

**3D КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В
ВИРУСОЛОГИИ**

Кузнецова Т. А. ¹,

Алиев М. Р. ^{1,2},

Михалко А. А. ^{1,2},

Щелканов М. Ю. ^{1,2}

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора,
Владивосток, Россия.

² Дальневосточный федеральный университет, Школа медицины и наук о
жизни, Владивосток, Россия.

3D CELL CULTURES: PROSPECTS FOR USE IN VIROLOGY

Kuznetsova T. A. ^a,

Aliev M. R. ^{a, b},

Mikhalko A. A. ^{a, b},

Shchelkanov M. Yu. ^{a, b}

^a G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russia.

^b Far Eastern Federal University, School of Medicine and Life Sciences, Vladivostok, Russia.

Резюме

Традиционные методы культивирования клеток *in vitro*, использующие, как правило, монослойные клеточные линии, которые разрастаются на поверхности подложки (2D-культивирование), не способны имитировать структурную организацию трёхмерной (3D) клеточной сети *in vivo* и недостаточны для моделирования живых тканей с целью изучения межклеточной сигнализации, пролиферации, дифференцировки, экспрессии генов и белков, реакции на различные стимулы и метаболизм лекарств. С помощью 2D-культивирования невозможно адекватно воспроизвести взаимодействие вируса с клетками хозяина и патогенез заболевания на уровне отдельных тканей – технологической платформой для получения наиболее надежных и реалистичных результатов в этой области является 3D-культивирование клеток. На основе анализа научной литературы, содержащейся в основных базах данных (Web of Science, PubMed, Scopus, Elsevier, Google Scholar и РИНЦ) в настоящем обзоре дана краткая характеристика различных видов и типов 3D клеточных культур, а также методов их получения и поддержания жизнеспособности. Рассмотрены современные возможности и перспективы их использования в вирусологических исследованиях. Обсуждаются основные аспекты применения 3D клеточных линий: выделение, культивирование и изучение механизмов репродукции вирусов человека и животных, взаимодействие вируса с организмом хозяина, иммунопатогенеза. Анализируются возможности использования 3D культур для производства и тестирования вакцин, а также для разработки и тестирования противовирусных лекарственных препаратов, и в целом для выбора стратегии лечения вирусных инфекций. Помимо преимуществ и перспектив использования 3D клеточных культур в вирусологии, отражены и их недостатки. Особое внимание в обзоре отведено таким 3D системам *ex vivo*, как органоиды и «орган на чипе», которые в значительной степени соответствуют требованиям лабораторных моделей в

вирусологических исследованиях и существенно расширяют возможности исследований на новом уровне, промежуточном между клеточной и органной культурой. Основной характеристикой органоидов является имитация тканевой организации, функциональности и генетической специфичности конкретной ткани или части органа. Такой подход, в частности, позволяет существенно повысить чувствительность модели для изоляции вируса. В обзоре проанализированы данные многочисленных исследований, касающихся применения органоидов для изучения вирусов человека и животных, которые проявляют сродство к определенным тканям, и в частности – результаты изучения на этих моделях особенностей иммунопатогенеза респираторных вирусных инфекций.

Ключевые слова: 3D клеточные культуры, органоиды, орган на чипе, биопечать 3D, вирусные инфекции, вирусологические исследования *ex vivo*, моделирование механизмов патогенеза.

Abstract

As a rule, traditional methods of cell cultivation *in vitro* using monolayer cell lines (2D cultivation) are unable to simulate the structural organization of a three-dimensional (3D) cell network *in vivo* and are insufficient for modeling living tissues to study intercellular signaling, proliferation, differentiation, gene and protein expression, reactions to various stimuli and drug metabolism. Using 2D cultivation, it is impossible to adequately reproduce a virus-host cell interaction and disease pathogenesis at the level of individual tissues. The technological platform for obtaining the most reliable results is 3D cell cultivation. Based on the analysis of scientific literature contained in the main databases (Web of Science, PubMed, Scopus, Elsevier, Google Scholar and RSCI), our review provides a brief description of various types of 3D cultures, as well as methods for their production and viability maintenance. The modern prospects of their use in virological research are discussed. The main aspects for application of 3D-cultures are analyzed: isolation, cultivation and study of mechanisms for virus reproduction, virus-host interaction, the study of immunopathogenesis and epidemiological prognosis of viral infections. The possibilities of 3D cultures for production and testing of vaccines, antiviral drugs, and, generally, for choosing a treatment strategy of viral infections are analyzed. In addition to the advantages and prospects of using 3D-cell cultures in virology, their disadvantages are also assessed. Special attention is devoted to such *ex vivo* 3D systems, as organoids and "organ on a chip", which largely meet the requirements of laboratory models in virological research. The hallmark characteristics of organoids is imitation of tissue organization, functionality and genetic specificity in a specific tissue or part of an organ. This approach allows to markedly increase model sensitivity for virus isolation. The review analyzes the data from numerous studies concerning the use of organoids to examine human and animal viruses, which display affinity for certain tissues and the data on assessing the features of immunopathogenesis behind respiratory viral infections.

Keywords: 3D cell culture, organoids, organ on a chip, bioprinting 3D, viral infections, ex vivo virological research, pathogenesis mechanism modeling.

1 **1 Введение**

2 Клетки – основные структуры всех живых организмов – строго
3 организованы в тканевые и органные структуры, находясь во внеклеточном
4 матриксе, который имеет сложную трехмерную архитектуру, и
5 взаимодействуют с соседними клетками посредством как поверхностных
6 рецепторов, так и растворимых медиаторов [2]. Структурные взаимодействия
7 клетка-клетка и клетка-внеклеточный матрикс образуют трехмерную сеть,
8 которая поддерживает тканевую специфичность и гомеостаз. В этой связи,
9 традиционные методы культивирования клеток, к которым относится
10 старейший и наиболее распространенный тип культивирования – двумерное
11 (2D) культивирование *in vitro*, не способны имитировать структурную
12 организацию, подобную *in vivo*. Эти методы недостаточны для изучения таких
13 особенностей, как клеточные взаимосвязи, клеточная морфология,
14 жизнеспособность, пролиферация, дифференцировка, экспрессия генов и
15 белков, реакция на стимулы и метаболизм лекарств и вакцин. Следует
16 учитывать и тот факт, что доклинические исследования *in vitro* по оценке
17 иммуногенности вакцинных препаратов необходимо тестировать методами,
18 помимо прочего включающими компоненты иммунной системы, что
19 позволяет приблизиться к естественным условиям развития инфекции [64].

20 Несмотря на использование доступных клеточных линий многие вирусы
21 – например, вирус Норфолк (Picornavirales: Caliciviridae, *Norovirus*),
22 бокавирусы (Piccovirales: Parvoviridae, *Bocaparvovirus*) или вирус гепатита С
23 (Amarillovirales: Flaviviridae, *Hepacivirus*) – пока не поддаются продуктивной
24 репликации на 2D моделях *in vitro* [5, 9]. Некоторые вирусы гораздо
25 эффективнее репродуцируются на моделях уровня целого организма, нежели
26 в клеточных культурах: например, фитовирусы¹ (в целом растении) [10, 20],

¹ Фитовирусы – внетаксономическая группа вирусов, поражающих растения.

27 большинство арбовирусов ² (при интрацеребральном заражении мышчат-
28 сосунков) [4, 73] или вирусы гриппа А (при заражении аллантоисную полость
29 развивающихся куриных эмбрионов) (Articulavirales: Orthomyxoviridae,
30 *Alphainfluenzavirus*) – причём, как птичьих [1, 17], так и эпидемических ³
31 штаммов [3, 23]. Ряд вирусов успешно пассируются на клеточных линиях в
32 формате 2D, но по этическим или экономическим соображениям не могут
33 быть исследованы в контролируемых экспериментах на модели
34 инфицированного организма и потому нуждаются в промежуточных
35 3D моделях: например, вирусы иммунодефицита человека 1-го и 2-го типов
36 (Ortervirales: Retroviridae, *Lentivirus*) [24, 63]. Во время пандемии COVID-19 –
37 несмотря на то, что возбудитель этого заболевания, SARS-CoV-2 (Nidovirales:
38 Coronaviridae, *Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*), способен эффективно
39 репродуцироваться и в клеточных культурах, и во многих животных
40 моделях [14, 15] – потребовалась массовая работа с экспериментальными
41 животными, однако имеющихся лабораторных мощностей оказалось
42 недостаточно, а 2D культуры не могли адекватно имитировать взаимодействие
43 вируса с клетками и патогенетическую картину заболевания на уровне
44 тканей [52, 54]. Для получения наиболее надежных и реалистичных
45 результатов модель клеточной культуры, используемая в качестве тест-
46 платформы, должна работать аналогично моделям *in vivo*. Такой платформой
47 является трехмерное (3D) культивирование клеток и получение 3D-культуры
48 органов [89, 97].

49 Одним из наиболее важных различий между методами 2D- и 3D-
50 культивирования является то, что в 2D культуре клетки распластываются на
51 субстрате в неестественном состоянии, т.е. меняется морфология клеток, в то

² Арбовирусы – внетаксономическая группа вирусов, которые распространяются путём биологической трансмиссии в популяциях позвоночных хозяев кровососущими членистоногими.

³ До сих пор большинство противогриппозных вакцин изготавливается на основе вирусных штаммов, накопление которых производится на модели развивающихся куриных эмбрионов.

52 время как клетки, реплицированные в 3D формате на биологическом или
53 синтетическом каркасном материале, сохраняют нормальную морфологию.
54 Значительно различается при 2D- и 3D- культивировании уровень экспрессии
55 и расположение мембранных рецепторов. Это напрямую влияет на многие
56 параметры, в частности, на взаимодействие вируса с хозяином. Клетки в
57 монослое подвергаются стрессу, в связи с чем некоторые экспрессируемые
58 гены и белки претерпевают изменения и искажают реакцию на тестируемые
59 препараты или вакцинные композиции [36, 61, 62].

60 Первые исследования по культивированию органов и тканей относятся
61 к концу прошлого века, когда в 1897 г. немецкий ученый В. Лоеб опубликовал
62 данные о культивировании фрагментов щитовидной железы, почек и печени,
63 яичников кролика. Органы извлекались хирургическим путем, готовились
64 срезы тканей из органов, культивировались на кровяных сгустках плазмы и
65 сохранялись для последующего использования *in vitro*. С середины прошлого
66 столетия органные культуры нашли применение в вирусологических
67 исследованиях. В настоящее время использование органных культур в
68 вирусологии значительно расширилось в связи с появлением новых
69 технологических возможностей и разработкой 3D-клеточных культур.
70 Основными аспектами их применения являются культивирование и изучение
71 репродукции вирусов человека и животных, изучение механизмов
72 возникновения и развития вирусных инфекций, разработка и тестирование
73 противовирусных препаратов и вакцин и др.

74 *Цель обзора* – охарактеризовать различные типы трехмерных (3D)
75 клеточных культур и рассмотреть современные возможности и перспективы
76 их использования в вирусологических исследованиях.

77 *Методы получения культур органов и их типы*

78 Главная задача культивирования органов – поддерживать архитектуру
79 ткани и направлять ее на нормальное развитие. Для выращивания культуры
80 органов, как правило, применяются те же среды, что и для культуры тканей,

81 как жидкие, так и твердые. Начиная с 1930-х годов, использовались такие
82 методы, как подвешивание капель или культивирование на часовых стеклах.
83 Этот метод заключается в культивировании эксплантата (небольшого кусочка
84 живой ткани) на сгустке плазмы на часовом стекле, расположенном на
85 влажной подушечке из ваты. В 1954 году в качестве опоры для ватного листа
86 или фильтра, пропитанного питательной средой, была использована
87 металлическая сетка, поднимающая орган для роста на границе среды и
88 воздуха.

89 В настоящее время, разработаны новые методы, которые позволяют
90 клеткам расти в лабораторных условиях в сложной 3D архитектуре. Эти
91 методы в основном делятся на две категории: методы без каркасов и методы,
92 основанные на каркасах. Наиболее часто используемые методы 3D-
93 культивирования без каркаса – это суспензионное культивирование клеток на
94 неклеящихся пластинах или пластинах с ультранизким креплением, к которым
95 относятся методы магнитной левитации и микрофлюидики. Эти методы
96 основаны на том, что клетки собираются вместе, образуя сфероидальную
97 структуру, тем самым облегчая формирование 3D клеточной структуры без
98 каркаса. Несмотря на то, что методы 3D-культивирования клеток без каркаса,
99 как правило, быстрые и экономичные, их самым большим недостатком
100 является отсутствие компонента экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ).
101 Вследствие этого осуществляется только взаимодействие клетка-клетка, а
102 взаимодействие клетка-ЭЦМ отсутствует [30].

103 При воспроизведении методов 3D-культивирования клеток на основе
104 каркасов, в культуру добавляются компоненты ЭЦМ для получения
105 внеклеточных компонентов, имитирующих естественную физиологическую
106 среду. Для этой цели применяются коммерчески доступные каркасы или
107 подходящие компоненты ЭЦМ. В качестве каркасов используются природные
108 полимеры, такие как агар, альгинат, коллаген, гидроксиапатит, а также
109 биоразлагаемые синтетические полимеры, такие как поли-(этиленгликоль) и

110 поли- (лактид-ко-гликолид), имитирующие реальные ткани. Особое место
111 занимают альгинатные и прочие гидрогели, представляющие собой
112 трехмерные сети, состоящие из гидрофильных полимерных цепей,
113 сохраняющих свою структуру за счет сшивки отдельных цепей. Благодаря
114 широкому спектру природных и синтетических гидрогелей, подходящих для
115 создания каркасов с заданными физиологическими и механическими
116 свойствами, эффективно имитирующих ЭЦМ, они чрезвычайно полезны в
117 области тканевой инженерии и разработки лекарств [67, 79]. Содержание ЭЦМ
118 варьирует в зависимости от характеристик тканей и клеток, но сохраняются
119 два его основных компонента – белки (коллаген, эластин, фибронектин,
120 ламинин, фибриллин и т.д.) и протеогликаны (гепарансульфат,
121 хондроитинсульфат и т.д.) [57]. Взаимодействие клеток друг с другом и с ЭЦМ
122 очень важны с точки зрения клеточной полярности, играющей
123 непосредственную роль во взаимоотношениях вирус-хозяин, поскольку это
124 влияет на экспрессию соответствующего рецептора. По этой причине
125 исследование гетерологичных 3D-культур клеток привлекает внимание как
126 эффективный метод для вирусологических исследований.

127 Различают органные, органотипические и гистотипические 3D-
128 культуры. Органная культура клеток – это целый орган или его
129 репрезентативные части (небольшие фрагменты органов и тканей или тонкие
130 срезы органов), сохраняющие исходную структуру, количественное и
131 пространственное распределение клеток вне организма, максимально
132 приближенные к таковым в условиях *in vivo*. Органотипическая культура – это
133 3D-культура высокой плотности, включающая комбинацию различных клеток
134 в определенных пространственных соотношениях с возможностью
135 взаимодействовать и поддерживать структурную целостность.
136 Гистотипическая культура – 3D-культура клеток высокой плотности,
137 способных нарастать несколькими слоями, их плотность приближается к
138 плотности ткани *in vivo* и сохраняет частично или полностью все

139 особенности ткани. Размноженные клетки гистотипической культуры
140 выращивают отдельно до высокой плотности в трехмерной матрице или
141 образуют трехмерные агрегаты в суспензии. Главным отличием
142 органотипической культуры от гистотипической является введение
143 гетеротипического клеточного взаимодействия, включая диффузионные
144 паракринные эффекты и передачу сигналов, вовлекающих ЭЦМ. Взаимосвязь
145 клеток позволяет создать структурированное микроокружение, клеточную
146 полярность и усиленную дифференцировку.

147 К 3D-культурам относятся органоиды и сфероиды, получаемые
148 основанными на каркасах методами. Органоиды – это многоклеточные
149 самоорганизующиеся органы, полученные из плюрипотентных клеток (ПК),
150 включая индуцированные плюрипотентные клетки (иПК), а также из клеток
151 опухолевой ткани [31, 40, 47, 94]. Органоиды как система культивирования –
152 многообещающая модель между 2D- и 3D-культурами и моделями *in vivo*. Эта
153 модель позволяет исследовать сигнальные пути и редактировать геном клеток
154 в тканевом микроокружении, обычно состоящем из разнообразных и сложных
155 физических/химических взаимодействий между множеством
156 тканеспецифичных типов клеток, стволовых клеток, клеток иммунной
157 системы, стромальных клеток, а также растворимых факторов и ЭЦМ, но при
158 этом лишены многих недостатков живой системы *in vivo*. Органоиды можно
159 поддерживать в течение длительного времени, генетически модифицировать
160 и криоконсервировать, сохраняя их фенотипические характеристики.
161 Основной характеристикой органоида является имитация организации,
162 функциональности и генетической специфичности конкретной ткани или
163 органа *in vivo* [31, 32, 56, 65, 87]. Другими словами, органоиды представляют
164 собой миниатюрные и упрощенные версии органов (мини-органы), способные
165 в значительной степени воспроизводить структуру и физиологию органов
166 человека. На сегодняшний день разработаны органоидные модели различных
167 органов (кишечника, желудка, пищевода, печени, поджелудочной железы,

168 почек, мочевого пузыря, легких, головного мозга, сетчатки, яичников,
169 предстательной железы и др.).

170 Сфероиды – 3D-клеточные культуры, образующие в процессе
171 пролиферации сфероподобные образования. Система сфероидной 3D-
172 культуры позволяет клеткам расти и дифференцироваться в нескольких
173 направлениях. Сфероиды представляют скопления клеток широкого спектра
174 действия (например, опухолевых или эмбриональных клеток, гепатоцитов,
175 нервной ткани). Название «сфероиды» основано на наблюдении, что клетки
176 легкого хомяка, выращенные в суспензии, формировали почти идеальную
177 сферическую форму [38, 101]. Сфероиды могут быть получены либо
178 гомогенно (из одного типа клеток), либо гетерогенно (из разных типов клеток).
179 Для сфероидов в основном используются бессмертные клеточные линии.
180 Сфероиды являются более экономичными и простыми в приготовлении
181 структурами, их также называют «клеточными агрегатами» или
182 «органотипической культурой» [102]. Как органоиды, так и сфероиды
183 преимущественно используются при моделировании заболеваний, а также для
184 культивирования вирусов и в исследованиях вакцин и лекарственных
185 препаратов.

186 Другим типом 3D-культуры является «орган на чипе». Это система для
187 микропроточного (микрофлюидного) культивирования, которая позволяет
188 моделировать физиологическую среду органа или системы органов. Она
189 включает в себя микроканалы, регулирующие потоки жидкости, структуру
190 клеток, границы тканей и взаимодействие между тканью и органами.
191 Микрофлюидные модели способны преодолеть недостатки вышеописанных
192 моделей, главным образом, за счет пространственно-временной
193 управляемости, регулирования потоков жидкости и газа, физиологического
194 ограничения живой ткани, а также вследствие возможности
195 высокопроизводительного анализа при меньших размерах выборки, что
196 позволяет снизить стоимость исследований [95]. В последние годы «органы на

197 чипах» нашли применение в вирусологических исследованиях, в частности,
198 при изучении взаимодействий вируса и хозяина, а также при разработке
199 лекарственных препаратов и вакцин. На рынке представлены модели «орган
200 на чипе», которые разрабатываются практически для каждого органа.
201 Разработаны такие конструкции с датчиками для визуализации биологических
202 и физиологических изменений [70].

203 Для получения трехмерных клеточных культур и моделей органоидов
204 могут быть использованы биореакторы. Первоначально такие механические
205 устройства, позволяющие регулировать биологические и/или биохимические
206 процессы, были разработаны для минимизации влияния силы тяжести и
207 обеспечения возможности скопления клеток в жидкой среде с образованием
208 сфероидов. Благодаря способности тщательно отслеживать и обеспечивать
209 контролируемые и воспроизводимые изменения конкретных факторов
210 окружающей среды, биореакторы подходят для культивирования тканей
211 *in vitro* [70, 78]. По сравнению с другими методами биореакторы подходят для
212 крупномасштабного производства клеточных культур. Наиболее важным
213 преимуществом биореакторов перед другими методами является то, что они
214 обеспечивают одинаковые физические условия для всех клеток в динамичной
215 среде. Вследствие непрерывного перемещения резервуаров биореактора,
216 питательные вещества могут доставляться к клеткам различными способами.
217 Биореакторный подход часто используется в исследованиях взаимодействий
218 патоген-хозяин, т.к. позволяет сохранять экспрессию клеточных
219 поверхностных молекул, принимающих непосредственное участие в
220 проникновении вирусов в клетки. Биореакторы также могут использоваться в
221 целях скрининга противовирусных препаратов в доклинических
222 исследованиях [70, 78].

223 В качестве трехмерной модели клеток в последнее время большое
224 внимание привлекает модель 3D-биопечати благодаря имитации
225 физиологических условий, сложной архитектуры органов и микроокружения

226 тканей по сравнению с другими моделями. Высокое разрешение, получаемое
227 с помощью 3D-биопечати, обусловлено послойным расположением
228 биологических материалов, биохимических веществ и живых клеток для
229 изготовления тканевых структур. 3D-структуры, распечатанные на
230 биопринтере, широко применяются при изучении инфекционных
231 заболеваний, позволяя исследовать взаимодействие патоген-хозяин, а также
232 при производстве и испытании эффективности вакцин и разработке
233 лекарственных препаратов [66, 70, 89]. Используется несколько методов 3D-
234 биопечати, наиболее распространенными из которых являются экструзия,
235 струйная печать, лазерная обработка, стереолитография. Наиболее широко
236 применяемым является метод экструзионной биопечати вследствие его
237 удобства и низкой стоимости. В вирусологических исследованиях часто
238 требуется моделировать различные условия и определенные клеточные линии,
239 специфичные для каждого типа вируса. Благодаря избирательности лежащих
240 в основе 3D-печати факторов, технология биопечати позволяет создавать
241 широкий спектр тканей, которые являются точными 3D-моделями *in vitro* в
242 зависимости от типа вируса [34, 42, 66]. Например, сообщается о 3D-
243 биопечати человеческих моделей для исследования вируса гриппа А с
244 использованием каркаса, состоящего из 2% альгината и 3% желатина,
245 дополненного 20% матригелем [34].

246 *Органные культуры в вирусологии*

247 Вирусы – облигатные внутриклеточные паразиты, которым для
248 репликации требуются живые клетки. Культивирование клеток для
249 размножения и идентификации вирусов является важным разделом работы
250 вирусологической лаборатории. Многочисленные работы последних лет
251 свидетельствуют, что использование культур органов и 3D-культур позволяет
252 изучать множество аспектов вирусной инфекции (рисунок) [33, 65, 92, 101].

253 Поскольку модели 3D-клеточных культур могут быть сконструированы
254 по-разному в зависимости от задач исследования и типа вируса, они

255 применимы для широкого спектра вирусов. В значительной степени
256 требованиям лабораторных моделей в вирусологических исследованиях
257 соответствуют органоиды. Их органоподобная структура способствует
258 усилению вирусной тропности и увеличению вероятности развития вирусной
259 инфекции. Органоиды также представляют собой незаменимую модель для
260 межвидовой проверки новых вирусов. Применение органоидов значительно
261 расширило спектр вирусологических исследований, касающихся человека [65,
262 92, 101]. Прежде всего, органоидные модели применяют для выделения,
263 культивирования и изучения репродукции вирусов человека и животных,
264 которые проявляют сродство к определенным тканям органов. Например,
265 Нui К.Р.У. с соавт. (2018) пришли к выводу, что органоиды дыхательных путей
266 человека с реснитчатым эпителием обеспечивают родственную
267 физиологическую модель и могут быть использованы для изучения тропизма
268 и способности к размножению вирусов респираторных инфекций [58].
269 Культуры органов с реснитчатым эпителием успешно используются для
270 культивирования вирусов гриппа (Articulavirales: Orthomyxoviridae) типов
271 А (*Alphainfluenzavirus*), В (*Betainfluenzavirus*) и С (*Gammmainfluenzavirus*);
272 герпеса 1-го и 2-го типов (Herpesvirales: Herpesviridae, *Simplexvirus*);
273 респираторно-синцитиального вируса человека (Mononegavirales:
274 Pneumoviridae, *Orthopneumovirus*); парагриппа (Mononegavirales:
275 Paramyxoviridae) 1-го, 3-го (*Respirovirus*), 2-го, 4-го (*Rubulavirus*) типов;
276 Коксаки А21, полиовируса, риновирусов, эховируса 11 (Picornavirales:
277 Picornaviridae, *Enterovirus*) [37]. Для вирусологических исследований
278 респираторных инфекций сконструированы различные 3D-модели легких
279 человека. Например, разработана 3D-модель «бронхосфер» человека на основе
280 популяции первичных бронхоальвеолярных эпителиальных клеток [83], а
281 также 3D-культура органоидов на основе этих же клеток, которые
282 культивировались совместно с микрососудистыми эндотелиальными
283 клетками легких и фибробластами легких [95].

284 Интенсивно используются органоиды различных органов в качестве
285 моделей для исследования вирусов с тропизмом к соответствующим тканям.
286 Например, с использованием линии эмбриональных ПК (WA09) разработана
287 система кишечных органоидов человека и успешно протестирована для
288 культивирования ротавируса человека (Reovirales: Sedoreoviridae, *Rotavirus*).
289 Авторы отмечают, что репликация ротавируса в этой системе примерно в
290 10 раз была выше по сравнению с традиционным методом культивирования
291 при использовании линии эпителиальных клеток обезьян [46]. Кишечные
292 энтероиды человека использованы в качестве системы ранее
293 некультивируемого вируса Норфолк. В системе кишечных энтероидов этот
294 вирус реплицировался в интервале 1-24 ч после заражения, а компонент желчи
295 9a был установлен в качестве критически необходимого для его
296 репликации [45].

297 Наибольшую значимость органные культуры приобрели при изучении
298 особенностей иммунопатогенеза респираторных вирусных инфекций. В
299 настоящее время, разработано несколько моделей для изучения инфекции
300 вирусов гриппа А, В, С, включая модели тканей животных и человека *ex vivo*
301 и 3D-модели клеточных культур. Первый шаг в разработке и создании полной
302 3D-модели легких человека ознаменовала работа, в которой использовалась
303 модель первичных эпителиальных клеток дыхательных путей человека на 3D-
304 хитозан-коллагеновом каркасе для определения иммунофенотипа штаммов
305 вируса гриппа А субтипов H1N1 и H3N2 [35]. Berg J. с соавт. (2018) пришли к
306 выводу, что кластерная картина инфекции в 3D-культуре больше напоминает
307 естественный биологический процесс, наблюдаемый в легких человека, по
308 сравнению с развитием инфекции в 2D-культуре. Кроме того, распечатанные
309 на 3D-принтере клетки индуцировали базовый иммунный ответ с
310 высвобождением противовирусного IL-29 (IFN λ 1) [34]. Si L. с соавт. (2019)
311 разработали микрофлюидный чип дыхательных путей человека, в котором
312 продемонстрировали репликацию вируса гриппа А и его патогенетическое

313 воздействие на клетки хозяина. Результаты практического применения
314 разработки показали, что такой чип может быть альтернативным
315 доклиническим инструментом для испытания противовирусных препаратов и
316 вакцин [90].

317 Пандемия COVID-19, вызвавшая предельное напряжение системы
318 здравоохранения во всем мире [7, 21], стимулировала широкое применение
319 органоидов для исследования механизмов репродукции вирусов и их
320 взаимодействия с хозяином, механизмов возникновения и развития
321 заболевания и для дальнейших вирусологических исследований. Как известно,
322 передача SARS-CoV-2 среди людей происходит главным образом при
323 контакте с вирусосодержащими респираторными жидкостями, и эффективная
324 передача инфекции может происходить через слизистые оболочки рта, носа
325 или глаз [6, 14]. В связи с этим, органоиды легких или органоидоподобный
326 альвеолярный эпителий поддерживали репликацию SARS-CoV-2, что и
327 наблюдается клинически *in vivo* [53, 92]. Органоиды печени и тонкого
328 кишечника человека также поддерживают интенсивную репликацию SARS-
329 CoV-2 и могут служить моделью для исследования этой инфекции [69, 91,
330 103].

331 Siddiqi H.K. с соавт. (2021) предположили, что для инфицирования
332 крупных органов или тканей должны быть поражены капилляры, в связи с чем
333 на основе iPSC были разработаны капиллярные органоиды человека и затем
334 инфицированы SARS-CoV-2. Экспериментально продемонстрировано
335 наличие вирусной РНК в органоидах кровеносных сосудов, содержание
336 которой увеличивалось с 3-х по 6-ые сут, что указывает на активную
337 репликацию вируса. Авторы подтвердили, что COVID-19 является
338 сосудистым заболеванием и вызывает прямое повреждение эндотелия,
339 опосредуя мультисистемную дисфункцию [91]. Аналогичный эксперимент
340 был проведен на органоидах почек человека. В обоих экспериментах
341 инфицированные органоиды использовались для заражения клеток Vero E6,

342 свидетелствуя, что органоиды кровеносных сосудов и почек могут вызывать
343 инфицирование других тканей. При последующем добавлении человеческого
344 рекомбинантного растворимого ангиотензинпревращающего фермента 2-го
345 типа (АПФ-2), уровень инфицированности в органоидах снижался
346 дозозависимым образом. Полученные с применением органоидных моделей
347 данные внесли важную информацию в патогенез COVID-19. Кроме того,
348 получен положительный ответ на вопрос, может ли ингибирование
349 взаимодействия ключевого рецептора спайкового гликопротеина
350 коронавируса АПФ-2 с SARS-CoV-2 быть вариантом лечения пациентов с
351 COVID-19. Результаты исследования показали, что АПФ-2 может снизить
352 вирусную нагрузку в клетках Vero E6 в 1000–5000 раз. После культивирования
353 на клетках Vero E6 вирус секвенировали и установили, что hnsACE2
354 ингибирует прикрепление вируса к клеткам, и этот процесс является
355 дозозависимым [77].

356 Способность SARS-CoV-2 вызывать вторичные инфекции во многих
357 органах была подтверждена с использованием других органоидных моделей.
358 В результате всестороннего анализа жизненного цикла SARS-CoV-2 показано,
359 что органоиды толстой кишки способны инфицироваться, поддерживать
360 репликацию и репликацию SARS-CoV-2 *de novo*. Также показана защитная
361 роль IFNs III типа, специфичных для эпителия, на ранней стадии вирусной
362 инфекции [93]. Полученные авторами данные свидетельствуют о прямом
363 инфицировании кишечника и потенциальной передаче SARS-CoV-2 с
364 фекалиями и обосновывают более длительное выявление SARS-CoV-2 в
365 образцах кала во время клинического скрининга выздоравливающих
366 пациентов. Monteil V. с соавт. (2020) подтвердили, что после первичного
367 инфицирования эпителия дыхательных путей SARS-CoV-2 может
368 распространяться системно на другие ткани, такие как почки, печень,
369 кишечник, яички, головной мозг и вызывать их дисфункцию [77].

370 С целью исследования воздействия SARS-CoV-2 на центральную
371 нервную систему использованы органоиды человеческого мозга в качестве
372 модели для выяснения восприимчивости мозга к этому вирусу. В результате
373 исследования показано, что SARS-CoV-2 не реплицируется, но инфицирует
374 кортикальную область органоидов головного мозга человека [60, 81].

375 Для изучения вторичного повреждения альвеолярно-капиллярного
376 барьера и воспалительной реакции при коронавирусной инфекции
377 разработана микромодель альвеолярного чипа [102]. Аналогичным образом
378 для моделирования повреждения кишечника и иммунного ответа при этой
379 инфекции сконструирован «кишечник на чипе» [51]. Хотя в последнее
380 десятилетие успешно используются модели с единичным органом на чипе, они
381 все же являются неадекватными моделями для имитации сложности,
382 функциональности и целостности человеческих органов. Так, например,
383 поскольку фермент АПФ-2, являющийся специфической мишенью для SARS-
384 CoV-2, экспрессируется в различных органах, идеальная модель для более
385 точной имитации физиологической структуры внутренних органов должна
386 включать все взаимодействующие друг с другом ткани [71]. Для решения этой
387 проблемы используются модели с мультиорганным чипом (также известные
388 как «человек на чипе»), которые обеспечивают интегрированные
389 культивируемые клетки различных органов и тканей с использованием
390 микрофлюидных каналов. Такие модели подходят для вирусологических
391 исследований, особенно для разработки лекарств и вакцин [89, 92]. Несмотря
392 на то, что мультиорганные чипы пока еще имеют многочисленные проблемы,
393 на сегодняшний день ведутся широкие разработки с использованием 2, 3 и
394 даже 10 органных чипов, что увеличивает возможности вирусологических
395 исследований [92, 100]. Вслед за этими авторами можно полагать, что за
396 мультиорганными типами органоидов будущее.

397 Среди распространенных респираторных вирусов два пневмовируса
398 представляют угрозу для жизни человека в группах высокого риска:

399 респираторно-синцитиальный вирус и метапневмовирус человека
400 (Mononegavirales: Pneumoviridae, *Metapneumovirus*) являются наиболее
401 частыми этиологическими агентами острых инфекций нижних дыхательных
402 путей, а именно бронхоолита и пневмонии, и являются причиной примерно
403 50% случаев госпитализации в педиатрической практике [8, 82]. В ряде
404 эпидемиологических исследований сообщается о частых случаях совместного
405 выявления этих вирусов у пациентов [72, 76] в связи с чем необходимо было
406 выяснить механизмы взаимодействия этих вирусов, приводящие к обострению
407 заболевания. Кроме того, на сегодняшний день, не существует одобренных
408 противовирусных препаратов или вакцин против этих заболеваний. Chen Y.W.
409 с соавт. (2017) впервые применили модели органоидов легких человека для
410 исследования респираторно-синцитиального вируса человека [37]. Geiser J.
411 с соавт. (2021) провели исследования при моно- и коинфицировании этими
412 вирусами с применением 3D-культур эпителия дыхательных путей:
413 респираторно-синцитиальный вирус человека оказался менее патогенен по
414 сравнению с метапневмовирусом человека, но более чувствителен к действию
415 интерферонов. Нейтрализация IFN I и III при коинфекции частично
416 предотвращала ингибирование репродукции одного вируса другим и
417 значительно увеличивала количество коинфицированных клеток в ткани [49].
418 Таким образом, в этой работе дано новое представление о взаимодействии
419 пневмовирусов (вирус-хозяин и вирус-вирус) в эпителии дыхательных путей,
420 подчеркиваются различия в патогенезе этих инфекций и предполагается
421 участие клеток врожденного иммунитета во взаимодействиях вирус-хозяин и
422 вирус-вирус при одиночном и двойном инфицировании. Работа этих авторов
423 относится к числу первых исследований одиночного и двойного
424 инфицирования на модели *ex vivo*, которая морфологически и функционально
425 близка к эпителию дыхательных путей и представляет собой наиболее верный
426 подход к изучению вирусных респираторных инфекций человека.

427 В рамках одного обзора не представляется возможным
428 проанализировать обширные материалы по применению органных культур
429 при изучении инфекций, вызываемых вирусами гепатита А (Picornavirales:
430 Picornaviridae, *Hepatovirus*), В (Blubervirales: Hepadnaviridae,
431 *Orthohepadnavirus*) и С (Amarillovirales: Flaviviridae, *Hepacivirus*);
432 цитомегаловирусом человека (Herpesvirales: Herpesviridae, *Cytomegalovirus*);
433 папилломавирусом (Zurhausenvirales: Papillomaviridae, *Alphapapillomavirus*,
434 *Betapapillomavirus*, *Gamma papillomavirus*, *Murpapillomavirus* и
435 *Nurpapillomavirus*); вирусом Зика (Amarillovirales: Flaviviridae, *Flavivirus*) и
436 некоторых других.

437 *Изучение молекулярных механизмов патогенеза вирусных инфекций*

438 Органоиды представляют собой ценную модель для изучения
439 молекулярно-биологических особенностей возбудителей инфекционных
440 заболеваний, имеющих эпидемиологическое значение. Триггером для таких
441 исследований, как и по ряду других направлений, послужила пандемия
442 коронавирусной инфекции. Природным резервуаром SARS-CoV-2 являются
443 летучие мыши (Chiroptera, Microchiroptera) [14, 19], обладающие целым рядом
444 уникальных особенностей: способностью к активному полёту [25],
445 эхолокацией [16, 29], богатым паразитомом [26, 27, 28] и мощной иммунной
446 системой [25]. Вплоть до начала XX века эпидемический потенциал вирусов
447 летучих мышей оставался недооцененным [11, 14]. Серьёзный пересмотр
448 представлений о степени биологической опасности со стороны
449 бетакоронавирусов произошёл в начале XXI века, когда в 2022 г. на
450 территории Китая возникла масштабная эпидемия, связанная с коронавирусом
451 тяжёлого острого респираторного синдрома (SARS-CoV) из подрода
452 *Sarbecovirus* (тогда промежуточными хозяевами при межвидовом переходе
453 вируса от летучих мышей к человеку стали гималайские циветы (Carnivora:
454 Viverridae, *Paguma* sp.)) [13], затем ряд эпидемических вспышек, вызванных
455 коронавирусом Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) из

456 подрода *Merbecovirus* (промежуточные хозяева – одногорбые верблюды-
457 дромадеры (Cetartiodactyla: Camelidae, *Camelus dromedarius*)) [12] –
458 крупнейшей в результате завозного случая стала эпидемическая вспышка в
459 Республике Корея в мае-июле 2015 г. [18]. В конце 2019 г. SARS-CoV-2
460 преодолел межвидовой барьер и проник в человеческую популяцию, по-
461 видимому, используя в качестве промежуточного хозяина панголинов
462 (*Pholidota: Manidae*) [14, 15, 39, 68, 86], которые являются одним из наиболее
463 массовых объектов нелегальной торговли в Юго-Восточной Азии в интересах
464 восточной медицины [13]. Эволюционируя в человеческой популяции под
465 действием коллективного иммунитета в результате инфекционного процесса
466 и вакцинных мероприятий, SARS-CoV-2 сформировал несколько генотипов,
467 различающихся по уровню контагиозности и патогенности [7]. В период
468 пандемии вирус не только распространился по всей планете, но и получил
469 возможность формировать вторичные природные очаги, проникая от людей в
470 популяции животных. Наиболее известными примерами являются
471 эпизоотические процессы среди американских норок (*Carnivora: Mustelidae*,
472 *Neogale vison*) на зверофермах в Европе и Северной Америке, а также среди
473 белохвостых оленей (Cetartiodactyla: Cervidae, *Odocoileus virginianus*) в
474 Северной Америке [15]. В экспериментальных условиях SARS-CoV-2 вирус
475 способен с различной степенью эффективности вызывать инфекцию у
476 приматов (*Primates*), грызунов (*Rodentia*), зайцеобразных (*Lagomorpha*),
477 кошачьих (*Carnivora: Felidae*), хорьков и норок (*Carnivora: Mustelidae*,
478 *Mustelinae*), оленей (Cetartiodactyla: Cervidae). Менее чувствительными
479 хозяевами SARS-CoV-2 являются куры (*Gallus gallus domesticus*), утки
480 (*Anseriformes: Anatidae*), собаки (*Carnivora: Canidae*), свиньи (*Sus scrofa*) [6,
481 15].
482

483 По мнению многих авторов, по сравнению с клеточными культурами
484 органные культуры позволяют более эффективно выявлять и характеризовать
способность вирусов к межвидовым переходам, в том числе – адаптироваться

485
486
487
488
489
490
491
492
493
494
495
496
497

к организму человека [81, 87, 92]. Подобная информация необходима для разработки научно-обоснованных мероприятий по предотвращению возникновения опасных эпидемических ситуаций. Так, получены кишечные органоиды (энтероиды) китайского рыжего подковоноса (*Chiroptera*, *Microchiroptera*: *Rhinolophidae*, *Rhinolophus sinicus*), чувствительность которых к SARS-CoV-2 намного выше, чем у клеточных культур. Эти же авторы продемонстрировали интенсивную репликацию SARS-CoV-2 в органоидах кишечника человека и выделение активного вируса из образца кала пациента с COVID-19 при диарее [104]. Развитие желудочно-кишечных симптомов у некоторых пациентов с COVID-19 и обнаружение вирусной РНК в образцах кала позволили считать, что кишечный тракт человека может служить одним из путей передачи SARS-CoV-2, и этот вирус может вызывать кишечную инфекцию в дополнение к респираторной [104].

498
499
500
501
502
503
504
505
506

В настоящее время, ни в одном вирусологическом исследовании не сообщалось об использовании межвидовых органоидов для определения межвидовой восприимчивости новых вирусов животных и зоонозов, однако, как считает ряд авторов, такие исследования необходимы [23, 81, 87, 92]. Разработка межвидовых органоидных культур на основе клеток человека и животных способна обеспечить эффективную биологическую систему для подтверждения зоонозного потенциала вновь появляющихся вирусов. Межвидовые органоиды позволяют культивировать новые вирусы, не поддающиеся выращиванию в клеточных линиях [99].

507
508
509
510
511
512
513

В этой связи исследования с использованием органоидов человека оказались эффективными для изучения видоспецифической восприимчивости вируса гриппа А [56], обладающего высоким уровнем экологической пластичности и широким спектром потенциальных хозяев (в том числе – среди млекопитающих) [8, 17, 22, 50]. Органоиды дыхательных путей человека, содержащие основные типы эпителиальных клеток дыхательных путей, включая реснитчатые, бокаловидные, клубочковые и базальные клетки,

514 позволили выявить различную инфекционность новых вариантов вируса
515 гриппа А, особенно птичьего и эпидемического происхождения. Как показано
516 в ряде исследований, органоиды дыхательных путей человека ведут себя
517 аналогично культивируемым эксплантатам бронхов *ex vivo*. Это касается
518 тканевого/клеточного тропизма, размножения вируса и цитокинового ответа
519 на инфекцию [56]. Потенциал органоидов человека для изучения зоонозных
520 угроз существующих и вновь появляющихся вирусов значительно
521 усиливается благодаря возможности криоконсервирования [43].

522 *Разработка и тестирование лекарственных противовирусных препаратов*
523 *и вакцин*

524 В настоящее время, важнейшим аспектом использования 3D-культур
525 является тестирование лекарственных противовирусных препаратов и вакцин.
526 Если рассматривать шире вопросы оценки эффективности препаратов,
527 использование этой модели является многообещающим подходом не только в
528 разработке и тестировании лекарств, но и в целом стратегии
529 персонализированной медицины.

530 Типичный процесс скрининга новых лекарственных соединений
531 начинается с исследований на основе 2D-культуры клеток, за которыми
532 следуют тесты на животных моделях и, наконец, клинические испытания, при
533 этом, только 10% субстанций успешно их проходят. Многие
534 фармацевтические препараты не выдерживают клинических испытаний,
535 особенно на III, самой дорогостоящей стадии исследований, обычно потому,
536 что эти препараты не работают или имеют серьезные побочные эффекты [33].
537 3D-культуры клеток предоставляют альтернативные модели, которые
538 дополняют существующие экспериментальные системы для разработки новых
539 продуктов для диагностики, профилактики и лечения инфекционных
540 заболеваний. Высокая точность, воспроизводимость и экономическая
541 эффективность 3D-культивирования клеток обеспечивают мощный
542 инструмент скрининга лекарств и обладают огромным потенциалом для

543 валидации лекарств и их мишеней. Такие модели эффективно используются
544 для пересмотра механизмов действия и выяснения сигнальных путей действия
545 лекарственных препаратов в отношении различных вирусов, ранее
546 охарактеризованных с применением традиционных методов
547 культивирования [33, 55]. Так, органная модель эпителиальных клеток
548 дыхательных путей человека использована для оценки терапевтического
549 эффекта осельтамивира в отношении вируса гриппа А, коронавируса SARS-
550 CoV-2 и других вирусов, вызывающих ОРЗ [48]. При тестировании на
551 органоидах эпителия носа и бронхов ремдесивир и ремдесивир-дилтиазем
552 оказались эффективны против коронавирусной инфекции [80], а модель
553 органоидов легких, экспрессирующих АПФ-2 и способных поддерживать
554 инфекцию SARS-CoV-2, была успешно использована для скрининга
555 противовирусных препаратов (иматиниба, атебрина, микофеноловой кислоты)
556 [53]. По мнению некоторых авторов, технология «орган на чипе», ставшая
557 особенно популярной за последние 10 лет и позволяющая получить желаемый
558 искусственный орган для оценки влияния лекарственных препаратов,
559 наиболее пригодна для тестирования лекарств и, следовательно, реализует
560 подход к персонализированной медицине [59, 95].

561 Несмотря на широкое использование органоидов для
562 высокопроизводительного скрининга лекарств, авторы обзора [94] отмечают,
563 что идеальным вариантом для персонализированной медицины, является
564 технология PDO (patient-derived organoid), что значительно облегчает
565 тестирование лекарственных препаратов и генетический скрининг. Tayeb S.
566 с соавт. (2020) акцентируют внимание на том, что использование PDO
567 помогает точнее идентифицировать траекторию лечения для конкретного
568 пациента [96]. С этой целью разработка органоидных биобанков в отношении
569 различных заболеваний может оказать огромное влияние на индустрию
570 разработки лекарств и представляет интересное и важное направление
571 практической медицины в ближайшем будущем [94].

572 Разработка вакцин, как и лекарственных препаратов – долгий и
573 дорогостоящий процесс, который может продолжаться несколько лет. Прежде
574 чем выйти на рынок, вакцина должна пройти ряд этапов, включающих базовые
575 лабораторные исследования возбудителя, доклинические исследования
576 (*in vitro* и *in vivo*) и клинические испытания. До настоящего времени
577 доклинические исследования по разработке вакцин преимущественно
578 осуществляются с применением традиционных клеточных культур *in vitro* и с
579 использованием животных как единственной модели для доклинических
580 испытаний *in vivo*, демонстрирующих эффективность вакцины. Однако,
581 основной проблемой в этих исследованиях является неадекватная имитация
582 биологической системы организма с помощью доклинических тестов,
583 доступных в настоящее время и используемых для оценки иммуногенности и
584 токсичности вакцин [68, 97]. Иммуногенность вакцины – чрезвычайно
585 сложный процесс, в котором участвуют разнообразные клеточные и
586 гуморальные факторы иммунитета. Только имитируя биологические
587 компоненты *in vitro*, можно и необходимо изучить этот процесс в
588 доклинических исследованиях. В свете этого доклинические исследования
589 вакцины должны быть протестированы методами, включающими в первую
590 очередь компоненты иммунной системы [64].

591 Для устранения этих недостатков, касательно разработки и тестирования
592 вакцин, в последние годы также применяются технологии 3D-
593 культивирования клеток. Учитывая, что органоиды получены из клеток
594 человека, процесс адаптации вирусов в этой системе не является
595 необходимым, при этом у вирусного генома отсутствует либо относительно
596 низкий потенциал индуцирования генетических мутаций. Кроме того,
597 отсутствует потенциальный риск неблагоприятного воздействия белков из
598 клетки-хозяина нечеловеческого происхождения, что может быть еще одним
599 достоинством органоидов как системы культивирования вакцинных штаммов
600 [70, 97].

601 Уже первые исследования показали возможность производства
602 противовирусных вакцин на основе органоидов для широкого спектра
603 вирусов. Так, на органоидах миндалин человека произведена оценка
604 иммуногенности вакцин против вирус гриппа А и В, кори, эпидемического
605 паротита, бешенства и кандидатной вакцины против SARS-CoV-2 на основе
606 векторного AdV5. В частности, показано, что через 14 дней после вакцинации
607 органоидов гриппозной вакциной выявлены повышенные уровни
608 специфических IgG и IgA, а также значительное усиление активации CD8+ Т-
609 клеток по сравнению с контрольной группой [98]. Другие органоиды
610 (кишечника, желудка, пищевода, печени, почек, легких, головного мозга и др.)
611 также интенсивно применяются в качестве продуктивных систем для
612 вирусных вакцинных штаммов и тестирования противовирусных вакцин.
613 Например, органоиды головного мозга используют в отношении вируса Зика
614 [41], органоиды легких – респираторно-синцитиального вируса [37],
615 человеческие интестиноиды – ротавируса человека [46].

616 Органоиды особенно эффективны для тестирования вакцин против ряда
617 представителей некультивируемых вирусов: гепатита С, ротавируса,
618 норовируса. Использование органоидов также позволяет прогнозировать
619 нежелательные побочные эффекты и/или недостаточные иммунные реакции
620 вакцин, тем самым экономя время и деньги и избегая ненужных исследований
621 *in vivo*.

622 *Преимущества и перспективы применения 3D-клеточных культур*
623 *в вирусологии*

624 Органоиды более эффективно по сравнению с естественно
625 инфицированными образцами тканей воспроизводят вирусные инфекции в
626 лабораторных условиях [85]. Кроме того, на органоидах возможно
627 культивирование вирусов, которые не поддаются выращиванию в культурах
628 клеток, что нами отмечено выше. К таким случаям относится невозможность
629 найти подходящие клеточные линии для репликации и накопления вируса

630 дикого типа, вызывающего инфекцию *in vivo*. В отличие от клеточных
631 культур, органоиды представляют собой удобную альтернативу для
632 культивирования таких вирусов в лабораторных условиях. Наконец,
633 органоидные системы являются высокоинформативными и позволяют изучать
634 взаимодействие вирус-хозяин в более реалистичных условиях, чем в
635 монослое. В-четвертых, органоиды расширяют возможности системы
636 культивирования для поддержки репликации множества вирусов (включая
637 патогены других типов), имеющих разный клеточный тропизм, что
638 способствует изучению взаимодействия между коинфицированными агентами
639 и хозяином. Такого рода модели коинфекции (микст-инфекции) в большей
640 мере отражают сложные процессы при естественном инфицировании.
641 Использование органоидов для моделирования вирусных микст-инфекций
642 способствует лучшему пониманию патологических процессов и разработке
643 комплекса терапевтических мероприятий при синдромах или комплексах
644 заболеваний, вызываемых несколькими видами вирусов, что обычно
645 наблюдается в пищеварительном, респираторном и репродуктивном трактах
646 [56, 65, 75, 92].

647 К преимуществам использования органоидов следует добавить также их
648 потенциальную способность демонстрировать клинические признаки,
649 наблюдаемые при естественных вирусных инфекциях. Например,
650 инфицирование вирусом Зика приводило к уменьшению размера органоидов
651 человеческого мозга, имитируя микроцефалию, вызванную вирусом *in vivo*.
652 Исследования с использованием органоидов человеческого мозга также
653 способствовали пониманию нейротропизма и патогенеза других
654 нейротропных вирусов, включая вирус простого герпеса у новорожденных и
655 врожденный цитомегаловирус, вызывающий обширные неврологические
656 дефекты, такие как микроцефалия [44]. Кроме того, к преимуществам
657 относится возможность широкого применения органоидных моделей в
658 процедурах скрининга лекарств, что способствует разработке эффективной

659 стратегии лечения при вирусной инфекции [42, 44, 92] и производства вакцин
660 [70, 97]. Также применение органоидов в вирусологических исследованиях
661 позволяет избегать ряд этических проблем, возникающих при использовании
662 животных.

663 Что касается перспектив и задач, особую необходимость представляет
664 разработка межвидовых органоидных культур в вирусологических
665 исследованиях, их видоспецифическая оптимизация и характеристика [31, 56,
666 65]. В перспективных планах значится настоятельная потребность в
667 респираторно-легочных органоидах для моделирования респираторных
668 вирусных инфекций у животных, что будет способствовать увеличению
669 объема исследований респираторных инфекций [74, 84]. Также крайне важно
670 адаптировать технологию органоидов человека и разработать системы
671 органоидов животных для различных типов органов с целью изучения новых
672 вирусных зоонозов [40, 47, 65]. Как подчеркивают авторы ряда пилотных
673 исследований и авторитетных обзоров, разработка межвидовых органоидных
674 культур, особенно для эффективного изучения цикла заражения
675 эпизоотическими и зоонозными вирусами у различных видов домашних и
676 диких животных, а также и человека, приведет к значительному продвижению
677 вирусологических исследований [31, 56, 65, 85].

678 Для решения этих задач предложено несколько подходов [85]. Во-
679 первых, для включения иммунных и стромальных клеток эпителиальные
680 органоиды могут культивироваться совместно со стромальными клетками,
681 иммунными клетками (макрофаги, дендритные клетки и Т-клетки) и даже с
682 популяцией клеток кровеносных сосудов или лимфатических узлов.
683 Используя такую систему совместного культивирования, ряд авторов уже
684 успешно продемонстрировали взаимодействие эпителиальных и иммунных
685 клеток в осуществлении противовирусных ответов [56]. Во-вторых, для
686 включения различных органотипических функций может быть использована
687 система «орган на чипе», основанная на редуccionистском инженерном

688 подходе к культивированию клеток основных тканей; при этом для
689 культивирования клеток используется микрожидкостный 3D-чип. Такая
690 мультисистемная структура органоидов может быть пригодна для
691 исследования иммунометаболического и иммуноневрологического
692 взаимодействия, имеющего место в регуляции противовирусного ответа [31,
693 56]. В-третьих, с помощью передовых технологий органоидной инженерии
694 могут быть разработаны мультиорганоиды, включающие различные
695 физиологические ниши, такие, как компоненты иммунной системы и/или
696 микробиоты [55, 56, 75].

697 Задача по включению ниш иммунной системы и/или микробиоты в
698 органоидные системы требует особого внимания. Необходима обновленная
699 характеристика вклада микробиома в формирование вирусных инфекций и
700 противовирусного иммунитета. Так, энтероиды человека были восприимчивы
701 к заражению несколькими энтеровирусами, включая эховирус 11, Коксаки В и
702 энтеровирус 71. Однако способность индуцировать вирусоспецифические
703 противовирусные и воспалительные реакции зависела от клеточного состава
704 энтероидов. По мнению авторов, энтероиды обеспечивают экологический
705 центр для характеристики вирусоспецифического патогенеза, который также
706 включает противовирусные реакции в присутствии микробиома [56, 92].
707 Микробиота как важная часть микроокружения кишечного эпителия
708 оказывает влияние на физиологию хозяина и реакцию иммунной системы,
709 регулируя молекулярные и клеточные механизмы путем взаимодействия с
710 рецепторами на поверхности клеток-хозяев, а также за счет продуктов
711 метаболизма [32, 87]. Различные технологии позволяют объединить
712 микробиоту с органоидной технологией. Например, введение путем
713 микроинъекции штамма *Escherichia coli* ECOR2 (факультативного анаэроба
714 нормальной микрофлоры кишечника) в просвет кишечных органоидов,
715 полученных из гемопоэтических плюрипотентных клеток, способствовало
716 улучшению барьерной функции и целостности кишечного эпителия [55].

717 Важной проблемой, требующей решения, является стандартизация
718 органоидных систем. Поскольку большинство протоколов получения
719 органоидов основаны на самоорганизации стволовых клеток, органоиды могут
720 отличаться от партии к партии. Кроме того, затруднено обслуживание и
721 отслеживание очень сложных органоидных моделей. Необходимо разработать
722 метод, позволяющий надлежащим образом дополнять их питательными
723 веществами и кислородом и удалять отработанные вещества. В этой связи
724 имитация или воссоздание сосудистой системы должно быть приоритетом при
725 создании органоидов. Это позволит органоидам увеличиваться в размерах и
726 сохраняться в течение более длительного периода времени и, следовательно,
727 достигать большей зрелости на стадии своего развития [94].

728 Дальнейшие проблемы, связанные с применением органоидов в
729 вирусологических исследованиях, требуют существенной межвидовой
730 стандартизации и видоспецифической оптимизации условий культивирования
731 органоидных культур на высокопроизводительной платформе. В этом аспекте
732 проблематично использование разных вариантов разработанных в различных
733 лабораториях исходных материалов и кондиционированных сред. Особую
734 важность стандартные критерии и руководящие принципы приобретают при
735 разработке органоидов для моделирования инфекционных заболеваний
736 животных и человека [40, 56, 65]. Для использования в вирусологических и
737 других целях после создания органоидной культуры ее необходимо
738 охарактеризовать на предмет гетерогенности клеток и их дифференцировки
739 (т.е. экспрессии генов) в дополнение к динамическому мониторингу
740 морфологии органоида, т.е. дать молекулярную и клеточную характеристику,
741 что также требует стандартизованных реагентов [81, 87, 92].

742 Также требуется унифицировать стандарты контроля качества в
743 отношении сложной природы органоидных систем. В дополнение к
744 существующим коммерческим форматам, разработанным в первую очередь
745 для клеточных культур, для культивирования органоидов необходима

746 разработка мультиплексных методов культивирования, что облегчит
747 исследования в области системной вирусологии [56, 65, 92].

748 Следует остановиться и на недостатках и ограничениях современных
749 органоидных систем и 3D-культур. Как отмечает ряд исследователей,
750 органоидная технология и ее применение для моделирования заболеваний все
751 еще находятся в зачаточном состоянии [56, 65, 87]. Существует ряд
752 технологических проблем, требующих их усовершенствования относительно
753 применения в вирусологии. Одно из неотъемлемых ограничений заключается
754 в коротком сроке службы большинства органоидов и, как следствие, в их
755 незрелости по сравнению со зрелыми органами *in vivo*. Учитывая
756 необходимость моделирования вирусных инфекций во взрослом и даже в
757 стареющем состоянии, могут потребоваться некоторые физические или
758 биохимические стимулы для созревания органоидов [56, 65, 92]. Недавно
759 разработанный протокол криоконсервации органоидов может физически
760 увеличить продолжительность их существования [43].

761 Основной причиной сложности использования органных культур также
762 является поддержание их структурной целостности, тщательного соблюдения
763 специальных технологических инструкций и правил. Кроме того, их сложно
764 готовить, они с трудом поддаются биохимическому и молекулярному анализу.
765 Не существует охарактеризованного эталонного материала органных культур,
766 в то время как биохимический мониторинг требует воспроизводимости
767 образцов этих культур. Наиболее значимые проблемы использования
768 органных культур связаны с гибелью внутренних слоев клеток в крупных
769 органоидах из-за отсутствия васкуляризации. Наконец, трехмерные культуры
770 не могут полностью заменить тестирование *in vivo*, например, на
771 нокаутированных животных [105].

772 2 Заключение

773 Подводя итоги и оценивая преимущества и недостатки трехмерных 3D-
774 клеточных культур, отметим, что с начала текущего столетия эти культуры

775 широко используются в различных областях биомедицинских исследований и,
776 в частности, в вирусологии.

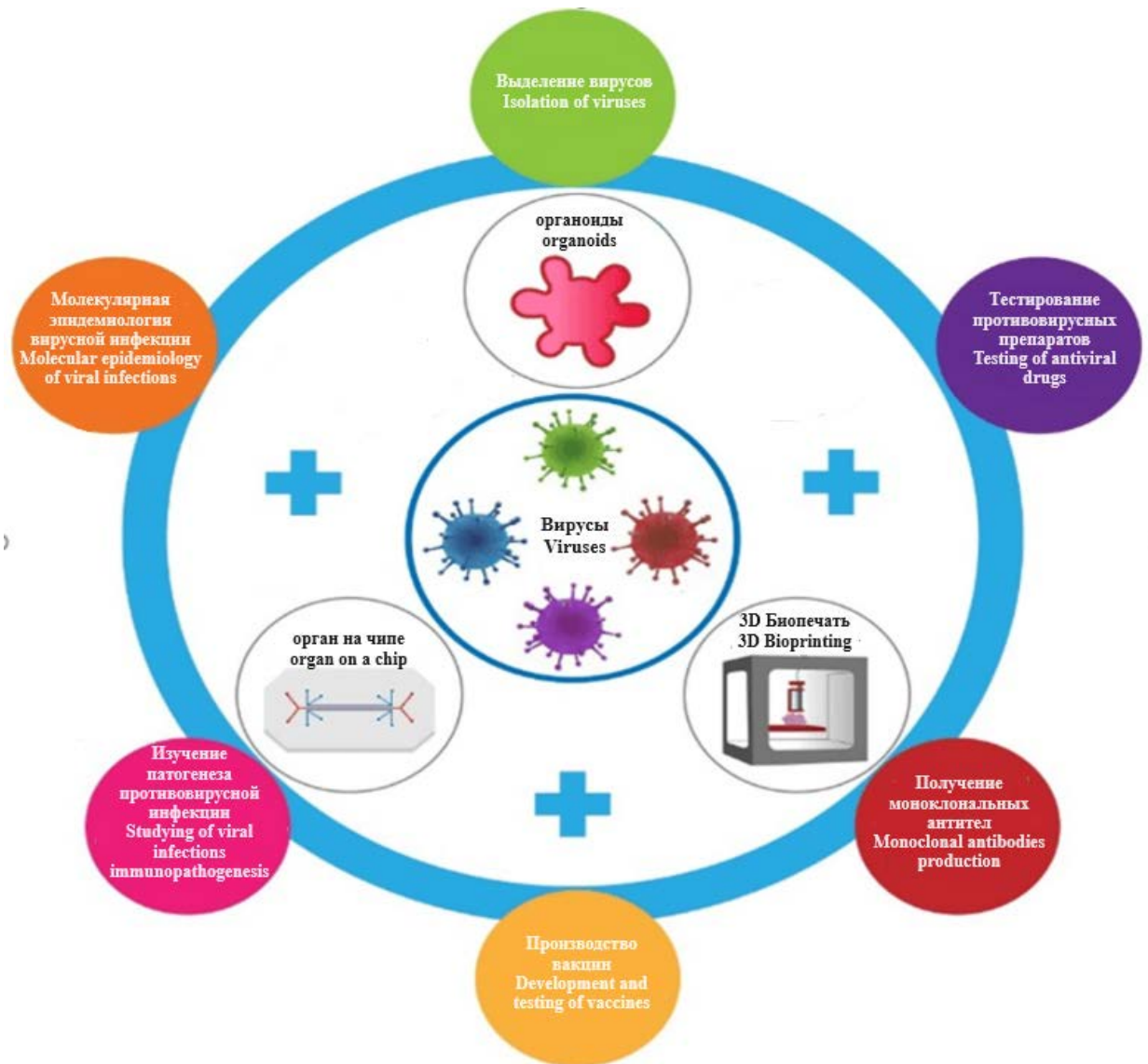
777 Наиболее многообещающими типами культур для вирусологических
778 исследований являются такие 3D-системы, как органоиды и «орган на чипе».
779 Органоиды существенно расширили вирусологические исследования
780 применительно к человеку. Органоидные системы используют
781 самоорганизующиеся свойства стволовых клеток для моделирования
782 многоклеточных аналогов тканей органов. Обладая промежуточными
783 свойствами между обычной клеточной культурой и моделями на животных,
784 органоиды имеют множество неоспоримых преимуществ применения в
785 вирусологии и вызывают огромный интерес для моделирования заболеваний.
786 Эти модели являются высокоинформативными для культивирования и
787 изучения взаимодействий вирус-хозяин в отношении различных вирусов, а
788 также служат наилучшими моделями для скрининга лекарств и исследований
789 по разработке вакцин. Также 3D-клеточные системы нашли применение для
790 изучения различных проблем вирусологии.

791 Проведенный нами анализ результатов применения различных 3D-типов
792 клеточных культур (органоиды, микрофлюидные методы («орган-на-чипе»),
793 модели с биопечатью) при исследовании высокопатогенных и смертельно
794 опасных респираторных вирусов – вируса гриппа А, SARS-CoV-2 и других
795 вирусных инфекций показывает, что использование этих моделей
796 способствует расширению сведений о патогенезе и выявлению оптимальных
797 лекарственных препаратов и вакцин. В конечном итоге представленные
798 данные важны для разработки средств профилактики вирусных инфекций и
799 соответствующих методов лечения больных.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Современные возможности трехмерных (3D) клеточных культур (органоиды, орган-на-чипе, 3D-биопечать) в вирусологии.

Figure 1. Modern possibilities of three-dimensional (3D) cell cultures (organoids, organ on a chip, 3D bioprinting) in virology.



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Кузнецова Татьяна Алексеевна, д.м.н., главный научный сотрудник лаборатории биопрепаратов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия;

адрес: 690087, Россия, Приморский край, г. Владивосток, ул. Сельская, д. 1;

ORCID: 0000-0002-4315-6959;

телефон: 8(423)244-2446;

e-mail: takuznets@mail.ru

Tatyana A. Kuznetsova – D. Sci. (Med.), chief researcher, Laboratory of biopreparates, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing;

address: 690087, Russia, Vladivostok, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor;

ORCID: 0000-0002-4315-6959;

telephone: 8(423)244-2446;

e-mail: takuznets@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Алиев Максим Романович, лаборант-исследователь лаборатории биопрепаратов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия; магистрант Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета;

ORCID: 0000-0003-1676-1405

Maxim R. Aliev – technician-researcher, Laboratory of biopreparates, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; Graduate Student of the School of Medicine and Life Sciences of the Far Eastern Federal University;

ORCID: 0000-0003-1676-1405

Михалко Анастасия Анатольевна, лаборант-исследователь лаборатории респираторных инфекций ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия; студентка Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета;

Anastasia A. Mikhalko – technician-researcher, Laboratory of respiratory infections, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; Student of the School of Medicine and Life Sciences of the Far Eastern Federal University;

ORCID: 0000-0001-8939-3696

Щелканов Михаил Юрьевич, д.б.н., директор ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Россия; заведующий кафедрой эпидемиологии, микробиологии и паразитологии Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета;

Mikhail Yu. Shchelkanov – D. Sci. (Biol.), Director, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Parasitology of the School of Medicine and Life Sciences of the Far Eastern Federal University

ORCID: 0000-0001-8610-7623

Блок 3. Метаданные статьи

3D КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В
ВИРУСОЛОГИИ

3D CELL CULTURES: PROSPECTS FOR USE IN VIROLOGY

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

3D КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ
3D CELL CULTURES

Ключевые слова: 3D клеточные культуры, органоиды, орган на чипе, биопечать 3D, вирусные инфекции, вирусологические исследования ex vivo, моделирование механизмов патогенеза.

Keywords: 3D cell culture, organoids, organ on a chip, bioprinting 3D, viral infections, ex vivo virological research, pathogenesis mechanism modeling.

Обзоры.

Количество страниц текста – 29, количество таблиц – 0, количество рисунков – 1.

03.05.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядк овый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1	Дерябин П.Г., Львов Д.К., Исаева Е.И., Данлыбаева Г.А., Подчерняева Р.Я., Щелканов М.Ю. Спектр клеточных линий позвоночных, чувствительных к высокопатогенным вирусам гриппа А/крачка/Южная Африка/61 (H5N3) и А/крачка/Новосибирск/56/05 (H5N1) // <i>Вопросы вирусологии</i> . 2007. <i>Т. 52. № 1. – С. 45-47.</i>	Deryabin P.G., Lvov D.K., Isaeva E.I., Danlybaeva G.A., Podchernyaeva R.Ya., Shchelkanov M.Yu. Spectrum of vertebrate cell lines sensitive to highly pathogenic influenza virus A/tern/South Africa/61 (H5N3) and A/tern/Novosibirsk/56/05 (H5N1) // <i>Questions of Virology</i> . 2007. <i>vol. 52. № 1. P. 45-47. (In Russ.)</i>	URL: https://elibrary.ru/hzfsuj
2	Кацнельсон З.С. Клеточная теория в ее историческом развитии. <i>Л.: Медгиз, 1963. 344 с.</i>	Katsnelson Z.S. Cell theory in its historical development. <i>L.: Medgiz, 1963. 344 p.</i> (In Russ.)	
3	Колобухина Л.В., Меркулова Л.Н., Щелканов М.Ю., Бурцева Е.И., Лаврищева В.В., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Прилипов А.Г.,	Kolobukhina L.V., Merkulova L.N., Shchelkanov M.Yu., Burtseva E.I., Lavrishcheva V.V., Samokhvalov E.I., Alkhovsky S.V., Prilipov A.G., Proshina E.	URL: https://elibrary.ru/nzsewr

	<p>Прошина Е.С., Авдеев С.Н., Суточникова О.А., Базарова М.В., Келли Е.И., Церукалова Н.Д., Бланк И.А., Шестакова О.М., Коливашко О.Н., Арсенева Т.В., Амброси О.Е., Шульдяков А.А., Попов А.Ф., Симакова А.И., Малышев Н.А., Чучалин А.Г., Львов Д.К. Пандемический грипп в России: отличительные особенности клинического течения и отсутствие ранней этиотропной терапии как фактор риска развития тяжёлых форм заболевания // <i>Терапевтический архив</i>. 2011. Т. 83. № 9. С. 48-53.</p>	<p>S.S., Avdeev S.N., Sutochnikova O.A., Bazarova M.V., Kelly E.I., Tserukalova N.D., Blank I.A., Shestakova O.M., Kolivashko O.N. , Arseneva T.V., Ambrosi O.E., Shuldyakov A.A., Popov A.F., Simakova A.I., Malyshev N.A., Chuchalin A.G., Lvov D.K. Pandemic influenza in Russia: distinctive features of the clinical course and the lack of early etiotropic therapy as a risk factor for the development of severe forms of the disease // <i>Therapeutic archive</i>. 2011. vol. 83. No. 9. P. 48-53. (In Russ.)</p>	
4	<p>Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристова В.А., Бутенко А.М., Галкина И.В., Громашевский В.Л., Давыдова А.А., Колобухина Л.В., Львов С.Д., Щелканов М.Ю. Атлас распространения возбудителей природноочаговых вирусных</p>	<p>Lvov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., Butenko A.M., Galkina I.V., Gromashevsky V.L., Davydova A.A., Kolobukhina L.V., Lvov S.D., Shchelkanov M.Yu. Atlas of the distribution of pathogens of natural focal viral infections on the territory of the</p>	<p>URL: https://elibrary.ru/tzngoh</p>

	инфекций на территории Российской Федерации. – М.: Изд-во НИЦ ТМГ МЗ РФ, 2001. 192 с.	Russian Federation. M.: Publishing house NPC TMG Ministry of Health of the Russian Federation, 2001. 192 p. (In Russ.)	
5	Медицинская вирусология / Ред.: академик РАМН Д.К. Львов. М.: МИА, 2008. 655 с.	Medical virology / Ed.: Academician of the Russian Academy of Medical Sciences D.K. Lvov. M.: MIA, 2008. 655 p. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/qlqvsr
6	Никифоров В.В., Колобухина Л.В., Сметанина С.В., Мазанкова Л.Н., Плавунцов Н.Ф., Щелканов М.Ю., Суранова Т.Г., Шахмарданов М.З., Бургасова О.А., Кардонова Е.В., Базарова М.В., Антипят Н.А., Серова М.А., Орлова Н.В., Забозлаев Ф.Г., Кружкова И.С., Кадышев В.А. Новая коронавирусная инфекция (COVID-19): этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение и профилактика. Учебно-методическое пособие. М.: Департамент здравоохранения города Москвы, 2020. 71 с.	Nikiforov V.V., Kolobukhina L.V., Smetanina S.V., Mazankova L.N., Plavunov N.F., Shchelkanov M.Yu., Suranova T.G., Shakhmardanov M.Z., Burgasova O.A., Kardonova E.V., Bazarova M.V., Antipyat N.A., Serova M.A., Orlova N.V., Zabozylaev F.G., Kruzhkova I.S., Kadyshev V.A. Novel coronavirus infection (COVID-19): etiology, epidemiology, clinics, diagnostics, treatment, and prophylaxis. Educational and methodological guide. Moscow: Department of Public Health of Moscow city, 2020. 71 p. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/hgqiyk

7	<p>Попова А.Ю., Щелканов М.Ю., Крылова Н.В., Белик А.А., Семейкина Л.М., Запорожец Т.С., Смоленский В.Ю., Персиянова Е.В., Присянникова М.Н., Белов Ю.А., Иунихина О.В., Потт А.Б., Хомичук Т.Ф., Симакова А.И., Абрамова С.А., Романова О.Б., Детковская Т.Н., Крыжановский С.П., Беседнова Н.Н. Генотипический портрет SARS-CoV-2 на территории Приморского края в период пандемии COVID-19 // <i>Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии</i>. 2024. Т. 101. № 1. С. 19–35.</p>	<p>Popova A.Yu., Shchelkanov M.Yu., Krylova Natalia V., Belik A.A., Semeikina L.M., Zaporozhets T.S., Smolenskiy V.Yu., Persianova E.V., Prosyannikova M.N., Belov Yu.A., Iunikhina O.V., Pott A.B., Khomichuk T.F., Simakova A.I., Abramova S.A., Romanova O.B., Detkovskaya T.N., Kryzhanovskiy S.P., Besednova N.N. Genotypic portrait of SARS-CoV-2 in Primorsky Krai during the COVID-19 pandemic. <i>Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology</i>. 2024. vol. 101. no 1. pp.19–35. doi: (In Russ.</p>	DOI:10.36233/0372-9311-497
8	<p>Пульмонология. Национальное руководство. Краткое издание / Ред.: А.Г. Чучалин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 768 с.</p>	<p>Pulmonology. National leadership. Short edition / Ed.: A.G. Chuchalin. M.: GEOTAR-Media, 2020. 768 p. (In Russ.)</p>	URL: https://geotar.ru
9	<p>Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / Ред.: академик РАН Д.К. Львов. – М.: МИА, 2013. 1200 с.</p>	<p>Guide to Virology. Viruses and viral infections of humans and animals / Ed.: Academician of the Russian Academy of</p>	URL: https://elibrary.ru/tlzmhf

		Sciences D.K. Lvov. <i>M.: MIA, 2013. 1200 p. (In Russ.)</i>	
10	Толкач В.Ф., Какарека Н.Н., Волков Ю.Г., Козловская З.Н., Сапоцкий М.В., Плешакова Т.И., Дьяконов К.П., Щелканов М.Ю. Вирусные болезни овощных и бахчевых сельскохозяйственных культур на юге Дальнего Востока // <i>Юг России: экология, развитие. 2019. Т. 14. № 4. С. 121–133.</i>	Tolkach V.F., Kakareka N.N., Volkov Yu.G., Kozlovskaya Z.N., Sapotsky M.V., Pleshakova T.I., Dyakonov K.P., Shchelkanov M.Yu. Viral diseases of vegetable and melon crops in the south of the Far East // <i>South of Russia: ecology, development. 2019. vol. 14., No. 4. pp. 121-133. (In Russ.)</i>	DOI:10.18470/1992-1098-2019-4-121-133
11	Шестопапов А.М., Кононова Ю.В., Гаджиев А.А., Гуляева М.А., Васфи М.М., Алексеев А.Ю., Джамалутдинов Д.М., Щелканов М.Ю. Биоразнообразие и эпидемический потенциал коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) рукокрылых // <i>Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15. № 2. С. 17–34.</i>	Shestopalov A.M., Kononova Y.V., Gadzhiev A.A., Gulyaeva M.A., Vasfi M.M., Alekseev A.Yu., Jamalutdinov J.M., Shchelkanov M.Yu. Biodiversity and epidemic potential of Chiropteran coronaviruses (Nidovirales: Coronaviridae). <i>South of Russia ecology development. 2020. vol. 15. No 2, pp. 17-34 (In Russ.)</i>	DOI:10.18470/1992-1098-2020-2-17-34

12	Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Ближневосточный респираторный синдром: когда вспыхнет тлеющий очаг? // <i>Тихоокеанский медицинский журнал</i> . 2015. № 2. С. 94–98.	Shchelkanov M.Yu., Ananiev V.Yu., Kuznetsov V.V., Shumatov V.B. Middle East respiratory syndrome: when will smouldering focus outbreak? <i>Tikhookeanskiy meditsin-skiy zhurnal = Pacific Medical Journal</i> , 2015, no. 2, pp. 94-98. (In Russ.)	-
13	Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Коронавирусы человека (Nidovirales, Coronaviridae): возросший уровень эпидемической опасности // <i>Лечащий врач</i> . 2013. № 10. С. 49–54.	Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Human coronaviruses (Nidovirales, Coronaviridae): increased level of epidemic threat. <i>Lechashchiy vrach = The Attending Physician</i> , 2013, no. 10, pp. 49-54. (In Russ.)	-
14	Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) // <i>Инфекция и иммунитет</i> . 2020. Т. 10, № 2. С. 221–246.	Shchelkanov M.Yu., Popova A.Yu., Dedkov V.G., Akimkin V.G., Maleev V.V. Research history of coronaviruses. <i>Russian Journal of Infection and Immunity</i> . 2020, vol. 10, no. 2, pp. 221-246. (In Russ.)	DOI: 10.15789/2220-7619-HOI-1412

15	Щелканов М.Ю. Этиология COVID-19 / В кн.: COVID-19: от этиологии до вакцинопрофилактики. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2023. С. 11–53.	Shchelkanov M.Yu. Etiology of COVID-19 / In book: COVID-19: from etiology to vaccination. A guide for doctors. M.: GEOTAR-Media, 2023. pp. 11–53. (In Russ.)	DOI: 10.33029/9704-7967-4-COV-2023-1-288
16	Щелканов Е.М., Уколов С.С., Дунаева М.Н., Москвина Т.В., Попов И.А., Белов Ю.А., Какарека Н.Н., Ганзевич А.В., Толкач В.Ф., Волков Ю.Г., Галкина И.В., Щелканов М.Ю. Эхолокация рукокрылых (Chiroptera Blumenbach, 1779) как элемент их экологической пластичности // Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15. № 4. С. 6-20.	Shchelkanov E.M., Ukolov S.S., Dunaeva M.N., Moskvina T.V., Popov I.A., Belov Yu.A., Kakareka N.N., Ganzevich A.V., Tolkach V.F., Volkov Yu.G., Galkina I.V., Shchelkanov M.Yu. Echolocation of bats (Chiroptera Blumenbach, 1779) as an element of their ecological plasticity // <i>South of Russia: Ecology, Development</i> . 2020. V. 15. N 4. P. 6-20. (In Russ.)	DOI: 10.18470/1992-1098-2020-4-6-20
17	Щелканов М.Ю. Эволюция высоковирулентного вируса гриппа А (H5N1) в экосистемах Северной Евразии (2005–2009 гг.). Дис. ... д.б.н. (03.02.02 – Вирусология). – М.: НИИ вирусологии	Shchelkanov M.Yu. Evolution of the highly virulent influenza A virus (H5N1) in the ecosystems of Northern Eurasia (2005–2009). Dis. ... doctor of biological sciences (03.02.02 – Virology). M.: Research Institute of Virology named after. DI. Ivanovsky RAMS, 2010. 488 p. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/tzheut

	им. Д.И. Ивановского РАМН, 2010. 488 с.		
18	Щелканов М.Ю., Власов Н.А., Киреев Д.Е., Славский А.А., Гребенникова Т.В., Прилипов А.Г., Забережный А.Д., Алипер Т.И., Кирюхин С.Т., Петренко М.С., Крашенинников О.П., Непоклонов Е.А., Онищенко Г.Г., Дерябин П.Г., Львов Д.К. Клинические признаки заболевания у птиц, вызванного высокопатогенными вариантами вируса гриппа А/Н5N1, в эпицентре эпизоотии на юге Западной Сибири (июль 2005 г.) // <i>Журнал инфекционной патологии.</i> 2005. Т. 12. N 3–4. P. 121–124.	Shchelkanov M.Yu., Vlasov N.A., Kireev D.E., Slavsky A.A., Grebennikova T.V., Prilipov A.G., Zaberezhny A.D., Aliper T.I., Kiryukhin S.T., Petrenko M.S., Krasheninnikov O.P., Nepoklonov E.A., Onishchenko G.G., Deryabin P.G., Lvov D.K. Clinical symptoms of bird disease provoked by highly pathogenic variants of influenza A/H5N1 virus in the epicenter of epizooty on the South of Western Siberia // <i>Journal of Infection Pathology.</i> 2005. V. 12. № 3–4. pp. 121- 124. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/xhalux
19	Щелканов М.Ю., Дунаева М.Н., Москвина Т.В., Воронова А.Н., Кононова Ю.В., Воробьева В.В., Галкина И.В., Янович В.А., Гаджиев А.А., Шестопапов А.М.	Shchelkanov M.Yu., Dunaeva M.N., Moskvina T.V., Voronova A.N., Kononova Yu.V., Vorobyova V.V., Galkina I.V., Yanovich V.A., Gadzhiev A.A., Shestopalov A.M.	DOI: 10.18470/1992-1098-2020-3- 6-30

	Каталог вирусов рукокрылых (2020) // Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15. № 3. С. 6–30.	Catalogue of bat viruses (2020) // <i>South of Russia: Ecology, Development</i> . 2020. V. 15. N 3. pp. 6-30 (In Russ.)	
20	Щелканов М.Ю., Какарека Н.Н., Волков Ю.Г., Толкач В.Ф. Становление фитовирусологии на Дальнем Востоке в контексте развития отечественной вирусологии. – Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2022. 142 с.	Shchelkanov M.Yu., Kakareka N.N., Volkov Yu.G., Tolkach V.F. The formation of phytovirology in the Far East in the context of the development of domestic virology. <i>Vladivostok: FEFU Publishing House</i> , 2022. 142 p. (In Russ.)	DOI: 10.24866/7444-5353-4
21	Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Бургасова О.А., Кружкова И.С., Малеев В.В. COVID-19: этиология, клиника, лечение // <i>Инфекция и иммунитет</i> . 2020. Т. 10. № 3. С. 421–445.	Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Burgasova O.A., Kruzhkova I.S., Maleev V.V. COVID-19: etiology, clinic, treatment // <i>Russian Journal of Infection and Immunity</i> . 2020. V. 10. N 3. P. 421-445. (In Russ.)	DOI: 10.15789/2220-7619-CEC-1473
22	Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Новый субтип вируса гриппа А от летучих мышей и новые задачи эколого-вирусологического мониторинга // <i>Вопросы вирусологии</i> . 2012. Приложение 1. С. 159–168.	Shchelkanov M.Yu., Lvov D.K. New subtype of influenza A virus from bats and new tasks for ecologo-virological monitoring // <i>Questions of in Virology</i> . 2012. Supplement 1. P. 159-168. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/qjanvz

23	<p>Щелканов М.Ю., Львов Д.Н., Федякина И.Т., Баранов Н.И., Гореликов В.Н., Резник В.Я., Здановская Н.И., Пуховская Н.М., Авдошина Л.Н., Шапиро Н.П., Снеткова И.П., Кожан В.Н., Яровенко Г.М., Калаева Е.Е., Громова М.А., Еловский О.В., Еремеева Ю.В., Довгаль М.А., Кученков А.А., Ананьев В.Ю., Буртник В.И., Иванов Л.И., Гарбуз Ю.А., Подолянко И.А., Григорьев С.Н., Прошина Е.С., Самохвалов Е.И., Альховский С.В., Бурцева Е.И., Прилипов А.Г., Аббасова Е.И., Мироненко Е.С., Колобухина Л.В., Дерябин П.Г., Отт В.А., Маслов Д.В., Янович В.А., Львов Д.К. Динамика распространения пандемического гриппа А / H1N1 sw1 на Дальнем Востоке в 2009 г. // <i>Вопросы вирусологии. 2010. Т. 55. № 3. С. 10– 15.</i></p>	<p>Shchelkanov M.Yu., Lvov D.N., Fedyakina I.T., Baranov N.I., Gorelikov V.N., Reznik V.Ya., Zdanovskaya N.I., Pukhovskaya N.M., Avdoshina L. N.N., Shapiro N.P., Snetkova I.P., Kozhan V.N., Yarovenko G.M., Kalaeva E.E., Gromova M.A., Elovsky O.V., Eremeeva Yu.V. , Dovgal M.A., Kuchenko A.A., Ananyev V.Yu., Burtnik V.I., Ivanov L.I., Garbuz Yu.A., Podolyanko I.A., Grigoriev S.N., Proshina E.S., Samokhvalov E.I., Alkhovsky S.V., Burtseva E.I., Prilipov A.G., Abbasova E.I., Mironenko E.S., Kolobukhina L.V., Deryabin P. O.G., Ott V.A., Maslov D.V., Yanovich V.A., Lvov D.K. Dynamics of the spread of pandemic influenza A / H1N1 sw1 in the Far East in 2009 // <i>Questions of Virology. 2010. vol. 55. No. 3. pp. 10-15.</i> (In Russ.)</p>	<p>URL: https://elibrary.ru/muekiz</p>
----	--	--	---

24	Щелканов М.Ю., Пашкова Т.А., Сахурия И.Б., Папуашвили М.Н., Карамов Э.В. Анализ биологических характеристик первичных изолятов ВИЧ-1 с помощью метода главных компонент // <i>Вопросы вирусологии</i> . 1998. Т. 43. № 3. С. 117–121.	Shchelkanov M.Yu., Pashkova T.A., Sakhuriya I.B., Papuashvili M.N., Karamov E.V. Analysis of the biological characteristics of primary HIV-1 isolates using the principal component method // <i>Questions of Virology</i> . 1998. vol. 43. No. 3. pp. 117-121. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/mqdzqr
25	Щелканов М.Ю., Табакаева Т.В., Любченко Е.Н., Короткова И.П., Щелканов Е.М., Панкратов Д.В., Дунаева М.Н., Суровый А.Л., Кузнецова Т.А., Цыбульский А.В., Иунихина О.В., Кожушко А.А., Белов Ю.А., Уколов С.С., Дробот Е.И., Иванчук Г.В., Табакаев А.В., Жилин Р.А., Галкина И.В. Рукокрылые: общая характеристика отряда. <i>Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2021. 130 с.</i>	Shchelkanov M.Yu., Tabakaeva T.V., Lyubchenko E.N., Korotkova I.P., Shchelkanov E.M., Pankratov D.V., Dunaeva M.N., Surovy A.L., Kuznetsova T.A., Tsybulsky A.V., Iunikhina O.V., Kozhushko A.A., Belov Yu.A., Ukolov S.S., Drobot E.I., Ivanchuk G.V., Tabakaev A.V., Zhilin R.A., Galkina I.V. Chiropterans: General characteristic of the order. <i>Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2021. 130 p.</i> (In Russ.)	DOI: 10.24866/7444-5119-6
26	Щелканов М.Ю., Табакаева Т.В., Щелканов Е.М., Алиев М.Р., Толкач В.Ф., Какарека Н.Н., Масловский К.С., Волков Ю.Г.,	Shchelkanov M.Yu., Tabakaeva T.V., Shchelkanov E.M., Aliyev M.R., Tolkach V.F., Kakareka N.N., Maslovsky K.S., Volkov Yu.G.,	DOI: 10.24866/7444-5404-3

	Галкина И.В. Насекомые-эктопаразиты рукокрылых. <i>Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2022. 242 с.</i>	Galkina I.V. Insects-ectoparasites of chiropterans. <i>Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2022. 242 p. (In Russ.)</i>	
27	Щелканов М.Ю., Табакаева Т.В., Щелканов Е.М., Панкратов Д.В., Табакаев А.В., Галкина И.В. Паукообразные-эктопаразиты рукокрылых. – <i>Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2022. 126 с.</i>	Shchelkanov M.Yu., Tabakaeva T.V., Shchelkanov E.M., Pankratov D.V., Tabakaev A.V., Galkina I.V. Arachnids-ectoparasites of chiropterans. <i>Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2022. 126 p. (In Russ.)</i>	DOI: 10.24866/7444-5377-0
28	Щелканов М.Ю., Татонова Ю.В., Табакаева Т.В., Щелканов Е.М., Наумов Н.А., Хотько У.Е., Калинина К.А., Шуменко П.Г., Израильская А.В., Галкина И.В. Эндопаразиты рукокрылых. <i>Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2023. 93 с.</i>	Shchelkanov M.Yu., Tatanova Yu.V., Tabakaeva T.V., Shchelkanov E.M., Naumov N.A., Khotko U.E., Kalinina K.A., Shumenko P.G., Israelskaya A.V., Galkina I.V. Endoparasites of chiropterans. <i>Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2023. 92 p. (In Russ.)</i>	-
29	Щелканов М.Ю., Щелканов Е.М., Уколов С.С., Табакаева Т.В., Баранчугов И.А., Воронова А.Н., Белов Ю.А., Григорян О.М.,	Shchelkanov M.Yu., Shchelkanov E.M., Ukolov S.S., Tabakaeva T.V., Baranchugov I.A., Voronova A.N., Belov Yu.A., Grigoryan O.M.,	DOI: 10.24866/7444-5188-2

	<p>Вайнутис К.С., Щеглов Б.О., Баранчугова К.А., Галкина И.В. Биоэхолокация: вопросы и задачи с ответами и решениями. <i>Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2021. 250 с.</i></p>	<p>Vainutis K.S., Shcheglov B.O., Baranchugova K.A., Galkina I.V. Bioecholocation: questions and problems with answers and solutions. <i>Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2021. 250 p. (In Russ.)</i></p>	
30	<p>Alghuwainem A., Alshareeda A.T., Alsowayan B. Scaffold-Free 3-D Cell Sheet Technique Bridges the Gap between 2-D Cell Culture and Animal Models. <i>Int. J. Mol. Sci., 2019, vol. 20:4926.</i></p>	-	DOI: 10.3390/ijms20194926
31	<p>Bar-Ephraim Y.E., Kretzschmar K., Clevers H. Organoids in immunological research. <i>Nat. Rev. Immunol., 2020, vol. 20, pp. 279–293.</i></p>	-	DOI: 10.1038/s41577-019-0248-y
32	<p>Barrila J., Crabbé A., Yang J., Franco K., Nydam S.D., Forsyth R.J., Davis R.R., Gangaraju S., Ott C.M., Coyne C.B., Bissell M.J., Nickerson C.A. Modeling Host-Pathogen Interactions in the Context of the Microenvironment: Three-Dimensional Cell</p>	-	DOI: 10.1128/IAI.00282-18

	Culture Comes of Age. <i>Infect. Immun.</i> 2018, vol. 86: e00282-18.		
33	Benson A. Implications of Three-Dimensional Cell Culture in Drug Discovery. <i>J Regen Med.</i> , 2023, vol.12, Issue 1	-	DOI: 10.4172/2325-9620.1000237
34	Berg J., Hiller T., Kissner M.S., Qazi T.H., Duda G.N., Hocke A.C., Hippenstiel S., Elomaa L., Weinhart M., Fahrenson C., Kurreck J. Optimization of cell-laden bioinks for 3D bioprinting and efficient infection with influenza A virus. <i>Sci Rep.</i> , 2018, vol. 8, no.1: 13877.	-	DOI: 10.1038/s41598-018-31880-x
35	Bhowmick R., Derakhshan T., Liang Y., Ritchey J., Liu L., Gappa-Fahlenkamp H. A three-dimensional human tissue-engineered lung model to study influenza A infection. <i>Tissue Eng.</i> , 2018, Part A, vol. 24, pp. 1468–1480.	-	DOI: 10.1089/ten.tea.2017.0449
36	Cacciamali A., Villa R., Dotti S. 3D Cell Cultures: Evolution of an Ancient Tool	-	DOI: 10.3389/fphys.2022.836480

	for New Applications. <i>Front. Physiol.</i> , 2022, vol. 13: 836480.		
37	Chen Y.W., Huang S.X., de Carvalho A., Ho S.H., Islam M.N., Volpi S., Notarangelo L.D., Ciancanelli M., Casanova J.L., Bhattacharya J., Liang A.F., Palermo L.M., Porotto M., Moscona A., Snoeck H.W. A three-dimensional model of human lung development and disease from pluripotent stem cells. <i>Nat Cell Biol.</i> , 2017, vol.19, pp. 542–549.	-	DOI: 10.1038/ncb3510
38	Chua A.C.Y., Ananthanarayanan A., Ong J.J.Y., Wong J.Y., YIP A., Singh N.H., Qu Y., Dembele L., McMillian M., Ubalee R., Davidson S., Tungtaeng A., Imerbsin R., Gupta K., Andolina C., Lee F., S.-W. Tan K., Nosten F., Russell B., Lange A., Diagana T.T., Rénia L., Yeung B.K.S., Yu H., Bifani P. Hepatic spheroids used as an in vitro model to study malaria relapse. <i>Biomaterials</i> , 2019, vol. 216:119221.	-	DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.05.032

39	<p>Conceicao C., Thakur N., Human S., Kelly J.T., Logan L., Bialy D., Bhat S., Stevenson-Leggett P., Zagrajek A.K., Hollinghurst P., Varga M., Tsigoti C., Hammond J.A., Maier H.J., Bickerton E., Shelton H., Dietrich I., Graham S.C., Bailey D. The SARS-CoV-2 Spike protein has a broad tropism for mammalian ACE2 proteins. <i>PLoS Biol.</i>, 2020, vol. 18: e3001016.</p>	-	DOI: 10.1371/journal.pbio.3001016
40	<p>Corrò C., Novellasdemunt L., Li V.S.W. A brief history of organoids. <i>Am. J. Physiol. Cell Physiol.</i>, 2020, vol. 319: C151–C165.</p>	-	DOI: 10.1152/ajpcell.00120.2020
41	<p>Cugola F.R., Fernandes I.R., Russo F.B., Freitas B.C., Dias J.L.M., Guimarães K.P., Benazzato C., Almeida N., Pignatari G.C., Romero S., Polonio C.M., Cunha I., Freitas C.L., Brandão W.N., Rossato C., Andrade D.G., Faria D.P., Garcez A.T., Buchpigel C. A., Braconi C.T., Mendes E., Sall A.A., Zanotto P. M., Peron J. P. S., Muotri A.R., Beltrão-</p>	-	DOI: 10.1038/nature18296

	Braga P.C.B. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. <i>Nature</i> , 2016, vol. 534, pp.267–271.		
42	de Melo B.A., Benincasa J.C., Cruz E.M., Maricato J.T., Porcionatto M.A. 3D culture models to study SARS-COV-2 infectivity and antiviral candidates: from spheroids to bioprinting. <i>Biomed J</i> , 2021, vol. 44, pp. 31–42.	-	DOI: 10.1016/j.bj.2020.11.009
43	Dekkers J.F., Alieva M., Wellens L.M., Ariese H.C.R., Jamieson P.R., Vonk A. M., Amatngalim G.D., Hu H., Oost K.C., Snippert H.J.G., Beekman J.M., Wehrens E.J., Visvader J.E., Clevers H., Rios A.C. High-resolution 3D imaging of fixed and cleared organoids. <i>Nat. Protoc.</i> , 2019, vol. 14, pp. 1756–1771.	-	DOI: 10.1038/s41596-019-0160-8
44	Depla J.A., Sogorb-Gonzalez M., Mulder L. A., Heine V.M., Konstantinova P., van Deventer S.J., Wolthers K.C., Pajkrt D., Sridhar A., Evers M.M. Cerebral organoids: a	-	DOI: 10.1016/j.omtm.2020.05.028

	human model for AAV capsid selection and therapeutic transgene efficacy in the brain. <i>Mol. Ther. Meth. Clin. Devel.</i> , 2020, vol.18, pp. 167–175.		
45	Ettayebi K., Crawford S.E., Murakami K., Broughman J.R., Karandikar U., Tenge V.R., Neill F.H., Blutt S.E., Zeng X.L., Qu L., Kou B., Opekun A.R., Burrin D., Graham D.Y., Ramani S., Atmar R.L., Estes M.K. Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. <i>Science</i> , 2016, vol. 353, pp.1387-1393.	-	DOI: 10.1126/science.aaf5211
46	Finkbeiner SR, Zeng XL, Utama B, Atmar RL, Shroyer NF, Estes MK. Stem cell-derived human intestinal organoids as an infection model for rotaviruses. <i>mBio</i> , 2012, vol. 3: e00159-12.	-	DOI:10.1128/mbio.00159-12
47	Fuchs E., Blau H.M. Tissue stem cells: architects of their niches. <i>Cell Stem Cell.</i> , 2020, vol.27, pp. 532–556.	-	DOI: 10.1016/j.stem.2020.09.011

48	<p>Gard A.L., Luu R.J., Miller C.R., Maloney R., Cain B.P., Marr E.E., Burns D.M., Gaibler R., Mulhern T.J., Wong C.A., Alladina J., Coppeta J.R., Liu P., Wang J.P., Azizgolshani H., Fezzie R.F., Balestrini J.L., Isenberg B.C., Medoff B.D., Finberg R.W., Borenstein J.T. High-Throughput Human Primary Cell-Based Airway Model for Evaluating Influenza, Coronavirus, or other Respiratory Viruses in vitro. <i>Sci Rep.</i>, 2021, vol.11, no.1:14961.</p>	-	DOI: 10.1038/s41598-021-94095-7
49	<p>Geiser J., Boivin G., Huang S., Constant S., Kaiser L., Tapparel C., Essaidi-Laziosi M. RSV and HMPV Infections in 3D tissue cultures: Mechanisms involved in virus-host and virus-virus interactions. <i>Viruses.</i> 2021, vol.13, no.1:139.</p>	-	DOI: 10.3390/v13010139
50	<p>Guo Y., Luo R., Wang Y., Deng P., Zhang M., Wang P., Zhang X., Cui K., Tao T., Li Z., Chen W., Zheng Y., Qin</p>	-	DOI:10.1101/2020.09.01.277780

	J. Modeling SARS-CoV-2 infection in vitro with a human intestine-on-chip device. <i>bioRxiv.</i> , 2020.		
51	Gulyaeva M., Sharshov K., Suzuki M., Sobolev I., Sakoda Y., Alekseev A., Sivay M., Shestopalova L., Shchelkanov M., Shestopalov A. Genetic characterization of an H2N2 influenza virus isolated from a muskrat in Western Siberia. <i>Journal of Veterinary Medical Science.</i> 2017. vol. 79, no 8:1461–1465.	-	DOI: 10.1292/jvms.17-0048
52	Häfner S.J. Level up for culture models - How 3D cell culture models benefit SARS-CoV-2 research. <i>Biomed. J.</i> , 2021, vol. 44, pp.1–6.	-	DOI: 10.1016/j.bj.2021.02.001
53	Han Y., Yang L., Lacko L.A., Chen S. Human organoid models to study SARS-CoV-2 infection. <i>Nat. Methods</i> , 2022, vol. 19., no.4, pp. 418–428.	-	DOI: 10.1038/s41592-022-01453-y
54	Harb A., Fakhreddine M., Zaraket H., Saleh F.A. Three-Dimensional Cell	-	DOI:10.3390/biomimetics7010003

	Culture Models to Study Respiratory Virus Infections Including COVID-19. <i>Biomimetics</i> , 2021, vol. 7, no. 1:3.		
55	Hill D.R., Huang S., Nagy M.S., Yadagiri V.K., Fields C., Mukherjee D., Bons B., Dedhia P.H., Chin A.M., Tsai Y.H., Thodla S., Schmidt T.M., Walk S., Young V.B., Spence J.R. Bacterial colonization stimulates a complex physiological response in the immature human intestinal epithelium. <i>Elife</i> . 2017, vol. 6: e29132.	-	DOI: 10.7554/eLife.29132
56	Hofer M., Lutolf M.P. Engineering organoids. <i>Nat. Rev. Mater.</i> 2021, vol. 6, no 5, pp. 402–420.	-	DOI: 10.1038/s41578-021-00279-y
57	Hu M., Ling Z., Ren X. Extracellular matrix dynamics: Tracking in biological systems and their implications. <i>J. Biol. Eng.</i> , 2022, vol. 16, no. 1:13.	-	DOI: 10.1186/s13036-022-00292-x
58	Hui K.P.Y., Ching R.H.H., Chan S.K.H., Nicholls J.M., Sachs N., Clevers	-	DOI: 10.1016/S2213-2600(18)30236-4

	H., Peiris J.S.M., Chan M.C.W. Tropism, replication competence, and innate immune responses of influenza virus: an analysis of human airway organoids and ex-vivo bronchus cultures. <i>Lancet Respir Med</i> , 2018, vol. 6, no. 11, pp. 846–854.		
59	Ingber D.E. Human organs-on-chips for disease modelling, drug development and personalized medicine. <i>Nat Rev Genet</i> , 2022, vol. 23, pp. 467–491.	-	DOI: 10.1038/s41576-022-00466-9
60	Jacob F., Pather S.R., Huang W.K., Wong S.Z.H., Zhou H., Cubitt B., Fan W., Chen C.Z., Xu M., Pradhan M., Zhang D.Y., Zheng W., Bang A.G., Song H., de la Torre J.C., Ming G. Human Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Cells and Brain Organoids Reveal SARS-CoV-2 Neurotropism. <i>Cell Stem Cel.</i> , 2020, vol. 27, pp. 937–950.	-	DOI: 10.1016/j.stem.2020.09.016

61	Jensen C., Teng Y. Is It Time to Start Transitioning From 2D to 3D Cell Culture? <i>Front. Mol. Biosci.</i> 2020, vol.7: 33.	-	DOI:10.3389/fmolb.2020.00033
62	Kapałczyńska M., Kolenda T., Przybyła W., Zajączkowska M., Teresiak A., Filas V., Ibbs M., Bliźniak R., Łuczewski Ł., Lamperska K. 2D and 3D cell cultures - a comparison of different types of cancer cell cultures. <i>Arch Med Sci.</i> 2018, vol. 14, no. 4, pp. 910–919.	-	DOI: 10.5114/aoms.2016.63743
63	Karamov E.V., Yaroslavtseva N.G., Shchelkanov M.Yu., Martovitsky D.V., Lukashov V.V., Kozlov A.P., Papuashvili M.N., Goudsmit J., Khaitov R.M. Antigenic and genetic relations between different HIV-1 subtypes in Russia. <i>Immunology and Infectious Diseases.</i> 1996, vol. 6, pp. 15–24.	-	URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=29240726
64	Kessie D.K., Rudel T. Advanced human mucosal tissue models are needed to improve	-	DOI:10.1371/journal.pbio.3001462

	preclinical testing of vaccines. <i>PLoS Biol.</i> , 2021, vol.19, no.11: e3001462.		
65	Kim J., Koo B.K., Knoblich J.A. Human organoids: model systems for human biology and medicine. <i>Nat. Rev. Mol. Cell Biol.</i> , 2020, vol. 21, pp. 571–584.	-	DOI: 10.1038/s41580-020-0259-3
66	Koban, R.; Lam, T.; Schwarz, F.; Kloke, L.; Bürge, S.; Ellerbrok, H.; Neumann, M. Simplified Bioprinting-Based 3D Cell Culture Infection Models for Virus Detection. <i>Viruses</i> . 2020, vol. 12, no. 11:1298.	-	DOI: 10.3390/v12111298
67	Kuznetsova T.A., Andryukov B.G., Besednova N.N., Khotimchenko Yu.S. Polysaccharides from Marine Algae in Modern Technologies of Regenerative Medicine. <i>Russian Journal of Marine Biol.</i> , 2021, vol. 47, no.1, pp. 1–9.	-	DOI: 10.1134/S1063074021010065
68	Lam T.T., Jia N., Zhang Y.W., Shum M. H.-H., Jiang J.-F., Zhu H.-C., Tong Y.-G., Shi Y.-X., Ni X.-B., Liao Y.-S., Li W.-J., Jiang B.-G., Wei W., Yuan T.-	-	DOI:10.1038/s41586-020-2169-0

	T., Zheng K., Cui X.-M., Li J., Pei G.-Q., Qiang X., Cheung W. Y.-M., Li L.-F., Sun F.-F., Qin S., Huang J.-C., Leung G.M., Holmes E. C., Hu Y.-L., Guan Y., Cao W.-C. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. <i>Nature</i> , 2020, vol. 583. pp. 282-285.		
69	Lamers M.M., Beumer J., van der Vaart J., Knoops K., Puschhof J., Breugem T.I. , Ravelli R.B.G. , van Schayck J.P. , Mykytyn A.Z. , Duimel H.Q. , van Donselaar E. , Riesebosch S. , Kuijpers H.J.H. , Schipper D. , van de Wetering W.J. , de Graaf M. , Koopmans M. , Cuppen E. , Peters P.J. , Haagmans B.L. , Clevers H. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. <i>Science</i> , 2020, vol. 369, pp. 50-54.	-	DOI: 10.1126/science.abc1669
70	Lawko N., Plaskasovitis C., Stokes C., Abelseth L., Fraser I., Sharma R., Kirsch R. , Hasan M. , Abelseth E., Willerth S.M.	-	DOI: 10.3389/fmats.2021.631373

	3D tissue models as an effective tool for studying viruses and vaccine development. <i>Front. Mat.</i> , 2021, vol. 80:631373.		
71	Li M.Y., Li L., Zhang Y., Wang X.S. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. <i>Infect Dis Poverty</i> , 2020, vol. 9, no.1:45.	-	DOI: 10.1186/s40249-020-00662-x
72	Li Y., Pillai P., Miyake F., Nair H. The role of viral co-infections in the severity of acute respiratory infections among children infected with respiratory syncytial virus (RSV): A systematic review and meta-analysis. <i>J Glob Health</i> . 2020, vol.10, no.1:010426.	-	DOI: 10.7189/jogh.10.010426
73	Lvov D.K., Shchelkanov M.Yu., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. Taxonomy and Ecology. <i>Academic Press</i> , 2015. 452 p.	-	DOI: 10.1016/C2014-0-01020-9
74	Miller A.J., Dye B.R., Ferrer-Torres D., Hill D.R., Overeem A.W., Shea L.D.,	-	DOI: 10.1038/s41596-018-0104-8

	Spence J.R. Generation of lung organoids from human pluripotent stem cells in vitro. <i>Nat. Protoc.</i> , 2019, vol.14, pp. 518–540.		
75	Min S., Kim S., Cho S.W. Gastrointestinal tract modeling using organoids engineered with cellular and microbiota niches. <i>Exp. Mol. Med.</i> , 2020, vol. 52, pp. 227–237.	-	DOI: 10.1038/s12276-020-0386-0
76	Moe N., Krokstad S., Stenseng I.H., Christensen A., Skanke L.H., Risnes K.R., Nordbø S.A., Døllner H. Comparing human metapneumovirus and respiratory syncytial virus: Viral co-detections, genotypes and risk factors for severe disease. <i>PLoS ONE</i> , 2017, vol. 12: e0170200.	-	DOI:10.1371/journal.pone.0170200
77	Monteil V., Kwon H., Prado P., Hagelkrüys A., Wimme, R.A., Stahl M., Leopoldi A., Garreta E., Hurtado del Pozo C., Prosper F.F., Romero J.P., Wirnsberger G., Zhang H., Slutsky A.S., Conder R., Montserrat N., Mirazimi A.,		DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.004

	Penninger J.M. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. <i>Cell</i> , 2020, vol.181:905, e7–913.e7.		
78	Nickerson C.A., zu Bentrup K.H., Ott C.M. Three-Dimensional Cell Culture Models for Infectious Disease and Drug Development. <i>Future Pharmacology</i> , 2023, vol. 3(1), pp. 48-60.	-	DOI: 10.3390/futurepharmacol3010004
79	Ortega-Soto E., Chopin-Doroteo M. Cell Cultures: A Laboratory Tool for Studying Viruses. <i>Front. Young Minds.</i> , 2023, vol. 11:943570.	-	DOI: 10.3389/frym.2023.943570
80	Pizzorno A., Padey B., Julien T., Trouillet-Assant S., Traversier A., Errazuriz-Cerda E., Fouret J., Dubois J., Gaymard A., Lescure F.X., Dulière V., Brun P., Constant S., Poissy J., Lina B., Yazdanpanah Y., Terrier O., Rosa-Calatrava M. Characterization and treatment of SARS-CoV-2 in nasal and	-	DOI: 10.1016/j.xcrm.2020.100059

	bronchial human airway epithelia. <i>Cell Rep. Med.</i> , 2020, vol. 1:100059.		
81	Ramani A, Müller L, Ostermann PN, Gabriel E, Abida Islam P., Müller-Schiffmann A., Mariappan A., Goureau O., Gruell H., Walker A., Andrée M., Hauka S., Houwaart T., Dilthey A., Wohlgemuth K., Omran H., Klein F., Wieczorek D., Adams O., Timm J., Korth C., Schaal H., Gopalakrishnan J. SARS-CoV-2 targets cortical neurons of 3D human brain organoids and shows neurodegeneration-like effects. <i>bioRxiv</i> . 2020.	-	DOI: 10.1101/2020.05.20.106575
82	Rima B., Collins P., Easton A., Fouchier R., Kurath G., Lamb R.A., Lee B., Maisner A., Rota P., Wang L. ICTV virus taxonomy profile: <i>Pneumoviridae</i> . <i>J. Gen. Virol.</i> 2017, vol. 98, pp. 2912–2913.	-	DOI: 10.1099/jgv.0.000959
83	Rock J.R., Onaitis M.W., Rawlins E.L., Lu Y., Clark C.P., Xue Y., Randell S.H.,	-	DOI: 10.1073/pnas.0906850106

	Hogan B.L. Basal cells as stem cells of the mouse trachea and human airway epithelium. <i>Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.</i> , 2009, vol.106, pp.12771–12775.		
84	Sachs N., Papaspyropoulos A., Zomer-van Ommen D.D., Heo I., Böttinger L., Klay D., Weeber F., Huelsz-Prince G., Iakobachvili N., Amatngalim G.D., de Ligt J., van Hoeck A., Proost N., Viveen M.C., Lyubimova A., Teeven L., Derakhshan S., Korving J., Begthel H., Dekkers J.F., Kumawat K., Ramos E., van Oosterhout M.F., Offerhaus G.J., Wiener D.J., Olimpio E.P., Dijkstra K.K., Smit E.F., van der Linden M., Jaksani S., van de Ven M., Jonkers J., Rios A.C., Voest E.E., van Moorsel C.H., van der Ent C.K., Cuppen E., van Oudenaarden A., Coenjaerts F.E., Meyaard L., Bont L.J., Peters P.J., Tans S.J., van Zon J.S., Boj S.F., Vries R.G., Beekman J.M., Clevers H. Long-term expanding human airway organoids for disease modeling. <i>EMBO J.</i> , 2019, vol. 38:e100300.	-	DOI: 10.15252/emj.20181003000

85	<u>Sang Y., Miller L.C., Nelli R.K., Giménez-Lirola L.G. Harness Organoid Models for Virological Studies in Animals: A Cross-Species Perspective. <i>Front. Microbiol., Sec. Virology. 2021, vol. 12: 725074.</i></u>	-	DOI: 10.3389/fmicb.2021.725074
86	Sang E.R., Tian Y., Miller L.C., Sang Y. Epigenetic evolution of ACE2 and IL-6 genes: non-canonical interferon-stimulated genes correlate to COVID-19 susceptibility in vertebrates. <i>Genes, 2021, vol.12:154.</i>	-	DOI: 10.3390/genes12020154
87	Schutgens F., Clevers H. Human organoids: tools for understanding biology and treating diseases. <i>Annu. Rev. Pathol. 2020, vol.15, pp. 211–234.</i>	-	DOI: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032611
88	Shi N., Li N., Duan X. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. <i>Mil Med Res. 2017, vol. 4:14.</i>	-	DOI:10.1186/s40779-017-0122-9
89	Shpichka A., Bikmulina P., Peshkova M., Kosheleva N., Zurina I.,	-	DOI: 10.18063/ijb.v6i4.302

	<p>Zahmatkesh E. , Khoshdel-Rad N. , Lipina M. , Golubeva E. , Butnaru D. , Svistunov A. , Vosough M. , Timashev P. Engineering a Model to Study Viral Infections: Bioprinting, Microfluidics, and Organoids to Defeat Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). <i>Int J Bioprint</i>, 2020, vol. 6: 302.</p>		
90	<p>Si L., Prantil-Baun R., Benam K.H., Bai H., Rodas M., Morgan B., Ingber D.E. Discovery of influenza drug resistance mutations and host therapeutic targets using a human airway chip. <i>bioRxiv</i>, 2019, preprint.</p>	-	DOI: 10.1101/685552
91	<p>Siddiqi H.K., Libby P., Ridker P.M. COVID-19 - A vascular disease. <i>Trends Cardiovasc. Med.</i> 2021, vol. 31, pp. 1–5.</p>	-	DOI: 10.1016/j.tcm.2020.10.005
92	<p>Sridhar A., Simmini S., Ribeiro C.M.S., Tapparel C., Evers M.M., Pajkrt D., Wolthers K. A perspective on organoids for virology research. <i>Viruses</i>, 2020, vol. 12:1341.</p>	-	DOI: 10.3390/v12111341

93	Stanifer M.L., Kee C., Cortese M., Zumarán C.M., Triana S., Mukenhirn M., Kraeusslich H.-G., Alexandrov T., Bartenschlager R., Boulant S. Critical role of type III interferon in controlling SARS-CoV-2 infection in human intestinal epithelial cells. <i>Cell Rep.</i> , 2020, vol. 32:107863.	-	DOI: 10.1016/j.celrep.2020.107863
94	Suarez-Martinez, E., Suazo-Sanchez, I., Celis-Romero, M., Carnero A. 3D and organoid culture in research: physiology, hereditary genetic diseases and cancer. <i>Cell Biosci</i> , 2022, vol. 12:39.	-	DOI: 10.1186/s13578-022-00775-w
95	Tang H., Abouleila Y., Si L., Ortega Prieto A.M., Mummery C.L., Ingber D.E., Mashaghi A. Human organs-on-chips for virology. <i>Trends Microbiol</i> , 2020, vol. 28, no. 11, pp. 934–946.	-	DOI: 10.1016/j.tim.2020.06.005
96	Tayeb S. Smith Y., Panet A., Zakay-Rones Z. Comparison of ex-vivo organ culture and cell culture to study drug efficiency and virus-host interactions.	-	DOI: 10.15761/IMM.1000410

	<i>Integr Mol Med.</i> , 2020, vol. 7, no.5., pp.1–5.		
97	Varan G., Unal S. Three-Dimensional Cell Culture Methods in Infectious Diseases and Vaccine Research . <i>Future Pharmacology</i> , 2023, vol. 3, no.1, pp. 48–60.	-	DOI: 10.3390/futurepharmacol3010004
98	Wagar L.E., Salahudeen A., Constantz C.M., Wendel B.S., Lyons M.M., Mallajosyula V., Jatt L.P., Adamska J.Z., Blum L.K., Gupta N., Jackson K. J. L., Yang F., Röltgen K., Roskin K.M., Blaine K.M., Meister K.D., Ahmad I.N., Cortese M., Dora E. G., Tucker S.N., Sperling A.I., Jain A., Davies D.H., Felgner P.L., Hammer G.B., Kim P.S., Robinson W.H., Boyd S.D., Kuo C.J., Davis M.M. Modeling human adaptive immune responses with tonsil organoids. <i>Nat. Med.</i> , 2021, vol. 27, pp. 125–135.	-	DOI: 10.1038/s41591-020-01145-0
99	Wang D. 5 challenges in understanding the role of the virome in health and	-	DOI: 10.1371/journal.ppat.1008318

	disease. <i>PLoS Pathog.</i> 2020, vol. 16: e1008318.		
100	Wu Q., Liu J., Wang X., Feng L., Wu J., Zhu X., Wen W., Gong X. Organ-on-a-chip: recent breakthroughs and future prospects. <i>Biomed Eng Online</i> , 2020, vol. 19: 9.	-	DOI: 10.1186/s12938-020-0752-0
101	Zanoni M., Cortesi M., Zamagni A., Arienti C., Pignatta S., Tesei A. Modeling neoplastic disease with spheroids and organoids. <i>J. Hematol. Oncol.</i> 2020, vol. 13:97.	-	DOI: 10.1186/s13045-020-00931-0
102	Zhang M., Wang P., Luo R., Wang Y., Li Z., Guo Y., Yao Y., Li M., Tao T., Chen W., Han J., Liu H., Cui K., Zhang X., Zheng Y., Qin J. A human disease model of SARS-CoV-2-induced lung injury and immune responses with a microengineered organ chip. <i>BioRxiv.</i> , 2020.	-	DOI: 10.1101/2020.07.20.211789
103	Zhao B., Ni C., Gao R., Wang Y., Yang L., Wei J., Ting L., Liang J., Zhang Q.,	-	DOI: 10.1101/2020.03.16.990317

	Xu W., Xie Y., Wang X., Yuan Z., Liang J., Zhang R., Lin X. Recapitulation of SARS-CoV-2 infection and cholangiocyte damage with human liver organoids. <i>BioRxiv.</i> , 2020.		
104	Zhou J., Li C., Liu X., Chiu M.C., Zhao X., Wang D., Wei Y., Lee A., Zhang A.J., Chu H., Cai J.P., Yip C.C., Chan I.H., Wong K.K., Tsang O.T., Chan K.H., Chan J.F., To K.K., Chen H., Yuen K.Y. Infection of bat and human intestinal organoids by SARS-CoV-2. <i>Nat. Med.</i> , 2020, vol. 26, no. 7, pp. 1077–1083.	-	DOI: 10.1038/s41591-020-0912-6
105	Zhuang P., Sun A.X., An J., Chua C.K., Chew S.Y. 3D neural tissue models: from spheroids to bioprinting. <i>Biomaterials</i> , 2018, vol. 154, pp.113–133.	-	DOI: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.002