

*На правах рукописи*

МАРЧЕНКО ВЛАДИМИР АЛЕКСАНДРОВИЧ

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ ПРИ  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ГРИППА  
А(H1N1)pdm09

1.5.10 – Вирусология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:** доктор биологических наук  
**Жилинская Ирина Николаевна**

**Официальные оппоненты:**

**Власов Тимур Дмитриевич** – заведующий кафедрой патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор

**Кюрегян Карен Каренович** – заведующий отделом социально значимых вирусных инфекций Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», доктор биологических наук, профессор РАН

**Ведущая организация:**

Федеральное бюджетное учреждение науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»

Защита диссертации состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 года в \_\_\_\_ часов на заседании Диссертационного совета Д 21.1.017.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт гриппа имени А.А. Смородинцева» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова 15/17).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России (197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова 15/17).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета,  
кандидат биологических наук

**Амосова И.В.**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Грипп представляет собой инфекционное заболевание, занимающее одно из доминирующих положений в структуре инфекционной заболеваемости, как по числу случаев заболевания, так и по наносимому экономическому ущербу. Так, сезонный грипп, предположительно, вызывает заболевание у 1 млрд людей, в то время как тяжелое течение инфекции регистрируют, в среднем, у 3-5 млн больных. Количество летальных исходов от сезонного гриппа регистрируют у 290-650 тыс. заболевших (ВОЗ, 2019). Несмотря на тот факт, что интенсивным изучением возбудителя гриппа занимаются во многих лабораториях мира, патогенез данной инфекции остается предметом повышенного интереса большого числа исследователей. Связано это с тем, что проявления гриппозной инфекции достаточно разнообразны и включают клинические синдромы, касающиеся, не только верхнего и нижнего отдела респираторного тракта, но и системы гемостаза, а также сердечно-сосудистой системы. Взаимосвязь гриппозной инфекции и сердечно-сосудистых заболеваний клиницисты отмечали еще с конца 50-х годов XX века (Lyon E. et al., 1952; Сергеев Н.В. и др., 1962). Так, грипп может приводить к различным аритмиям, острой ишемии миокарда, инфаркту, обострению застойной сердечной недостаточности и избыточной смертности от сердечно-сосудистых заболеваний (Carrat F. et al., 2006; Mamas M.A. et al., 2008; Warren-Gash C. et al., 2009). Последнее особенно важно, так как с окончанием эпидемии наблюдается избыточная (дополнительная) смертность от гриппа в группах риска: при наличии заболеваний сердца – 104 на 100 тыс. переболевших, а у больных с хронической патологией сердца и легких – 870 на 100 тыс. переболевших (ВОЗ, 2008).

Одной из ведущих причин развития сердечно-сосудистых заболеваний считают дисфункцию клеток эндотелия. Установленным фактом для вируса гриппа является то, что он вызывает дисфункцию клеток эндотелия и активно вмешивается в систему гемостаза хозяина. Так, в НИИ гриппа были получены данные о том, что вирус гриппа А разных подтипов репродуцируется в клетках эндотелия и вызывает изменение их морфологии, гипоксию и дисфункцию (Азаренок А.А. и др., 2014).

В настоящее время установлено, что система гемостаза и эндотелий кровеносных сосудов являются мишенями для гриппозной инфекции, что открывает новые аспекты патогенеза этой инфекции и, соответственно, новые подходы к их терапии. Участие системы гемостаза и эндотелия при гриппе подтверждается клинической картиной в виде носовых кровотечений, геморрагий на коже и слизистых, микрогематурии, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС), диссеминированного внутрисосудистого синдрома (ДВС-синдрома), геморрагического отека легких и головного мозга. Подобная

тяжелая клиническая картина отмечалась в эпидемиях гриппа 2009-2011, 2015-2016 гг.

Механизмы воздействия вируса гриппа на систему гемостаза и сосудистый эндотелий до сих пор остаются недостаточно изученными, тогда как их понимание является чрезвычайно актуальным, т.к. позволяет усовершенствовать схемы лечения гриппа.

### **Степень разработанности темы исследования**

Исследования по изучению механизмов развития дисфункции эндотелия и вовлечении системы гемостаза стали ведущими в изучении патогенеза вирусных инфекций, включая грипп. Оказалось, что большинство вирусов вызывают нарушения со стороны эндотелия сосудов и системы гемостаза, что можно объяснить тем, что система гемостаза принимает активное участие в защите организма от патогена (Young I. et al., 2012).

Установлено, что вирус грипп поражает кровеносные сосуды и вызывает дисфункцию эндотелия, что является одной из основных причин развития сердечно-сосудистых заболеваний. Однако механизм развития дисфункции эндотелия при гриппе до конца не выяснен, что не дает возможность прогнозирования развития осложнений при гриппе, особенно у больных гриппом, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями. Кроме того, появляется все больше данных о том, что повреждение эндотелия и изменения в системе гемостаза при инфекционных заболеваниях, включая вирусные, являются причиной развития аутоиммунных состояний (Arango M. et al., 2013).

Исследование роли эндотелия и системы гемостаза в репродукции и патогенезе вируса гриппа за последние 5-7 лет отражено более чем в 100 публикациях. Все они посвящены выяснению роли отдельных компонентов системы гемостаза при гриппозной инфекции. Так, было показано, что при гриппе выявляют модуляцию активности таких белков системы гемостаза, как фактора фон Виллебранда (vWF), матриксных металлопротеиназ, ингибитора фактора фон Виллебранда (ADAMTS 13), эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), тканевого активатора плазминогена (tPA), ингибитора тканевого активатора плазминогена 1 типа (PAI-1), тканевого фактора (TF); возникает изменение агрегации тромбоцитов, нарушения проницаемости кровеносных сосудов и др. (Yang Y. et al., 2016; Armstrong S. et al., 2013; Азаренок А.А. и др., 2014).

Одним из наиболее важных синтезируемых эндотелиальных факторов является эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS). Продуктом работы eNOS является оксид азота (NO) – эндогенный вазодилатор, постоянно регулирующий диаметр кровеносных сосудов и поддерживающий антипролиферативное, антиапоптогенное, противовоспалительное, антиагрегативное и противомикробное действие в стенках кровеносных сосудов (Orpie E. et al., 2013; Schrairer D. et al., 2012).

Важная роль в регуляции гемостаза при гриппе принадлежит PAI-1 и tPA. PAI-1 (serpin E1) является сериновой протеазой, синтезируемой преимущественно эндотелиальными клетками. В нормальных физиологических условиях PAI-1 контролирует активность урокиназного активатора плазминогена (uPA), тканевого активатора плазминогена (tPA), плазмينا, матриксных металлопротеиназ, тем самым поддерживая тканевой гомеостаз (Asish K. et al., 2012).

tPA является сериновой протеазой, основная роль которой состоит в превращении плазминогена в плазмин для диссоциации фибринового сгустка, т.е. является активным участником фибринолиза. Установлено также, что tPA играет роль и в определении вирулентности вируса гриппа, т.к. плазмин (высвобождаемый из плазминогена путем расщепления его tPA) является и одним из основных ферментов, расщепляющих гемагглютинин вируса гриппа (Tse L. et al., 2013).

В настоящее время отсутствуют данные по изучению механизмов воздействия вируса гриппа на функциональную активность кровеносных сосудов и экспрессию эндотелиальных факторов *in vivo*. Вместе с тем механизмы развития дисфункции эндотелия при гриппозной инфекции являются чрезвычайно важным аспектом патогенеза гриппа и их изучение необходимо для совершенствования патогенетической терапии.

#### **Цель исследования**

Изучение функциональной активности кровеносных сосудов при гриппозной инфекции у крыс, в том числе, при острой кардиомиопатии.

#### **Задачи исследования:**

1. Сравнить в динамике экспрессию эндотелиальных факторов (eNOS и PAI-1) в клетках EA.hy926, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 (*in vitro*).
2. Отработать методику получения адаптированного вируса гриппа A(H1N1)pdm09 на половозрелых крысах стока Wistar.
3. Оценить морфологическое состояние эндотелия кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 (*in vivo*).
4. Оценить вазомоторную активность кровеносных сосудов крыс в том числе, при острой кардиомиопатии, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09.
5. Сравнить экспрессию эндотелиальных факторов (eNOS, PAI-1 и tPA) в кровеносных сосудах интактных и инфицированных вирусом гриппом A(H1N1)pdm09 крыс, в том числе, при острой кардиомиопатии.
6. Определить концентрацию эндотелиальных факторов (PAI-1 и tPA) в плазме крови крыс, в том числе, при острой кардиомиопатии, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09.

### **Научная новизна**

Получены приоритетные данные о функциональной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс стока Wistar с острой кардиомиопатией и без нее, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09.

Впервые установлено, что вирус гриппа A(H1N1)pdm09 вызывает изменения уровня экспрессии эндотелиальных факторов в культуре клеток эндотелия EA.hy926 и эндотелии кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс с острой кардиомиопатией и без нее.

Впервые установлено, что при гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа A(H1N1)pdm09, наблюдается системное воздействие на кровеносные сосуды, о чем можно судить по изменению вазомоторной активности кровеносных сосудов не только легких, но и брыжейки крыс.

Впервые установлено, что вирус гриппа A(H1N1)pdm09 при инфицировании животных с острой кардиомиопатией значительно усиливает дисфункцию эндотелия, что отражается в существенных изменениях вазомоторной активности артерий брыжейки и уровня экспрессии эндотелиальных факторов.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Выполненная работа представляет собой фундаментальное научное исследование, в результате которого получены приоритетные данные об изменении функциональной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс с острой кардиомиопатией и без нее, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09. Так, показано, что при инфицировании крыс вирусом гриппа уже через 24 часа выявлены изменения в вазомоторной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки, зарегистрированы гистологические изменения сосудов легких и обнаружены изменения в экспрессии ряда эндотелиальных факторов в эндотелии и плазме крови. Данные изменения сохраняются и через 96 часов после инфицирования вирусом гриппа. Полученные данные указывают на развитие дисфункции эндотелия при гриппе, что может являться причиной развития сердечно-сосудистой патологии.

Таким образом, полученные данные позволяют дать рекомендацию о необходимости проведения скрининга ангиопротекторов для включения их в схему лечения гриппа (наряду с этиотропными препаратами), с целью коррекции эндотелиальной дисфункции. Особенно это важно для лиц с сопутствующими заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Вирус гриппа A(H1N1)pdm09 вызывает повреждение кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс стока Wistar, приводящее к изменению уровня экспрессии эндотелиальных факторов и вазомоторной активности уже через 24 ч после инфицирования.

2. Вирус гриппа A(H1N1)pdm09 усиливает повреждение кровеносных сосудов при инфицировании крыс с патологией сердечно-сосудистой системы (острой кардиомиопатией).

#### **Личный вклад автора**

Автор лично планировал и выполнял все основные лабораторные исследования, включая культуральную работу с клеточной линией эндотелия кровеносных сосудов человека, окрашивание фиксированных клеток иммуноцитохимическим методом, адаптация штамма вируса гриппа к половозрелым крысам стока Wistar, окрашивание фиксированных тканей инфицированных животных иммуногистохимическим методом, морфометрические исследования, изоляция артерий легких и брыжейки. Анализ и статистическая обработка полученных результатов осуществлялось лично диссертантом.

#### **Степень достоверности и апробация результатов**

Результаты исследований подтверждены статистическим анализом с применением адекватно подобранных критериев описательной и аналитической статистики. Основные материалы диссертационной работы доложены на 9 отечественных конференциях и конгрессах, в том числе с международным участием: III международной научно-практической конференции: экспериментальные и клинические аспекты микроциркуляции и функции эндотелия (Россия, Смоленск, 2018), Всероссийском конгрессе по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии с международным участием «Кашкинские чтения» (Россия, Санкт-Петербург, 2018-2022), XII Ежегодном конгрессе по инфекционным болезням с международным участием (Россия, Москва, 2020), I Ежегодной интернет-конференции «Покровские чтения» (Россия, Москва, 2021), III Всероссийской конференции молодых ученых «Вирусные инфекции – от диагностики к клинике», посвященная 55-летию со дня основания НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева (Россия, Санкт-Петербург, 2022).

#### **Связь темы диссертации с плановой тематикой научно-исследовательской работы учреждения**

Диссертационная работа выполнена в рамках Государственного задания № 121051900147-5 «Роль вирусов гриппа в развитии дисфункции эндотелия кровеносных сосудов».

#### **Публикации**

По теме диссертационной работы опубликовано 10 научных работ, из них 3 научные статьи (2 в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки Российской Федерации, 1 – в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования), а также 7 тезисов докладов российских конференций и конгрессов, в том числе с международным участием.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 166 странице машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 312 отечественных и зарубежных источников. Диссертация иллюстрирована 16 таблицами и 34 рисунками.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Вирусы.** Для исследования был выбран вирус гриппа А/Санкт-Петербург/48/16 (H1N1)pdm09, полученный из лаборатории эволюционной изменчивости вирусов гриппа ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России.

**Клеточные линии.** В исследовании была использована перевиваемая клеточная линия эндотелия кровеносных сосудов человека EA.hy926.

**Лабораторные животные.** Эксперименты выполнены на 115 крысах (самцах) стока Wistar, в возрасте от 2 до 4 мес., весом 200-280 граммов. Опыты проводили, соблюдая принципы гуманного обращения с животными, регламентированные требованиями Европейской конвенции (Страсбург, 1986) по содержанию, кормлению и уходу за подопытными животными, а также выводу их из эксперимента и последующей утилизации. Все исследования были согласованы и одобрены комитетом по биоэтике ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России (протоколы № 18 от 30.01.2020 г., № 31 от 25.02.2021 г.).

**Плазма крови.** Взятие крови у крыс стока Wistar проводилось под наркозом из верхней полой вены в вакуумные пробирки с ЭДТА-K2 (Greiner, Австрия).

**Инфекционная активность вируса гриппа А(H1N1)pdm09 в культуре клеток эндотелия EA.hy926 и в легких и брыжейке крыс стока Wistar.** Инфекционная активность вируса в культуре клеток эндотелия определялась с помощью детекции NP-антигена вируса гриппа А (ВГА) иммуноферментным методом; в тканях легких и брыжейки определялась в развивающихся куриных эмбрионах по методу Рида и Менча.

**Моделирование экспериментальной гриппозной инфекции на крысах.** Адаптацию вируса гриппа А(H1N1)pdm09 проводили путем серии из 10 пассажей через легкие крыс. Первой группе крыс, состоящей из 3 животных, интраназально инокулировали 0,2 мл вирусосодержащей аллантоисной жидкости. Спустя 24 часа после инфицирования проводили эвтаназию изофлураном. В стерильных условиях проводили некропсию животных и выделяли легкие, после чего делали 10% гомогенат легких в культуральной среде  $\alpha$ -МЕМ. Гомогенат центрифугировали при  $1000 \times g$  в течение 10 минут для осаждения клеточного дебриса, затем супернатант был аликвотирован и хранился на  $-80^{\circ}\text{C}$ . Аликвоты с

гомогенатами, которые имели наибольшие титры инфекционной активности вируса, были выбраны для следующих пассажей.

**Гистологические исследования тканей и кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс стока Wistar.** Материал фиксировали в формалине в течение 24 часов при комнатной температуре. Гистологическую проводку выполняли с использованием автоматического процессора замкнутого типа Shandon Excelsior ES (Thermo, Великобритания) в изопропиловом спирте. С готовых гистологических блоков, залитых в гомогенизированный парафин, изготавливали срезы толщиной 4-5 мкм на ротационном микротоме.

**Детекция NP антигена вируса гриппа A(H1N1)pdm09 в культуре клеток эндотелия EA.hy926 и методом иммуноферментного анализа** через 5 суток после заражения вирусом гриппа. Для проведения исследования использовали мышинные моноклональные антитела, конъюгированные с пероксидазой хрена (разведение антител 1:1000). Оптическую плотность измеряли при длине волны 450 нм. В качестве отрицательного контроля служили неинфицированные клетки EA.hy926 на тех же временных сроках.

**Детекция NP антигена вируса гриппа A(H1N1)pdm09 в кровеносных сосудах легких и брыжейки крыс иммуногистохимическим методом.** Для обнаружения вируса гриппа А в тканях и кровеносных сосудах легких инфицированных крыс использовали первичные мышинные моноклональные антитела (Clone 6D11), полученные из отдела биотехнологии ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева» Минздрава России. Предварительную температурную демаскировку не выполняли. Инкубацию срезов с первичными антителами в разведении 1:1000 проводили на протяжении 1 часа при комнатной температуре во влажной камере. После двукратного промывания срезы инкубировали со вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена. Для детекции NP-антигена в аутопсийном материале использовали систему визуализации (Dako, Дания), включающей в себя реакцию с DAB-хромогеном.

**Определение уровня эндотелиальных факторов eNOS, PAI-1 и tPA в культуре клеток эндотелия EA.hy926 и в эндотелии кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс с острой кардиомиопатией и без нее, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09.** Для определения уровня экспрессии эндотелиальных факторов использовали моноклональные мышинные антитела к eNOS (Abcam, США), поликлональные кроличьи антитела к PAI-1 (Abcam, США) и моноклональные мышинные антитела к tPA (Novus Biologicals, США). Инкубацию срезов с первичными антителами проводили на протяжении 1 часа при комнатной температуре во влажной камере. Для детекции исследуемого антигена в аутопсийном материале использовали систему визуализации (Dako, Дания), включающей в себя реакцию с DAB-хромогеном.

Количественную оценку интенсивности окраски исследуемых материалов проводили по программе Nis-Elements BR 4,40 с использованием параметра суммарной интенсивности.

**Определение уровня антител к tPA и PAI-1 в плазме крови крыс методом иммуноферментного анализа.** Реакцию проводили согласно инструкции производителя (Abscam, Великобритания), используя по 100 мкл плазмы крови крыс. Результаты реакции учитывали на иммуноферментном анализаторе (Anthos, Австрия) при длине волны 450 нм. Концентрацию tPA и PAI-1 в плазме крови крыс определяли исходя из стандартной кривой.

**Определение вазомоторной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс стока Wistar, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 с острой кардиомиопатией и без нее.** Вазомоторную активность изучали на многоканальном проволочном миографе (DMT 620M, Дания). Из верхней доли правого легкого выделяли участки латеральных артерий 2-3-го порядка. Из вентрального участка верхних сегментов левого легкого выделяли артерии 2-го порядка. Из брыжейки выделяли по три артерии 3-го порядка.

Для изучения эндотелий-зависимого расслабления артерий использовали вазодилататор. Для изучения сократительной функции использовали два вазоконстриктора – серотонин (для артерий легких) и фенилэфрин (для артерий брыжейки). Регистрация данных производилась в программе LabChart 8. Для полученных кривых рассчитывали концентрацию, обеспечивающую 50% максимального ответа ( $EC_{50}$ , мкМ) и величину ответа при максимальной концентрации агониста ( $E_{max}$ , %).

**Моделирование острой кардиомиопатии.** Острая кардиомиопатия развивалась в результате введения крысам доксорубина. Для этого использовали крыс (самцы) стока Wistar массой 200-250 г. Крысы получали шесть доз доксорубина (2,91 мг/кг внутривентрально через день, кумулятивная доза равнялась 17 мг/кг), в течение двух недель. Модель острой кардиомиопатии была подтверждена с помощью эхокардиографии и в гистологическом исследовании.

**Статистический анализ данных** проводили с использованием программного обеспечения MS Office Excel 2016 и GraphPad Prism 8. Параметры описательной статистики включали: среднее значение показателя в группе (Mean), стандартное отклонение (SD), стандартную ошибку среднего (SEM). Отличия между выборками оценивали с помощью параметрического критерия Стьюдента, критерия Даннета, критерия Брауна-Форсайта, непараметрического критерия Манна-Уитни, критерия Краскела-Уоллиса, дисперсионного анализа (ANOVA) и метода нелинейной регрессии.

Различия считали статистически значимыми для значений  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Инфекционная активность вируса гриппа А(H1N1)pdm09 в культуре клеток эндотелия EA.hy926

Как видно из рисунка 1, минимальную концентрацию внутриклеточного NP антигена вируса гриппа А в инфицированных клетках регистрировали в разведении, соответствующем 3,5 lg (по сравнению с клеточным контролем), что указывает на инфекционную активность вируса, равную 3,5 lg ТЦД<sub>50</sub>/0,15 мл.

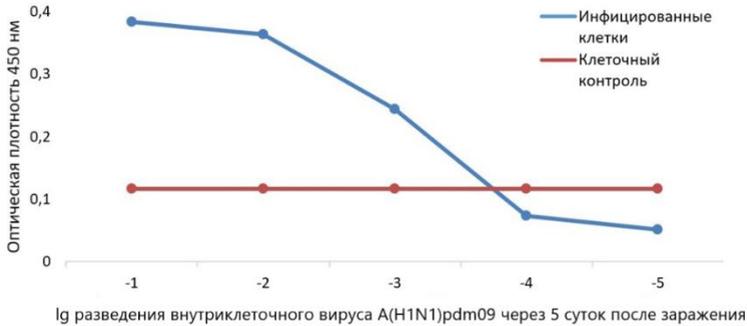


Рисунок 1 – Детекция внутриклеточного NP антигена вируса гриппа А в инфицированных клетках EA.hy926 иммуноферментным методом.

### Исследование уровня экспрессии eNOS и PAI-1 в клетках эндотелия EA.hy926, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09

На рисунке 2 представлена экспрессия eNOS и PAI-1 в инфицированных вирусом гриппа клетках эндотелия через 6ч, 12ч, 18ч, 24ч, 48ч и 72 ч.

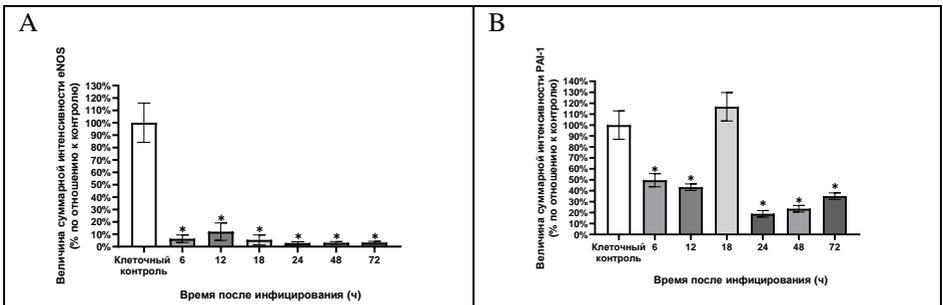


Рисунок 2 – Динамика изменения уровня экспрессии eNOS (A) и PAI-1 (B) по величине суммарной интенсивности в культуре клеток эндотелия EA.hy926, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09 (Mean±SD, %).

Примечание: \* $p < 0,05$  по сравнению с контролем, критерий Даннета,  $n = 15$ .

Как видно из рисунка 2А, экспрессия eNOS в инфицированных клетках, снижалась до  $7,9 \pm 2,1\%$  уже через 6 ч (суммарная интенсивность в клеточном контроле была принята за 100%). Через 12 ч уровень экспрессии этого фактора несколько повышался до  $12,1 \pm 2,8\%$ , через 18 ч снижался до  $5,4 \pm 1,5\%$  и через 24 ч уровень достигал своего минимума –  $2,9 \pm 0,6\%$ . Через 48 ч уровень экспрессии eNOS составлял  $3,1 \pm 0,7\%$ , а через 72 ч –  $3,3 \pm 0,4\%$ .

Из рисунка 2В видно, что экспрессия PAI-1 в инфицированных клетках эндотелия снижалась в 2 и более раза в первые 12 часов, через 18 часов повышалась в 1,16 раз, после чего снижалась в 3-5 раз через 24, 48 и 72 ч.

### **Определение инфекционной активности вируса гриппа А(H1N1)pdm09 при адаптации в легких крыс**

Инфекционную активность исследуемого вируса гриппа во время адаптации определяли на куриных эмбрионах, начиная с 4 пассажа по общепринятой методике. Так, начиная с 4-го по 10-й пассаж, инфекционная активность составляла 6-7 lg ЭИД<sub>50</sub>/мл. Для дальнейшего исследования были выбраны вирусы, прошедшие 9-й и 10-й пассаж в легких крыс.

### **Функциональная активность кровеносных сосудов крыс, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09**

#### **Гистологическое исследование кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09**

В кровеносных сосудах через 24 ч после инфицирования по сравнению с контролем наблюдались следующие патологические изменения: расслоение сосудистой стенки, истончение эндотелиального слоя с признаками нарушения целостности, отслоение меди от эндотелия и адвентиции, местами расслоение меди на отдельные мышечные пучки, адвентиция в виде отдельных волокон соединительной ткани, небольшие фокусы экстравазации эритроцитов (Рисунок 3В). Через 96 ч наблюдалось выраженное изменение морфологии эндотелиоцитов по «типу частокола» (Рисунок 3С). В кровеносных сосудах брыжейки гистопатологических изменений через 24 ч и 96 ч после инфицирования не наблюдалось.

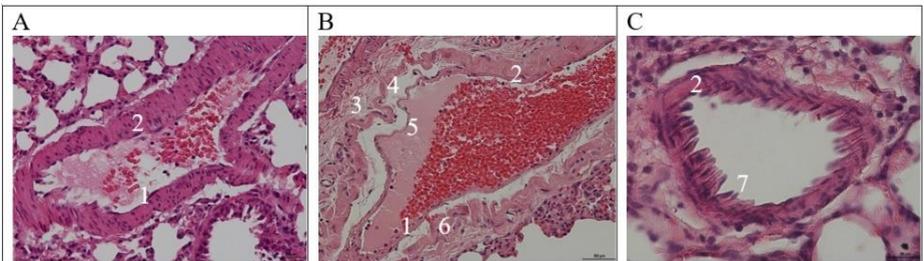


Рисунок 3 – Гистологическое исследование кровеносных сосудов легких крыс, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09.

А – артерия крысы из контрольной группы; В – артериола крупного калибра крысы через 24 ч после инфицирования; С – артериола мелкого калибра крысы через 96 ч после инфицирования.

Обозначения: 1 – эндотелий; 2 – мышечная оболочка сосуда; 3 – разволокнение адвентиции; 4 – разволокнение меди; 5 – истончение эндотелиального слоя; 6 – экстравазация эритроцитов; 7 – эндотелий по типу «частокола» (ув. × 200 для А, В; ув. × 400 для С; окрашивание гематоксилином и эозином).

### **Детекция NP антигена в кровеносных сосудах легких и брыжейки крыс, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09**

Локализация NP антигена в эндотелии кровеносных сосудов легких регистрировали через 24 и 96 ч после инфицирования (Рисунок 4). Также NP антиген был обнаружен в мерцательном эпителии бронхиол и в альвеолах. Иммуногистохимическое исследование не выявило присутствие NP антигена вируса гриппа А в срезах сосудов и тканях легких крыс из контрольной группы.

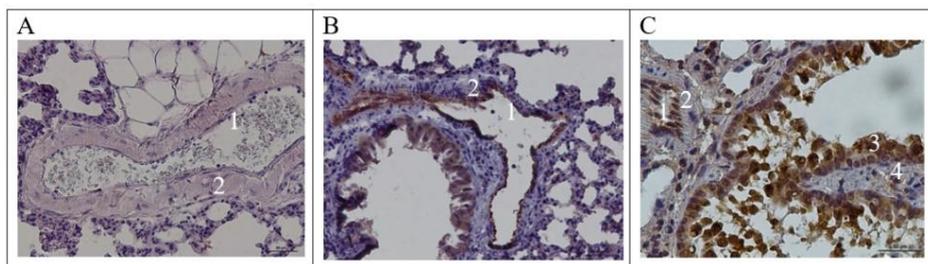


Рисунок 4 – Исследование кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09, с использованием мышинных моноклональных антител к NP антигену вируса гриппа А.

А – артерия легких крысы из контрольной группы; В – вена и мерцательный эпителий бронхиолы крысы через 24 ч после инфицирования; С – артериола мелкого калибра и мерцательный эпителий бронхиолы крысы через 96 ч после инфицирования.

Обозначения: 1 – эндотелий; 2 – мышечная оболочка сосуда; 3 – мерцательный эпителий бронхиолы; 4 – подслизистый слой бронхиолы; (увеличение × 200; окрашивание DAB-хромогеном).

NP антиген вируса гриппа А в тканях и кровеносных сосудах брыжейки крыс, инфицированных вирусом гриппа, не выявляли.

### **Оценка вазомоторной активности кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09**

Вазомоторную активность кровеносных сосудов крыс оценивалась через 24 и 96 ч после их инфицирования вирусом гриппа А(H1N1)pdm09.

Результаты кумулятивного дозозависимого ответа артерий легких крыс на вазоконстриктор и вазодилататор представлены на рисунке 5.

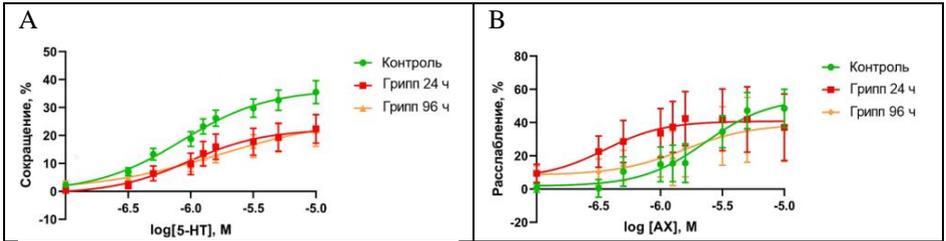


Рисунок 5 – Дозозависимые кривые «концентрация-ответ» артерий легких крыс, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 (Mean±SEM, %).

А – серотонин-зависимое сокращение, В – ацетилхолин-зависимое расслабление. Примечание:  $p > 0,05$  по сравнению с контролем, критерий Даннета,  $n = 10$ .

Как видно из рисунка 5, через 24 и 96 ч после инфицирования вирусом гриппа со стороны артерий легких наблюдалась тенденция к снижению ответа на 5-20% на различные концентрации вазоконстриктора (Рисунок 5А). В свою очередь, ответ артерий легких на вазодилататор при минимальных и средних концентрациях был несколько повышен на 10-25% через 24 ч и практически достигал контрольных значений через 96 ч после инфекции (Рисунок 5В).

Вазомоторная активность артерий брыжейки, в отличие от артерий легких в значительной степени отличалась от контроля на протяжении всего периода исследования.

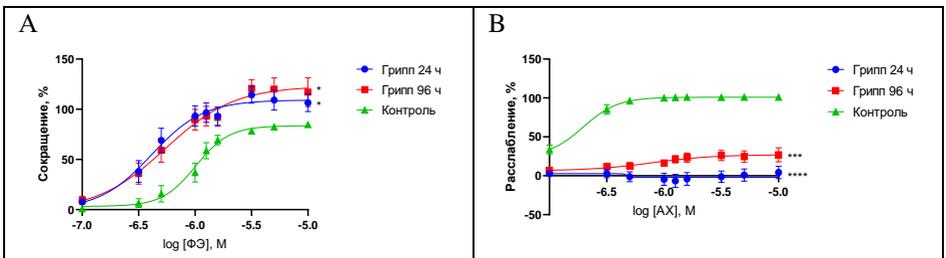


Рисунок 6 – Дозозависимые кривые «концентрация-ответ» артерий брыжейки крыс, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 (Mean±SEM, %).

А – фенилэфрин-зависимое сокращение, В – ацетилхолин-зависимое расслабление. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$  по сравнению с контролем, критерий Даннета,  $n = 10$ .

Как видно из рисунка 6А, ответ артерий брыжейки на различные концентрации вазоконстриктора усиливался на 5-20% ( $p < 0,05\%$ ) через 24 и 96 ч после инфицирования. В свою очередь, ответ артерий брыжейки на различные концентрации резко снижался на 40-70% ( $p < 0,001$ ) через 24 ч и на 40-95% ( $p < 0,0001$ ) через 96 ч после инфицирования (Рисунок 6В).

### Исследование экспрессии eNOS, PAI-1 и tPA в эндотелии кровеносных сосудов легких крыс, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09

Уровень суммарной интенсивности eNOS в эндотелии кровеносных сосудов легких крыс, инфицированных адаптированными вирусом гриппа А/Санкт-Петербург/48/16 (H1N1)pdm09 снижался в 1,89 раза ( $p < 0,05$ ) через 24 ч и повышался в 2 раза ( $p < 0,05$ ) через 96 ч после инфицирования (Рис. 7А).

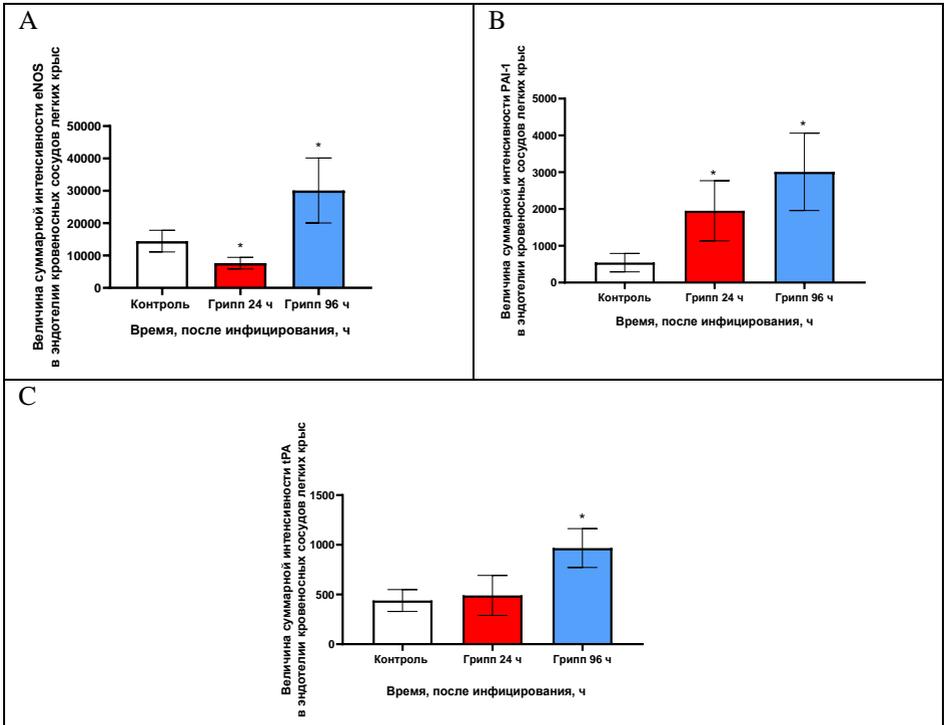


Рисунок 7 – Уровень экспрессии eNOS (А), PAI-1 (В) и tPA (С) в эндотелии кровеносных сосудов легких крыс, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 (Mean±SD, у.е.).

Примечание: \* $p < 0,05$  по сравнению с контролем, критерий Краскела-Уоллиса,  $n=30$ .

Уровень суммарной интенсивности PAI-1 повышался в 5,23 ( $p<0,05$ ) и в 6,54 раза ( $p<0,05$ ) через 24 ч и 96 ч после инфекции, соответственно (Рисунок 7B). Уровень суммарной интенсивности tPA практически ровнялся контролю через 24 ч после инфекции. Через 96 ч уровень суммарной интенсивности tPA повышался в 2,2 раза ( $p<0,05$ ) (Рисунок 7C).

Как показали результаты исследований, динамика изменения экспрессии PAI-1 и tPA в эндотелии кровеносных сосудов легких крыс по сравнению с динамикой изменения экспрессии этих факторов в культуре клеток эндотелия EA.hy926 существенно отличалась. Это можно объяснить тем, что PAI-1 и tPA не депонируются в клетках эндотелия, а сразу секретируются в просвет сосуда непосредственно после их активации. Это явилось обоснованием для проведения исследований по определению концентрации PAI-1 и tPA в плазме крови крыс, инфицированных исследуемым вирусом гриппа.

#### **Определение концентрации PAI-1 и tPA в плазме крови крыс, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09**

Динамика изменения концентрации PAI-1 и tPA в плазме крови крыс, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 представлена на рисунке 8.

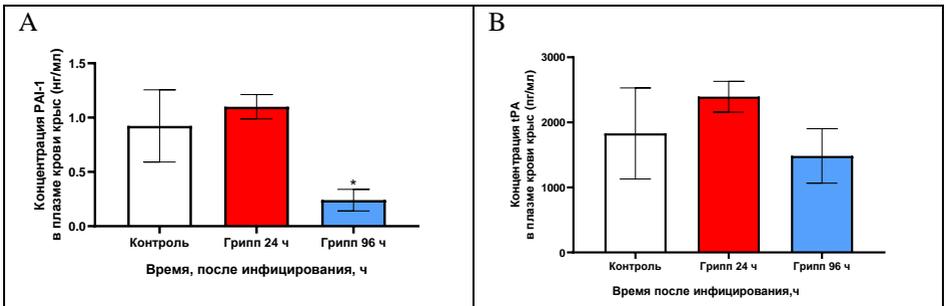


Рисунок 8 – Концентрация PAI-1 (A) и tPA (B) в плазме крови крыс, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 (Mean±SD, пг/мл).

Примечание: \* $p<0,05$  по сравнению с контролем, критерий Манна-Уитни,  $n=10$ .

Как видно из рисунка 8A, концентрация PAI-1 в плазме крови крыс, инфицированных исследуемым вирусом гриппа, в ходе исследования изменялась по сравнению с контролем. Так, через 24 ч после инфицирования концентрация PAI-1 повышалась в 1,19 раз, а через 96 ч снижалась в 3,84 раза ( $p<0,05$ ). Концентрация tPA в плазме крови крыс, инфицированных вирусом гриппа, также несколько изменялась по сравнению с контролем (Рисунок 8B). Так, через 24 ч после инфицирования концентрация tPA повышалась в 1,3 раза, а через 96 ч снижалась в 1,23 раза.

**Функциональная активность кровеносных сосудов крыс с острой кардиомиопатии, инфицированных вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09**

**Масса тела и клинические симптомы у крыс с острой кардиомиопатией, инфицированных вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09**

Введение крысам доксорубина внутривентриально в течение 2 недель (кумулятивная дозе 17 мг/кг) приводило к значительной потере массы тела животных, в среднем, на 6-9 грамм в сутки. После инфицирования гриппом крыс с кардиомиопатией их вес снижался в сутки, в среднем, на 8-10 грамм в сутки. В ходе исследования также регистрировался падеж животных (до 40%).

Таким образом, гриппозная инфекция, вызванная вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09 отягощает течение острой кардиомиопатии, а также может стать причиной летального исхода.

**Определение инфекционной активности вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 в легких и брыжейке крыс с острой кардиомиопатией**

При сравнении инфекционной активности вируса гриппа в тканях легких крыс без сердечно-сосудистой патологии (6,6 и 2,2 lg ЭИД<sub>50</sub>/мл через 24 и 96 ч после инфицирования) и крыс с острой кардиомиопатией, оказалось, что инфекционная активность вируса гриппа несколько выше у крыс с острой кардиомиопатией через 24 ч 96 ч после инфицирования (7,2 и 2,6 lg ЭИД<sub>50</sub>/мл), что указывает на усиление патологического воздействия вируса гриппа на сердечно-сосудистую систему.

В брыжейке инфицированных крыс на протяжении всего периода исследования, инфекционная активность вируса не регистрировалась.

**Оценка вазомоторной активности кровеносных сосудов брыжейки крыс с острой кардиомиопатией, инфицированных вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09**

Вазомоторная активность кровеносных сосудов крыс с острой кардиомиопатией оценивалась через 24 и 96 ч после их инфицирования исследуемым вирусом гриппа. Исследование проводили только на артериях брыжейки крыс, т.к. острая кардиомиопатия, вызванная доксорубином, вызывала незначительные повреждение стенок кровеносных сосудов легких. В качестве контроля использовали: 1) группу здоровых животных, 2) группу животных с острой кардиомиопатией, не инфицированных вирусом гриппа. В каждой группе использовали по 5 животных.

Результаты кумулятивного дозозависимого ответа артерий брыжейки крыс, с острой кардиомиопатией на вазоконстриктор и вазодилататор представлены на рисунке 9.

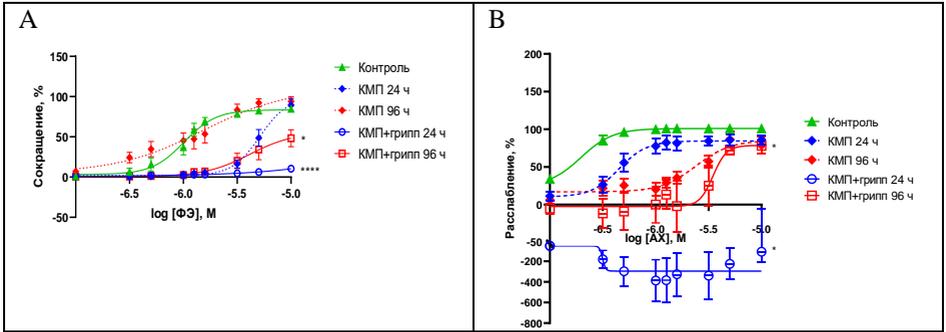


Рисунок 9 – Дозозависимые кривые «концентрация-ответ» артерий брыжейки крыс с острой кардиомиопатией, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09 (Mean±SEM, %).

А – фенилэфрин-зависимое сокращение, В – ацетилхолин-зависимое расслабление.

Примечание: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,001$ , \*\*\*\* $p < 0,0001$  по сравнению с контролем, критерий Брауна-Форсайта,  $n = 15$ .

Обозначения: КМП – острая кардиомиопатия.

Как видно из рисунка 9А дозозависимый ответ артерий брыжейки крыс с острой кардиомиопатией на различные концентрации вазоконстриктора снижался на 5-80% через 24 ч и на 5-60% через 96 ч после инфицирования по сравнению с ответом артерий брыжейки у неинфицированных крыс с острой кардиомиопатией. Дозозависимый ответ артерий брыжейки крыс с острой кардиомиопатией на различные концентрации вазодилататора снижался на 80-480% через 24 ч и снижался на 20-100% через 96 ч после инфицирования по сравнению с ответом артерий брыжейки у неинфицированных крыс с острой кардиомиопатией (Рисунок 9В).

### Исследование уровня экспрессии eNOS, PAI-1 и tPA в кровеносных сосудах брыжейки крыс с острой кардиомиопатией, инфицированных вирусом гриппа А(H1N1)pdm09

Для количественного определения уровня экспрессии эндотелиальных факторов в эндотелии кровеносных сосудов брыжейки крыс использовали параметр суммарной интенсивности (Рисунок 10).

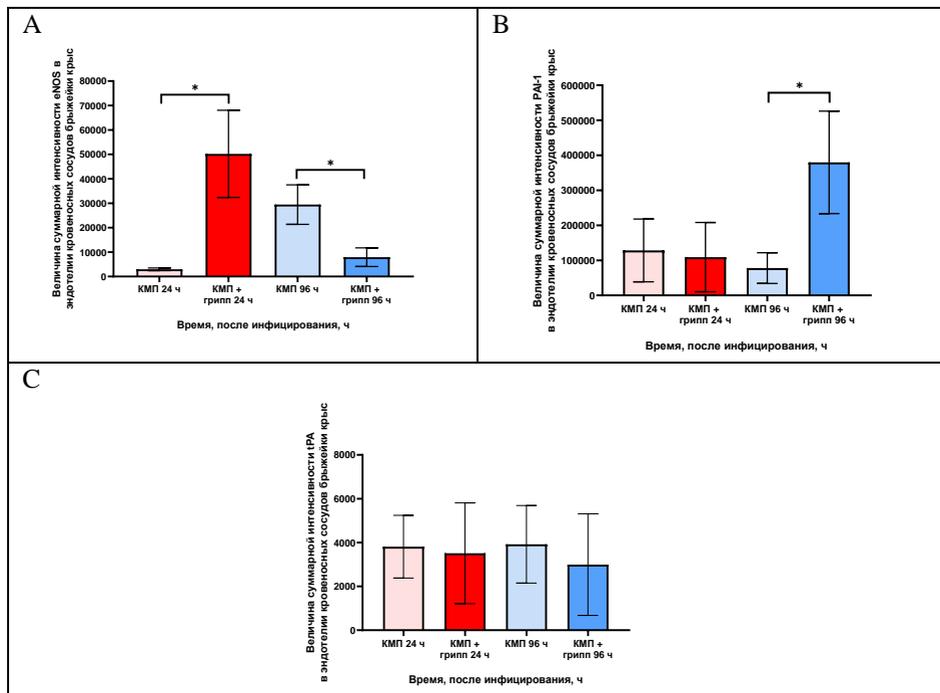


Рисунок 10 – Уровень экспрессии eNOS (A), PAI-1 (B), tPA (C) по величине суммарной интенсивности в эндотелии кровеносных сосудов брыжейки крыс с острой кардиомиопатией, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 (Mean±SD, %).

Примечание: \* $p < 0,05$ , по сравнению с контрольной группой, критерий Манна-Уитни,  $n=5$ .

Обозначения: КМП – острая кардиомиопатия.

Как видно из рисунка 10А, суммарная интенсивность eNOS в эндотелии кровеносных сосудов брыжейки крыс с острой кардиомиопатией через 24 ч после инфицирования резко повышалась в 17 раз ( $p < 0,05$ ) по сравнению контрольными значениями у неинфицированных крыс с острой кардиомиопатией на тех же временных сроках и снижалась в 3,72 раза ( $p < 0,05$ ) через 96 ч на тех же временных сроках.

Уровень суммарной интенсивности PAI-1 в эндотелии брыжейки крыс с острой кардиомиопатией через 24 ч после инфицирования практически не отличался от контроля (Рисунок 10В), а через 96 ч повышался в 3,47 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем – неинфицированные крысы с острой кардиомиопатией на тех же временных сроках.

**Определение концентрации PAI-1 и tPA в плазме крови крыс с острой кардиомиопатией, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09**  
Динамика изменения концентрации PAI-1 и tPA в плазме крови крыс представлена на рисунке 11.

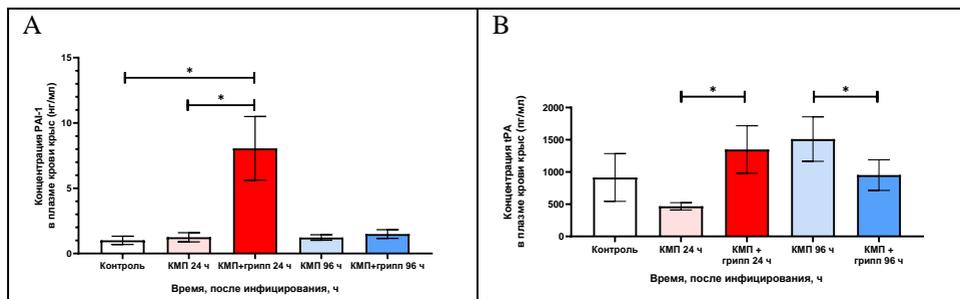


Рисунок 11 – Концентрация PAI-1 (A) и tPA (B) в плазме крови крыс с острой кардиомиопатией, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 (Mean±SD, пг/мл).

Примечание: \* $p < 0,05$ , по сравнению с контрольной группой, критерий Манна-Уитни,  $n=5$ .

Обозначения: КМП – острая кардиомиопатия.

Как видно из рисунка 11А концентрация PAI-1 в плазме крови крыс с острой кардиомиопатией, инфицированных исследуемым вирусом через 24 ч повышалась в 8 раз ( $p < 0,05$ ) по сравнению со здоровыми крысами (контроль) и неинфицированными крысами с острой кардиомиопатией ( $p < 0,05$ ) и практически соответствовала контролю через 96 ч после инфицирования.

Концентрация tPA повышалась в 2,88 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с концентрацией tPA у неинфицированных крыс через 24 ч (Рисунок 11В).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании изучали функциональную активность кровеносных сосудов при экспериментальной гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа A(H1N1)pdm09. Для этого изучали изменения уровня экспрессии ряда эндотелиальных факторов в эндотелии кровеносных сосудов и в плазме крови, а также гистопатологические и вазомоторные изменения со стороны кровеносных сосудов легких и брыжейки крыс, инфицированных вирусом гриппа A(H1N1)pdm09, в том числе, с острой доксорубициновой кардиомиопатией.

В исследованиях *in vivo* было установлено, что вирус гриппа A(H1N1)pdm09 изменял уровень экспрессии eNOS и PAI-1 и в меньшей степени tPA в эндотелии кровеносных сосудов крыс, что подтверждает развитие

дисфункции при гриппозной инфекции. У животных с преморбидной острой кардиомиопатией на фоне гриппозной инфекции наблюдали более выраженные изменения уровней экспрессии данных эндотелиальных факторов.

Было показано, что при гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09, наблюдается системное воздействие на кровеносные сосуды, о чем можно судить по изменению вазомоторной активности кровеносных сосудов не только легких, но и брыжейки крыс. Данные изменения значительно усиливались у животных с сопутствующей острой кардиомиопатией.

В кровеносных сосудах крыс, инфицированных вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09, обнаруживали различные гистопатологические изменения: спазм, отслоение меди от адвентиции и эндотелия, частичное разволокнение меди и истончение мышечных волокон, частичная десквамация эндотелия, истончение эндотелиоцитов и их изменение морфологии по типу «частокола» на протяжении всего периода исследования.

Совокупность полученных данных об изменении экспрессии эндотелиальных факторов, вазомоторной активности, а также гистологии указывает на существенное поражение кровеносных сосудов при инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09.

## **ВЫВОДЫ**

1. Репродукция вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 в культуре клеток эндотелия EA.hy926 (in vitro) приводит к резкому снижению уровня экспрессии eNOS и модуляции экспрессии PAI-1.
2. Адаптированный вирус гриппа А(Н1N1)pdm09, способен вызывать продуктивную нелетальную инфекцию с субклиническим течением у половозрелых крыс стока Wistar.
3. Установлено, что вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 резко снижает экспрессию eNOS и модулирует экспрессию PAI-1 и tPA в эндотелии кровеносных сосудов легких, а также модулирует активность PAI-1 и tPA в плазме крови крыс (in vivo).
4. Вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 вызывает повреждение кровеносных сосудов легких, выражающееся в изменении вазомоторной активности и гистологии; в кровеносных сосудах брыжейки регистрируются изменения только вазомоторной активности.
5. Вирус гриппа А(Н1N1)pdm09 при инфицировании животных с острой кардиомиопатией значительно усиливает дисфункцию эндотелия, что отражается в существенных изменениях уровня экспрессии эндотелиальных факторов и вазомоторной активности артерий брыжейки.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ И ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Совокупность полученных результатов позволяет дать рекомендацию о необходимости проведения скрининга ангиопротекторов в терапии гриппа (наряду с этиотропными препаратами) с целью коррекции эндотелиальной дисфункции. Особенно это важно для лиц с сопутствующими заболеваниями сердечно-сосудистой системы.

Планируется проведение исследований по изучению длительности влияния вируса гриппа А(Н1N1)pdm09 на функциональную активность кровеносных сосудов в экспериментальной гриппозной инфекции у крыс, в том числе, с сопутствующей хронической патологией сердечно-сосудистой системы.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

1. И.А. Зелинская, В.А. Марченко, Я.Г. Торопова, А.А. Штро, И.Н. Жилинская, Д.А. Лиознов. Функциональное состояние артерий и морфология клеточной стенки при инфекции вируса гриппа // Смоленский медицинский альманах. – 2018. – Т. 4. – С. 185-7.
2. Марченко В.А., Жилинская И. Н., Зелинская И. А., Торопова Я. Г., Барашкова С. В. Гистопатологические и вазомоторные изменения в кровеносных сосудах при адаптации вируса гриппа в крысах линии Wistar // Проблемы медицинской микологии. – 2019. – Т. 21. – №2. – С. 101.
3. Марченко В.А., Барашкова С.В., Зелинская И.А., Торопова Я.Г., Сорокин Е.В., Жилинская И.Н. Моделирование гриппозной инфекции у половозрелых крыс стока Wistar // Вопросы вирусологии. – 2020. – Т. 65. – №3. – С. 155-66, doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-3-159-166.
4. Марченко В.А., Барашкова С.В., Зелинская И.А., Торопова Я.Г., Жилинская И.Н. Изменение активности ингибитора активатора плазминогена (РА1-1) в клетках эндотелия при гриппозной инфекции // Проблемы медицинской микологии. – 2020. – Т.22. – №3. – С. 102.
5. Марченко В.А., Барашкова С.В., Зелинская И.А., Торопова Я.Г., Рэмзи Э.С., Жилинская И.Н. Экспрессия эндотелиальных факторов в клетках эндотелия человека при инфекции, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)pdm09 (Orthomyxoviridae; Alphainfluenzavirus) // Вопросы вирусологии. – 2021. – Т.66. – №3. – С. 198-210, doi: 10.36233/0507-4088-48.
6. Марченко В.А., Зелинская И.А., Торопова Я.Г., Жилинская И.Н. Функциональная активность кровеносных сосудов при экспериментальной гриппозной инфекции // Проблемы медицинской микологии. – 2021. – Т. 23. – №2. – С. 111.
7. Марченко В.А., Шмакова Т.В., Сорокин Е.В., Жилинская И.Н. Гистопатологические изменения в сосудах легких крыс при гриппозной инфекции. // Сборник трудов XIII Ежегодного Всероссийского Конгресса по

инфекционным болезням имени академика В.И. Покровского. Москва, 2021. – С. 108.

8. Marchenko V, Zelinskaya I, Toropova Y, Shmakova T, Podyacheva E, Lioznov D, Zhilinskaya IN. Influenza A Virus Causes Histopathological Changes and Impairment in Functional Activity of Blood Vessels in Different Vascular Beds // *Viruses*. – 2022. – V. 14. – №2. – P. 396, doi: 10.3390/v14020396.

9. Марченко В.А., Зелинская И.А., Торопова Я.Г., Подъячева Е.Ю., Мартынов М.О., Жилинская И. Н. Вазомоторная активность кровеносных сосудов крыс стока Wistar с острой кардиомиопатией при экспериментальной гриппозной инфекции // Сборник тезисов Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 55-летию со дня основания НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева. Санкт-Петербург. 2022. С. 48.

10. Марченко В.А., Шмакова Т.В., Мухаметдинова Д.В., Жилинская И.Н. Модуляция экспрессии PAI-1 и tPA в клетках эндотелия кровеносных сосудов легких крыс стока Wistar, инфицированных адаптированным вирусом гриппа A(H1N1)pdm09 // *Проблемы медицинской микологии*. – 2022. Т. 24. – №2. – С. 100.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

EA.hy926 – перевиваемая культура клеток эндотелия кровеносных сосудов человека

eNOS – эндотелиальная синтаза оксида азота

NP – нуклеопротеин

tPA – тканевой активатор плазминогена

PAI-1 – ингибитор активатора плазминогена 1-го типа

ДВС-синдром – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания

ОРДС – острый респираторный дистресс-синдром

ТЦД<sub>50</sub> – 50-% тканевая цитопатическая инфекционная доза

ЭИД<sub>50</sub> – 50-% эмбриональная инфекционная доза

### БЛАГОДРАНОСТИ

Автор выражает свою искреннюю и глубокую благодарность своему научному руководителю доктору биологических наук Жилинской Ирине Николаевне за предложенную интересную тему диссертации, а также за неоценимый вклад не только в исполнении данной работы на всех этапах, но и в формировании автора как специалиста, за личный пример, придающего сил в непростых ситуациях.

Автор выражает огромную признательность сотрудникам ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева»: Войцеховской Елене Михайловне, к.м.н. Вакину Владимиру Сергеевичу, к.б.н. Амосовой Ирине Викторовне, к.б.н. Груднину Михаилу Павловичу, к.б.н. Кузнецовой Елене Владиславовне, к.б.н. Сорокину Евгению Валентиновичу, к.б.н. Писаревой Марии Михайловне, д.б.н.

Кривицкой Вере Зорьевне за консультативную и практическую помощь, оказанную в ходе выполнения исследований.

Автор также выражает отдельную благодарность сотрудникам ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» – Зелинской Ирине Александровне, к.м.н. Тороповой Яне Геннадьевне за помощь в исследовании вазомоторной функции кровеносных сосудов и Подъячевой Екатерине Юрьевне за помощь в моделировании острой кардиомиопатии.