Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet
2024, vol. 14, no. 6, pp. 1045–1062

Инфекция и иммунитет
2024, Т. 14, № 6, с. 1045–1062

3D КЛЕТОЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ: ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ВИРУСОЛОГИИ

Т.А. Кузнецова[1], М.Р. Алиев[1,2], А.А. Михалко[1,2], М.Ю. Щелканов[1,2]

[1] *ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия*
[2] *Дальневосточный федеральный университет, Школа медицины и наук о жизни, г. Владивосток, Россия*

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 трехмерной (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, изучение механизмов репродукции вирусов человека и животных, взаимодействия вируса с организмом хозяина и 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.*

Адрес для переписки:
Кузнецова Татьяна Алексеевна
690087, Россия, Приморский край, г. Владивосток,
ул. Сельская, 1, ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии
им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора.
Тел.: 8 (423) 244-24-46. E-mail: takuznets@mail.ru

Contacts:
Tatyana A. Kuznetsova
690087, Russian Federation, Vladivostok, Selskaya str., 1,
G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology.
Phone: +7 (423) 244-24-46. E-mail: takuznets@mail.ru

Для цитирования:
Кузнецова Т.А., Алиев М.Р., Михалко А.А., Щелканов М.Ю. 3D клеточные культуры: перспективы использования в вирусологии // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 6. С. 1045–1062. doi: 10.15789/2220-7619-DCC-17656

Citation:
Kuznetsova T.A., Aliev M.R., Mikhalko A.A., Shchelkanov M.Yu. 3D cell cultures: prospects for use in virology // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 6, pp. 1045–1062. doi: 10.15789/2220-7619-DCC-17656

© Кузнецова Т.А. и соавт., 2024

DOI: http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-DCC-17656

Статья доступна по лицензии Creative Commons Attribution 4.0
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

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, Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Vladivostok, Russian Federation*

[b] *Far Eastern Federal University, School of Medicine and Life Sciences, Vladivostok, Russian Federation*

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.

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

Введение

Клетки — основные структурно-функциональные единицы всех живых организмов — находясь во внеклеточном матриксе, имеющем сложную трехмерную архитектонику, взаимодействуют с соседними клетками посредством как поверхностных рецепторов, так и растворимых медиаторов [2]. Структурные взаимодействия клетка–клетка и клетка–внеклеточный матрикс образуют трехмерную сеть, которая поддерживает тканевую специфичность и гомеостаз. В этой связи традиционные методы культивирования клеток, к которым относится старейший и наиболее распространенный тип культивирования — двумерное (2D) культивирование *in vitro*, не способны имитировать структурную организацию, подобную *in vivo*. Эти методы недостаточны для изучения таких особенностей, как клеточные взаимосвязи, клеточная морфология, жизнеспособность, пролиферация, дифференцировка, экспрессия генов и белков, реакция на стимулы и метаболизм лекарств и вакцин. Следует учитывать и тот факт, что доклинические исследования *in vitro* по оценке иммуногенности вакцинных препаратов необходимо тестировать методами, помимо прочего включающими компоненты иммунной системы, что позволяет приблизиться к естественным условиям развития инфекции [64].

Несмотря на использование доступных клеточных линий многие вирусы — например, вирус Норфолк *(Picornavirales: Caliciviridae, Norovirus)*, бокавирусы *(Piccovirales: Parvoviridae, Bocaparvovirus)* или вирус гепатита С *(Amarillovirales: Flaviviridae, Hepacivirus)* — пока не поддаются продуктивной репликации на 2D моделях *in vitro* [5, 9]. Некоторые вирусы гораздо эффективнее репродуцируются на моделях уровня целого организма, нежели в клеточных культурах: например, фитовирусы[1] (в целом растении) [10, 20], большинство арбовирусов[2] (при интрацеребральном заражении мышат-сосунков) [4, 73] или вирусы гриппа А (при заражении в аллантоисную полость развивающихся куриных эмбрионов) *(Articulavirales: Orthomyxoviridae, Alphainfluenzavirus)* — причем, как птичьих [1, 17], так и эпидемических[3] штаммов [3, 23]. Ряд вирусов успешно пассируется на клеточных линиях в формате 2D, но по этическим или экономическим соображениям не могут быть исследованы

[1] Фитовирусы — внетаксономическая группа вирусов, поражающих растения.

[2] Арбовирусы — внетаксономическая группа вирусов, которые распространяются путем 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.

в контролируемых экспериментах на модели инфицированного организма и потому нуждаются в промежуточных 3D моделях: например, вирусы иммунодефицита человека 1-го и 2-го типов *(Ortervirales: Retroviridae, Lentivirus)* [24, 63]. Во время пандемии COVID-19 — несмотря на то что возбудитель этого заболевания, SARS-CoV-2 *(Nidovirales: Coronaviridae, Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*), способен эффективно репродуцироваться и в клеточных культурах, и во многих животных моделях [14, 15] — потребовалась массовая работа с экспериментальными животными, однако имеющихся лабораторных мощностей оказалось недостаточно, а 2D культуры не могли адекватно имитировать взаимодействие вируса с клетками и патогенетическую картину заболевания на уровне тканей [52, 54]. Для получения наиболее надежных и реалистичных результатов модель клеточной культуры, используемая в качестве тест-платформы, должна работать аналогично моделям *in vivo*. Такой платформой является трехмерное (3D) культивирование клеток и получение 3D-культуры органов [89, 97].

Одним из наиболее важных различий между методами 2D- и 3D-культивирования является то, что в 2D культуре клетки распластываются на субстрате в неестественном состоянии, то есть меняется морфология клеток, в то время как клетки, реплицированные в 3D формате на биологическом или синтетическом каркасном материале, сохраняют нормальную морфологию. Значительно различается при 2D- и 3D-культивировании уровень экспрессии и расположение мембранных рецепторов. Это напрямую влияет на многие параметры, в частности, на взаимодействие вируса с хозяином. Клетки в монослое подвергаются стрессу, в связи с чем некоторые экспрессируемые гены и белки претерпевают изменения и искажают реакцию на тестируемые препараты или вакцинные композиции [36, 61, 62].

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

Цель обзора — охарактеризовать различные типы трехмерных (3D) клеточных культур и рассмотреть современные возможности и перспективы их использования в вирусологических исследованиях.

Методы получения культур органов и их типы

Главная задача культивирования органов — поддерживать архитектуру ткани и направлять ее на нормальное развитие. Для выращивания культуры органов, как правило, применяются те же среды, что и для культуры тканей, как жидкие, так и твердые. Начиная с 1930-х годов использовались такие методы, как подвешивание капель или культивирование на часовых стеклах. Этот метод заключается в культивировании эксплантата (небольшого кусочка живой ткани) на сгустке плазмы на часовом стекле, расположенном на влажной подушечке из ваты. В 1954 г. в качестве опоры для ватного листа или фильтра, пропитанного питательной средой, была использована металлическая сетка, поднимающая орган для роста на границе среды и воздуха.

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

При воспроизведении методов 3D-культивирования клеток на основе каркасов, в культуру добавляются компоненты ЭЦМ для получения внеклеточных компонентов, имитирующих естественную физиологическую среду. Для этой цели применяются коммерчески доступные каркасы или подходящие компоненты ЭЦМ. В качестве каркасов используются природные полимеры, такие как агар, альгинат,

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

Различают органные, органотипические и гистотипические 3D-культуры. Органная культура клеток — это целый орган или его репрезентативные части (небольшие фрагменты органов и тканей или тонкие срезы органов), сохраняющие исходную структуру, количественное и пространственное распределение клеток вне организма, максимально приближенные к таковым в условиях *in vivo*. Органотипическая культура — это 3D-культура высокой плотности, включающая комбинацию различных клеток в определенных пространственных соотношениях с возможностью взаимодействовать и поддерживать структурную целостность. Гистотипическая культура — 3D-культура клеток высокой плотности, способных нарастать несколькими слоями, их плотность приближается к плотности ткани *in vivo* и сохраняет частично или полностью все особенности ткани. Размноженные клетки гистотипической культуры выращивают отдельно до высокой плотности в трехмерной матрице или в суспензии до формирования трехмерных агрегатов. Главным отличием органотипической культуры от гистотипической является введение гетеротипического клеточного взаимодействия, включая диффузионные паракринные эффекты и передачу сигналов, вовлекающих ЭЦМ. Взаимосвязь клеток позволяет создать структурированное микроокружение, клеточную полярность и усиленную дифференцировку.

К 3D-культурам относятся органоиды и сфероиды, получаемые основанными на каркасах методами. Органоиды — это многоклеточные самоорганизующиеся органы, полученные из плюрипотентных клеток (ПК), включая индуцированные плюрипотентные клетки (иПК), а также из клеток опухолевой ткани [31, 40, 47, 94]. Органоиды как система культивирования — многообещающая модель между 2D- и 3D-культурами и моделями *in vivo*. Эта модель позволяет исследовать сигнальные пути и редактировать геном клеток в тканевом микроокружении, обычно состоящем из разнообразных и сложных физических/химических взаимодействий между множеством тканеспецифичных типов клеток, стволовых клеток, клеток иммунной системы, стромальных клеток, а также растворимых факторов и ЭЦМ, но при этом лишена многих недостатков живой системы *in vivo*. Органоиды можно поддерживать в течение длительного времени, генетически модифицировать и криоконсервировать, сохраняя их фенотипические характеристики. Основной характеристикой органоида является имитация организации, функциональности и генетической специфичности конкретной ткани или органа *in vivo* [31, 32, 56, 65, 87]. Другими словами, органоиды представляют собой миниатюрные и упрощенные версии органов (мини-органы), способные в значительной степени воспроизводить структуру и физиологию органов человека. На сегодняшний день разработаны органоидые модели различных органов (кишечника, желудка, пищевода, печени, поджелудочной железы, почек, мочевого пузыря, легких, головного мозга, сетчатки, яичников, предстательной железы и др.).

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

Другим типом 3D-культуры является «орган-на-чипе». Это система для микропроточного (микрофлюидного) культивирования, которая позволяет моделировать физиологическую среду органа или системы органов. Она включает в себя микроканалы, регулирующие потоки жидкости, структуру клеток, границы тканей и взаимодействие между тканью и органами. Микрофлюидные модели способны преодолеть недостатки вышеописанных моделей главным образом за счет пространственно-временной управляемости, регулирования потоков жидкости и газа, физиологического ограничения живой ткани, а также вследствие возможности высокопроизводительного анализа при меньших размерах выборки, что позволяет снизить стоимость исследований [95]. В последние годы «органы-на-чипах» нашли применение в вирусологических исследованиях, в частности, при изучении взаимодействий вируса и хозяина, а также при разработке лекарственных препаратов и вакцин. На рынке представлены модели «орган-на-чипе», которые разрабатываются практически для каждого органа. Разработаны такие конструкции с датчиками для визуализации биологических и физиологических изменений [70].

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

В качестве трехмерной модели клеток в последнее время большое внимание привлекает модель 3D-биопечати благодаря имитации физиологических условий, сложной архитектуры органов и микроокружения тканей по сравнению с другими моделями. Высокое разрешение, получаемое с помощью 3D-биопечати, обусловлено послойным расположением биологических материалов, биохимических веществ и живых клеток для изготовления тканевых структур. 3D-структуры, распечатанные на биопринтере, широко применяются при изучении инфекционных заболеваний, позволяя исследовать взаимодействие патоген–хозяин, а также при производстве и испытании эффективности вакцин и разработке лекарственных препаратов [66, 70, 89]. Используется несколько методов 3D-биопечати, наиболее распространенными из которых являются экструзия, струйная печать, лазерная обработка, стереолитография. Наиболее широко применяемым является метод экструзионной биопечати вследствие его удобства и низкой стоимости. В вирусологических исследованиях часто требуется моделировать различные условия и определенные клеточные линии, специфичные для каждого типа вируса. Благодаря избирательности лежащих в основе 3D-печати факторов, технология биопечати позволяет создавать широкий спектр тканей, которые являются точными 3D-моделями *in vitro* в зависимости от типа вируса [34, 42, 66]. Например, сообщается о 3D-биопечати человеческих моделей для исследования вируса гриппа А с использованием каркаса, состоящего из 2% альгината и 3% желатина, дополненного 20% матригелем [34].

Органные культуры в вирусологии

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

Поскольку модели 3D-клеточных культур могут быть сконструированы по-разному в зависимости от задач исследования и типа вируса, они применимы для широкого спектра вирусов. В значительной степени требованиям лабораторных моделей в вирусологических исследованиях соответствуют органоиды. Их органоподобная структура способствует усилению вирусной тропности и увеличению вероятности развития вирусной инфекции. Органоиды также представляют собой незаменимую модель для межвидовой проверки новых вирусов. Применение органоидов значительно расширило спектр вирусологических исследований, касающихся челове-

ка [65, 92, 101]. Прежде всего, органоидные модели применяют для выделения, культивирования и изучения репродукции вирусов человека и животных, которые проявляют сродство к определенным тканям органов. Например, Hui K.P.Y. с соавт. (2018) пришли к выводу, что органоиды дыхательных путей человека с реснитчатым эпителием обеспечивают родственную физиологическую модель и могут быть использованы для изучения тропизма и способности к размножению вирусов респираторных инфекций [58]. Культуры органов с реснитчатым эпителием успешно используются для культивирования вирусов гриппа *(Articulavirales: Orthomyxoviridae)* типов А *(Alphainfluenzavirus)*, В *(Betainfluenzavirus)* и С *(Gammainfluenzavirus)*; герпеса 1-го и 2-го типов *(Herpesvirales: Herpesviridae, Simplexvirus)*; респираторно-синцитиального вируса человека *(Mononegavirales: Pneumoviridae, Orthopneumovirus)*; парагриппа *(Mononegavirales: Paramyxoviridae)* 1-го, 3-го *(Respirovirus)*, 2-го, 4-го *(Rubulavirus)* типов; Коксаки А21, полиовируса, риновирусов, эховируса 11 *(Picornavirales: Picornaviridae, Enterovirus)* [37]. Для вирусологических исследований респираторных инфекций сконструированы различные 3D-модели легких человека. Например, разработана 3D-модель «бронхосфер» человека на основе популяции первичных бронхоальвеолярных эпителиальных клеток [83], а также 3D-культура органоидов на основе этих же клеток, которые культивировались совместно с микрососудистыми эндотелиальными клетками легких и фибробластами легких [95].

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

Наибольшую значимость органные культуры приобрели при изучении особенностей иммунопатогенеза респираторных вирусных инфекций. В настоящее время разработано несколько моделей для изучения инфекции вирусов гриппа А, В, С, включая модели тканей животных и человека *ex vivo* и 3D-модели клеточных культур. Первый шаг в разработке и создании полной 3D-модели легких человека ознаменовала работа, в которой использовалась модель первичных эпителиальных клеток дыхательных путей человека на 3D-хитозан-коллагеновом каркасе для определения иммунофенотипа штаммов вируса гриппа А субтипов H1N1 и H3N2 [35]. Berg J. с соавт. (2018) пришли к выводу, что кластерная картина инфекции в 3D-культуре больше напоминает естественный биологический процесс, наблюдаемый в легких человека, по сравнению с развитием инфекции в 2D-культуре. Кроме того, распечатанные на 3D-принтере клетки индуцировали базовый иммунный ответ с высвобождением противовирусного IL-29 (IFNλ1) [34]. Si L. с соавт. (2019) разработали микрофлюидный чип дыхательных путей человека, в котором продемонстрировали репликацию вируса гриппа А и его патогенетическое воздействие на клетки хозяина. Результаты практического применения разработки показали, что такой чип может быть альтернативным доклиническим инструментом для испытания противовирусных препаратов и вакцин [90].

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

Siddiqi H.K. с соавт. (2021) предположили, что для инфицирования крупных органов или тканей должны быть поражены капилляры, в связи с чем на основе иПК были разработаны капиллярные органоиды человека и затем инфицированы SARS-CoV-2. Экспериментально продемонстрировано наличие вирусной РНК в органоидах кровеносных сосудов, содержание которой увеличивалось с 3-х по 6-е сутки, что указывает на активную репликацию вируса. Авторы подтвердили, что COVID-19 является сосудистым заболеванием и вызывает прямое повреждение эндотелия, опосредуя мультисистемную дис-

функцию [91]. Аналогичный эксперимент был проведен на органоидах почек человека. В обоих экспериментах инфицированные органоиды использовались для заражения клеток Vero E6, свидетельствуя, что органоиды кровеносных сосудов и почек могут вызывать инфицирование других тканей. При последующем добавлении человеческого рекомбинантного растворимого ангиотензинпревращающего фермента 2-го типа (АПФ-2), уровень инфицированности в органоидах снижался дозозависимым образом. Полученные с применением органоидных моделей данные внесли важную информацию в патогенез COVID-19. Кроме того, получен положительный ответ на вопрос, может ли ингибирование взаимодействия ключевого рецептора спайкового гликопротеина коронавируса АПФ-2 с SARS-CoV-2 быть вариантом лечения пациентов с COVID-19. Результаты исследования показали, что АПФ-2 может снизить вирусную нагрузку в клетках Vero E6 в 1000–5000 раз. После культивирования на клетках Vero E6 вирус секвенировали и установили, что hrsACE2 ингибирует прикрепление вируса к клеткам, и этот процесс является дозозависимым [77].

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

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

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

Среди распространенных респираторных вирусов два пневмовируса представляют угрозу для жизни человека в группах высокого риска: респираторно-синцитиальный вирус и метапневмовирус человека *(Mononegavirales: Pneumoviridae, Metapneumovirus)* являются наиболее частыми этиологическими агентами острых инфекций нижних дыхательных путей, а именно бронхиолита и пневмонии, и являются причиной примерно 50% случаев госпитализации в педиатрической практике [8, 82]. В ряде эпидемиологических исследований сообщается о частых случаях совместного выявления этих вирусов у пациентов [72, 76], в связи с чем необходимо было выяснить механизмы взаимодействия этих вирусов, приводящие к обострению заболевания. Кроме того, на сегодняшний день не существует одобренных противовирусных препаратов или вакцин против этих заболеваний. Chen Y.W. с соавт. (2017) впервые применили модели органоидов легких человека для исследования респираторно-синцитиального вируса человека [37]. Geiser J. с соавт. (2021) провели исследования при моно- и коинфицировании этими вирусами с применением 3D-культур эпителия дыхательных путей: респираторно-синцитиальный вирус человека оказался менее патогенен по сравнению с мета-

пневмовирусом человека, но более чувствителен к действию интерферонов. Нейтрализация IFN I и III при коинфекции частично предотвращала ингибирование репродукции одного вируса другим и значительно увеличивала количество коинфицированных клеток в ткани [49]. Таким образом, в этой работе дано новое представление о взаимодействии пневмовирусов (вирус—хозяин и вирус—вирус) в эпителии дыхательных путей, подчеркиваются различия в патогенезе этих инфекций и предполагается участие клеток врожденного иммунитета во взаимодействиях вирус-хозяин и вирус—вирус при одиночном и двойном инфицировании. Работа этих авторов относится к числу первых исследований одиночного и двойного инфицирования на модели *ex vivo*, которая морфологически и функционально близка к эпителию дыхательных путей и представляет собой наиболее верный подход к изучению вирусных респираторных инфекций человека.

В рамках одного обзора не представляется возможным проанализировать обширные материалы по применению органных культур при изучении инфекций, вызываемых вирусами гепатита А *(Picornavirales: Picornaviridae, Hepatovirus)*, В *(Blubervirales: Hepadnaviridae, Orthohepadnavirus)* и С *(Amarillovirales: Flaviviridae, Hepacivirus)*; цитомегаловирусом человека *(Herpesvirales: Herpesviridae, Cytomegalovirus)*; папилломавирусом *(Zurhausenvirales: Papillomaviridae, Alphapapillomavirus, Betapapillomavirus, Gammapapillomavirus, Mupapillomavirus* и *Nupapillomavirus)*; вирусом Зика *(Amarillovirales: Flaviviridae, Flavivirus)* и некоторых других.

Изучение молекулярных механизмов патогенеза вирусных инфекций

Органоиды представляют собой ценную модель для изучения молекулярно-биологических особенностей возбудителей инфекционных заболеваний, имеющих эпидемиологическое значение. Триггером для таких исследований, как и по ряду других направлений, послужила пандемия коронавирусной инфекции. Природным резервуаром SARS-CoV-2 являются летучие мыши *(Chiroptera, Microchiroptera)* [14, 19], обладающие целым рядом уникальных особенностей: способностью к активному полету [25], эхолокацией [16, 29], богатым паразитомом [26, 27, 28] и мощной иммунной системой [25]. Вплоть до начала XX века эпидемический потенциал вирусов летучих мышей оставался недооцененным [11, 14]. Серьезный пересмотр представлений о степени биологической опасности со стороны бетакоронавирусов произошел в начале XXI века, когда в 2022 г. на территории Китая возникла масштабная эпидемия, связанная с коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома (SARS-CoV) из подрода *Sarbecovirus* (тогда промежуточными хозяевами при межвидовом переходе вируса от летучих мышей к человеку стали гималайские циветы (*Carnivora: Viverridae, Paguma* sp.)) [13], затем ряд эпидемических вспышек, вызванных коронавирусом Ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV) из подрода *Merbecovirus* (промежуточные хозяева — одногорбые верблюды-дромадеры *(Cetartiodactyla: Camelidae, Camelus dromedarius)*) [12] — крупнейшей в результате завозного случая стала эпидемическая вспышка в Республике Корея в мае—июле 2015 г. [18]. В конце 2019 г. SARS-CoV-2 преодолел межвидовой барьер и проник в человеческую популяцию, по-видимому, используя в качестве промежуточного хозяина панголинов *(Pholidota: Manidae)* [14, 15, 39, 68, 86], которые являются одним из наиболее массовых объектов нелегальной торговли в Юго-Восточной Азии в интересах восточной медицины [13]. Эволюционируя в человеческой популяции под действием коллективного иммунитета в результате инфекционного процесса и вакцинных мероприятий, SARS-CoV-2 сформировал несколько генотипов, различающихся по уровню контагиозности и патогенности [7]. В период пандемии вирус не только распространился по всей планете, но и получил возможность формировать вторичные природные очаги, проникая от людей в популяции животных. Наиболее известными примерами являются эпизоотические процессы среди американских норок *(Carnivora: Mustelidae, Neogale vison)* на зверофермах в Европе и Северной Америке, а также среди белохвостых оленей *(Cetartiodactyla: Cervidae, Odocoileus virginianus)* в Северной Америке [15]. В экспериментальных условиях SARS-CoV-2 вирус способен с различной степенью эффективности вызывать инфекцию у приматов *(Primates)*, грызунов *(Rodentia)*, зайцеобразных *(Lagomorpha)*, кошачьих *(Carnivora: Felidae)*, хорьков и норок *(Carnivora: Mustelidae, Mustelinae)*, оленей *(Cetartiodactyla: Cervidae)*. Менее чувствительными хозяевами SARS-CoV-2 являются куры *(Gallus gallus domesticus)*, утки *(Anseriformes: Anatidae)*, собаки *(Carnivora: Canidae)*, свиньи *(Sus scrofa)* [6, 15].

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

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].

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

Разработка и тестирование лекарственных противовирусных препаратов и вакцин

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

Типичный процесс скрининга новых лекарственных соединений начинается с исследований на основе 2D-культуры клеток, за которыми следуют тесты на животных моделях и, наконец, клинические испытания, при этом только 10% субстанций успешно их проходят. Многие фармацевтические препараты не выдерживают клинических испытаний, особенно на III, самой дорогостоящей стадии исследований, обычно потому, что эти препараты не работают или имеют серьезные побочные эффекты [33]. 3D-культуры клеток предоставляют альтернативные модели, которые дополняют существующие экспериментальные системы для разработки новых продуктов для диагностики, профилактики и лечения инфекционных заболеваний. Высокая точность, воспроизводимость и экономическая эффективность 3D-культивирования клеток обеспечивают мощный инструмент скрининга лекарств и обладают огромным потенциалом для валидации лекарств и их мишеней. Такие модели эффективно используются для пересмотра механизмов действия и выяснения сигнальных путей действия лекарственных препаратов в отношении различных вирусов, ранее охарактеризованных с применением традиционных методов культивирования [33, 55]. Так, органная модель эпителиальных клеток дыхательных путей человека использована для оценки терапевтического эффекта осельтамивира в отношении вируса гриппа А, коронавируса SARS-CoV-2 и других вирусов, вызывающих ОРЗ [48]. При тестировании на органоидах эпителия носа и бронхов ремдесивир и ремдесивир-дилтиазем оказались эффективны против коронавирусной инфекции [80], а модель органоидов легких, экспрессирующих АПФ-2 и способных поддерживать инфекцию SARS-CoV-2, была успешно использована для скрининга противовирусных препаратов (иматиниба, атебрина, микофеноловой кислоты) [53]. По мнению некоторых авторов, технология «орган-на-чипе», ставшая особенно популярной за последние 10 лет и позволяющая получить желаемый искусственный орган для оценки влияния лекарственных препаратов, наиболее пригодна для тестирования лекарств и, следовательно, реализует подход к персонализированной медицине [59, 95].

Несмотря на широкое использование органоидов для высокопроизводительного скрининга лекарств, авторы обзора [94] отмечают, что идеальным вариантом для персонализированной медицины является технология PDO (patient-derived organoid), что значительно об-

легчает тестирование лекарственных препаратов и генетический скрининг. Tayeb S. с соавт. (2020) акцентируют внимание на том, что использование PDO помогает точнее идентифицировать траекторию лечения для конкретного пациента [96]. С этой целью разработка органоидных биобанков в отношении различных заболеваний может оказать огромное влияние на индустрию разработки лекарств и представляет интересное и важное направление практической медицины в ближайшем будущем [94].

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

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

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

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

Преимущества и перспективы применения 3D-клеточных культур в вирусологии

Органоиды более эффективно по сравнению с естественно инфицированными образцами тканей воспроизводят вирусные инфекции в лабораторных условиях [85]. Кроме того, на органоидах возможно культивирование вирусов, которые не поддаются выращиванию в культурах клеток, что нами отмечено выше. К таким случаям относится невозможность найти подходящие клеточные линии для репликации и накопления вируса дикого типа, вызывающего инфекцию *in vivo*. В отличие от клеточных культур, органоиды представляют собой удобную альтернативу для культивирования таких вирусов в лабораторных условиях. Органоидные системы являются высокоинформативными и позволяют изучать взаимодействие вирус—хозяин в более реалистичных условиях, чем в монослое. Кроме того, органоиды расширяют возможности системы культивирования для поддержки репликации множества вирусов (включая патогены других типов), имеющих разный клеточный тропизм, что способствует изучению взаимодействия между коинфицированными агентами и хозяином. Такого рода мо-

дели коинфекции (микст-инфекции) в большей мере отражают сложные процессы при естественном инфицировании. Использование органоидов для моделирования вирусных микст-инфекций способствует лучшему пониманию патологических процессов и разработке комплекса терапевтических мероприятий при синдромах или комплексах заболеваний, вызываемых несколькими видами вирусов, что обычно наблюдается в пищеварительном, респираторном и репродуктивном трактах [56, 65, 75, 92].

К преимуществам использования органоидов следует добавить также их потенциальную способность демонстрировать клинические признаки, наблюдаемые при естественных вирусных инфекциях. Например, инфицирование вирусом Зика приводило к уменьшению размера органоидов человеческого мозга, имитируя микроцефалию, вызванную вирусом *in vivo*. Исследования с использованием органоидов человеческого мозга также способствовали пониманию нейротропизма и патогенеза других нейротропных вирусов, включая вирус простого герпеса и цитомегаловирус у новорожденных, вызывающий обширные неврологические дефекты, такие как микроцефалия [44]. Кроме того, к преимуществам относится возможность широкого применения органоидных моделей в процедурах скрининга лекарств, что способствует разработке эффективной стратегии лечения при вирусной инфекции [42, 44, 92] и производства вакцин [70, 97]. Также применение органоидов в вирусологических исследованиях позволяет избегать ряд этических проблем, возникающих при использовании животных.

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

Для решения этих задач предложено несколько подходов [85]. Во-первых, для включения иммунных и стромальных клеток эпителиальные органоиды могут культивироваться совместно со стромальными клетками, иммунными клетками (макрофаги, дендритные клетки и Т-клетки) и даже с популяцией клеток кровеносных сосудов или лимфатических узлов. Используя такую систему совместного культивирования, ряд авторов уже успешно продемонстрировал взаимодействие эпителиальных и иммунных клеток в осуществлении противовирусных ответов [56]. Во-вторых, для включения различных органотипических функций может быть использована система «орган-на-чипе», основанная на редукционистском инженерном подходе к культивированию клеток основных тканей; при этом для культивирования клеток используется микрожидкостный 3D-чип. Такая мультисистемная структура органоидов может быть пригодна для исследования иммунометаболического и иммуноневрологического взаимодействия, имеющего место в регуляции противовирусного ответа [31, 56]. В-третьих, с помощью передовых технологий органоидной инженерии могут быть разработаны мультиорганоиды, включающие различные физиологические ниши, такие как компоненты иммунной системы и/или микробиоты [55, 56, 75].

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

ких плюрипотентных клеток, способствовало улучшению барьерной функции и целостности кишечного эпителия [55].

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

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

Также требуется унифицировать стандарты контроля качества в отношении сложной природы органоидных систем. В дополнение к существующим коммерческим форматам, разработанным в первую очередь для клеточных культур, для культивирования органоидов необходима разработка мультиплексных методов культивирования, что облегчит исследования в области системной вирусологии [56, 65, 92].

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

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

Заключение

Подводя итоги и оценивая преимущества и недостатки трехмерных 3D-клеточных культур, отметим, что с начала текущего столетия эти культуры широко используются в различных областях биомедицинских исследований и, в частности, в вирусологии.

Наиболее многообещающими типами культур для вирусологических исследований являются такие 3D-системы, как органоиды и «орган-на-чипе». Органоиды существенно расширили вирусологические исследования применительно к человеку. Органоидные системы используют самоорганизующиеся свойства стволовых клеток для моделирования многоклеточных аналогов тканей органов. Обладая промежуточными свойствами между обычной клеточной культурой и моделями на животных, органоиды имеют множество неоспоримых преимуществ применения в вирусологии и вызывают огромный интерес для моделирования заболеваний. Эти модели являются высокоинформативными для культивирования и изучения взаимодействий вирус–хозяин в отношении различных вирусов, а также служат наилучшими моделями для скрининга лекарств

и исследований по разработке вакцин. Также 3D-клеточные системы нашли применение для изучения различных проблем вирусологии.

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

Список литературы/References

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) // Вопросы вирусологии. 2007. Т. 52, № 1. С. 45–47. [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). *Voprosy virusologii = Problems of Virology, 2007, vol. 52, no. 1, pp. 45–47. (In Russ.)*]
2. Кацнельсон З.С. Клеточная теория в ее историческом развитии. Л.: Медгиз, 1963. 344 с. [Katsnelson Z.S. Cell theory in its historical development. *Leningrad: Medgiz, 1963. 344 p. (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., 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 тяжелых форм заболевания // Терапевтический архив. 2011. Т. 83, № 9. С. 48–53. [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.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. *Terapevticheskii arkhiv = Therapeutic Archive, 2011, vol. 83, no. 9, pp. 48–53. (In Russ.)*]
4. 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 инфекций на территории Российской Федерации. М.: Изд-во НПЦ ТМГ МЗ РФ, 2001. 192 с. [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 Russian Federation. *Moscow: Publishing house NPC TMG Ministry of Health of the Russian Federation, 2001. 192 p. (In Russ.)*]
5. Медицинская вирусология. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА, 2008. 656 с. [Medical Virology. Ed. by D.K. Lvov. *Moscow: Medical Information Agency, 2008. 656 p. (In Russ.)*]
6. Никифоров В.В., Колобухина Л.В., Сметанина С.В., Мазанкова Л.Н., Плавунов 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., Zabozlaev 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.)*]
7. Попова А.Ю., Щелканов М.Ю., Крылова Н.В., Белик А.А., Семейкина Л.М., Запорожец Т.С., Смоленский В.Ю., Персиянова Е.В., Просянникова 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 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2024. Т. 101, № 1. С. 19–35. [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. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2024, vol. 101, no. 1, pp. 19–35. (In Russ.)*] *doi: 10.36233/0372-9311-497*
8. Пульмонология. Национальное руководство. Краткое издание / Ред.: А.Г. Чучалин. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2020. 768 с. [Pulmonology. National leadership. Short edition / Ed.: A.G. Chuchalin. *Moscow: GEOTAR-Media, 2020. 768 p. (In Russ.)*]
9. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных / Ред.: академик РАН Д.К. Львов. М.: МИА, 2013. 1200 с. [Guide to Virology. Viruses and viral infections of humans and animals / Ed.: Academician of the Russian Academy of Sciences D.K. Lvov. *Moscow: MIA, 2013. 1200 p. (In Russ.)*]
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 // Юг России: экология, развитие. 2019. Т. 14, № 4. С. 121–133. [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. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie = South of Russia: Ecology, Development, 2019, vol. 14, no. 4, pp. 121–133. (In Russ.)*] *doi: 10.18470/1992-1098-2019-4-121-133*

11. Шестопалов 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 // Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15, № 2. С. 17–34. [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). *Yug Rossii: ekologiya, razvitie = South of Russia: Ecology, Development, 2020, vol. 15, no. 2, pp. 17–34. (In Russ.)*] *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? // Тихоокеанский медицинский журнал. 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? *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal, 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 // Лечащий врач. 2013. № 10. С. 49–54. [Shchelkanov M.Yu., Kolobukhina L.V., Lvov D.K. Human coronaviruses (Nidovirales, Coronaviridae): increased level of epidemic threat. *Lechashchiy vrach = The Attending Physician, 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) // Инфекция и иммунитет. 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. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2020, vol. 10, no. 2, pp. 221–246. (In Russ.)*] *doi: 10.15789/2220-7619-H0I-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: COVID-19: from etiology to vaccination. A guide for doctors. *Moscow: 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. *Yug Rossii: ekologiya, razvitie = South of Russia: Ecology, Development, 2020, vol. 15, no. 4, pp. 6–20. (In Russ.)*] *doi: 10.18470/1992-1098-2020-4-6-20*
17. Щелканов М.Ю., Кириллов И.М., Шестопалов А.М., Литвин К.Е., Дерябин П.Г., Львов Д.К. Эволюция вируса гриппа A/H5N1 (1996–2016) // Вопросы вирусологии. 2016. Т. 61, № 6. С. 245–256. [Shchelkanov M.Yu., Kirillov I.M., Shestopalov A.M., Litvin K.E., Deryabin P.G., Lvov D.K. Evolution of influenza A/H5N1 virus (1996–2016). *Voprosy Virusologii = Problems of Virology, 2016, vol. 61, no. 6, pp. 245–256. (In Russ.)*] *doi: 10.18821/0507-4088-2016-61-6-245-256*
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 A/H5N1, в эпицентре эпизоотии на юге Западной Сибири (июль 2005 г.) // Журнал инфекционной патологии. 2005. Т. 12, № 3–4. С. 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. *Zhurnal infektsionnoi patologii = Journal of Infection Pathology, 2005, vol. 12, no. 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., Шестопалов А.М. Каталог вирусов рукокрылых (2020) // Юг России: экология, развитие. 2020. Т. 15, № 3. С. 6–30. [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. Catalogue of bat viruses (2020). *Yug Rossii: ekologiya, razvitie = South of Russia: Ecology, Development, 2020, vol. 15, no. 3, pp. 6–30. (In Russ.)*] *doi: 10.18470/1992-1098-2020-3-6-30*
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. *Vladivostok: FEFU Publishing House, 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 // Инфекция и иммунитет. 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. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 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 // Вопросы вирусологии. 2012. Прил. 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. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, 2012, suppl. 1, pp. 159–168. (In Russ.)*]
23. 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 A/H1N1 swl на Дальнем Востоке в 2009 г. // Вопросы вирусологии. 2010. Т. 55, № 3. С. 10–15. [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., Kuchenkov 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.G., Ott V.A., Maslov D.V., Yanovich V.A., Lvov D.K. Dynamics of the spread of pandemic influenza A/H1N1 swl in the Far East in 2009. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, 2010, vol. 55, no. 3, pp. 10–15. (In Russ.)*]

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 // Вопросы вирусологии. 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. *Voprosy virusologii = Problems of Virology, 1998, vol. 43, no. 3, pp. 117–121. (In Russ.)*]
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. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2021. 130 с. [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. *Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2021. 130 p. (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., Галкина И.В. Насекомые-эктопаразиты рукокрылых. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2022. 242 с. [Shchelkanov M.Yu., Tabakaeva T.V., Shchelkanov E.M., Aliyev M.R., Tolkach V.F., Kakareka N.N., Maslovsky K.S., Volkov Yu.G., Galkina I.V. Insects-ectoparasites of chiropterans. *Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2022. 242 p. (In Russ.)*] *doi: 10.24866/7444-5404-3*
27. Щелканов М.Ю., Табакаева Т.В., Щелканов Е.М., Панкратов Д.В., Табакаев А.В., Галкина И.В. Паукообразные-эктопаразиты рукокрылых. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2022. 126 с. [Shchelkanov M.Yu., Tabakaeva T.V., Shchelkanov E.M., Pankratov D.V., Tabakaev A.V., Galkina I.V. Arachnids-ectoparasites of chiropterans. *Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2022. 126 p. (In Russ.)*] *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: нематоды. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2023. 112 с. [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: Nematodes. *Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2023. 112 p. (In Russ.)*]
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., Вайнутис К.С., Щеглов Б.О., Баранчугова К.А., Галкина И.В. Биоэхолокация: вопросы и задачи с ответами и решениями. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2021. 250 с. [Shchelkanov M.Yu., Shchelkanov E.M., Ukolov S.S., Tabakaeva T.V., Baranchugov I.A., Voronova A.N., Belov Yu.A., Grigoryan O.M., Vainutis K.S., Shcheglov B.O., Baranchugova K.A., Galkina I.V. Bioecholocation: questions and problems with answers and solutions. *Vladivostok: Far Eastern Federal University, 2021. 250 p. (In Russ.)*] *doi: 10.24866/7444-5188-2*
30. 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. *Int. J. Mol. Sci., 2019, vol. 20: 4926. doi: 10.3390/ijms20194926*
31. Bar-Ephraim Y.E., Kretzschmar K., Clevers H. Organoids in immunological research. *Nat. Rev. Immunol., 2020, vol. 20, pp. 279–293. doi: 10.1038/s41577-019-0248-y*
32. 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 culture comes of age. *Infect. Immun., 2018, vol. 86: e00282-18. doi: 10.1128/IAI.00282-18*
33. Benson A. Implications of three-dimensional cell culture in drug discovery. *J. Regen. Med., 2023, vol.12, iss. 1: 1000237. 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. *Sci. Rep., 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. *Tissue Eng., 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 for new applications. *Front. Physiol., 2022, vol. 13: 836480. doi: 10.3389/fphys.2022.836480*
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. *Nat. Cell Biol., 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. *Biomaterials, 2019, vol. 216: 119221. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.05.032*
39. 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., Tsirigoti 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 ACE2proteins. *PLoS Biol., 2020, vol. 18: e3001016. doi: 10.1371/journal.pbio.3001016*
40. Corrò C., Novellasdemunt L., Li V.S.W. A brief history of organoids. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol., 2020, vol. 319, pp. C151–C165. doi: 10.1152/ajpcell.00120.2020*

41. 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-Braga P.C.B. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature, 2016, vol. 534, pp. 267–271. doi: 10.1038/nature18296*
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. *Biomed. J., 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. *Nat. Protoc., 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 human model for AAV capsid selection and therapeutic transgene efficacy in the brain. *Mol. Ther. Meth. Clin. Devel., 2020, vol. 18, pp. 167–175. doi: 10.1016/j.omtm.2020.05.028*
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. *Science, 2016, vol. 353, pp. 1387–1393. doi: 10.1126/science.aaf5211*
46. Finkbeiner S.R., Zeng X.L., Utama B., Atmar R.L., Shroyer N.F., Estes M.K. Stem cell-derived human intestinal organoids as an infection model for rotaviruses. *mBio, 2012, vol. 3: e00159-12. doi: 10.1128/mbio.00159-12*
47. Fuchs E., Blau H.M. Tissue stem cells: architects of their niches. *Cell. Stem. Cell, 2020, vol. 27, pp. 532–556. doi: 10.1016/j.stem.2020.09.011*
48. 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. *Sci. Rep., 2021, vol. 11, no. 1: 14961. doi: 10.1038/s41598-021-94095-7*
49. 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. *Viruses, 2021, vol. 13, no. 1: 139. doi: 10.3390/v13010139*
50. 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 J. Modeling SARS-CoV-2 infection in vitro with a human intestine-on-chip device. *bioRxiv, 2020. doi: 10.1101/2020.09.01.277780*
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. *Journal of Veterinary Medical Science, 2017, vol. 79, no. 8, pp. 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. *Biomed. J., 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. *Nat. Methods, 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 culture models to study respiratory virus infections including COVID-19. *Biomimetics, 2021, vol. 7, no. 1: 3. doi: 10.3390/biomimetics7010003*
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. *Elife, 2017, vol. 6: e29132. doi: 10.7554/eLife.29132*
56. Hofer M., Lutolf M.P. Engineering organoids. *Nat. Rev. Mater., 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. *J. Biol. Eng., 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 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. *Lancet Respir. Med., 2018, vol. 6, no. 11, pp. 846–854. doi: 10.1016/S2213-2600(18)30236-4*
59. Ingber D.E. Human organs-on-chips for disease modelling, drug development and personalized medicine. *Nat. Rev. Genet., 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. *Cell Stem Cell, 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? *Front. Mol. Biosci., 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. *Arch. Med. Sci., 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. *Immunology and Infectious Diseases, 1996, vol. 6, pp. 15–24.*
64. Kessie D.K., Rudel T. Advanced human mucosal tissue models are needed to improve preclinical testing of vaccines. *PLoS Biol., 2021, vol. 19, no. 11: e3001462. doi: 10.1371/journal.pbio.3001462*
65. Kim J., Koo B.K., Knoblich J.A. Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 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. *Viruses, 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. *Russian Journal of Marine Biology, 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.-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. *Nature, 2020, vol. 583, pp. 282–285. doi: 10.1038/s41586-020-2169-0*

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. *Science, 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. 3D tissue models as an effective tool for studying viruses and vaccine development. *Front. Mat., 2021, vol. 80: 631373. doi: 10.3389/fmats.2021.631373*
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. *Infect. Dis. Poverty, 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. *J. Glob. Health., 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. *Academic Press, 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., Spence J.R. Generation of lung organoids from human pluripotent stem cells in vitro. *Nat. Protoc., 2019, vol. 14, pp. 518–540. doi: 10.1038/s41596-018-0104-8*
75. Min S., Kim S., Cho S.W. Gastrointestinal tract modeling using organoids engineered with cellular and microbiota niches. *Exp. Mol. Med., 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. *PLoS One, 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., Penninger J.M. Inhibition of SARS-CoV-2 infections in engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE2. *Cell, 2020, vol. 181, no. 4, pp. 905:e7–913.e7. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.004*
78. Nickerson C.A., zu Bentrup K.H., Ott C.M. Three-dimensional cell culture models for infectious disease and drug development. *Future Pharmacology, 2023, vol. 3, no. 1, pp. 48–60. doi: 10.3390/futurepharmacol3010004*
79. Ortega-Soto E., Chopin-Doroteo M. Cell cultures: a laboratory tool for studying viruses. *Front. Young Minds, 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 bronchial human airway epithelia. *Cell Rep. Med., 2020, vol. 1: 100059. doi: 10.1016/j.xcrm.2020.100059*
81. Ramani A., Müller L., Ostermann P.N., 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. *bioRxiv. 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: Pneumoviridae. *J. Gen. Virol., 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., Hogan B.L. Basal cells as stem cells of the mouse trachea and human airway epithelium. *Proc. Natl Acad. Sci. USA, 2009, vol. 106, pp. 12771–12775. doi: 10.1073/pnas.0906850106*
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. *EMBO J., 2019, vol. 38: e100300. doi: 10.15252/embj.20181003000*
85. Sang Y., Miller L.C., Nelli R.K., Giménez-Lirola L.G. Harness organoid models for virological studies in animals: a cross-species perspective. *Front. Microbiol., Sec. Virology, 2021, vol. 12: 725074. 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. *Genes, 2021, vol. 12: 154. doi: 10.3390/genes12020154*
87. Schutgens F., Clevers H. Human organoids: tools for understanding biology and treating diseases. *Annu. Rev. Pathol., 2020, vol. 15, pp. 211–234. doi: 10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032611*
88. Shi N., Li N., Duan X. Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil. Med. Res., 2017, vol. 4: 14. doi: 10.1186/s40779-017-0122-9*
89. Shpichka A., Bikmulina P., Peshkova M., Kosheleva N., Zurina I., 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). *Int. J. Bioprint, 2020, vol. 6: 302. doi: 10.18063/ijb.v6i4.302*
90. 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. *bioRxiv, 2019, preprint. doi: 10.1101/685552*
91. Siddiqi H.K., Libby P., Ridker P.M. COVID-19 — a vascular disease. *Trends Cardiovasc. Med., 2021, vol. 31, pp. 1–5. doi: 10.1016/j.tcm.2020.10.005*
92. Sridhar A., Simmini S., Ribeiro C.M.S., Tapparel C., Evers M.M., Pajkrt D., Wolthers K. A perspective on organoids for virology research. *Viruses, 2020, vol. 12: 1341. doi: 10.3390/v12111341*

93. Stanifer M.L., Kee C., Cortese M., Zumaran 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. *Cell Rep., 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. *Cell Biosci., 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. *Trends Microbiol., 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. *Integr. Mol. Med., 2020, vol. 7, no. 5, pp. 1–5. doi: 10.15761/IMM.1000410*
97. Varan G., Unal S. Three-dimensional cell culture methods in infectious diseases and vaccine research. *Future Pharmacology, 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. *Nat. Med., 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 disease. *PLoS Pathog., 2020, vol. 16: e1008318. doi: 10.1371/journal.ppat.1008318*
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. *Biomed. Eng. Online, 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. *J. Hematol. Oncol., 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. *bioRxiv, 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., 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. *bioRxiv, 2020. doi: 10.1101/2020.03.16.990317*
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. *Nat. Med., 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. *Biomaterials, 2018, vol. 154, pp.113–133. doi: 10.1016/j.biomaterials.2017.10.002*

Авторы:
Кузнецова Т.А., д.м.н., главный научный сотрудник лаборатории биопрепаратов ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;
Алиев М.Р., лаборант-исследователь лаборатории биопрепаратов ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия; магистрант Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток, Россия;
Михалко А.А., лаборант-исследователь лаборатории респираторных инфекций ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия; студентка Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток, Россия;
Щелканов М.Ю., д.б.н., доцент, директор ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия; зав. кафедрой эпидемиологии, микробиологии и паразитологии Школы медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, г. Владивосток, Россия.

Authors:
Kuznetsova T.A., DSc (Medicine), Head Researcher, Laboratory of Biopreparations, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation;
Aliev M.R., Research Laboratory Assistant, Laboratory of Biopreparations, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation; Graduate Student, School of Medicine and Life Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation;
Mikhalko A.A., Research Laboratory Assistant, Laboratory of Biopreparations, G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation; Student, School of Medicine and Life Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation;
Shchelkanov M.Yu., DSc (Biology), Associate Professor, Director of G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation; Head of the Department of Epidemiology, Microbiology and Parasitology, School of Medicine and Life Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation.

Поступила в редакцию 03.05.2024
Принята к печати 09.08.2024

Received 03.05.2024
Accepted 09.08.2024

Иллюстрация к статье «3D клеточные культуры: перспективы использования в вирусологии» (авторы: Т.А. Кузнецова, М.Р. Алиев, А.А. Михалко, М.Ю. Щелканов) (с. 1045–1062)

Illustration for the article “3D cell cultures: prospects for use in virology” (authors: Kuznetsova T.A., Aliev M.R., Mikhalko A.A., Shchelkanov M.Yu.) (pp. 1045–1062)

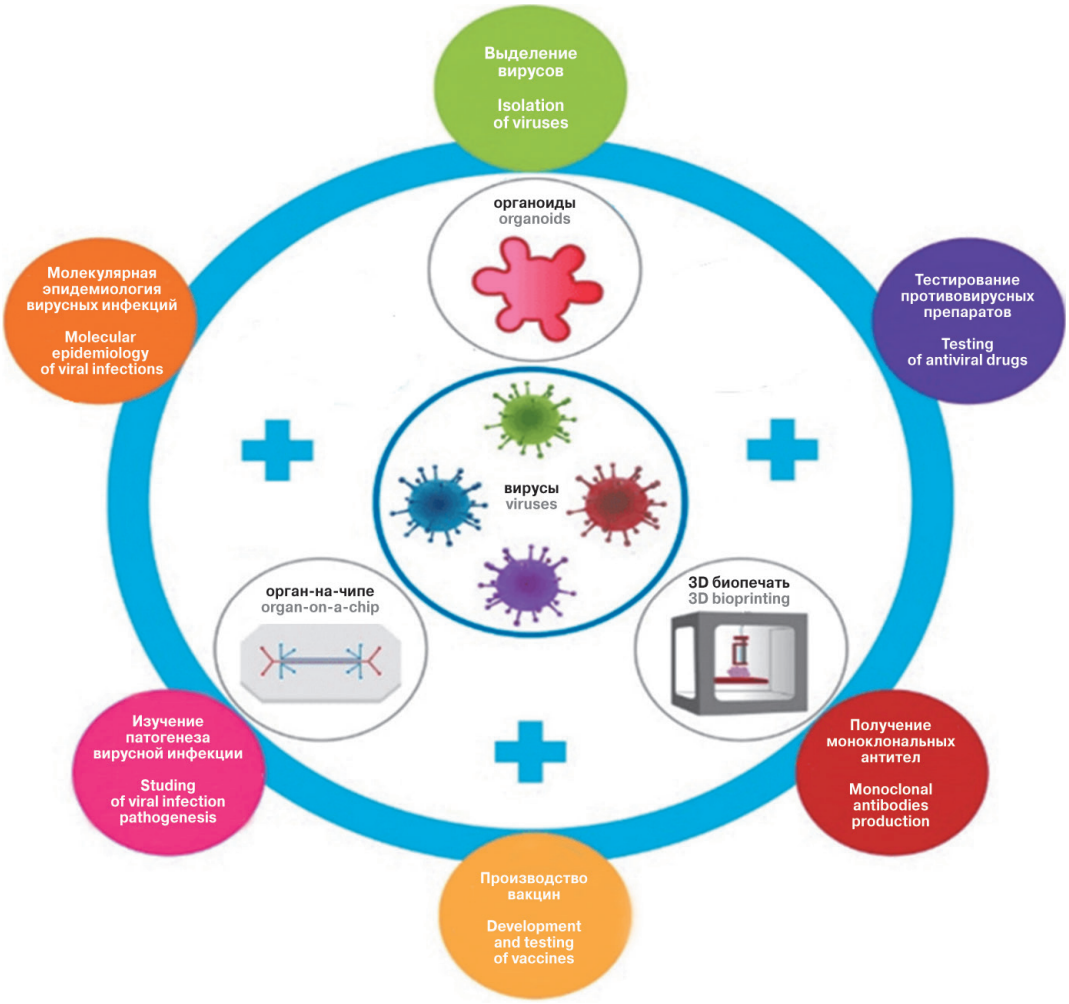

Рисунок. Современные возможности трехмерных (3D) клеточных культур (органоиды, орган-на-чипе, 3D-биопечать) в вирусологии

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