI), мкм	80	100	210
Толщина воздушно-кровяного (аэрогематического) барьера, мкм	0,32	0,38	0,62

Показатель	Вид						
	человек	мыши	крысы	морские свинки	кролики	карликовые свиньи	собаки
Дыхание	Носовое и ротовое	Облигатное носовое	Облигатное носовое	Облигатное носовое	Облигатное носовое	Носовое и ротовое	Носовое и ротовое
Число долей в правом легком	3	4(5)	4(5)	4	4	4	4
Число долей в левом легком	2	1	1(3)	3	2	2	2
Характер ветвления дыхательных путей	Дихотомический	Моноподиальный	Моноподиальный	Дихотомический	Моноподиальный	Моноподиальный	Моноподиальный
Слизистая оболочка трахеи:							
реснитчатые клетки	+	+	+	+	+	+	+
бокаловидные клетки	+	-	-	+	+	+	+
клетки Клара (секреторные клетки)	-	+	+	+	+	+	+
Слизистая оболочка бронхов:							
бокаловидные клетки	+	-	-	+	+	+	+
клетки Клара (секреторные клетки)	+	+	+	+	+	+	+
слизистые и подслизистые железы	+	-	-	-	-	+	+
Кашлевой рефлекс	+	-	-	+	-	+	+

Основные этапы исследования при моделировании заболеваний легких



Моделирование патологии



Мониторинг состояния

- ФВД (плетизмография)
- Пульсоксиметрия
- Лучевая диагностика
- Исследование гемодинамики



Кровь

- Биомаркеры повреждения легких и ССВО
 - Газы/электролиты
 - Клинический анализ
 - Биохимический анализ
 - Система гемостаза

Отбор биоматериала

БАЛЖ

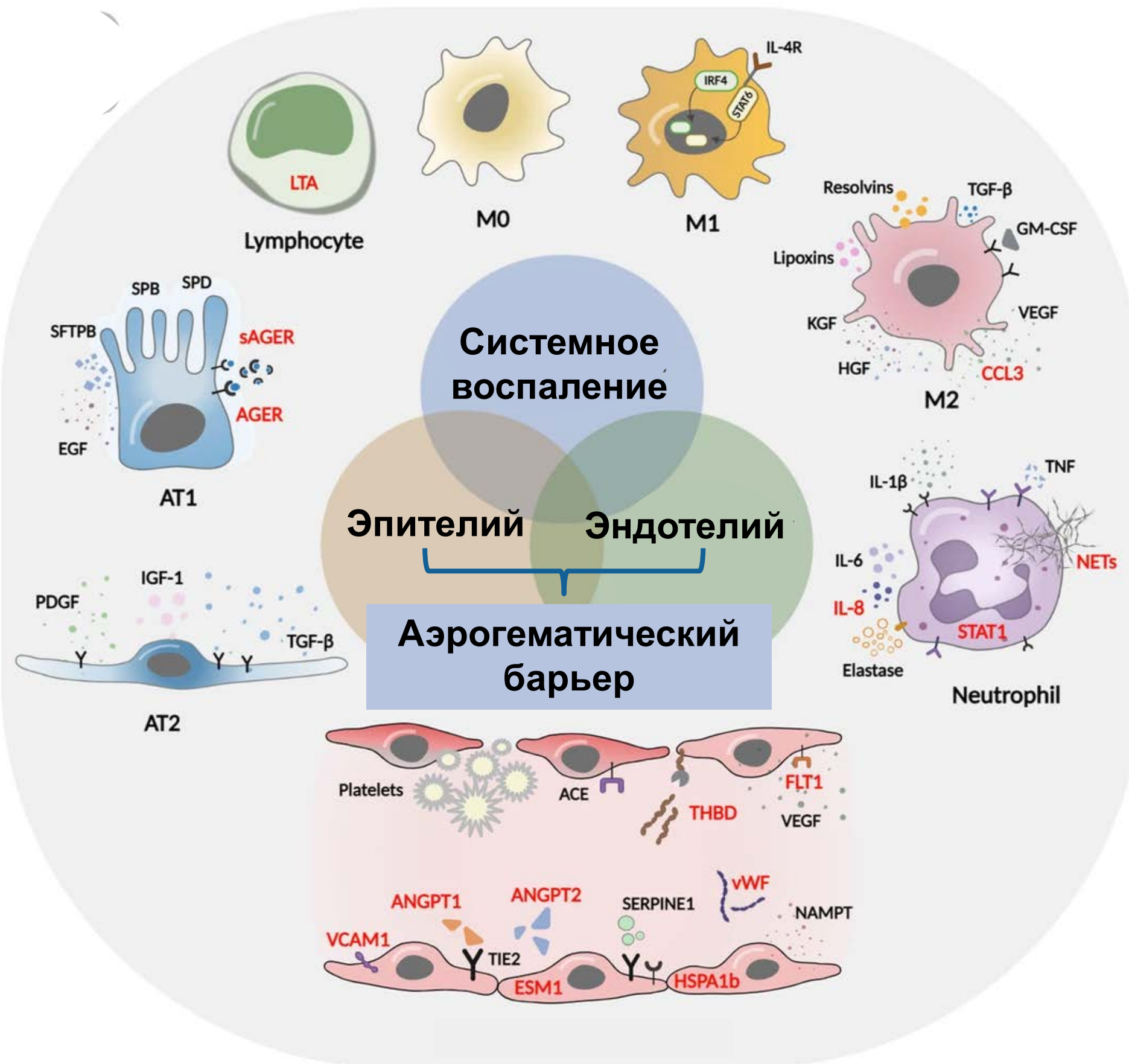
- Биомаркеры повреждения легких и ССВО
 - Общий цитоз
 - Цитограмма (клеточный состав)
 - Общий белок (проницаемость АГБ)

Легкие

- Макроскопия
- Гравиметрия
- Микроскопия

ФВД – функция внешнего дыхания
ССВО – системный воспалительный ответ;
БАЛЖ – бронхоальвеолярная лаважная жидкость;
АГБ – аэрогематический барьер.

Использование биомаркеров для оценки степени повреждения легких в эксперименте



Детекция биомаркеров

Биохимические методы:

- ферментативные;
- иммунохимические (в т.ч. ИФА)

«Омиксные» технологии



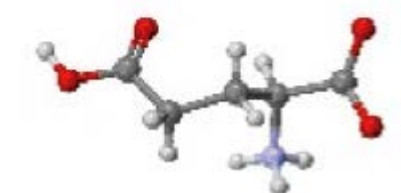
Геномика



Транскриптомика



Протеомика



Метаболомика

Биоматериал:

- кровь;
- БАЛЖ;
- моча и др.

Изменения уровней кандидатных биомаркеров в крови при остром респираторном дистресс-синдроме различной этиологии

Этиология	Биомаркеры, характеризующие:														
	синдром системного воспалительного ответа		повреждение бронхиального/альвеолярного эпителия				повреждение ЭЦМ и пневмофибротические процессы		изменение функционального состояния эндотелия						
	ИЛ-6	ИЛ-8	CC16	SP-D	sRAGE	KL-6	LAM5	PCP I, PCP III	pMKA	Syn-1	NO _x	TF	PAI-1	VEGF	Ang-2
Прямое повреждение легких															
Пневмония	↑	↑	#	↑	↑	↑	н/д	↑	↑	н/д	↓	н/д	#	↑	↑
ВИПЛ	н/д	н/д	н/д	↑	н/д	↑	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	↑	↑	н/д	н/д
Непрямое повреждение легких															
Сепсис	↑	↑	↑	↑	↑	↑	↑	н/д	↑	↑	н/д	↑	#	↑	↑
Политравма	↑	↑	↑	н/д	↑	н/д	н/д	↑	↑,↓	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д	↑

Примечание: ВИПЛ – вентилятор-индуцированное повреждение легких; ЭЦМ – экстрацеллюлярный матрикс; ИЛ - 6 – интерлейкин - 6; ИЛ - 8 – интерлейкин - 8; CC16 – белок клеток Клара; SP - D – сурфактантный белок - D; sRAGE – растворимая форма рецептора конечных продуктов гликозилирования; KL - 6 – белок KL - 6; LAM5 – фрагменты ламинина - 5; PCP I – проколлаген-1; PCP III – проколлаген-3; pMKA – растворимые формы молекул клеточной адгезии; Syn - 1 – синдекан-1; NO_x – метаболиты оксида азота; TF – тканевой фактор; PAI - 1 – ингибитор активатора плазминогена; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; Ang - 2 – ангиопоэтин - 2;

↑ – увеличение уровня биомаркера; ↓ – снижение уровня биомаркера; # – противоречивые данные; н/д – нет данных.

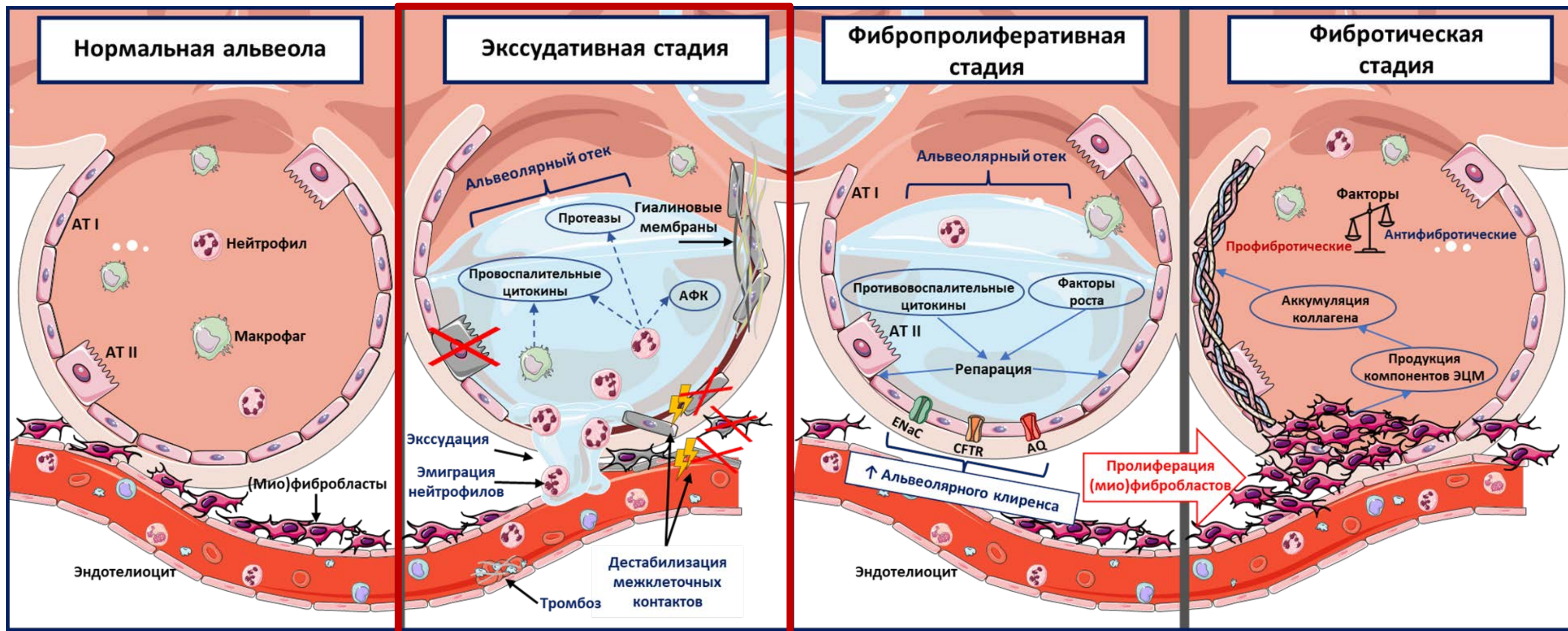
Биомаркеры, характеризующие основные молекулярно-клеточные взаимодействия в ткани легких, через 6–24 ч после моделирования острого респираторного дистресс-синдрома у кроликов (собственные данные)



Биомаркеры, характеризующие развитие системного воспалительного ответа, через 6–24 ч после моделирования острого респираторного дистресс-синдрома у кроликов (собственные данные)

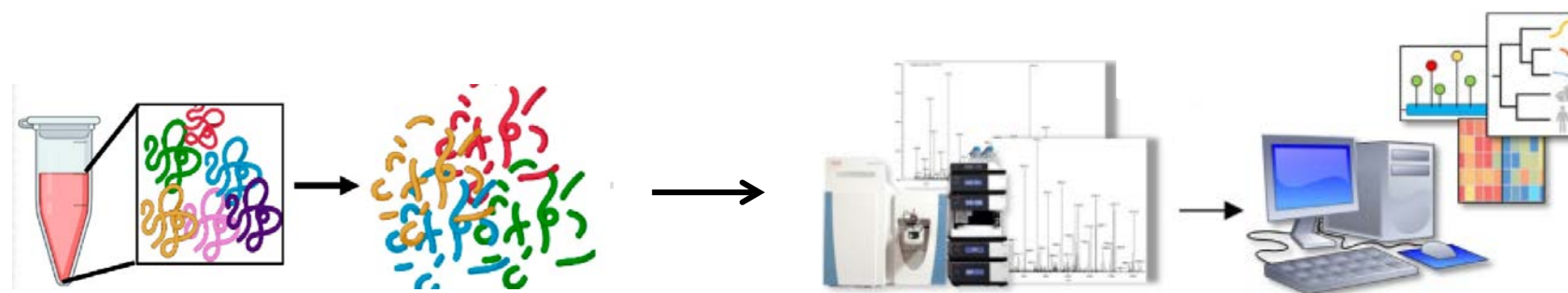


Патогенез острого респираторного дистресс-синдрома

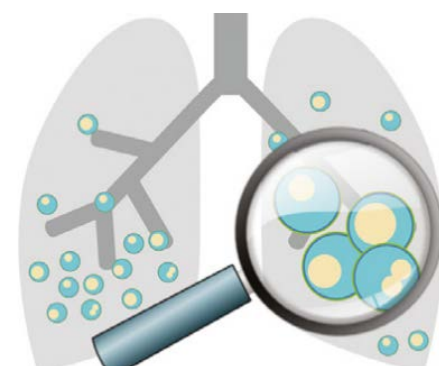


Примечание: AT I – альвеолоциты 1 типа; AT II – альвеолоциты 2 типа; АФК – активные формы кислорода; ENaC – эпителиальный натриевый канал; CFTR – хлоридный канал; AQ – белок семейства аквапоринов; ЭЦМ – экстрацеллюлярный матрикс.

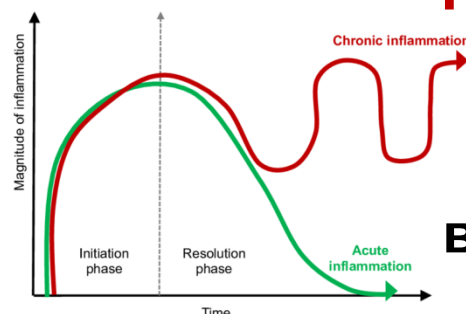
Перспективы протеомных исследований для диагностики и лечения заболеваний легких



ПРОТЕОМНЫЙ АНАЛИЗ



Биомаркеры в БАЛЖ

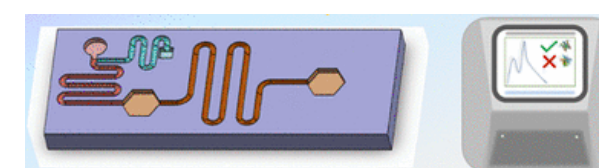


Оценка
динамики местной
воспалительной реакции

Определение показателей повреждения
структур аэрогематического барьера



Биомаркеры в крови



Создание
мультимаркерных
диагностических панелей

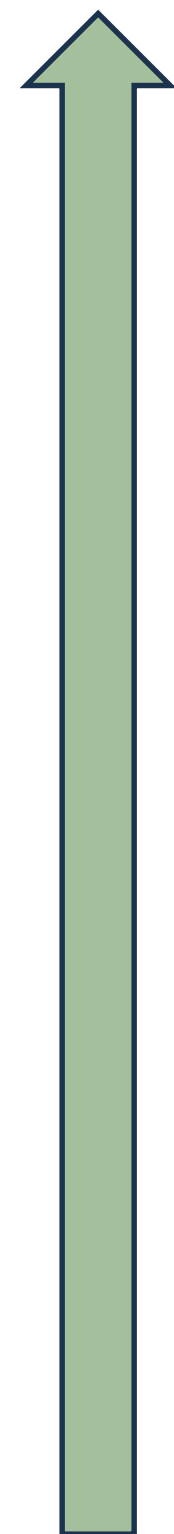
1. Фибронектин	3. Высокомолекулярный кининоген
2. Гельзолин	4. Комплекс тромбин-антитромбин

БАЛЖ – бронхоальвеолярная
лаважная жидкость



Поиск мишеней
для фармакологической терапии

Возможности «омиксных» технологий в исследовании патогенеза острых респираторных инфекций нижних дыхательных путей



Цветы

Острый респираторный дистресс-синдром, его клинические проявления, объединенные в различные фенотипы в зависимости от выраженности воспаления

Ветви

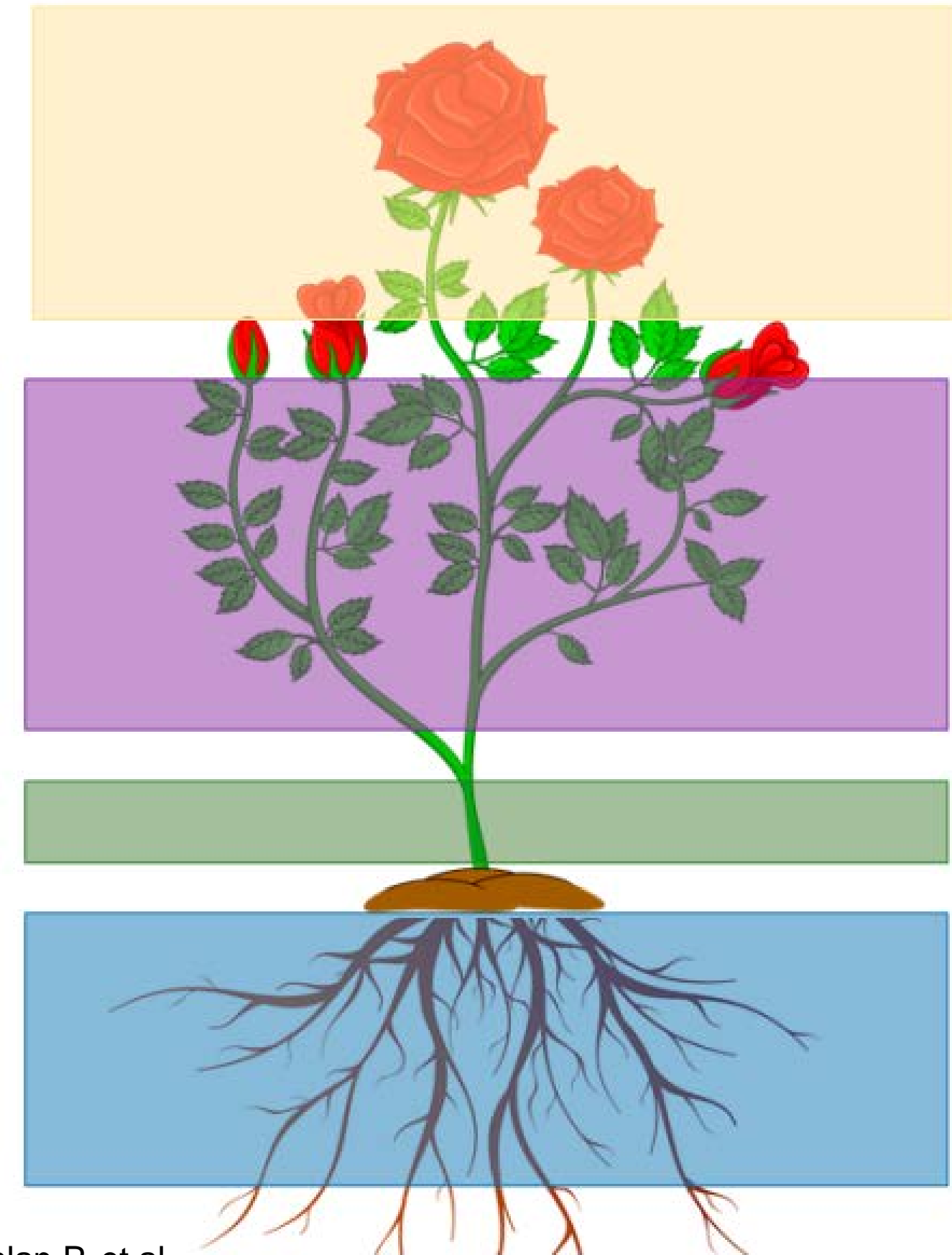
Сигнальные пути воспаления, о реализации которых свидетельствуют конкретные биомаркеры

Стебель

Бактериальная или вирусная инфекция

Корни

Генетическая предрасположенность к развитию гиперергического воспаления в ответ на воздействие инфекционных агентов



Murray D.D., Itenov T.S., Sivapalan P. et al.



Государственный научно-исследовательский
испытательный институт военной медицины
Министерства обороны
Российской Федерации

Благодарим за внимание!

*«Сам по себе факт – ничто. Он приобретает ценность лишь
благодаря идее или в силу доказательств»
Клод Бернар (1813-1878)*