

Рецензируемый научно-практический журнал

ISSN 2587-5728 (Print)
ISSN 3034-2791 (Online)

ВЕСТИ
ЖУРНАЛ
ВОЙСК
РХБ
ЗАЩИТЫ

ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

JOURNAL OF NBC PROTECTION CORPS

Том / Vol.

8

№ / No.

3

ИЮЛЬ - СЕНТЯБРЬ
JULY - SEPTEMBER

2024

www.nbsprot.ru

ТЕМА НОМЕРА:

*Биологическая безопасность
и защита от биологических угроз*

ISSUE SUBJECT:

*Biological Security and Protection
Against Biological Threats*



50 лет ФГБУ «27 Научный центр им. академика Н.Д. Зелинского» МО РФ



В декабре 2024 г. исполняется 50 лет федеральному государственному бюджетному учреждению «27 Научный центр им. академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ). Центр образован в 1974 г. во исполнение постановления ЦК КПСС и Совета Министров СССР. Первый начальник Центра – генерал-майор Вадим Васильевич Смирницкий, участник Великой Отечественной войны, лауреат Государственной премии СССР. В Центре был развернут комплекс НИОКР по оценке потенциальной опасности применения химического оружия против СССР, по разработке исходных данных для создания новых образцов индикации отравляющих веществ, технических и медицинских средств защиты от оружия массового поражения (ОМП). На полигонах в различных регионах СССР специалистами Центра проводились госиспытания образцов вооружения, военной и специальной техники. В 1970-х гг. учеными Центра проведена большая работа по подготовке текста Конвенции о запрещении химического оружия, по разработке государственной программы уничтожения химического оружия в СССР и Российской Федерации. Разработаны научно-технические, медицинские и экологические основы безопасного выполнения программы уничтожения химического оружия, проводилась работа по обоснованию позиции Российской Федерации в Организации по запрещению химического оружия (ОЗХО). Уже более 25 лет в Центре функционирует лаборатория химико-аналитического контроля – единственная в Российской Федерации «назначенная» ОЗХО лаборатория по двум видам анализа проб – биомедицинским и экологическим. С Техническим Секретариатом ОЗХО имеется соглашение на право участия в международных расследованиях фактов применения химического оружия и других токсичных химикатов, проводимых под эгидой ОЗХО и ООН. По результатам профессиональных тестов Технического секретариата ОЗХО Центр входит в пятерку лучших лабораторий мира.

Распоряжением Правительства Российской Федерации № 2206-р от 16.08.2023 г. Центру было присвоено почетное наименование «имени академика Н.Д. Зелинского». За доблесть, славу и боевые традиции Центру в 2023 г. вручено Боевое знамя. В Центре сложился высококвалифицированный и дружный коллектив специалистов, работающих на современном уровне. Сегодня он является ведущей организацией по обеспечению национальных интересов и безопасности государства в военно-химической и военно-биологической областях, противодействия угрозам распространения и применения ОМП. Большое внимание специалисты Центра уделяют военно-исторической, военно-патриотической и издательской деятельности.

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук



Журнал издается
с 2017 года

ВЕСТНИК ВОЙСК РХБ ЗАЩИТЫ

ISSN 2587-5728

(Print)

ISSN 3034-2791

(Online)

Том 8, № 3

2024 г.

Рецензируемый научно-практический журнал, специализирующийся на освещении химических и биологических угроз Российской Федерации, научных достижений по основным направлениям деятельности и задачам войск РХБ защиты ВС РФ, повышении профессионального уровня специалистов войск РХБ защиты ВС РФ, возрождению интереса к их истории и привлечению молодых ученых к работе в научно-исследовательских организациях войск РХБ защиты ВС РФ. «Вестник войск РХБ защиты» – единственный журнал в Российской Федерации, который рассматривает научные проблемы соблюдения конвенций о запрещении химического и биологического оружия, а также историю применения химического и биологического оружия в войнах и конфликтах.

Учредитель и издатель

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского»
Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ)

Выходит ежеквартально

Главный редактор

Петров Станислав Вениаминович.
Доктор технических наук. Главный научный сотрудник 27 НЦ МО РФ.
Москва, Россия

Заместители главного редактора

Супотницкий Михаил Васильевич
Кандидат биологических наук. Старший научный сотрудник. Главный специалист 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Колесников Дмитрий Петрович

Кандидат технических наук, доцент. Старший научный сотрудник
27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Научный редактор

Лебединская Елена Владимировна
Кандидат биологических наук. Научный редактор отдела 27 НЦ МО РФ.
Москва, Россия

Редактор перевода

Сафонова Анна Олеговна

Редактор, дизайн, верстка

Шачнева Наталья Владимировна
Научный сотрудник отдела 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Редакционная коллегия

Агеев Николай Валентинович
Доктор исторических наук, профессор. Преподаватель кафедры истории войн и военного искусства Военной академии Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации. Москва, Россия

Аминин Дмитрий Львович
Доктор биологических наук, член-корр. РАН. Начальник лаборатории биоиспытаний и механизма действия биологически активных веществ Тихоокеанского института биоорганической химии ДВО РАН. Владивосток, Россия

Бей Евгений Васильевич
Доктор исторических наук. Заместитель начальника отдела Научно-исследовательского института (военной истории) Военной академии Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации. Москва, Россия

Григорьев Андрей Михайлович
Доктор химических наук. Старший научный сотрудник отдела 27 НЦ МО РФ.
Москва, Россия

Дармов Илья Владимирович
Доктор медицинских наук, профессор. Главный научный сотрудник научно-исследовательского управления филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ. Киров, Россия

Ефременко Елена Николаевна
Доктор биологических наук, профессор. Заведующая лабораторией кафедры химической энзимологии химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Москва, Россия

Завьялова Наталья Васильевна
Доктор биологических наук, профессор. Главный научный сотрудник управления 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Кондратьев Владимир Борисович
Доктор технических наук, профессор. Генеральный директор ГНИИ органической химии и технологии. Москва, Россия

Лакота Ян Янович
Доктор медицинских наук. Кандидат медицинских наук (онкология). Сотрудник Центра экспериментальной медицины Словацкой академии наук. Братислава, Словакия

Лещенко Андрей Анатольевич.
Доктор технических наук, профессор. Ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ. Киров, Россия

К публикации принимаются статьи, подготовленные на русском и английском языках, в соответствии с правилами для авторов, размещенными на сайте журнала
<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>

Преимуществом в опубликовании пользуются работы по научным специальностям:

6.2.1. Вооружение и военная техника (технические науки).
6.2.10. Поражающее действие специальных видов оружия, средства и способы защиты (химические науки, технические науки, биологические науки).

6.3.3. Военная история (исторические науки).

Рецензируемый журнал открытого доступа, индексируется в российских и международных реферативных и индексных базах данных: Российский индекс научного цитирования (РИНЦ), Российская государственная библиотека, DOAJ, ROAD, Академия Google (Google Scholar), Mendeley, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, Lens.org, Ulrichsweb, Unpaywall, OpenCitations, Wikidata и др.

Условия оферты для авторов приведены в п. 12 Правил для авторов (<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>).

Используется модель двойного слепого рецензирования. Плата за публикацию статьи и рецензирование рукописей не взимается. Контент доступен по лицензии Creative Commons Attribution International 4.0 (CC BY 4.0).

Журнал распространяется в органах законодательной и исполнительной власти Российской Федерации, в центральных органах военного управления, в научно-исследовательских организациях и образовательных учреждениях Министерства обороны Российской Федерации.

Позиция редакции может не совпадать с точкой зрения авторов.

Монаков Михаил Сергеевич
Доктор исторических наук. Старший научный сотрудник отдела Научно-исследовательского института (военной истории) Военной академии Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации. Москва, Россия

Нечипуренко Юрий Дмитриевич
Доктор физико-математических наук. Ведущий научный сотрудник лаборатории ДНК-белковых взаимодействий Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН. Москва, Россия

Родин Игорь Александрович
Доктор химических наук. Заместитель декана по научно-инновационной работе химического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Москва, Россия

Рыбальченко Игорь Владимирович
Доктор химических наук, профессор. Ведущий научный сотрудник отдела 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Холстов Виктор Иванович
Доктор химических наук, профессор. Руководитель Центра аналитических исследований Российской Федерации по конвенциям о запрещении химического и биологического оружия при Минпромторге России. Москва, Россия

Чугунов Евгений Анатольевич
Кандидат исторических наук. Доцент Военной академии РХБ защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко МО РФ. Кострома, Россия

Редакционный совет

Кириллов Игорь Анатольевич (председатель)
Кандидат военных наук. Начальник войск РХБ защиты ВС РФ. Москва, Россия

Ковтун Виктор Александрович (заместитель председателя)
Кандидат химических наук, доцент. Начальник 27 НЦ МО РФ. Москва, Россия

Иноземцев Валерий Александрович
Доктор военных наук. Начальник ФГБУ «33 ЦНИИ» МО РФ. Вольск, Россия

Туманов Александр Сергеевич
Кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник. Начальник филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ. Киров, Россия

Шабельников Максим Петрович
Кандидат технических наук. Заместитель начальника 27 НЦ МО РФ по НИР. Москва, Россия

Тема номера: Биологическая безопасность и защита от биологических угроз

Биологическая безопасность и защита от биологических угроз

Опасность мРНК-технологий М.В. Супотницкий	205
Оспа кроликов Л.Ф. Стомба, А.А. Петров, Д.П. Белозеров, О.В. Чухраля, С.А. Мельников, С.В. Борисевич	232
Разработка биоцидной пропитки для текстильных материалов различного состава З.А. Шафигуллина, С.Р. Бухаева, Н.П. Коломацкая, М.С. Сугонякина	243
Детоксификация пептид-содержащих биотоксинов И.В. Лягин, О.В. Маслова, О.В. Сенько, Н.А. Степанов, Е.Н. Ефременко	256

Вооружения и средства войск РХБ защиты

Средства индивидуальной защиты органов дыхания и кожи от патогенных биологических агентов многоразового использования В.В. Васильев, С.Н. Соловых, Н.В. Данякин, П.В. Горбачев	270
Современные подходы к созданию средств индивидуальной защиты органов дыхания и головы военнослужащего Ю.С. Мигачев, А.А. Камьянов, А.В. Болтыков	287

Адрес редакции:

27 НЦ МО РФ, 111024, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19.
Тел.: 8 (495) 693-44-48, e-mail: 27nc_1@mil.ru.

Издание зарегистрировано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).
Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС 77-69472 от 25.04.2017 г.

Все права защищены. При перепечатке материалов и размещении их на интернет-ресурсах ссылка на журнал обязательна.

Подписано в печать: 27.09.2024 г. Дата выхода в свет 30.09.2024 г. Тираж 400 экз. Цена свободная.

Подписной индекс в каталоге «Пресса России» — 33015

Отпечатано в типографии:

ФГУП «ЦНИИХМ им. Д.И. Менделеева», 115487, г. Москва, ул. Нагатинская, д. 16 А. Тел.: 8 (499) 661-80-46, e-mail: ntrved@cniihm.ru

The journal is included in the List of peer-reviewed scientific publications that the State Commission for Academic Degrees and Titles recommends for publishing the main scientific results of theses for Candidate of Science and Doctor of Science degrees



JOURNAL

OF NBC PROTECTION CORPS

[Vestnik voysk RChB zashchity]

ISSN 2587-5728
(Print)
ISSN 3034-2791
(Online)
Vol. 8 No 3
2024

Published since
2017

"Journal of NBC Protection Corps" is a peer-reviewed scientific and practical journal, publishing papers in the fields of chemical and biological threats to the Russian Federation. It covers scientific achievements in the main spheres and tasks of the NBC Protection Troops. The objective of the journal is to improve the professional level of specialists of the NBC Protection Troops, to revive the interest in their history and to attract young scientists to the work in scientific research organization of the NBC Protection Troops. "Journal of NBC Protection Corps" is the only journal in the Russian Federation that examines the scientific problems of compliance with the conventions on the prohibition of chemical and biological weapons, as well as the history of the use of chemical and biological weapons in wars and conflicts.

Founder and Publisher

Federal State Budgetary Establishment
"27 Scientific Centre Named After Academician N.D. Zelinsky" of the Ministry of
Defence of the Russian Federation (27 SC MD RF).

Quarterly Edition

Editor-in-Chief

Stanislav V. Petrov

Doctor of Technical Sciences. Leading Researcher of the 27 SC MD RF.
Moscow, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Mikhail V. Supotnitskiy

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher. Chief Specialist of the
27 SC MD RF. Moscow, Russia

Dmitry P. Kolesnikov

Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher of the 27 SC MD RF.
Moscow, Russia

Science Editor

Elena V. Lebedinskaya

Translation Editor

Anna O. Safonova

Editor, CRC preparation:

Natalya V. Shachneva

Researcher at the Department of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Articles in Russian and English are accepted for publication, prepared in accordance with the rules for authors posted on the journal's website
<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>

Papers in scientific specialties

6.2.1. Armament and military equipment (technical sciences).

6.2.10. The destructive effect of special types of weapons, means and methods of protection (chemical sciences, technical sciences, biological sciences).

6.3.3. Military history (historical sciences).

The peer-reviewed open access journal is indexed in the following databases:

Russian Science Citation Index (RSCI), Russian State Library, DOAJ, ROAD, Google Scholar (Google Scholar), Mendeley, Dimensions, Open Archives Initiative, ResearchBib, Lens.org, Ulrichsweb, Unpaywall, OpenCitations, Wikidata, etc.

The terms of the offer for authors are given in §12 of the Rules for Authors (<https://www.nbsprot.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>). A double-blind review model is used. There is no fee for publishing an article or reviewing a manuscript. The content is licensed under the Creative Commons Attribution 4.0 International license (CC BY 4.0).

The journal is distributed among the bodies of legislative and executive power of the Russian Federation, in the main military headquarters, scientific and research institutions and educational establishments of the Ministry of Defence of the Russian Federation, in engineering, experimental design offices and industrial and manufacturing structures, working in the sphere of NBC Defence.

The information and views set out in this publication are those of the author(s) and do not necessarily reflect the official opinion of the Editorial Board.

Editorial Board

Nikolay V. Ageyev

Doctor of Historical Sciences, Professor. Lecturer of the Subdepartment of History of Wars and Military Art of the Military Academy of the RF Armed Forces' General Staff. Moscow, Russia

Dmitry L. Aminin

Doctor of Biological Sciences. Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences. Head of the Laboratory of Biotesting and the Mechanism of Action of Biologically Active Substances. Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences. Vladivostok, Russia

Yevgeny V. Bey

Doctor of Historical Sciences, Deputy Head of the Department at the Military History Research Institute of the Military Academy of the RF Armed Forces' General Staff. Moscow, Russia

Andrey M. Grigoryev

Doctor of Chemical Sciences. Senior Researcher of the Department of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Ilya V. Darmov

Doctor of Medical Sciences. Professor. Chief Research Associate of the Research Department. Branch Office of the «48 Central Scientific Research Institute», MD RF. Kirov, Russia

Elena N. Efremenko

Doctor of Biological Sciences, Professor. Head of the Laboratory, Department of Chemical Enzymology, Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University. Moscow, Russia

Natalia V. Zavyalova

Doctor of Biological Sciences. Professor. Chief Researcher of the Department of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Vladimir B. Kondratiev

Doctor of Technical Sciences. Professor. General Director of the State Research Institute of Organic Chemistry and Technology. Moscow, Russia

Lakota Ján

MUDr., (MD), CSc. (PhD). Senior Lecturer, Fellow at the Center of experimental medicine SAS. Bratislava, Slovakia

Andrey A. Leshchenko

Doctor of Technical Sciences, Professor. Leading Researcher of the Scientific and Research Department. Branch Office of the «48 Central Scientific Research Institute», MD RF. Kirov, Russia

Mikhail S. Monakov

Doctor of Historical Sciences, Senior Researcher of the Department at the Military History Research Institute of the Military Academy of the RF Armed Forces' General Staff. Moscow, Russia

Yuri D. Nechipurenko

Doctor of Physical and Mathematical Sciences. Chief Researcher, Laboratory of DNA-Protein Interactions, Engelhardt Institute of Molecular Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Igor A. Rodin

Doctor of Chemical Sciences. Deputy Dean of the Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University. Moscow, Russia

Igor V. Rybalchenko

Doctor of Chemical Sciences. Professor. Leading Researcher of the Department of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Viktor I. Kholstov

Doctor of Chemical Sciences. Professor. Head of the Russian Center for Analytical Research on Conventions on the Prohibition of Chemical and Biological Weapons under the Ministry of Industry and Trade of Russia. Moscow, Russia

Yevgeniy A. Chugunov

Candidate of Historical Sciences. Associate Professor. Marshal of the Soviet Union S.K. Tymoshenko Military Academy of NBC Protection, MD RF, Kostroma, Russia

Editorial Council

Igor A. Kirillov (Chairman)

Candidate of Military Sciences. Head of the Radiation, Chemical and Biological Protection Troops of the Armed Forces of the Russian Federation. Moscow, Russia

Viktor A. Kovtun (Deputy chairman)

Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor. Head of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

Valery A. Inozemtsev

Doctor of Military Sciences. Head of the «33 Central Scientific Research Test Institute», MD RF. Volsk, Russia

Alexander S. Tumanov

Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher. Head of the Branch Office of the «48 Central Scientific Research Institute», MD RF. Kirov, Russia

Maxim P. Shabelnikov

Candidate of Technical Sciences. Deputy Head of the 27 SC MD RF. Moscow, Russia

JOURNAL OF NBC PROTECTION CORPS

VOLUME 8, No 3
2024

CONTENTS

Place of the journal in the SCIENCE INDEX ranking = 1431
The impact factor of the journal according to the Russian Science Citation Index for 2023:
- two-year = 0.311;
- 2 years including citations from all sources = 0.557;
- five year old = 0.248;
- mean Hirsch index of the authors = 8.6;
- number of article views per year = 5769.
According to the Russian Science Citation Index, at September 2024, the journal was cited by 171 organizations and 1002 scientific journals of Russia

All manuscripts are checked by the Anti-Plagiarism program

Theme of the Issue: Biological Security and Protection Against Biological Threats

Biological Security and Protection Against Biological Threats

mRNA Technologies Danger M.V. Supotnitskiy	205
Rabbitpox L.F. Stovba, A.A. Petrov, D. P. Belozherov, O.V. Chukhralia, S.A. Melnikov, S.V. Borisevich	232
Development of Biocidal Soaking Agents for Various Textile Goods Z.A. Shafigullina, S.R. Bukhaeva, N.P. Kolomatskaya, M.S. Sugonyakina	243
Detoxification of Peptide-Containing Biotoxins I.V. Lyagin, O.V. Maslova, O.V. Senko, N.A. Stepanov, E.N. Efremenko	256

Weapons and Means of NBC Protection Troop

Reusable Respiratory and Skin Protective Devices Will Help Russian NBC Protection Troops to Avoid Pathogenic Biological Agents V.V. Vasilyev, S.N. Solovykh, N.V. Danyakin, P.V. Gorbachev	270
Modern Approaches to the Development of Head and Respiratory Protective Devices for Military Men Y.S. Migachev, A.A. Kam'yanov, A.V. Boltykov	287

Address of the Editorial Office:

Federal State Budgetary Establishment
«27 Scientific Centre» of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Entuziastov Passage, 19, Moscow, 111024, Russian Federation.
Tel.: 8 (495) 693-44-48, e-mail: 27nc_1@mil.ru.

Publication is registered by the Federal
Service for Supervision in the Sphere of Telecom, Information Technologies and Mass Communications.
Certification of the Mass Media
ПИ № ФС 77-69472, April 25, 2017.

All rights reserved. Links to the journal are obligatory while citing.

Passed for printing: 27 September 2024.
Date of publication: 30 September 2024.

Print run: 400 copies. Free price

Subscription codes Pressa Rossii catalogue: 33015

Published in: Federal State Unitary Establishment «TsNIIKhM» named after D.I. Mendeleev», Nagatinskaya Str. 16A, Moscow 115487, Russian Federation
Tel.: 8 (499) 661-80-46, e-mail: ntrved@cniihm.ru



Опасность мРНК-технологий

М.В. Супотницкий✉

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации
111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19
✉ e-mail: 27nc_1@mil.ru

Основные моменты

Опасность технологий воздействия на геном человека недооценивается, одну из таких опасностей представляют мРНК-технологии.

Актуальность. Широкое распространения мРНК-технологий на Западе и постепенное их проникновение в Россию ставит вопрос о безопасности их применения.

Цель исследования – выявление потенциальной опасности мРНК-технологий.

Источниковая база исследования – полнотекстовые англоязычные научные журналы, доступные через сеть Интернет.

Метод исследования. Аналитический. Использовались рекомендации Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA).

Обсуждение. В работе рассмотрены суть и границы мРНК-технологий; показано, как они работают; установлены их недостатки, способные привести к патологическим последствиям у людей; выявлены подходы к их применению для управления генами человека. Показано, что имеющиеся к настоящему времени мРНК-технологии несовершенны, прогнозировать ближайшие и отдаленные последствия их воздействия на здоровье человека при современном уровне знаний невозможно. Сама технология имеет двойное назначение и может быть использована под другими названиями для ведения биологической войны, имеющей ранее не ставившуюся цель – депопуляция населения. С каждым поколением средств, воздействующих на геном человека, они будут становиться опаснее, методы применения более изощренными, сопровождаться информационной составляющей, не допускающей альтернативных мнений, и снижением общего уровня знаний о биологических угрозах.

Выводы. Необходимо наладить жесткий государственный контроль над разработкой любых технологий воздействия на геном человека, не допуская их применение под другими названиями. Для выявления спектра неблагоприятных последствий применения мРНК-технологий целесообразно ограничить ее применение только в онкологии ориентировочно на десять лет. Все инъекционные препараты, поступающие в Россию из-за рубежа, должны контролироваться на наличие «закладок» нанообъектов.

Ключевые слова: CRISPRi/Cas; геном человека; кассета экспрессии; липидная наночастица; липоплекс; липосома; мРНК-технологии; наноконструкция; полиплекс; редактирование генома

Для цитирования: Супотницкий М.В. Опасность мРНК-технологий. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(3):205–231. EDN:ifdujf.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-205-231>

Прозрачность финансовой деятельности: автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: автор является заместителем главного редактора журнала (с 2017 г.). Это не повлияло на процесс рецензирования и окончательное решение.

Финансирование: федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации (27 НЦ МО РФ).

Поступила 01.07.2024 г. После доработки 02.08.2024 г. Принята к публикации 27.09.2024 г.

mRNA Technologies Danger

Mikhail V. Supotnitskiy✉

27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky
of the Ministry of Defence of the Russian Federation
Entuziastov Passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation
✉ e-mail: 27nc_1@mil.ru

Highlights

The impact that the technologies may exert on human genome is underestimated. The mRNA technologies may represent a particular danger for human genome.

Relevance. The mRNA technologies are quite widespread in the Western world. They are also gaining popularity in Russia and that is why we should control the safety of such technologies.

Purpose of the study – to determine potential hazard of mRNA technologies

Study base sources – full English academic periodicals available on the Internet.

Method of the study. Analytical. The author used suggestions of Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA).

Discussion. The paper dwells on the essence and scope of mRNA technologies, discusses their way of functioning, identifies their shortcomings that may provoke pathological consequences for humans; determines approaches that permit to use these technologies to control human genes. The article proves that nowadays the mRNA technologies are imperfect, for now it is impossible to predict near and long-term consequences that they may bring to human health. The technology itself is of a dual purpose and can be used under other names to unleash a biological war with a new final goal – to provoke a population decline. The newer the agents that may influence human genome will be, the more dangerous they will become. The methods of their application will also be more sophisticated. All this will be accompanied by media war that will eliminate alternative opinions. This will result in decline in the general level of knowledge about biological threats.

Conclusion. We should maintain rigid state control over the development of any technologies that may potentially exert any impact on human genome. We should also ensure that such technologies are not used under other names. It is worth limiting the application of the mRNA technologies and to use them only in oncology approximately for 10 years. This will help to identify the range of possible adverse consequences of their application. All injection drugs that go to Russia from abroad should be checked for possible nano objects “storage”.

Keywords: CRISPRi/Cas; expression cassette; genome editing; human genome; lipid nanoparticle; lipoplexes; liposome; mRNA technologies; nanoconstruction; polyplexes

For citation: Supotnitskiy M.V. mRNA Technologies Danger. *Journal of NBC Protection Corps*. 2024;8(3):205–231. EDN:ifdujf.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-205-2310>

Financial disclosure: The author has no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: The author is deputy Editor-in-Chief of the journal (since 2017). This had no impact on the peer review process and the final decision.

Funding: 27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky of the Ministry of Defence of the Russian Federation (27 SC MD RF).

Received July 1, 2024. Revised August 2, 2024. Accepted September 27, 2024

Бурное развитие в 1990-х гг. технологий соматической геномной терапии онкологических, моногенных, аутоиммунных и нейронных болезней, в начале XXI в. стало вызывать опасения, что введение генов в организм человека может иметь и отрица-

тельные последствия, и, даже, являться технологией двойного назначения [1, 2]. Эти опасения основывались на неожиданных и необычных летальных исходах у пациентов, которым вводились генотерапевтические препараты [3–5]. К настоящему времени пу-

бликации о применении генных технологий для создания поражающих агентов принципиально нового типа, приобрели недвусмысленный характер¹ [6, 7], но одновременно, как параллельная реальность, происходит разработка, промышленное освоение и самое опасное – массовое внедрение в клиническую практику таких технологий с игнорированием возможных рисков².

Цель работы – выявление потенциальной опасности мРНК-технологий.

Источниковая база исследования – полнотекстовые англоязычные научные журналы, доступные через сеть Интернет.

Метод исследования. Аналитический. Использовались рекомендации Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)³.

Задачи исследования:

- определить суть и границы мРНК-технологий;
- показать, как работает мРНК-технология;
- установить недостатки технологии, способные привести к патологическим последствиям у людей при ее массовом применении;
- выявить подходы к управлению извне генами человека с помощью мРНК-технологий.

1. Суть и границы мРНК-технологий

При введении *трансгенов*⁴ в организм человека ни ДНК, ни РНК не могут использоваться в «голом виде». Сахарофосфатный остов обоих типов молекул нуклеиновых кислот располагается по их периферии полярными группами наружу и придает им анионные свойства. При физиологических значениях рН, нуклеиновая кислота несет отрицательный заряд и не способна непосредственно взаимодействовать с отрицательно заряженными наружными поверхностями клеточных мембран. Из-за высокой гидрофильности нуклеиновой кислоты все гидрофобные основания «повернуты» вовнутрь ее молекулы, поэтому она не может проникнуть через гидрофобный барьер клетки-мишени. В сыворотке крови нуклеиновая кислота бы-

стро деградирует под воздействием нуклеаз. Период полужизни немодифицированной интерферирующей РНК в сыворотке крови укладывается в 5–60 мин, для ДНК – он составляет не более 10 мин. Эффективной доставке трансгена в клетку-мишень также препятствуют ассоциация нуклеиновых кислот с белками крови и их поглощение макрофагами. Нуклеиновые кислоты не способны специфически узнавать клетки-мишени [8].

Поэтому для доставки трансгенов в эукариотические клетки с начала 1980-х гг. разрабатываются искусственные генетические конструкции, состоящие из *вектора*, т.е. *оболочки*, способной предохранить нуклеиновую кислоту от деградации и доставить ее к клетке-мишени; и *трансгена*, экспрессия которого в данной клетки (ткани) способна проявить себя необходимым биологическим эффектом. Эти соединения в физиологических условиях имеют положительный заряд [9].

В настоящее время сформировалось два альтернативных направления создания искусственных генетических конструкций: на основе вирусов и на основе искусственных векторных систем – плазмид, мРНК и др., включенных в специальные оболочки, защищающие нуклеиновую кислоту от деградации нуклеазами и доставляющие их к клетке-мишени. В данной работе мы рассматриваем только мРНК-технологии.

мРНК-технологии – что это такое? В эукариотических клетках различные РНК выполняют функции как машин, синтезирующих белок, так и структур, регулирующих этот синтез. Их можно разделить на две большие группы [10]:

- *участвующие в трансляции*, т.е. в осуществляемом рибосомой процессе синтеза белка из аминокислот на матрице информационной (матричной) РНК (иРНК, мРНК). К ним относятся транспортная РНК (тРНК) и рибосомная РНК (рРНК);

- *участвующие в регуляции генов* – множество типов малых некодирующих РНК (<200 нуклеотидов), управляющих транс-

¹ Paris K. Genome Editing and Biological Weapons. Assessing the Risk of Misuse. Springer. USA. 2023. URL: <https://digital-commons.usnwc.edu/nwc-review/vol76/iss4/16> (дата обращения: 10.04.2024).

² Например, см. буклет «Advancing mRNA Vaccine and Therapy Development». Счастливые лица ученых, обещающих «непревзойденную масштабируемость и экономическую эффективность по сравнению с традиционными методами». URL: <https://www.genengnews.com/resources/ebooks/advancing-mrna-vaccine-and-therapy-development/> (дата обращения: 15.04.2024).

³ PRISMA. URL: <https://www.prisma-statement.org/> (дата обращения: 05.04.2024).

⁴ *Трансген* – ген, который был перенесен естественным путем или с помощью любого из ряда методов генной инженерии из одного организма в другой. Введение трансгена в процессе, известном как трансгенез, имеет потенциал изменить фенотип организма. URL: <https://en.wikipedia.org/wiki/Transgene> (дата обращения: 14.06.2024).

крипцией, трансляцией и посттранскрипционным процессингом РНК. К ним относятся: малые интерферирующие РНК (короткие интерферирующие РНК, siRNA, small interfering RNA, маРНК) – класс двухцепочечных РНК с длиной в 20–25 нуклеотидов. Их взаимодействие с мРНК приводит к деградации последней и предотвращает трансляцию мРНК на рибосомах; малая ядерная РНК (small nuclear RNA, snRNAs) – сплайсинг пре-мРНК; малая ядрышковая РНК (small nucleolar RNA, snoRNA) – регуляция процессинга и модификации рибосомной РНК; микроРНК (microRNA, miRNA, миРНК) – малые некодирующие двухцепочечные молекулы РНК длиной 18–25 нуклеотидов (в среднем 22) – транскрипционная и посттранскрипционная регуляция экспрессии генов путем РНК-интерференции; piwi-взаимодействующая РНК (piwi-interacting RNA, piРНК) – эпигенетическое и посттранскрипционное молчание мобильных элементов и других ложных или повторяющихся транскриптов; кольцевые РНК (circRNA) – модулирование экспрессии генов; аптамеры – короткие структурированные РНК с высокой специфичностью и сродством к молекулам-мишеням; и другие, многие из которых еще не установлены.

мРНК-технологии – это технологии воздействия на геном человека, предполагающие доставку РНК в клетку-мишень, например, для восстановления функции конкретного гена или отключения гена, ответственного за развитие патологического процесса или функцию [11].

Кассеты экспрессии. К ним относят доставляемые в клетку вектором взаимозаменяемые генетические конструкции, включающие структурный ген (трансен), т.е. ген, кодирующий целевой белок, который необходимо ввести в организм человека с определенной целью; и регуляторные элементы, позволяющие запускать экспрессию гена в заданной ткани, и прекращать ее, когда нуклеотидная последовательность целевого белка будет считана белоксинтезирующей машиной клетки.

В последнее десятилетие работы по этим кассетам шли в следующих направлениях: повышение стабильности мРНК; повышение эффективности трансляции гена, кодирующего целевой белок; снижение иммунной стимуляции, введенной мРНК; удлинение периода ее полураспада (half-life). В естественных условиях транскрипция мРНК, синтезируемой в ядре клетки с матричной ДНК, катализируется ферментом ДНК-зависимой РНК-полимеразой. РНК-полимераза движется по молекуле ДНК в направ-

лении от 5'- к 3'-концу, образуя пре-РНК (pre-messenger RNA), которая, в свою очередь, подвергается сплайсингу – интроны удаляются, а экзоны соединяются, образуя непрерывную кодирующую последовательность. Также она подвергается двум модификациям.

Первая модификация – к первому трифосфату с 5'-конца через особую 5'-5'-связь добавляется 7-метилгуанозин (m7G) – в результате образуется структура, известная как 5'-кэп (от англ. cap – шапка). Она защищает зрелую мРНК от деградации, а также способствует ее транспорту из ядра клетки в цитоплазму и эффективной трансляции. Структура 5'-кэпа является основным определяющим фактором, с помощью которого клетка-хозяин может различать собственные и чужеродные молекулы мРНК.

Вторая модификация – посттранскрипционное добавление на 3'-конец молекулы РНК поли(А)-хвоста примерно из 100–250 остатков нуклеозида аденозина. Поли(А)-хвост придает стабильность молекуле мРНК, способствует экспорту мРНК из ядра в цитозоль, и вместе со структурой 5'-кэпа участвует в образовании трансляционно-компетентного рибонуклеопротеинового комплекса [12].

Трансен на основе мРНК транслируется в цитоплазме клетки. Поэтому разработчики мРНК-кассет воспроизводят эти модификации в условиях *in vitro*. Добавление 5'-кэпа может быть достигнуто либо посредством посттранскрипционной ферментативной реакции, проводимой ферментом, копирующим геном вируса коровьей оспы, либо с помощью котранскрипционной реакции путем включения синтетического кэпа. Поли(А)-хвост синтезируют с помощью поли(А)-хвостовой полимеразы [13, 14].

В настоящее время в рамках мРНК-технологий разрабатываются два основных типа рекомбинантной мРНК: нереплицирующаяся мРНК и самоамплифицирующаяся РНК. Генотерапевтические кассеты на основе *нереплицирующейся мРНК* содержат 5'- и 3'-нетранслируемые области (UTR) и открытую рамку считывания (ORF), также называемую кодирующей областью или кодирующей последовательностью, и поли(А)-хвост [15]. Направления модификации нереплицирующихся мРНК-кассет показаны на *рисунке 1*.

Экзогенные свободные РНК (РНК, поступающие извне клетки) через активацию врожденных *клеточных иммунных сенсоров*, индуцируют механизм клеточной защиты, филогенетически возникший до появления многоклеточной жизни и адаптивного иммунитета. Он направлен на блокирование экспрессии мРНК, транскрибируемой с чу-

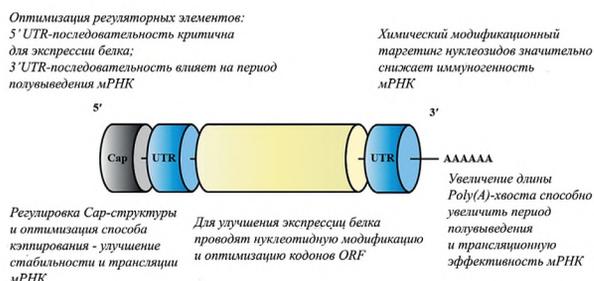


Рисунок 1 – Направления модификации трансгенов на основе нереплицирующейся синтетической одноцепочечной мРНК. Основные требования к функциональной мРНК – это наличие кэпа (7-метилгуанозина) на 5'-конце, кодирующей последовательности и поли(А)-хвоста на 3'-конце. Обычно в структуру мРНК включают: изомер нуклеозида уридина – псевдоуридин (Ψ), тиоуридин (s2U) и 5-метилцитидин (m5C) (рисунок адаптирован по L. Yang с соавт. [9])

Figure 1 – Principles and methods of modification of transgenes that are based on non-replicating single-stranded mRNA. Basic requirements to a functional mRNA – the cap (7-methyl guanosine) at 5'UTR of the coding sequence and poly-A tail at 3'-UTR. The mRNA usually includes pseudouridine (Ψ), thiouridine (s2U) and 5-methylcytidine (m5C). (The figure is adapted from L. Yang et al. [9])

жеродных генов⁵. Поэтому замена природной РНК синтетической, не имеющей аналогов в природе, и соответственно, позволяющей обходить врожденные клеточные механизмы защиты от чужеродной, в настоящее время один из наиболее распространенных в технологиях генной терапии подходов к снижению нестабильности и иммуногенности РНК, и к увеличению экспрессии белка. Для синтеза мРНК-кассеты используются редковстречающиеся в природе химически модифицированные нуклеозиды [17]:

- изомер нуклеозида уридина – псевдоуридин [Ψ; 5-(β-D-Ribofuranosyl)pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione]. Он играет роль во взаимодействии РНК с аминоксилтрансферазами и, следовательно, в инициации трансляции,

одновременно увеличивая температуру плавления мРНК и, соответственно, ее стабильность и экспрессию белка. Замена уридина на псевдоуридин обеспечивает векторам, предназначенным для соматической генной терапии, защиту от деградации мРНК, опосредованной РНКазой L. мРНК, содержащие модификацию Ψ – N(1)-метилпсевдоуридин (m1Ψ)⁶, обеспечивают примерно в 44 раза и в 13 раз более высокую экспрессию репортерного гена при трансфекции в клеточные линии или мышей соответственно, чем платформа мРНК, содержащая Ψ [18]. Для всех семи зарегистрированных на конец 2021 г. «КОВИД-вакцин» N1-метилпсевдоуридин был включен вместо уридина, что сделало продолжительность и силу их экспрессии непредсказуемыми. Долгосрочная судьба модифицированной мРНК внутри клеток в настоящее время неизвестна⁷;

тиоуридин (s2U) – содержится в транспортном РНК (тРНК). В РНК-кассете выполняет ту же роль, что и псевдоуридин;

5-метилцитидин (m5C) – придает РНК устойчивость к действию нуклеаз, повышает эффективность внутриклеточной трансляции, снижает ее цитотоксичность и неспецифичное иммуностимулирующее действие (за счет блокирования взаимодействия искусственной РНК с рецепторами врожденного иммунитета).

Распространенным подходом к усилению экспрессии генов стало увеличение периода полураспада мРНК путем использования 5'- и 3'-UTR для фланкирования кодирующей последовательности мРНК-трансгена. Их выбирают из генов, кодирующих белки с длительным периодом полураспада (мРНК α- и β-глобина и др.)⁸, либо используют синтетические UTR, разработанные под конкретные задачи⁹. Усиливает экспрессию белка (скорость элонгации трансляции) более эффективное использование цитоплазматических тРНК, достигаемое путем оптимизации кодонов нуклеотидной последовательности, кодирующей белок. Избегаются последовательности, которые соответствуют редким видам

⁵ Более подробно об этих механизмах клеточной защиты от патогенных микроорганизмов см. в работе [16].

⁶ Эта форма мРНК никогда не встречается в природе, и поэтому имеет потенциал для неизвестных последствий. Они начинают проявляться. Представлены доказательства того, что 100 % замена уридина на N1-метил-псевдоуридин (m1Ψ) в «мРНК-вакцинах» стимулировала рост рака и метастазирование раковых клеток на модели меланомы [19].

⁷ Более подробно см. в работе J. Nelson с соавт. [20].

⁸ 5'- и 3'-UTR бета-субъединицы гемоглобина человека (hNBV) – одна из наиболее эффективно экспрессируемых мРНК млекопитающих. Они обеспечивают более высокую стабильность и более высокий потенциал для продукции белка [14].

⁹ Сведения о 5'- и 3'-UTR, и природе сигнальных последовательностей полиА, остаются частной и нераскрытой информацией для семи «мРНК-вакцин», зарегистрированных в начале пандемии COVID-19 [21].

тРНК, и включаются соответствующие более распространенным видам тРНК. Оптимизация состава кодонов трансгена проводится с учетом типа тканей и клеток, где предполагается его экспрессия. В ходе такой оптимизации отдельные редкие кодоны замещаются синонимичными, транслирующиеся более эффективно. Было показано, что увеличение содержания гуанина-цитозина (GC) увеличивает экспрессию белка в условиях *in vivo*. Важна и оптимизация последовательности мРНК, определяющая ее вторичную структуру, тем самым уменьшают деградацию мРНК посредством гидролиза [9, 12, 21].

Полиаденилированный 3'-концевой участок мРНК, так называемый поли(А)-хвост, играет основную роль в образовании трансляционно-активного комплекса мРНК с факторами трансляции и влияет на стабильность мРНК, предотвращая ее 3'-экзонуклеазную деградацию [12].

Полиаденилирование заключается в наращивании поли(А)-хвоста путем добавления к 3'-концевому участку первичного транскрипта мРНК остатков аденозинмонофосфата. После трансляции мРНК может быть повторно полиаденилироваться и использоваться несколько раз, что называют *затяжной инерцией трансляции мРНК*. Длина хвоста poly(A) пропорциональна эффективности трансляции. Она является критическим фактором, определяющим долговечность молекул мРНК в цитоплазме. Поли(А)-хвосты длиной около 100 нуклеотидов идеально подходят для трансгенных конструкций данного типа, используемых для генной терапии. С каждым циклом трансляции количество остатков аденозинмонофосфата на 3'-конце первичной мРНК убывает. Когда оно достигает порядка 30–60, мРНК быстро и необратимо деградирует [22].

В случае «мРНК-вакцин» хвост Poly(A) содержит 120 аденозинмонофосфатов. После транскрипции модифицированной «мРНК-вакцины» в белок, она не полностью деградирует (из-за размера хвоста Poly(A)), что позволяет ей транслироваться несколько раз, увеличивая синтез белка [23].

Достижение адекватной экспрессии для компенсации генетического дефекта или терапевтического воздействия на опухоль, может потребовать больших количеств терапевтического белка или повторных введений генотерапевтического препарата. Эта проблема решается с помощью *самоамплифицирующейся мРНК (саРНК)*. Она содержит

все компоненты мРНК-трансгена с дополнительной ORF, кодирующей механизм репликации РНК-вируса, но без генов, кодирующих структурные белки этого вируса. Благодаря чему не происходит образования инфекционных вирусных частиц¹⁰ – т.е. саРНК представляет собой генно-инженерный репликон с двумя ORF. Одна ORF, как и обычная мРНК, кодирует доставляемый в клетку ген. Другая ORF кодирует мультиферментный репликационный комплекс альфавирусов – т.е. РНК-зависимую РНК-полимеразу (RNA-dependent RNA polymerase, RdRP) и ее вспомогательные белки, реплицирующие конструкцию мРНК в цитоплазме клетки.

После проникновения саРНК в цитозоль клетки, запускается трансляция неструктурных белков, необходимых для сборки мультиферментного репликационного комплекса – формируются фабрики репликации полноразмерной отрицательнорепетивной РНК. Синтезированная РНК служит матрицей для экспрессии большего количества репликаз, необходимых для ауторепликации вектора. Продолжительность экспрессии самоамплифицированной мРНК и количество синтезируемого белка не прогнозируемо увеличиваются. По сравнению с неамплифицируемыми РНК, транскрипты саРНК намного длиннее и имеют высокую степень развитости вторичной структуры. Что с одной стороны токсически действует на клетку, с другой – ограничивает их масштабное производство. Чтобы «укоротить» РНК и повысить их стабильность, разработана система трансамплификации, основанная на двухсоставной векторной системе РНК (bipartite RNA vector system). В этой системе одна векторная кассета, содержащая только ген, кодирующий репликазу, обеспечивает механизм транс-альфавирусной репликации; тогда как вторая молекула происходит из саРНК с делецией репликазы и предназначена только для экспрессии целевого белка. С помощью такой системы наногаммовые дозы мРНК, кодирующей гемагглютинин гриппа (НА), оказались достаточными для синтеза НА в количествах, вызвавших индукцию у мышей нейтрализующих антител против вируса гриппа [8, 24].

В клетку саРНК может доставляться в виде вирусных репликационных частиц (viral replicon particles, VRP) или в виде полностью синтетической саРНК, полученной после транскрипции в условиях *in vitro*, и доставляемой в клетку в составе искусственной век-

¹⁰ Обычно это положительно смысловые геномы альфавирусов: вирус венесуэльского лошадиного энцефалита (VEE), вирус Синдбис (SINV) и вирус леса Семлики (SFV).

торной конструкции (липоплексы или полиплексы)¹¹ [15].

Технологию уже навязчиво представляют перспективной для создания следующего поколения «неаллергенных и нетоксичных мРНК-вакцин», вызывающих «широкий и длительный иммунитет при более низкой дозе, что обеспечивает лучшие клинические результаты в сочетании с меньшим количеством побочных эффектов» [26]. В тоже время стали публиковаться настораживающие экспериментальные данные о возможности рекомбинации РНК между шаблонами реплика и хелперной РНК, в результате чего образуются альфавирусы, способные к репликации [27].

Искусственные векторные системы. Это генотерапевтические векторы, созданные на основе нанотехнологий, представляющие собой систему доставки *трансгенов*, использующую невирусные наноматериалы. Развитие данного направления конструирования генотерапевтических векторов обосновывается их разработчиками серьезными недостатками вирусных векторов, препятствующими широкому клиническому применению – антигенность, онкогенность, ограниченная емкость по трансгенам и др. [28]. Такие векторные системы разрабатываются по трем направлениям: 1) комплексы, образованные нуклеиновыми кислотами и катионными полимерами (полиплексы); 2) комплексы, образованные нуклеиновыми кислотами и липидами (липоплексы), 3) комплексы на основе наночастиц неорганических носителей (двуокиси кремния и др.).

Полиплексные композиции (polyplexes). Полиплексы получают путем конденсации нуклеиновых кислот катионными полимерами. Общей чертой их структур является наличие в молекуле множества положительно заряженных групп, которые протонируются в положительно заряженные полимеры. Они могут связывать нуклеиновые кислоты посредством электростатических взаимодействий и конденсировать их в наночастицы. Положительные заряды улучшают взаимодействие с отрицательно заряженными клеточными мембранами и помогают полиплексам покинуть эндосомы до того,

как произойдет их лизосомальная деградация. По сравнению с системами на основе липидов полиплексы мРНК образуют более жесткие супрамолекулярные структуры, имеют большую ММ и медленную подвижность полимерной цепи, что обеспечивает превосходную стабильность [29].

Эффективность трансфекции клеток полиплексами увеличивают путем повышения их *специфичности*. Для этого в поверхность частиц вводят лиганд, специфически взаимодействующий с рецепторами на поверхности клеток-мишеней [29]. Полиплексы рассматриваются генотерапевтами как перспективное направление по ингаляционной доставке генов в легкие. Один из экспериментов показан на *рисунке 2*.

Стабилизация аэрозолируемого полиплекса достигается формированием глутаральдегидом или карбодимидом поперечных сшивок между образовавшими полиплекс катионными макромолекулами. Обычно это ветвящиеся производные полиэтиленimina (polyethylenimine; PEI, ММ 22 кДа). Чем больше таких сшивок, тем прочнее носитель, тем менее он подвержен деградации в растворе и при распылении, и тем прочнее в него «упакована» экспрессирующая кассета [30].

Хотя катионные полимеры обладают рядом преимуществ, позволяющих разрабатывать многофункциональные носители с меньшей токсичностью, их влияние на стабильность клеточных мембран по-прежнему является фактором, который разработчики таких систем принимают во внимание. При взаимодействии катионных наночастиц с клеточными и ядерными мембранами они изменяют пористость и потенциал мембран, повышают внутриклеточную концентрацию кальция и вызывают воспалительные реакции [31].

Липоплексные композиции. Их делят на две нечеткие группы: липосомы и липидные наночастицы (ЛНЧ)¹². Термин «липосома» был впервые использован в 1960-х гг., вскоре после того, как было обнаружено, что закрытые липидные двухслойные везикулы образуются спонтанно в воде. Термин «липидная наночастица» вошел в обиход гораздо

¹¹ Технология уже используется для получения «вакцин» в Японии. W. Akahata с соавт. [25] на основе саРНК создали «вакцину» VLPCOV-01, индуцирующую «надежные титры иммуноглобулина G (IgG) против белка RBD, сохраняющиеся в крови добровольцев до 26 недель».

¹² Эту классификацию липоплексов принимают не все исследователи. Например, W.M. Pardridge [32] (2022) считает, что липидные наночастицы – это общий термин, включающий липосомы, твердые липидные наночастицы (solid lipid nanoparticles, SLN), наноструктурированные липидные носители (nano-structured lipid carriers, NLC) и катионные липоплексы.

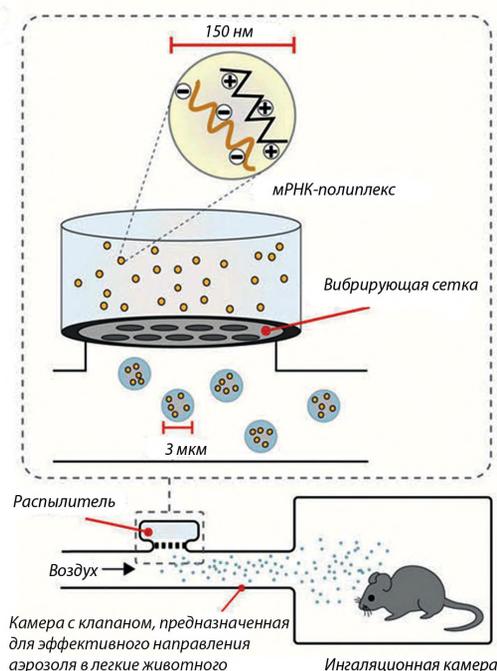


Рисунок 2 – Обработка распространения монодисперсного аэрозоля полиплексов с экспрессирующей кассетой. Для доставки в легкие мышей мРНК, кодирующей тестовый маркер – люциферазу светлячков, использовался вибрационный распылитель, соединенный с ингаляционной камерой. Небулайзер генерирует капли размером несколько микрометров, оптимальные для осаждения в глубоких отделах легких. В описанном эксперименте использовали наночастицы, лиофилизированные с сахарозой в качестве криопротектора. Восстановление в воде непосредственно перед распылением. Временная экспрессия белка люциферазы наблюдалась во всех отделах легких (рисунок адаптирован по [30])

Figure 2 – The example of distribution of monodispersed aerosol containing polyplexes with an expression cassette. A vibrating mesh nebulizer connected to a whole-body chamber was used to deliver firefly luciferase-encoding mRNA to mice. The nebulizer generates micrometer droplets that are optimal for lung deposition. In the given example, the nanoparticles were lyophilized with sucrose and that served as a cryoprotector. Desoxydation in water just before spraying. A transient luciferase protein expression occurred in all lung segments (the figure is adapted from [30])

позже, в начале 1990-х гг., с началом эры нанонауки и нанотехнологий [33]. Сходства и различия между ними показаны в таблице 1.

Для увеличения длительности циркуляции липоплексов в крови человека и увеличения количества трансфецируемых клеток-мишеней, находящихся вне легочной ткани, разработчики липоплексов понижают заряд их поверхности путем добавления ги-

дрофильных и нейтрально заряженных полимеров. Присутствие большого количества групп полиэтиленгликоля (ПЭГ) на поверхности липоплекса делает их невидимыми для фагоцитов, предотвращает неспецифическое взаимодействие между ним и клеточной мембраной, и при наличии на его поверхности специфических лигандов, увеличивает способность векторной конструкции к лиганд-рецепторному взаимодействию с клеткой-мишенью. Поэтому их еще называют «невидимые липосомами» или «липосомы Троянский конь» (Trojan horse liposomes, THLs) [33].

ПЭГилированный липидный компонент в липоплексе обычно связан с якорным липидом, т.е. с липидом, удерживающим его в мембране. ММ ПЭГ колеблется от 350 до 3000 Да. Более высокая ММ ПЭГ и более длинная липидная цепь увеличивают время циркуляции наночастицы в кровеносном русле, а также уменьшают поглощение иммунными клетками. Варьирование ими используется генными инженерами для точной настройки времени циркуляции и эффективности поглощения липоплекса клетками-мишенями [15]

Липосомы – платформа доставки лекарственных средств, с которой началось развитие наномедицины. Они представляют собой закрытые сферические везикулы, состоящие из фосфолипидного бислоя с полярными головными группами и неполярными хвостовыми группами, а также стабилизатора, такого как холестерин. Катионные липосомы – это общий термин для класса положительно заряженных липосом, обычно состоящих из различных катионных липидных молекул отдельно или с нейтральными вспомогательными липидами, такими как 1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphatidylethanolamine (DOPE), distearoylphosphatidylcholine (DSPC), фосфатидилхолин, холестерин (Chol/CHO) и др. Положительно заряженный комплекс «носитель–нуклеиновая кислота» под действием электростатического взаимодействия адсорбируется на поверхности клетки, затем проникает в клетку посредством эндоцитоза [33].

Положительный заряд катионных липидов позволяет им притягивать, инкапсулировать и сжимать нуклеиновые кислоты, в то время как хелперные липиды (по химическому составу это глицеролипиды, не катионные по природе) отвечают за улучшение стабильности двухслойных мембран, снижение токсичности катионных липосом и способность выходить из эндосом в ци-

Таблица 1 – Сравнительные свойства липосом и липидных наночастиц
Table 1 – Comparison of liposomes and lipid nanoparticles

Сходство/различие / Similarity/difference	Липидная наночастица / Lipid nanoparticle	Липосома / Liposome
Сходство / Similarity	Распределение частиц по размерам, форма, липидный состав, наличие положительного заряда поверхности / Particle-size distribution, shape, lipid composition, the presence of positive charge of surface	
	Монослойная структура фосфолипида / A phospholipid with a monolayer structure	Двухслойная структура фосфолипидов / A phospholipid with a bilayer structure
	Обратные мицеллы с водяным ядром / Reversed micelles with a water core	Водяное ядро в мицеллярном пространстве / A water core in micellar space
Различия / Differences	По методам получения / Acquiring methods	
	Сублимационная сушка невозможна / Freeze drying is impossible	Возможна сублимационная сушка / Freeze drying is possible
	ЛНЧ-мРНК нестабильна, а затраты на хранение и транспортировку высоки / LNP-mRNA is unstable, storage and transportation expenses are high	Имеет превосходную стабильность при длительном хранении / Keeps stable during long-term storage.
Примечание. Таблица адаптирована автором из [34]. Note. The table is adapted by the author from [34].		

топлазму клетки [33, 35]. Структура катионной липидной наночастицы показана на рисунок 3.

Высокой трансфекционной способностью обладают липосомы с выраженной мембранной текучестью. Использование DOPE в качестве колипида увеличивает трансфецирующую способность липосом и облегчает освобождение липоплекса из эндосомы через дестабилизацию ее мембраны в цитоплазме клетки. Далее происходит декомплексация липосомы с высвобождением из нее транскгена [36]. Избыточность поверхностного заряда, сокращает период полужизни катионных липосом при циркуляции в кровеносном русле [33]

Нацеленность липосом на определенные органы можно регулировать. Введение в состав липосомы галактолипидов повышает их тропность к паренхиматозным тканям. Липосомы, содержащие dimethylaminoethane-carbamoyl-cholesterol (DC-Chol), обладают повышенной тропностью к клеткам гиппокампа головного мозга [37]. Другой, более специфичный путь таргетирования липосом – введение в их состав специфических антител. мРНК инкапсулируется внутри пегилированной липосомы (т.е. «липосомы Троянский конь»), а кончики нитей ПЭГ на поверхности липосомы конъюгируются с моноклональным антителом, специфичным к определенному рецептору или ткани. Обычно каждая такая липосома включает ~50 молекул моноклональных антител. Для нацеливания

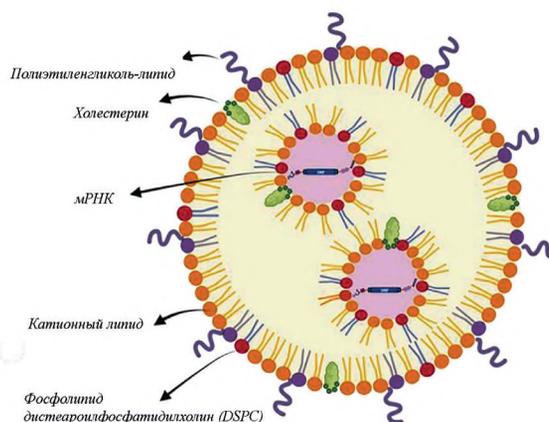


Рисунок 3 – Структура катионной липидной наночастицы. Такие наночастицы в основном состоят из катионных липидов – в данном случае DSPC, липид-связанного полиэтиленгликоля, холестерина и молекул мРНК. DSPC повышает стабильность частиц, эффективность доставки и биораспределение. Такие наночастицы содержат примерно 100 молекул мРНК на липидную наночастицу при ее диаметре 80–100 нм (рисунок адаптирован по [22])

Figure 3 – The structure of a cationic lipid nanoparticle. A cationic lipid nanoparticle mainly consists of cationic lipids, distearoylphosphatidylcholine (DSPC), lipid-linked polyethylene glycol (PEG), cholesterol, and mRNA molecules. DSPC enhances particle stability, delivery efficacy and biodistribution. Such nanoparticles contain approximately 100 mRNA molecules per a lipid nanoparticle, taking into account that the diameter of this particle is 80–100 nm (the figure is adapted from [22])

на несколько рецепторов с ПЭГ могут быть конъюгированы молекулы моноклональных антител с различной специфичностью. Такие комплексы называются ПЭГилированными иммуносомами (PEGylated immunoliposomes, PILs) [38, 39].

Липидные наночастицы (ЛНЧ)¹³ – наноструктуры сферической формы, состоящие из одного или нескольких ионизируемых липидов (ionizable lipids), связанных с ПЭГ (ПЭГилированный липид); холестерина и хелперного липида [40]. Предложены для преодоления недостатков катионных липидов. Они являются ключевыми компонентами ЛНЧ, определяющими титр, эффективность доставки мРНК и способность к разложению в клетке. Ионизируемый липидный компонент (а не мРНК) обеспечивает адьювантность ЛНЧ, стимулируя врожденную иммунную систему. Их период полураспада *in vivo* 20–30 суток¹⁴. Таргетирование ЛНЧ аналогично таргетированию липосом [40, 41].

Меньшая токсичность ионизируемых липидов, чем катионных, связана с тем, что они могут динамически регулировать свое зарядовое состояние в клеточной среде, избегая непрерывного высвобождения положительных зарядов на поверхность клетки (рисунок 4).

В настоящее время ЛНЧ стали наиболее широко изученным и применяемым вектором доставки нуклеиновых кислот в технологиях генной терапии *in vivo* [42].

«мРНК-вакцины» против COVID-19, разработанные компаниями Pfizer/BioNTech и Moderna. «Вакцины» доставляют в цитоплазму мышечных клеток мРНК, кодирующую полноразмерный рекомбинантный S-белок SARS-CoV-2; мРНК транслируется в S-белок; он проникает на поверхность мышечных клеток и в кровь, и действует как антиген, вызывая развитие ответа иммунной системы человека. Составы липидных наночастиц двух «мРНК-вакцин» очень схожи и их надо рассматривать как наиболее опти-

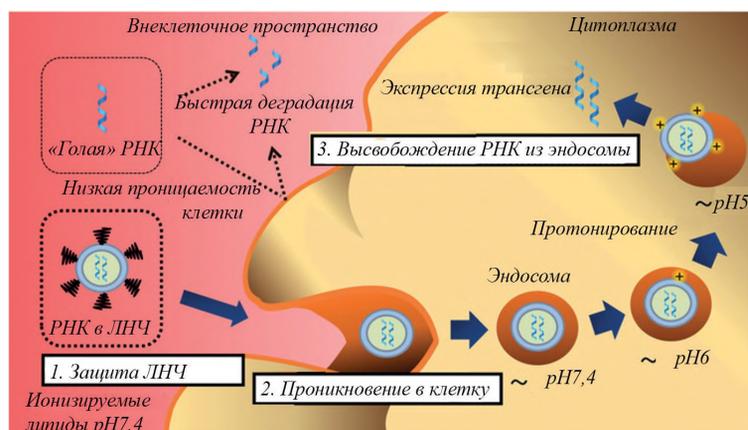


Рисунок 4 – Механизм доставки мРНК липидными наночастицами. 1 – Инкапсуляция ЛНЧ защищает РНК от расщепления нуклеазами. ЛНЧ нейтральны при физиологическом pH благодаря ионизируемым липидам и ПЭГ-липидам, тем самым уменьшая неспецифические взаимодействия с белками сыворотки. 2 – После диссоциации ПЭГ-липидов клетки поглощают ЛНЧ через аполипопротеин E (ApoE)-зависимый и/или ApoE-независимый пути. 3 – Протонированные ЛНЧ при подкислении эндосомы разрушают мембраны эндосомы и высвобождают молекулы РНК в цитоплазму (рисунок адаптирован по [43])

Figure 4 – The Delivery mechanism of mRNA by lipid nanoparticles. The lipid nanoparticles (LNP) completely encapsulated the RNA and prevented it from nuclease digestion. LNPs are neutral in physiological pH due to ionizable lipids and pegylated phospholipids, thus reducing non-specific interactions with serum proteins (1). LNPs are taken up by cells via apolipoprotein E (ApoE) dependent and/or ApoE independent pathways when the pegylated phospholipids are dissociated (2). The protonated LNPs, after acidification in the endosomes, induce the hexagonal phase structure, destroy the cell membrane and release RNA molecules into the cytoplasm (3) (the figure is adapted from [43])

¹³ Конструкции ЛНЧ имеют множество вариантов выполнения (липидная nanoэмульсия, твердая липидная наночастица, наноструктурированный липидный носитель и др.), более подробно с ними можно ознакомиться по работам [9, 33, 42].

¹⁴ Comirnaty. Assessment report COVID-19 vaccine comirnaty. EMA/707383/2020 Corr1 (2021) 31:1–140. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf (дата обращения: 19.07.2024).

мальные на настоящий момент для введения генов в организм человека. Обе «вакцины» содержат запатентованные катионные ионизируемые липиды, положительно заряженные при низком значении pH. При физиологическом значении pH они нейтральны. Фосфолипид дистеароилфосфатидилхолин (DSPC) и холестерин помогают упаковать мРНК в ЛНЧ.

Молярные соотношения липидных наночастиц «вакцин» следующие:

- катионный липид:ПЭГ-липид:холестерин: DSPC составляют (46,3:1,6:42,7:9,4) – для вакцины Pfizer;

- те же компоненты (50:1,5:38,5:10) – для вакцины Moderna.

Наночастицы имеют диаметр 80–100 нм и включают примерно 100 молекул мРНК на липидную наночастицу [33].

Ген S-белка для обеих вакцин взят из штамма SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1 (номер доступа GenBank: MN908947) [44]. Все азотистые основания уридина были заменены на N1-метилпсевдоуридин (m1Ψ) [45] по технологии, ранее разработанной для соматической генной терапии [18].

Зapatентованные катионные липиды (ALC-0315, Pfizer; SM-102, Moderna) представляют собой третичные амины, которые протонируются (и, следовательно, приобретают положительный заряд) при низком значении pH в эндосомах, разрывают их и проникают в цитоплазму клетки. Оба ПЭГ-липиды представляют собой конъюгаты катионного липида с ПЭГ-2000. Их углеводные цепи соединены биоразлагаемыми сложноэфирными группами, что обеспечивает, по утверждению разработчиков, безопасный клиренс после доставки мРНК. Разветвленные углеводные цепи оптимизируют образование неламеллярных фаз в этаноле и эффективность доставки мРНК в клетки [33].

Векторные системы на основе наночастиц неорганических носителей. Их основными преимуществами перед липо- и полиплексами разработчики считают низкую токсичность, контролируемость размеров частиц и простоту приготовления векторной системы. Развитие данного направления в генной терапии *in vivo* прослеживается с

2002 г. В научной литературе рассматривалось применения в качестве носителей генов наночастиц кремния, железа и золота [34].

Наиболее перспективными для целей генной терапии *in vivo* считаются наночастицы на основе мезопористого кремния (МКН). Их преимущества перед другими неорганическими наночастицами следующие: 1) высокая способность загрузки как гидрофильных, так и гидрофобных молекул; 2) размер и форму частиц можно регулировать; 3) поверхность МКН содержит легко модифицируемые активные группы, позволяющие применять различные покрытия и стратегии нацеливания трансгена на клетки-мишени; 4) поверхность МКН упорядочена, ее пористость достигает 80 %, поровые каналы обеспечивают диффузию и пролонгированное высвобождение лекарств; 5) биосовместимость – кремниевая кислота, усваивается организмом или выводится через мочевыделительную систему [42].

Почему нельзя считать препараты на основе мРНК вакцинами. В общей фармакопейной статье «Вакцины и анатоксины»¹⁵ установлено официальное определение вакцин – «иммунобиологические лекарственные препараты – вакцины и анатоксины, содержащие компоненты, вызывающие при введении человеку активный специфический иммунный ответ к антигенам микроорганизмов, включая микробные токсины. Активными компонентами могут являться: живые микроорганизмы (авирулентные или аттенуированные); микроорганизмы, инактивированные физическим или химическим способом; антигены, выделяемые микроорганизмами или извлеченные из них, а также полученные по технологии синтеза или методами генной инженерии»¹⁶. То есть речь идет не о *гене*, его регуляторных последовательностях и пр., а об *антигене* – т.е. белке, обладающем антигенными свойствами (но это для тех, кто понимает разницу между ними). Далее дается определение «*антигена*». Там же указано, что «вирусные вакцины представляют собой инактивированные или живые вирусы или *антигенные компоненты вирусов*», но не *гены вирусов*, включенные в специальные векторы и с 1990-х гг.

¹⁵ Общая фармакопейная статья 1.7.1.0004.15 Вакцины и анатоксины. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2; 2018.

¹⁶ А вот еще интересный документ – Приложение № 1 к приказу Минздрава Российской Федерации от 6 декабря 2021 г. № 1122н. Называется «Национальный календарь профилактических прививок», п. 6 «При проведении вакцинации и ревакцинации населения используются вакцины, содержащие актуальные для Российской Федерации *антигены* ...», т.е. антигены, а не гены.

используемые в экспериментах по генной терапии рака¹⁷.

Федеральный закон РФ от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств»¹⁸ дает недвусмысленное определение генотерапевтическим лекарственным препаратам – это лекарственные препараты, фармацевтическая субстанция которых является рекомбинантной нуклеиновой кислотой или включает в себя рекомбинантную нуклеиновую кислоту, позволяющую осуществлять регулирование, репарацию, замену, добавление или удаление генетической последовательности¹⁹, т.е. то, что представлено на рисунке 1.

В Европейской фармакопее определения аналогичные²⁰. Регулирование этих продуктов в качестве вакцин и исключение их из регулирующего надзора в качестве продуктов генной терапии не имело ни научного, ни этического обоснования [46, 47].

Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (Food and Drug Administration, FDA) определяет генотерапевтические продукты как «продукты, которые опосредуют свои эффекты посредством транскрипции и/или трансляции перенесенного генетического материала и/или путем интеграции в геном хозяина и которые вводятся в виде нуклеиновых кислот, вирусов или генно-инженерных микроорганизмов. Продукты можно использовать для модификации клеток

in vivo или переносить в клетки *ex vivo* перед введением реципиенту»²¹ [48].

Европейское агентство по лекарственным средствам (European Medicines Agency, ЕМА) описывает лекарственный препарат для генной терапии (gene therapy medicinal product, GTMP) как «биологический лекарственный препарат, содержащий активное вещество, которое содержит или состоит из рекомбинантной нуклеиновой кислоты, используемой или вводимой людям для регуляции, восстановления, замены, добавления или удаления генетической последовательности; и его терапевтический, профилактический или диагностический эффект напрямую связан с содержащейся в нем последовательностью рекомбинантной нуклеиновой кислоты или с продуктом генетической экспрессии этой последовательности»²² [49].

Как правило, ДНК, мРНК, малые интерферирующие РНК (siRNA, small interfering RNA), микроРНК (microRNA, miRNA) и антисмысловые олигонуклеотиды представляют собой генетические материалы, используемые для терапевтической доставки в дефектную клетку-мишень или ткань для восстановления функции конкретного гена или отключения гена, ответственного за развитие патологического процесса. Таким образом используемые для введения генов в организм человека «мРНК-вакцины» к иммунобиологическим препаратам, уже более двух столетий, называемых «вакцинами», отношения не имеют.

¹⁷ URL: https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-7-1-0004-15-vaktsiny-i-anatoksiny/#%D0%9E%D0%A4%D0%A1171000415_%D0%92%D0%B0%D0%BA%D1%86%D0%B8%D0%BD%D1%8B_%D0%B8_%D0%B0%D0%BD%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%BA%D1%81%D0%B8%D0%BD%D1%8B (дата обращения: 10.05.2024).

¹⁸ Федеральный закон Российской Федерации от 12.04.2010 № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/baabe5b69a3c031bfb8d485891bf8077d6809a94/ (дата обращения: 10.05.2024).

¹⁹ URL: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/baabe5b69a3c031bfb8d485891bf8077d6809a94/ (дата обращения: 19.05.2024).

²⁰ Vaccines for Human Use. European Pharmacopoeia 11.6 ed; 2024. URL: https://www.bfarm.de/SharedDocs/Downloads/DE/Arzneimittel/Zulassung/ZulRelThemen/azbuch/10azBuecher/Gesamtregister.pdf?__blob=publicationFile (дата обращения: 10.05.2024).

²¹ «... as products: that mediate their effects by transcription and/or translation of transferred genetic material and/or by integrating into the host genome and that are administered as nucleic acids, viruses, or genetically engineered microorganisms. The products may be used to modify cells *in vivo* or transferred to cells *ex vivo* prior to administration to the recipient. FDA. Guidance for industry, gene therapy clinical trials – observing subjects for delayed adverse events; 2006 Nov. URL: <https://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm072957.htm> (дата обращения: 10.05.2024).

²² «...biological medicinal product that contains an active substance which contains or consists of a recombinant nucleic acid used in or administered to humans to regulate, repair, replace, add or delete genetic sequence and its therapeutic, prophylactic or diagnostic effect relates directly to the recombinant nucleic acid sequence it contains, or to the product of genetic expression of this sequence». Regulation (EC) No 1394/2007 of the European Parliament and of the council of 13 November 2007 on advanced therapy medicinal products and amending Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004 official journal of the European Union; 2007 Dec 10.

FDA approves first-of-its kind targeted RNA-based therapy to treat a rare disease. August 10, 2018. URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-its-kind-targeted-rna-based-therapy-treat-rare-disease> (дата обращения: 14.06.2024).

2. Производство искусственных векторных систем

Знание деталей такого производства необходимо для выявления скрытно работающих линий по производству искусственных векторных систем, предназначенных для закладок в традиционные иммунобиологические препараты. Рассмотрим его на примере липоплексов с мРНК и векторных систем на основе наночастиц неорганических носителей.

Производство липоплексов. В целом приготовление частиц ЛНЧ-мРНК достигается путем хаотического смешивания липидов, растворенных в этаноле, и молекул мРНК, растворенных в водных растворах с низким значением рН. Самосборка ЛНЧ представляет собой физический процесс, приводящий к термодинамически выгодному расположению смешанных компонентов, обусловленному электростатическими взаимодействиями (между отрицательно заряженной мРНК и положительно заряженными ионизированными липидами) и амфифильностью других липидов. Размер, поверхностный заряд и состав конечного ЛНЧ во многом зависят от соотношения липидов во время приготовления и от индивидуальных свойств липидов (например, рКа, длины алкильной цепи, разветвления, ионизируемых липидных и сложноэфирных связей и др.) [40].

Предварительный этап производства мРНК-ЛНЧ. Включает генерацию транскрипта мРНК из плазмиды, содержащей интересующий ген. Эта реакция называется реакцией транскрипции *in vitro* (*in vitro* transcription reaction, IVT)²³. Ферментативная реакция IVT основана на ферментах РНК-полимеразы бактериофагов T7, SP6 или T3. Ферменты РНК-полимеразы катализируют синтез целевой мРНК из линейаризованной матрицы ДНК, содержащей интересующий ген. Линейаризованную матрицу ДНК получают путем расщепления рестрикционной эндонуклеазой плазмиды, содержащей интересующий ген, или альтернативно, амплификацией интересующего гена с помощью ПЦР. К основным ферментам реакции IVT относятся: а) РНК-полимераза – превращает ДНК в РНК; б) неорганическая пирофосфатаза (Inorganic pyrophosphatase, IPP) – увеличивает выход реакции IVT; в) гуанилилтрансфераза – добавляет нуклеозид GMP к 5'-концу мРНК; г) Cap 2'-O-метилтрансфе-

раза (Cap 2'-O-Methyltransferase) – использует S-adenosylmethionine (SAM), как донор метильной группы для добавления в 2'-положение 5'-кэпа мРНК; д) ДНКаза I – эндонуклеаза, используемая для удаления загрязняющей геномной ДНК из РНК; ж) поли(А)-хвостовая полимеразы – образует поли(А)-хвост; з) модифицированные и немодифицированные нуклеозидтрифосфаты (NTP) [13].

Очистка мРНК от примесей. Реакционная смесь, полученная в результате IVT, содержит несколько примесей, включая остаточные NTP, ферменты, неправильно сформированные мРНК, двухцепочечные мРНК (дцРНК) и плазмидную ДНК. Лабораторная очистка мРНК IVT включает методы, основанные на удалении ДНК путем расщепления ферментом ДНКазы с последующим осаждением хлоридом лития (LiCl). Удаление этих примесей имеет решающее значение для получения чистого продукта мРНК. Для очистки РНК используют ионно-парную обращенно-фазовую хроматографию (ion-pair reverse-phase chromatography, IEC), основанную на разнице зарядов между целевой мРНК и примесями; либо аффинное хроматографическое разделение с использованием в качестве лиганда дезокситимидин-(dT)-олиго-dT [Deoxythymidine (dT)-Oligo dT], захватывающий поли(А)-хвост мРНК. Для удаления примесей небольшой ММ используют тангенциальную поточную фильтрацию (Tangential flow filtration, TFF). Возможны и другие методы очистки нуклеиновой кислоты от примесей [50].

Получение концентрата мРНК-ЛНЧ. ЛНЧ, включающие мРНК, образуются путем осаждения липидов, растворенных в органической фазе, и смешивания их с мРНК в водной фазе. мРНК растворяют в цитратном или ацетатном буфере при рН 4. Смешивание водного и неводного растворов протонирует ионизируемый липид, вызывая электростатическое притяжение между ионизируемым протонированным липидом и анионной мРНК. Это взаимодействие одновременно сочетается с гидрофобными взаимодействиями других липидов и приводит к спонтанной самосборке мРНК-ЛНЧ с мРНК, инкапсулированной внутри ядра наночастицы. Процесс еще называют микроосаждением. После образования ЛНЧ их диализуют для удаления неводного растворителя, которым обычно является этанол, рН раствора доводят до

²³ Такие системы коммерчески доступны. Например, система синтеза мРНК Takara IVTpro (The Takara IVTpro mRNA Synthesis System) предназначена для синтеза высококачественной одноцепочечной мРНК с кэп-структурой из интересующего клиента гена. URL: <https://www.takarabio.com/products/mrna-and-cdna-synthesis/in-vitro-transcription/takara-ivtpro-mrna-synthesis-system> (дата обращения: 05.05.2024).

физиологического значения. Микрофлюидные смесители позволяют формировать ЛНЧ небольшого размера с низким индексом полидисперсности и высокой эффективностью инкапсуляции мРНК. Используются смесители шахматного типа «елочка». Конструкция таких смесителей позволяет двум (водным и неводным) растворителям смешиваться за микросекунды. Этот временной интервал намного меньше времени, необходимого для агрегации липидов. Общая скорость потока 12–14 мл/мин и соотношение объемов потока 3:1. Процесс можно масштабировать [50].

Полученная мРНК-ЛНЧ проходит контроль качества и разливается во флаконы или контейнеры. Флаконы закрывают крышками, запечатывают, проверяют с помощью автоматизированной обработки изображений, маркируют и упаковывают во вторичную и третичную упаковку. Производственный процесс не зависит от последовательности РНК, поэтому упакованными в ЛНЧ могут быть любые РНК [50].

Для производства мРНК-ЛНЧ могут использоваться помещения более низкого уровня биобезопасности, чем для традиционных вакцин. Строительство, эксплуатация и обслуживание таких производств значительно дешевле по сравнению с помещениями, содержащими чистые помещения высокого класса. Реактор объемом 5 л способен произвести миллион доз «мРНК-вакцины» за один цикл. Количество мРНК оценивается в диапазоне от 0,1 до 10 мкг/дозу с трансгенной кассетой саРНК; и от 25 до 250 мкг/дозу для мРНК. Соответственно стоимость дозы составляет менее одного доллара США для препаратов саРНК. Для препаратов на основе мРНК она будет на 1–2 порядка больше [51].

Технологическая линия по производству мРНК-ЛНЧ может быть скрытно размещена на небольшом участке существующего предприятия по производству традиционных вакцин. Для быстрого создания такой производственной линии используется готовое одноразовое оборудование. Наночастицы мРНК-ЛНЧ могут быть использованы в качестве «закладок» в традиционные иммунологические препараты.

Процесс изготовления векторных наноконструкций на основе диоксида кремния. Современные методы повышения эффективности введения генов в МКН заключаются в следующем: 1) функционализация мезопористого кремния путем придания ему положительного заряда, например, аминированием и включением катионного полимера – более эффективная загрузка трансгенов проис-

ходит за счет усиления электростатических взаимодействий наночастиц с нуклеиновыми кислотами; 2) синтез МКН с большими порами для реализации улучшенной защиты и транспортировки генов [42, 52].

Для получения векторов на основе МКН, TУ Cheang с соавт. [53] ковалентно «сшили» с поверхностью наночастицы двуокиси кремния силановое соединение – аминопропилтриэтоксисилан (aminopropyltriethoxysilane, APTES), пригодное для ковалентного связывания с атомами кремния. В результате на поверхности кремниевой частицы формировалась подложка, которая за счет аминокислотных концов молекулы АРТЕС способна электростатически взаимодействовать с белками и двунитевой плазмидной ДНК. АРТЕС увеличил способность наноносителя связывать плазмидную ДНК. Эффективность доставки плазмидной ДНК в гладкомышечные клетки сосудов человека возросла. Благодаря высокой способности АРТЕС растворяться в клеточных мембранах такая наночастица легко проходит в цитоплазму клетки. Сорбирование на ее поверхности специфического лиганда нацеливает вектор на определенные клетки или ткани. Массовое соотношение частиц двуокиси кремния и плазмидной ДНК в таких конструкциях 30:1. Их средний размер – 174,5 нм.

Схожим путем пошли W. Ngamcherdtrakul с соавт. для получения наноносителя двухцепочечной малой интерферирующей РНК (миРНК) [54]. Они создали МКН размером 50 нм, поверхность которого была модифицирована перекрестно связанными полиэтиленгликолем и полиэтиленмином. Сшитый с наночастицей полиэтиленмин позволил им загружать отрицательно заряженную миРНК на поверхность МКН. Также он способствовал ее выходу из эндосом за счет создания эффекта протонной губки. ПЭГ обеспечивал стерический эффект, защищающий миРНК от ферментативной деградации, а наночастицы – от агрегации и фагоцитоза. Модифицированные наночастицы затем конъюгировали с антителами для активного нацеливания на раковые клетки. В частности, W. Ngamcherdtrakul с соавт. [54] использовали трастузумаб–мАТ для лечения метастазирующего рака молочной железы. Их схема эксперимента по созданию конструкции, названной T-siRNA-NP, приведена на рисунке 5.

Процесс изготовления векторных наноконструкций на основе диоксида кремния легко масштабировать [55], сами МКН идеально подходят для ингаляционного введения трансгенов в организм человека.

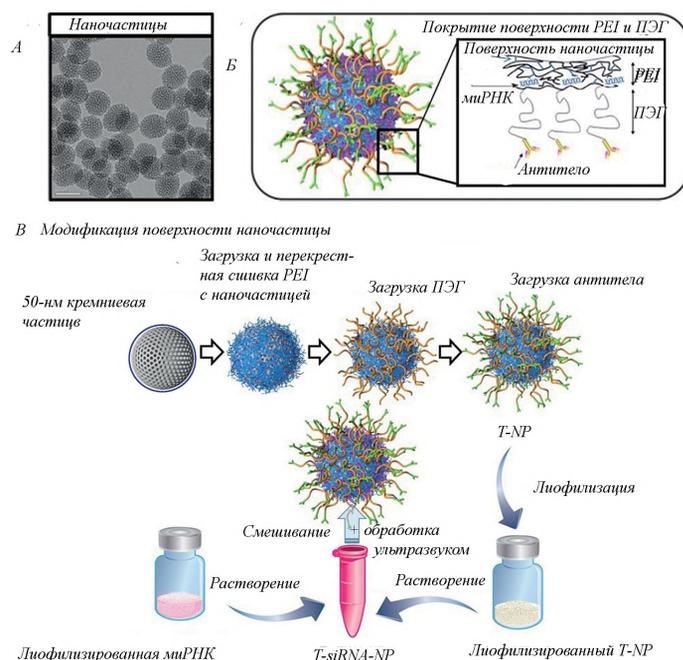


Рисунок 5 – Двухэтапный процесс изготовления наноконструкции на основе диоксида кремния, предназначенной для адресной доставки миРНК к раковым клеткам молочной железы. А – Электронно-микроскопическое изображение МКН, масштабная линейка – 50 нм. Б – Схема конструирования T-siRNA-NP (трастузумаб-siRNA-наночастица). В – Процесс изготовления МКН: первый этап – наночастицу шивали с PEI и загружали сначала ПЭГ, затем трастузумаб, в результате получали комплекс T-NP (трастузумаб-наночастица). Его лиофилизировали и хранили в экспериментально подобранных условиях. На втором этапе – лиофилизированный комплекс T-NP и лиофилизированную миРНК ресуспендировали в воде, свободной от РНКазы, и смешивали в одном флаконе. siRNA связывалась со слоем PEI из-за предпочтения заряда. Слой ПЭГ защищал ее от ферментативной дегградации. (А и Б). Гидродинамический размер в фосфатно-солевом буфере конечной конструкции с 2 мас.% миРНК составлял $113 \pm 2,2$ нм с узким распределением по размерам (рисунок адаптирован по [54])

Figure 5 – Mesoporous silica-based nanoconstruct for targeted delivery of siRNA to the cancerous cells of mammary gland (two-staged process): (A) TEM image of MSNP, scale bar = 50 nm. (B) Scheme of nanoconstruct (T-siRNA-NP). (C) The MSNP fabrication process. First stage: the MSNP was cross-linked with PEI, and then merged into PEG, and trastuzumab, resulting in T-NP, which was then lyophilized and stored under various conditions. At the second stage, lyophilized T-NP and lyophilized siRNA were resuspended in RNase-free water and mixed together in one vial. The siRNA was bound to the PEI layer due to charge preference, being protected under the PEG layer from enzyme degradation. (A and B). Hydrodynamic diameter of the final construct in phosphate-buffer saline with 2 siRNA molecules was $113 \pm 2,2$ nm with tight size distribution (the figure is adapted from [54])

3. Недостатки конструкции мРНК-векторов и технологий их производства

Платформа изучалась более 25 лет в качестве экспериментального генотерапевтического метода лечения рака, при этом термины «генная терапия» и «вакцинация мРНК» считались синонимами [56]. Ни одна «мРНК-вакцина» не была разрешена для использования до пандемии COVID-19 [57].

Опыт применения первых «вакцин» на основе мРНК показал наличие как минимум

трех нерешенных разработчиками технических противоречий²⁴, заложенных в их конструкции.

Первое противоречие – между необходимостью уменьшения клиренса ЛНЧ и прицельностью экспрессии трансгена. ПЭГилированный липид уменьшает опсонизацию ЛНЧ сывороточными белками и ее клиренс фагоцитами, тем самым он обеспечивает ей более длительную системную циркуляцию в кровеносном русле²⁵. Но физико-химическая

²⁴ Техническое противоречие возникает тогда, когда при изменении известными способами одной части системы недопустимо ухудшается другая ее часть.

²⁵ Дословно «They also contain a PEGylated lipid to reduce antibody association (opsonization) by serum proteins and clearance by phagocytes thus conferring longer systemic circulation» [33]. У мРНК ЛНП только один естествен-

природа ЛНЧ создает условия для очень широкого распространения трансгена в организме человека. Попав в кровоток, ЛНЧ могут достигать любого органа и поглощаться его клетками. Интенсивность связи между липидами ЛНЧ и клетками является одним из факторов, модулирующих их распределение в тканях. Количество ЛНЧ, зафиксированное в разных тканях, может быть разным в зависимости от сродства. Природа используемых липидов позволяет ЛНЧ пройти гематоэнцефалический и плацентарный барьеры [58]. Последовательности мРНК способны циркулировать в составе ЛНЧ в крови реципиента неопределенно долго и экспрессировать токсичный белок в любых тканях, к которым они проявят тропность [33, 59].

Второе противоречие – между необходимостью длительной экспрессии гена и врожденными клеточными механизмами защиты от чужеродной РНК. Их «обманывают» путем замены природной РНК синтетической, не имеющей аналогов в природе, и соответственно, позволяющей обходить врожденные клеточные механизмы защиты от чужеродной РНК [14, 18, 20]. Этим она отличается от мРНК реплицирующихся в цитоплазме РНК-вирусов. Но такая замена – старая технология, разработанная для генной терапии задолго до пандемии COVID-19 [18] и не предназначенная для целей вакцинации. Она делает трансген фактически «бессмертным», длительность и выраженность его экспрессии невозможно контролировать во времени, а соответственно количество синтезированного внутриклеточно и попавшего в кровь белка. К. Röltgen с соавт. [60] в биоптатах подмышечных лимфатических узлов «вакцинированных» с помощью иммуногистохимии и гибридизации *in-situ* обнаружили, что спайковый белок и мРНК «вакцин» (BNT162b2 и мРНК-1273) сохраняются в герминальных центрах лимфатических узлов до 60 суток (продолжительность наблюдения) после «вакцинации». В аутопсийном исследовании А. J. Krauson с соавт. [61] «мРНК-вакцины» выявлялась с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени в подмышечных лимфатических узлах в течение 30 суток после «вакцинации». Этими же авторами «вакцина» была обнаружена в миокарде у части умерших пациентов, «вакцинированных» 30 суток назад.

Кроме того, замена в мРНК уридина на N1-метилпсевдоуридин, заставляет механизм, который транслирует ген в целевой белок, «проскальзывать», т.е. сдвигать рамку

считывания рибосом на один нуклеотид примерно в 10 % случаев и генерировать случайные бессмысленные белки, что приводит к неопределенным и непреднамеренным иммунным реакциям [62].

Третье противоречие – между необходимостью защитить нуклеиновую кислоту от факторов крови (нуклеазы, белки, макрофаги и др.) и токсичностью самой защитной оболочки. Потенциальная воспалительная природа этих ЛНЧ не была оценена перед массовым применением таких «вакцин». Считалось, что мРНК в комплексе с ЛНЧ на основе ионизированных липидов нетоксична и обладает адъювантной активностью, дающей им преимущества перед вакцинами традиционного типа. Однако у людей, получающих «мРНК-вакцину» внутримышечно, уже на начальном этапе ее массового применения наблюдались типичные острые воспалительные эффекты неинфекционной природы, характерные для действия цитокинов: боль, отек, гиперемия в месте введения; и общие симптомы – сонливость, озноб и лихорадка [63]. Возникло непонимание происходящего – мРНК была модифицирована таким образом, чтобы не вызывать реакции со стороны врожденной иммунной системы, тогда что вызывало этот явно неинфекционный воспалительный ответ?

Ответ на этот вопрос получен S. Ndeuren с соавт. [64], показавшими в опытах на мышах способность введенных внутривенно и внутримышечно «пустых» ЛНЧ, вызывать быстрые и сильные воспалительные реакции, характеризующиеся массивной инфильтрацией нейтрофилов, активацией различных воспалительных путей и выработкой воспалительных цитокинов и хемокинов. Та же доза «пустых» ЛНЧ, введенная интраназально, привела к аналогичным воспалительным реакциям в легких и высокому уровню летальности экспериментальных животных, механизм которой ими не был выяснен. Они считают, что длительная циркуляция ионизируемого липида в крови «вакцинированного» пациента может привести к поддержанию хронического воспаления на низком уровне и истощению его иммунной системы. Данные, приведенные в работе С. Turni и А. Lefringhausen [65] по биораспределению липидных наночастиц, показывают, что ЛНЧ переносят мРНК во все органы и пересекают гематоэнцефалический и гематоплацентарный барьеры со всеми вытекающими из этого последствиями. Эффективность трансфекции клеток-мишеней

ный тропизм после внутривенного введения – к печени [40].

различается в разных органах, поэтому нет и линейной корреляции воздействия ЛНЧ и экспрессии мРНК [66].

Наличие таких противоречий говорит само за себя, но это еще не все.

Технология массового производства мРНК-ЛНЧ в итоге оказалась далека от совершенства. Предварительное исследование показало, что уровни загрязнения ДНК и дцРНК в «мРНК-вакцинах» Moderna и Pfizer в разных партиях различаются и превышают уровни, установленные ЕМА и FDA. Низкие уровни дцРНК, образующиеся в процессе производства, как побочный продукт IVT, генерируемые РНК-полимеразой T7, способны активировать врожденные иммунные сенсоры и вызывать воспалительные процессы в эндотелиальной ткани сосудов. Различные уровни загрязняющих веществ между партиями вакцин объясняют разные уровни побочных эффектов «вакцинации» [67]. M. Schmeling et al. [68] обнаружили, что ~4,2 % флаконов ответственны за >70 % серьезных осложнений «вакцинации».

4. Управление «из вне» генами человека

Первые попытки управления белковым синтезом через вмешательство извне в транскрипцию генов эукариотических клеток, описаны в 1978 г. P.C. Zamecnik и M.L. Stephenson. Им удалось в условиях *in vitro* добиться блокирования размножения вируса саркомы Рауса в культуре ткани фибробластов куриных эмбрионов добавлением синтетического антисмыслового олигонуклеотида (synthetic antisense oligonucleotide, ASO), представляющего собой тридекамер d(A-A-T-G-G-T-A-A-A-T-G-G), комплементарный 13 нуклеотидам 3'- и 5'-повторяющихся концевых последовательностей рибосомы 35S. Для лучшего понимания технологий управления генами человека, они разделены на те, которые можно реализовать короткими одноцепочечными синтетическими молекулами нуклеиновых кислот и короткими двухцепочечными РНК.

Управление генами посредством коротких одноцепочечных синтетических молекул нуклеиновых кислот. В основном осуществляется в ядре клетки в ходе транскрипции и посттранскрипционной модификации РНК в цитоплазме. Современные ASO представляют собой короткие одноцепочечные синтетические молекулы РНК или ДНК. После того, как антисмысловые олигонуклеотиды попадают в клетку, они посредством комплементарного спаривания оснований с высокой специфичностью (стехиометрически) связываются со «своей» целевой мРНК или с

ее ядерным предшественником – пре-мРНК, создавая «стерический блок». ASO оказывают разнообразное влияние на процессы экспрессии генов [58, 69]:

- посредством связывания со специфическими сайтами сплайсинга модулируют их альтернативные паттерны, либо стимулируют, либо ингибируя включение или исключение экзонов (пропуск экзонов), тем самым образуя случайные изоформы зрелого транскрипта мРНК;

- запускают расщепление 5'-кэп-структур, что ингибирует трансляцию и приводит к распаду мРНК;

- препятствуют трансляции точно связываясь со специфической молекулой мРНК, тем самым ингибируя процесс рекрутирования рибосом и последующий синтез белков;

- иницируют расщепление в двухцепочечных гибридах РНК:ДНК, задействуя РНКазу H1, что приводит к деградации целевой молекулы мРНК;

- предотвращают полиаденилирование путем связывания с сайтом узнавания полиаденилирования внутри ядра клетки, тем самым ингибируя добавление поли(А)-хвоста к мРНК – трансляция мРНК нарушается, что нарушает стабильность РНК и приводит к снижению уровней целевой мРНК и, соответственно, целевого белка.

Через ASO можно влиять на все известные классы РНК. Показано, что можно создать ASO, которые способны избирательно увеличивать трансляцию специфических белков. Это потенциально важное достижение генной терапии *in vivo*, поскольку помимо изменения сплайсинга оно открывает возможности для увеличения уровней экспрессии специфических белков, т.е. по сути, использовать ASO в качестве «агонистов», а не для уменьшения мишеней или «антагонистической активности», что считается основным применением ASO [10].

Следовательно, ASO – это универсальный набор средств для модуляции экспрессии генов с потенциальными возможностями, как для терапевтического применения, так и применения в качестве биологических поражающих агентов.

ASO в неизменной форме из-за нестабильности фосфодиэфирной связи быстро разрушаются нуклеазами. Повышение устойчивости ASO к нуклеазам первоначально достигали путем включения фосфотиоатных ASO (phosphorothioate, PS). Такая модификация увеличила их устойчивость к нуклеазам, снизила их гидрофильность и способствовала связыванию с сывороточными белками, что, в свою очередь, увеличило про-

должительность их циркуляции в системе кровообращения и связывание с белками и рецепторами клеточной поверхности. В литературе фосфотиоатные ASO обозначают как PS ASO [69]. Существуют другие, более поздние модификации ASO²⁶.

Теоретические расчеты показали, что примерно 16 нуклеотидов способны обеспечить достаточную аффинность ASO для связывания с родственной последовательностью нуклеиновой кислоты и достаточную специфичность для воздействия на одиночный транскрипт. При увеличении длины более 20–22 нуклеотидов у них проявляется склонность к образованию собственных структур, ингибирующих связывание с родственными последовательностями, и к другим эффектам, снижающим эффективность управления генами [10].

Требуется около 60 минут, чтобы накопить PS ASO в цитозоле и ядре клетки, в количестве, достаточном для гибридизации с целевой РНК, проявляющимся физиологическим эффектом. После высвобождения из эндолизосомы PS ASO проявляют длительный период полураспада (от 2 до 4 недель) и оказывают длительное ингибирующее действие на их РНК-мишени [10].

Управление генами посредством коротких двухцепочечных РНК. В основном заключается в управлении посттранскрипционным процессингом и трансляцией РНК, и реализуется в цитоплазме клетки. Технологии разработаны в первой половине 1990-х гг. после обнаружения способности таких структур нарушать развитие личиночной стадии почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans* [70].

Первоначально считалось, что в молекулярной основе блокирования генов нематоды *C. elegans* лежит описанный выше антисмысловой механизм, зависящий от гибридизации между регуляторной РНК и транскриптами клеточной мРНК. Но в 1998 г., американские ученые Эндрю Файер (Andrew Fire) и Крейг Мелло (Craig Mello) показали, что у нематод введение двухцепочечной РНК действительно вызывает специфичное для последовательности «молчание» мРНК. Но этот процесс не был результатом гибридизации. На одну пораженную клетку требовалось всего несколько молекул введенной двухцепочечной РНК, что свидетельствовало против стехиометрического вмешательства в эндогенную мРНК и позволило им предположить

участие в процессе блокирования генов каталитического или амплификационного компонента. Обнаруженное явление они назвали «РНК-интерференцией» (RNA interference, RNAi, РНКи) [71]. Их работа подготовили почву для последующих исследований, которые охарактеризовали молекулярный механизм, лежащий в основе RNAi²⁷.

Искусственная РНК-интерференция генов человека инициируется доставкой в клетку не вызывающих врожденных иммунных ответов коротких двухцепочечных олигонуклеотидов двух типов – микроРНК (англ. microRNA, miRNA) и малых интерферирующих РНК – маРНК (англ. small interfering RNA, siRNA) [73].

МикроРНК – регуляторы генов, влияющие на физиологические процессы, нарушение которых приводит к патологии. Происходят из последовательности ядерной нетранслируемой ДНК (UnTranslated Region, UTR). Они расщепляются, фиксируются белком Dicer и экспортируются в цитоплазму в форме олигонуклеотидов, состоящих в основном из 22 оснований. Затем они могут гибридизировать мРНК, считываемую в рибосоме, тем самым останавливая удлинение цепи белка. В клетках животных микроРНК не гибридизуются полностью с целевой мРНК, но являются эффективным ингибитором удлинения рибосомного белка. Зона спаривания на 5'-конце микроРНК называется семенем гибридизации (hybridization seed). Если не менее 8 последовательных нуклеотидов *семени гибридизации* микроРНК комплементарно спариваются нуклеотидами на 3'-конце целевой мРНК перед хвостом Poly(A), то происходит остановка удлинения аминокислотной цепи соответствующего белка в рибосоме, следовательно, ингибирование его биосинтеза [22].

МикроРНК требуют лишь частичной комплементарности для распознавания мишени в геноме человека. Следовательно, микроРНК одного типа может с разным сродством взаимодействовать с несколькими мРНК. Известно также, что одна микроРНК способна подавлять образование сотен белков [74]. Особенно опасны их смеси. По данным K.V. Nevskaya с соавт. [75] смесь (miR-195–5p/miR-520a/miR-630) ингибировала 3605 генов (86,62 %) и активировала 557 генов (13,38 %) клеточной линии T47D. Полный эффект трудно прогнозировать, так как транскриптомное тар-

²⁶ Более подробно ознакомиться с ними можно в работах S.T. Crooke с соавт. [10] и D. Collotta с соавт. [73].

²⁷ В 2006 г. Эндрю Файер и Крейг Мелло получили Нобелевскую премию в области физиологии и медицины за работы по изучению РНК-интерференции у нематоды *C. elegans*.

гетирование и регуляция генов микроРНК зависит еще и от клеточного контекста регуляции генов [76].

Малые интерферирующие РНК (маРНК) инициируют РНК-интерференцию, стимулирующую «молчание» комплементарных им целевых мРНК. После попадания в цитоплазму клетки маРНК либо загружается непосредственно в РНК-индуцируемый комплекс выключения гена (RNA-induced silencing complex, RISC), либо вступает в процесс интерференции, опосредованный эндорибонуклеазой Dicer. Активированный RISC путем спаривания оснований локализуется на гомологичном транскрипте мРНК и принуждает ген-мишень к «молчанию» расщеплением его мРНК в положении двенадцатого нуклеотида от 3'-конца мРНК.

Короткая шпилечная РНК (small hairpin RNA, short hairpin RNA, shRNA; кшРНК) – частный случай маРНК. Область применения – лечение запущенных и/или метастатических форм рака. Для доставки в организм человека кшРНК, были сконструированы векторы с использованием как вирусных (включая ретровирусные, аденовирусные и лентивирусные векторы), так и плазмидных систем [77]. Одним преимуществом кшРНК, как поражающего агента, является то, что их экспрессирующие последовательности могут быть интегрированы в геном человека и вызывать стойкое «молчание» целевого гена [78].

Доставка олигонуклеотидов к мишени. Потенциал доставки ASO и маРНК повышают путем получения биоконъюгатов или их включения в наночастицы²⁸.

Биоконъюгаты могут быть сконструированы таким образом, что они разбираются после проникновения в клетку. Такого эффекта разработчики достигают, используя кислотолabile линкеры, расщепляющиеся в эндосомах; дисульфидные линкеры, восстанавливающиеся в цитоплазме; или конструкции маРНК, являющихся субстратом для фермента Dicer [79].

Основные преимущества систем доставки олигонуклеотидов в составе наночастиц включают индивидуальную оптимизацию биофизических (например, размера, формы и химического/материального состава) и биологических (например, функционализация лигандов для нацеливания на рецептор) свойств наночастиц, что позволяет созда-

вать узкоспециализированные платформы доставки. К ним относятся рассмотренные выше липоплексы, липосомы и наночастицы на основе мезопористого кремния [69].

Редактирование генома человека. В последнее десятилетие редактирование генома стало потенциальной альтернативой генной терапии человека. Технология разработана благодаря открытию:

- коротких палиндромных повторов, регулярно расположенных группами и разделенных некодирующими и неповторяющимися последовательностями – спейсерами (от англ. clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR/Cas) – в естественных условиях обеспечивают бактериям и археям адаптивную невосприимчивость к генам вирусов и плазмид, т.е. генетический адаптивный иммунитет бактерий;

- обнаружению CRISPR-ассоциированного белка – Cas9 (англ. CRISPR associated protein 9) – эндонуклеазы, связанной с адаптивной иммунной системой бактерий CRISPR, управляемой при помощи РНК-гидов (guideRNA, gRNA или sgRNA).

В сконструированные системы CRISPR включены два элемента: направляющая РНК (гидРНК, гРНК или sgRNA) и CRISPR-ассоциированная эндонуклеаза (белок Cas). гРНК представляет собой короткую синтетическую РНК, состоящую из Cas-связывающей каркасной последовательности и сконструированного исследователем спейсера из ~20 нуклеотидов, определяющего геномную мишень, подлежащую изменению [80].

Участки в геноме человека, на которые могут быть нацелены различные белки Cas, ограничены местоположениями прилегающего протоспейсерного мотива (protospacer adjacent motif, PAM) – последовательности ДНК из 2–6 пар оснований, которая идет сразу после последовательности ДНК, на которую нацелена нуклеаза Cas9. гРНК могут транспортировать Cas9 в любой локус генома для редактирования гена, но редактирование не может происходить ни на каком сайте, кроме того, в котором Cas9 распознает PAM. Таким образом, Cas9 не сможет успешно связываться или расщеплять целевую последовательность ДНК, если за ней не следует последовательность PAM [80].

Нуклеазы Cas, выделенные из разных видов бактерий, распознают разные последовательности PAM. Помимо известных

²⁸ Более подробно об их использовании для доставки в организм человека ASO и маРНК, см. работу Т.С. Roberts с соавт. [69].

CRISPR-Cas9 и CRISPR-Cpf1, существует множество еще не открытых нуклеаз и PAM²⁹.

Изменив целевую последовательность в гРНК, можно направить белок Cas к определенному локусу ДНК, где он совершит двухцепочечный разрыв. Механизмы эндогенной репарации, запускаемые двухцепочечным разрывом, способны привести:

- к нокауту гена посредством мутации сдвига рамки считывания³⁰ или к нокауту желаемой последовательности, если присутствует матрица ДНК;

- или к созданию гетерологичных генов посредством соединения негомологичных концов и соответствующей гомологичной рекомбинации.

Технология позволяет расщеплять практически любую нуклеотидную последовательность генома человека, комплементарную гРНК [80].

Технологии CRISPRi/Cas предлагают использовать тоньше, например, стерически подавлять транскрипцию гена, блокируя инициацию или элонгацию транскрипции. Это достигается путем конструирования гРНК, комплементарной промотору или к экзонным последовательностям. Дифференциальной экспрессии генов можно достичь путем изменения эффективности спари-

вания оснований гРНК с целевыми локусами. Можно вызвать стерический блок, который останавливает элонгацию транскрипта с помощью РНК-полимеразы, что приводит к репрессии целевого гена [80]. Уже более 10 лет назад разработаны протоколы для проектирования, конструирования и экспрессии тысяч индивидуальных гРНК, предназначенных для репрессии транскрипции любого интересующего исследователя гена [81].

Разработана система, родственная CRISPR, использующая программируемую одноэффекторную РНК-ориентированную рибонуклеазу Cas13, распознающую и разрезающую РНК, а не ДНК. Система называется «Редактирование РНК для программируемой замены А на I» (RNA Editing for Programmable A to I Replacement, REPAIR). Она не имеет строгих ограничений последовательности, может использоваться для редактирования полноразмерных транскриптов и позволяет редактировать РНК до того, как она будет транслирована в белки³¹ [82].

Доставка в организм человека систем CRISPR/Cas достигается теми же носителями и способами, что используются для доставки мРНК, ASO и двухцепочечных РНК, включая ингаляционный путь [83]. На рисунке 6 показана доставка плазмиды, кодирующей Cas9 и

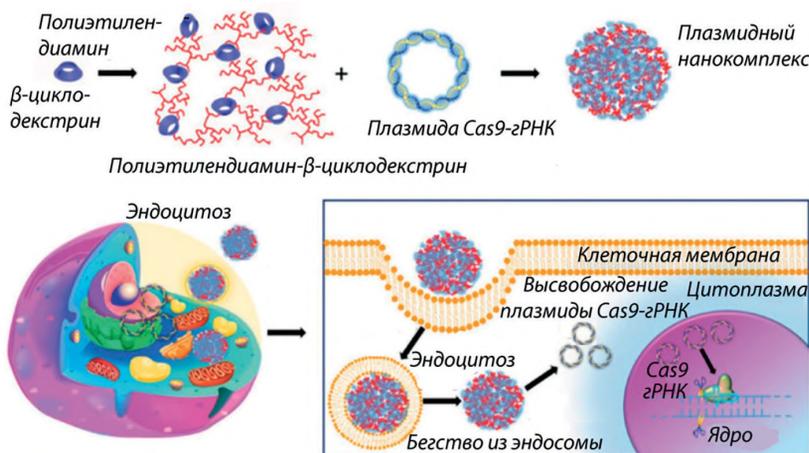


Рисунок 6 – Катионный полиплекс, используемый в качестве средства доставки плазмиды CRISPR/Cas9 для редактирования генома. Катионный полимер – поли-этилендиамин-β-циклодекстрин используется для эффективной доставки к органу-мишени плазмиды, кодирующей Cas9 и гРНК (рисунок адаптирован по [84])

Figure 6 – A cationic polyplex used as CRISPR/Cas9 plasmid delivery tool. This plasmid is used for genome editing. A cationic polymer–polyethylene diamine-β-cyclodextrin ensures the delivery of plasmid that encodes Cas9 and gRNA to the target organ (the figure is adapted from [84])

²⁹ Even CRISPR. A new way to edit DNA may speed the advance of genetic engineering. Economist. 2015. Oct 3. URL: <https://www.economist.com/science-and-technology/2015/10/03/even-crispr> (дата обращения: 09.05.2024)

³⁰ Например, вырезали два или вставили четыре нуклеотида, нарушится последовательность, кодирующая белок. Возникнет сдвиг рамки считывания, в результате которого ген перестанет выполнять свою функцию, так как клетка не сможет использовать его информацию, чтобы синтезировать функциональный белок.

³¹ Альтернативные системы CRISPRi/Cas описаны в работе А. Sparmann, J. Vogel [58].

гРНК, в полиплекс на основе катионного полимера полиэтилендиамин-циклодекстрина.

В настоящее время CRISPRi/Cas – самый простой, гибкий, точный и эффективный метод генетических манипуляций с геномом человека в условиях *in vivo*. гРНК можно мультиплексировать для одновременного воздействия на множество последовательностей, опосредованных Cas9, что позволяет увеличить скорость расщепления генов [85]. Если жизненно важный ген «выбит», это может привести к болезни, инвалидности, дегенерации, утрате фертильности или гибели человека.

Более опасным применением технологии CRISPRi/Cas исследователи считают создание систем, способных вызывать *генный драйв* в целевой популяции – т.е. стимулировать смещенное наследование определенных генов. Большинство таких систем основаны на естественно существующих «эгоистичных генетических элементах», частота функционирования которых увеличивается с каждым поколением, даже без предоставления преимуществ их хозяину в окружающей среде, тем самым создавая менделевские модели наследования³². При целенаправленном применении драйва генов, вызывающих патологические процессы, технология способна сократить численность отдельных человеческих популяций или привести к их исчезновению в течение нескольких поколений [86].

В ежегодном отчете об угрозах за 2016 г. директор национальной разведки США (US Intelligence Community) Джеймс Клэппер (James Clapper) отнес редактирование генов к потенциальному направлению создания оружия массового уничтожения³³ [85].

Обсуждение

Приведенные данные показывают серьезную и многоаспектную опасность, исходящую от бездумного распространения мРНК-технологий. С одной стороны, она обусловлена несовершенством самой технологии

и, соответственно, невозможностью просчитывать все риски и последствия массового применения продуктов, созданных на такой основе; с другой – заинтересованностью каких-то глобальных сил в массовом навязывании под различными предложениями продуктов, оказывающих воздействие на геном человека, например, под видом «вакцин». Использованные в пандемию COVID-19 «мРНК-вакцины» не были одобрены для снижения передачи вируса. Не существует и проспективных, двойных слепых, рандомизированных, плацебо-контролируемых исследований, демонстрирующих снижение госпитализаций и смертей от COVID-19 в качестве первичных (primary end-point) или вторичных (secondary endpoints) конечных точек³⁴ [87]. Критерием их эффективности стало образование «нейтрализующих антител», хотя уже не менее 100 лет известно, что они используются в условиях *in vitro* для серотипирования вирусов и для подобных научных целей. Реакция нейтрализации, по названию которой появились «нейтрализующие антитела», всегда считалась диагностическим тестом как, например, реакция связывания комплемента, к протективным эффектам в условиях *in vivo* она отношения не имеет.

Вспышки COVID-19 возникали в «высоковакцинированной среде». По статистике израильской клиники, за 16–26 недель после «вакцинации» двумя дозами 96,2 % персонала «мРНК-вакциной» Comirnaty (BNT162b2 mRNA, BioNTech-Pfizer, Майнц, Германия/Нью-Йорк, США) (медиана: 25 недель) передача вируса усилилась, уровень заболеваемости среди полностью «вакцинированных» сотрудников составил 10,6 % (16/151), среди пациентов – 23,7 % (23/97). Четырнадцать из 23 полностью «вакцинированных» пациентов тяжело заболели или умерли – 60,8 % [88].

Ретроспективный анализ последствий их применения во время пандемии COVID-19 показал, что ущерб здоровью населения стран

³² В клетках человека две копии каждой хромосомы. Если возникает разрыв, клетка может использовать вторую хромосому и на ее основании достроить поврежденный участок – скопировать его в поврежденную хромосому. В этой ситуации клетку можно «обмануть» и «подсунуть» ей вместо второй хромосомы «эгоистичный генетический элемент», т.е. генетический сегмент, который может усилить собственную передачу за счет других генов в геноме, даже если это не оказывает положительного или отрицательного влияния на приспособленность организма. Тогда клетка починит разрыв, встроив его в обе хромосомы со всеми вытекающими последствиями для следующих поколений.

³³ Более подробно об использовании данной технологии для разработки принципиально новых агентов БО, можно прочитать в недавно вышедшей книге Paris K. Genome Editing and Biological Weapons. Assessing the Risk of Misuse. Springer. USA. 2023. URL: <https://digital-commons.usnwc.edu/nwc-review/vol76/iss4/16> (дата обращения: 10.04.2024).

³⁴ Clinical endpoint. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Clinical_endpoint (дата обращения: 22.05.2024).

оказался значительным³⁵. Во многих из них была обнаружена избыточная смертность населения от причин, не связанных с COVID-19, что свидетельствует о каком-то одновременном неблагоприятном воздействии [89].

Статистика о якобы 14,4 млн спасенных жизней, связанных с преимуществами «вакцинации», получена на основе математической модели, позже признанной необоснованной [59, 90, 91].

По сути в эту пандемию мы столкнулись с апробацией новой формы ведения биологической войны принципиально новыми поражающими агентами с ранее не ставившейся целью – депопуляция населения. О чем, кстати, давно уже пишут на Западе апологеты биологической войны [1, 2, 6, 7, 85].

Выводы

1. Необходимо наладить жесткий государственный контроль над разработкой технологий воздействия на геном человека, не допуская их применение под другими названиями.

2. Для выявления спектра неблагоприятных последствий применения мРНК-технологий, целесообразно на десять лет ограничить их применение только в онкологии.

3. Все инъекционные препараты, поступающие в Россию из-за рубежа должны контролироваться на наличие «закладок» нанообъектов в рамках специально разработанных общих фармакопейных статей.

³⁵ Литература на эту тему представлена на веб-сайте: www.react19.org (Science-based support for people suffering from long-term COVID-19 vaccine effects). Опубликовано более 3,5 тыс. статей и отчетов о случаях осложнений в более чем двадцати заголовках систем органов и синдромов (дата обращения: 14.06.2024).

Ограничения исследования / Limitations of the study

Обусловлены анализом только открытых научных источников, доступных через сеть Интернет / The limitations are stipulated by the analysis of open scientific sources available on the Internet (only).

Список источников/References

1. Ainscough M. Next Generation Bioweapons: *The Technology of Genetic Engineering Applied to Biowarfare and Bioterrorism, Future Warfare Series 14*. Maxwell Air Force Base, AL: Air University, 2002.
2. Black JL 3rd. Genome projects and gene therapy: gateways to next generation biological weapons. *Mil Med.* 2003;168(11):864–71. PMID: 14680038.
3. Raper SE, Chirmule N, Lee FS, Wivel NA, Bagg A, Gao GP, et al. Fatal systemic inflammatory response syndrome in a ornithine transcarbamylase deficient patient following adenoviral gene transfer. *Mol Genet Metab.* 2003;80(1–2):148–58. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2003.08.016>
4. Hacein-Bey-Abina S, Le Deist F, Carlier F, Bouneaud C, Hue C, De Villartay JP, et al. Sustained correction of X-linked severe combined immunodeficiency by ex vivo gene therapy. *N Engl J Med.* 2002;346(16):1185–93. <https://doi.org/10.1056/nejmoa012616>
5. Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, McCormack MP, Wulffraat N, Leboulch P, et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science.* 2003;302(5644):415–9. <https://doi.org/10.1126/science.1088547>
6. Gisselsson D. Next-Generation Biowarfare: Small in Scale, Sensational in Nature? *Health Secur.* 2022;20(2):182–6. <https://doi.org/10.1089/hs.2021.0165>
7. Dominik J. Future Bioterror and Biowarfare Threats for NATO's Armed Forces until 2030. *J Advanced Military Studies.* 2023;14(1):118–43. https://muse.jhu.edu/view_citations?type=article&id=901770 (дата обращения: 12.01.2024).
8. Beissert T, Perkovic M, Vogel A, Erbar S, Walzer KC, Hempel T, et al. A Trans-amplifying RNA Vaccine Strategy for Induction of Potent Protective Immunity. *Mol Ther.* 2020;28(1):119–28. <https://doi.org/10.1016/j.jymthe.2019.09.009>
9. Yang L, Gong L, Wang P, Zhao X, Zhao F, Zhang Z, Li Y, Huang W. Recent Advances in Lipid Nanoparticles for Delivery of mRNA. *Pharmaceutics.* 2022;14(12):2682. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122682>
10. Crooke ST, Liang XH, Baker BF, Crooke RM. Antisense technology: A review. *J Biol Chem.* 2021;296:100416. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100416>

11. Chen F, Liu Q, Xiong Y, Xu L. Nucleic acid strategies for infectious disease treatments: The nanoparticle-based oral delivery route. *Front Pharmacol.* 2022;13:984981.
<https://doi.org/10.3389/fphar.2022.984981>
12. Загоскин АА, Захарова МВ, Нагорных МО. Структурные элементы векторов на основе ДНК и РНК для доставки геномных редакторов в клетки высших эукариот *in vitro* и *in vivo*. *Молекулярная биология.* 2022;56(6):1023–38.
<https://doi.org/10.31857/S002689842206026X>
- Zagoskin AA, Zakharova MV, Nagornykh MO. Structural elements of DNA and RNA eukaryotic expression vectors for *in vitro* and *in vivo* genome editors delivery. *Mol Biol.* 2022;56(6):1023–38.
<https://doi.org/10.31857/S002689842206026X>
13. Tusup M, French LE, De Matos M, Gatfield D, Kundig T, Pascolo S. Design of *in vitro* Transcribed mRNA Vectors for Research and Therapy. *Chimia (Aarau).* 2019;73(5):391–4.
<https://doi.org/10.2533/chimia.2019.391>
14. Pordanjani SR, Pordanjani AR, Askarpour H, Arjmand M, Babakhanian M, Amiri M, et al. A Comprehensive Review on Various Aspects of SARS-CoV-2 (COVID-19) Vaccines. *Int J Prev Med.* 2022;13:151.
https://doi.org/10.4103/ijpvm.ijpvm_513_21
15. Gote V, Bolla PK, Kommineni N, Butreddy A, Nukala PK, Palakurthi SS, et al. A Comprehensive Review of mRNA Vaccines. *Int J Mol Sci.* 2023;24(3):2700.
<https://doi.org/10.3390/ijms24032700>
16. Amarante-Mendes GP, Adjemian S, Branco LM, Zanetti LC, Weinlich R, Bortoluci KR. Pattern Recognition Receptors and the Host Cell Death Molecular Machinery. *Front Immunol.* 2018;9:2379.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02379>
17. Anderson BR, Muramatsu H, Nallagatla SR, Bevilacqua PC, Sansing LH, Weissman D, et al. Incorporation of pseudouridine into mRNA enhances translation by diminishing PKR activation. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(17):5884–92.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkq347>
18. Andries O, Mc Cafferty S, De Smedt SC, Weiss R, Sanders NN, Kitada T. N(1)-methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice. *J Control Release.* 2015;217:337–44.
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.08.051>
19. Rubio-Casillas A, Cowley D, Raszek M, Uversky VN, Redwan EM. Review: N1-methyl-pseudouridine (m1Ψ): Friend or foe of cancer? *Int J Biol Macromol.* 2024;267(Pt 1):131427.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.131427>
20. Nelson J, Sorensen EW, Mintri S, Rabideau AE, Zheng W, Besin G, et al. Impact of mRNA chemistry and manufacturing process on innate immune activation. *Sci Adv.* 2020;6(26):eaaz6893.
<https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz6893>
21. Park JW, Lagniton PNP, Liu Y, Xu RH. mRNA vaccines for COVID-19: what, why and how. *Int J Biol Sci.* 2021;17(6):1446–60.
<https://doi.org/10.7150/ijbs.59233>
22. Le T, Sun C, Chang J, Zhang G, Yin X. mRNA Vaccine Development for Emerging Animal and Zoonotic Diseases. *Viruses.* 2022;14(2):401.
<https://doi.org/10.3390/v14020401>
23. Demongeot J, Fougère C. mRNA COVID-19 Vaccines-Facts and Hypotheses on Fragmentation and Encapsulation. *Vaccines (Basel).* 2022;11(1):40.
<https://doi.org/10.3390/vaccines11010040>
24. Karam M, Daoud G. mRNA vaccines: Past, present, future. *Asian J Pharm Sci.* 2022;17(4):491–522.
<https://doi.org/10.1016/j.ajps.2022.05.003>
25. Akahata W, Sekida T, Nogimori T, Ode H, Tamura T, Kono K, et al. Safety and immunogenicity of SARS-CoV-2 self-amplifying RNA vaccine expressing an anchored RBD: A randomized, observer-blind phase 1 study. *Cell Rep Med.* 2023;4(8):101134.
<https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2023.101134>
26. Fath T, Bachtiar EW, Alitongbieke G, Pan Y, Hu Y, Widowati R. Immunoinformatic of novel self-amplifying mRNA vaccine lipid nanoparticle against SARS-CoV-2. *J Adv Pharm Technol Res.* 2024;15(2):91–8.
https://doi.org/10.4103/JAPTR.JAPTR_424_23
27. Hick TAH, Geertsema C, Nijland R, Pijlman GP. Packaging of alphavirus-based self-amplifying mRNA yields replication-competent virus through a mechanism of aberrant homologous RNA recombination. *mBio.* 2024:e0249424.
<https://doi.org/10.1128/mbio.02494-24>

28. Oba M. Study on development of polymeric micellar gene carrier and evaluation of its functionality. *Biol Pharm Bull.* 2013;36(7):1045–51.

<https://doi.org/10.1248/bpb.b13-00287>

29. Iqbal S, Blenner M, Alexander-Bryant A, Larsen J. Polymersomes for Therapeutic Delivery of Protein and Nucleic Acid Macromolecules: From Design to Therapeutic Applications. *Biomacromolecules.* 2020;21(4):1327–50.

<https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b01754>

30. Patel AK, Kaczmarek JC, Bose S, Kauffman KJ, Mir F, Heartlein MW, et al. Inhaled Nanoformulated mRNA Polyplexes for Protein Production in Lung Epithelium. *Adv Mater.* 2019;31(8):e1805116.

<https://doi.org/10.1002/adma.201805116>

31. Cai X, Dou R, Guo C, Tang J, Li X, Chen J, et al. Cationic Polymers as Transfection Reagents for Nucleic Acid Delivery. *Pharmaceutics.* 2023;15(5):1502.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15051502>

32. Pardridge WM. A Historical Review of Brain Drug Delivery. *Pharmaceutics.* 2022;14(6):1283.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061283>

33. Tenchov R, Bird R, Curtze AE, Zhou Q. Lipid Nanoparticles—From Liposomes to mRNA Vaccine Delivery, a Landscape of Research Diversity and Advancement. *ACS Nano.* 2021;15(11):16982–17015.

<https://doi.org/10.1021/acsnano.1c04996>

34. Jiao L, Sun Z, Sun Z, Liu J, Deng G, Wang X. Nanotechnology-based non-viral vectors for gene delivery in cardiovascular diseases. *Front Bioeng Biotechnol.* 2024;12:1349077.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1349077>

35. Jiao L, Sun Z, Sun Z, Liu J, Deng G, Wang X. Nanotechnology-based non-viral vectors for gene delivery in cardiovascular diseases. *Front Bioeng Biotechnol.* 2024;12:1349077.

<https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1349077>

36. Al-Dosari MS, Gao X. Nonviral gene delivery: principle, limitations, and recent progress. *AAPS J.* 2009;11(4):671–81.

<https://doi.org/10.1208/s12248-009-9143-y>

37. Harvie P, Wong FM, Bally MB. Use of poly(ethylene glycol)-lipid conjugates to regulate the surface attributes and transfection activity of lipid-DNA particles. *J Pharm Sci.* 2000;89(5):652–63.

[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6017\(200005\)89:5<652::AID-JPS11>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6017(200005)89:5<652::AID-JPS11>3.0.CO;2-H)

38. Pardridge WM. Drug and gene targeting to the brain with molecular Trojan horses. *Nat Rev Drug Discov.* 2002;1(2):131–9.

<https://doi.org/10.1038/nrd725>

39. Zhang Y, Schlachetzki F, Zhang YF, Boado RJ, Pardridge WM. Normalization of striatal tyrosine hydroxylase and reversal of motor impairment in experimental parkinsonism with intravenous nonviral gene therapy and a brain-specific promoter. *Hum Gene Ther.* 2004;15(4):339–50.

<https://doi.org/10.1089/10430340360464660>

40. Bitounis D, Jacquinet E, Rogers MA, Amiji MM. Strategies to reduce the risks of mRNA drug and vaccine toxicity. *Nat Rev Drug Discov.* 2024;23(4):281–300.

<https://doi.org/10.1038/s41573-023-00859-3>

41. Cullis PR, Hope MJ. Lipid Nanoparticle Systems for Enabling Gene Therapies. *Mol Ther.* 2017 5;25(7):1467–75.

<https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.03.013>

42. Zhang C, Xie H, Zhang Z, Wen B, Cao H, Bai Y, et al. Applications and Biocompatibility of Mesoporous Silica Nanocarriers in the Field of Medicine. *Front Pharmacol.* 2022;13:829796.

<https://doi.org/10.3389/fphar.2022.829796>

43. Suzuki Y, Ishihara H. Difference in the lipid nanoparticle technology employed in three approved siRNA (Patisiran) and mRNA (COVID-19 vaccine) drugs. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2021;41:100424.

<https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2021.100424>

44. Trougakos IP, Terpos E, Alexopoulos H, Politou M, Paraskevis D, Scorilas A, et al. Adverse effects of COVID-19 mRNA vaccines: the spike hypothesis. *Trends Mol Med.* 2022;28(7):542–54.

<https://doi.org/10.1016/j.molmed.2022.04.007>

45. Brogna C, Cristoni S, Marino G, Montano L, Viduto V, Fabrowski M, et al. Detection of recombinant Spike protein in the blood of individuals vaccinated against SARS-CoV-2: Possible molecular mechanisms. *Proteomics Clin Appl.* 2023;17(6):e2300048.

<https://doi.org/10.1002/prca.202300048>

46. Banoun H. mRNA: Vaccine or Gene Therapy? The Safety Regulatory Issues. *Int J Mol Sci.* 2023;24(13):10514.

<https://doi.org/10.3390/ijms241310514>

47. Mead MN, Seneff S, Wolfinger R, Rose J, Denhaerynck K, Kirsch S, et al. COVID-19 mRNA Vaccines: Lessons Learned from the Registrational Trials and Global Vaccination Campaign. *Cureus*. 2024;16(1):e52876. <https://doi.org/10.7759/cureus.52876>
48. Wirth T, Parker N, Ylä-Herttua S. History of gene therapy. *Gene*. 2013;525(2):162–9. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.137>
49. Hanna N, Heffes-Doon A, Lin X, Manzano De Mejia C, Botros B, Gurzenda E, et al. Detection of Messenger RNA COVID-19 Vaccines in Human Breast Milk. *JAMA Pediatr*. 2022;176(12):1268–70. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2022.3581>
50. Gote V, Bolla PK, Kommineni N, et al. Comprehensive Review of mRNA Vaccines. *Int J Mol Sci*. 2023;24(3):2700. <https://doi.org/10.3390/ijms24032700>
51. Kis Z, Kontoravdi C, Dey AK, Shattock R, Shah N. Rapid development and deployment of high-volume vaccines for pandemic response. *J Adv Manuf Process*. 2020;2(3):e10060. <https://doi.org/10.1002%2Famp2.10060>
52. Bharali DJ, Klejbor I, Stachowiak EK, Dutta P, Roy I, Kaur N, et al. Organically modified silica nanoparticles: a nonviral vector for in vivo gene delivery and expression in the brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(32):11539–44. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504926102>
53. Cheang TY, Tang B, Xu AW, Chang GQ, Hu ZJ, He WL. Promising plasmid DNA vector based on APTES-modified silica nanoparticles. *Int J Nanomedicine*. 2012;7:1061–7. <https://doi.org/10.2147/IJN.S28267>
54. Ngamcherdtrakul W, Sangvanich T, Reda M, Gu S, Bejan D, Yantasee W. Lyophilization and stability of antibody-conjugated mesoporous silica nanoparticle with cationic polymer and PEG for siRNA delivery. *Int J Nanomedicine*. 2018;13:4015–27. <https://doi.org/10.2147/IJN.S164393>
55. Sameti M, Bohr G, Ravi Kumar MN, Kneuer C, Bakowsky U, Nacken M, et al. Stabilisation by freeze-drying of cationically modified silica nanoparticles for gene delivery. *Int J Pharm*. 2003;266(1–2):51–60. [https://doi.org/10.1016/s0378-5173\(03\)00380-6](https://doi.org/10.1016/s0378-5173(03)00380-6)
56. Van Lint S, Renmans D, Broos K, Dewitte H, Lentacker I, Heirman C, et al. The ReNAissanCe of mRNA-based cancer therapy. *Expert Rev Vaccines*. 2015;14(2):235–51. <https://doi.org/10.1586/14760584.2015.957685>
57. Dolgin E. The tangled history of mRNA vaccines. *Nature*. 2021;597(7876):318–24. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-02483-w>
58. Sparmann A, Vogel J. RNA-based medicine: from molecular mechanisms to therapy. *EMBO J*. 2023;42(21):e114760. <https://doi.org/10.15252/embj.2023114760>
59. Castruita JAS, Schneider UV, Mollerup S, Leineweber TD, Weis N, Bukh J, et al. SARS-CoV-2 spike mRNA vaccine sequences circulate in blood up to 28 days after COVID-19 vaccination. *APMIS*. 2023;131(3):128–32. <https://doi.org/10.1111/apm.13294>
60. Röltgen K, Nielsen SCA, Silva O, Younes SF, Zaslavsky M, Costales C, et al. Immune imprinting, breadth of variant recognition, and germinal center response in human SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell*. 2022;185(6):1025–40.e14. <https://doi.org/10.1016%2Fj.cell.2022.01.018>
61. Krauson AJ, Casimero FVC, Siddiquee Z, Stone JR. Duration of SARS-CoV-2 mRNA vaccine persistence and factors associated with cardiac involvement in recently vaccinated patients. *NPJ Vaccines*. 2023;8(1):141. <https://doi.org/10.1038/s41541-023-00742-7>
62. Mulrone TE, Pöyry T, Yam-Puc JC, Rust M, Harvey RF, Kalmar L, et al. N1-methylpseudouridylation of mRNA causes +1 ribosomal frameshifting. *Nature*. 2024;625(7993):189–94. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06800-3>
63. Jackson LA, Anderson EJ, Roupael NG, et al. mRNA-1273 Study Group. An mRNA Vaccine against SARS-CoV-2 - Preliminary Report. *N Engl J Med*. 2020;383(20):1920–31. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2022483>
64. Ndeupen S, Qin Z, Jacobsen S, Bouteau A, Estantouli H, Igyártó BZ. The mRNA-LNP platform's lipid nanoparticle component used in preclinical vaccine studies is highly inflammatory. *iScience*. 2021;24(12):103479. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.103479>
65. Turni C, Lefringhausen A. Covid-19 vaccines – An Australian Review. *J Clin Exp Immunol*. 2022;7:491–508.
66. Di J, Du Z, Wu K, Jin S, Wang X, Li T, et al. Biodistribution and Non-linear Gene Expression of mRNA LNPs Affected by Delivery Route and Particle Size. *Pharm Res*. 2022;39(1):105–14. <https://doi.org/10.1007/s11095-022-03166-5>

67. Igyártó BZ, Qin Z. The mRNA-LNP vaccines – the good, the bad and the ugly? *Front Immunol.* 2024;15:1336906.

<https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1336906>

68. Schmeling M, Manniche V, Hansen PR. Batch-dependent safety of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. *Eur J Clin Invest.* 2023;53(8):e13998.

<https://doi.org/10.1111/eci.13998>

69. Roberts TC, Langer R, Wood MJA. Advances in oligonucleotide drug delivery. *Nat Rev Drug Discov.* 2020;19(10):673–94.

<https://doi.org/10.1038/s41573-020-0075-7>

70. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell.* 1993;75(5):843–54.

[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(93\)90529-y](https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90529-y)

71. Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature.* 1998;391(6669):806–11.

<https://doi.org/10.1038/35888>

72. Collotta D, Bertocchi I, Chiapello E, Collino M. Antisense oligonucleotides: a novel Frontier in pharmacological strategy. *Front Pharmacol.* 2023;14:1304342.

<https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1304342>

73. Cai X, Dou R, Guo C, Tang J, Li X, Chen J, et al. Cationic Polymers as Transfection Reagents for Nucleic Acid Delivery. *Pharmaceutics.* 2023;15(5):1502.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15051502>

74. Selbach M, Schwanhäusser B, Thierfelder N, Fang Z, Khanin R, Rajewsky N. Widespread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature.* 2008;455(7209):58–63.

<https://doi.org/10.1038/nature07228>

75. Nevskaya KV, Pershina AG, Hmelevskaya ES, Efimova LV, Ibragimova MK, Dolgasheva DS, et al. Prevention of Metastasis by Suppression of Stemness Genes Using a Combination of microRNAs. *J Med Chem.* 2024;67(7):5591–602.

<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.3c02199>

76. Hsin JP, Lu Y, Loeb GB, Leslie CS, Rudensky AY. The effect of cellular context on miR-155-mediated gene regulation in four major immune cell types. *Nat Immunol.* 2018;19(10):1137–45.

<https://doi.org/10.1038/s41590-018-0208-x>

77. Lambeth LS, Moore RJ, Muralitharan M, Dalrymple BP, McWilliam S, Doran TJ. Characterisation and application of a bovine U6 promoter for expression of short hairpin RNAs. *BMC Biotechnol.* 2005;5:13.

<https://doi.org/10.1186/1472-6750-5-13>

78. Cai X, Dou R, Guo C, Tang J, Li X, Chen J, et al. Cationic Polymers as Transfection Reagents for Nucleic Acid Delivery. *Pharmaceutics.* 2023;15(5):1502.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15051502>

79. Tai W. Current Aspects of siRNA Bioconjugate for In Vitro and In Vivo Delivery. *Molecules.* 2019;24(12):2211.

<https://doi.org/10.3390/molecules24122211>

80. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science.* 2012;337(6096):816–21.

<https://doi.org/10.1126/science.1225829>

81. Qi LS, Larson MH, Gilbert LA, Doudna JA, Weissman JS, Arkin AP, Lim WA. Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression. *Cell.* 2013;152(5):1173–83.

<https://doi.org/10.1038/nprot.2013.132>

82. Cox DBT, Gootenberg JS, Abudayyeh OO, Franklin B, Kellner MJ, Joung J, et al. RNA editing with CRISPR-Cas13. *Science.* 2017;358(6366):1019–27.

<https://doi.org/10.1126/science.aaq0180>

83. Blanchard EL, Vanover D, Bawage SS, Tiwari PM, Rotolo L, Beyersdorf J, et al. Treatment of influenza and SARS-CoV-2 infections via mRNA-encoded Cas13a in rodents. *Nat Biotechnol.* 2021;39(6):717–26.

<https://doi.org/10.1038/s41587-021-00822-w>

84. Zhang Z, Wan T, Chen Y, Chen Y, Sun H, Cao T, et al. Cationic Polymer-Mediated CRISPR/Cas9 Plasmid Delivery for Genome Editing. *Macromol Rapid Commun.* 2019;40(5):e1800068.

<https://doi.org/10.1002/marc.201800068>

85. Champer J, Buchman A, Akbari OS. Cheating evolution: engineering gene drives to manipulate the fate of wild populations. *Nat Rev Genet.* 2016;17(3):146–59.

<https://doi.org/10.1038/nrg.2015.34>

86. DiEuliis D, Giordano J. Why Gene Editors Like CRISPR/Cas May Be a Game-Changer for Neuroweapons. *Health Secur.* 2017;15(3):296–302.
<https://doi.org/10.1089/hs.2016.0120>
87. Rose J, Hulscher N, McCullough PA. Determinants of COVID-19 vaccine-induced myocarditis. *Ther Adv Drug Saf.* 2024;15:20420986241226566.
<https://doi.org/10.1177/20420986241226566>
88. Shitrit P, Zuckerman NS, Mor O, Gottesman BS, Chowers M. Nosocomial outbreak caused by the SARS-CoV-2 Delta variant in a highly vaccinated population, Israel, July 2021. *Euro Surveill.* 2021;26(39):2100822.
<https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2021.26.39.2100822>
89. Uversky VN, Redwan EM, Makis W, Rubio-Casillas A. IgG4 Antibodies Induced by Repeated Vaccination May Generate Immune Tolerance to the SARS-CoV-2 Spike Protein. *Vaccines (Basel).* 2023;11(5):991.
<https://doi.org/10.3390/vaccines11050991>
90. Roussel Y, Giraud-Gatineau A, Jimeno MT, Rolain JM, Zandotti C, Colson P, et al. SARS-CoV-2: fear versus data. *Int J Antimicrob Agents.* 2020;55(5):105947.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105947>
91. Ioannidis JPA, Cripps S, Tanner MA. Forecasting for COVID-19 has failed. *Int J Forecast.* 2022;38(2):423–38.
<https://doi.org/10.1016/j.ijforecast.2020.08.004>

Вклад автора / Author contribution

Разработка концепции статьи; сбор, анализ и систематизация научной литературы; написание статьи / Elaboration of the concept of the paper; collection, analysis, and systematization of scientific literature; writing and edition of paper.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторе/ Author

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации, 111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19.

Супотницкий Михаил Васильевич. Главный специалист, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-3193-1032>

Контактная информация автора: 27nc_l@mil.ru

27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Entuziastov Passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation.

Mikhail V. Supotnitskiy. Senior Researcher. Chief Specialist. Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-3193-1032>

Contact information for author: Mikhail V. Supotnitskiy; 27nc_l@mil.ru



Оспа кроликов

Л.Ф. Стомба, А.А. Петров, Д.П. Белозеров, О.В. Чухраля, С.А. Мельников,
С.В. Борисевич✉

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«48 Центральный научно-исследовательский институт»
Министерства обороны Российской Федерации
141306, Российская Федерация, Московская область, Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11
✉ e-mail: 48cnii@mil.ru

Поскольку существует опасность реинтродукции вируса натуральной оспы (ВНО) из неизвестного резервуара или появления генетически подобного вируса с такими же патогенными свойствами, либо его синтетической копии, необходима адекватная лабораторная модель, наиболее полно имитирующая заболевание натуральной оспой и другими ортопоксвирусами человека. Вирус оспы кроликов способен вызывать у кроликов чрезвычайно тяжелое контагиозное заболевание с высокой летальностью, которое имитирует заболевание у человека натуральной оспой. За все время наблюдения не зафиксировано ни одного случая заболевания человека оспой кроликов.

Цель работы – обобщение материалов по исследованию вируса оспы кроликов и анализ симптомов данного заболевания у кроликов, имитирующих заболевание натуральной оспой у человека, применительно к разработке новых противооспенных препаратов.

Источниковая база исследования – англоязычная научная литература, доступная через сеть Интернет.

Метод исследования – аналитический.

Результаты и обсуждение. Оспа кроликов впервые зафиксирована в начале 1930-х гг. у лабораторных кроликов в г. Утрехте, Нидерланды, затем в США в Рокфеллеровском Институте в г. Нью-Йорке. Начиная с 1941 г. вспышки оспы кроликов периодически отмечались в исследовательских институтах США и Европы. Однако эпизоотий такой болезни среди зайцев в дикой природе в мире не зарегистрировано. Анализ литературы позволил выявить удачные примеры использования модели «кролик-вирус оспы кроликов» для доклинических исследований защитной эффективности противортопоксвирусных вакцин, моноклональных антител, препаратов на основе мРНК и химиопрепаратов (тиосемикарбазон, цидофовир, тековиримат, бринцидофовир и др.) при различных способах инфицирования, включая ингаляционный. Также эта модель удобна для оценки диагностических наборов для обнаружения ортопоксвирусов.

Заключение. Модель «кролик-вирус оспы кроликов» является безопасной для человека и перспективной для моделирования различных патологических состояний при проведении различных медико-биологических исследований ортопоксвирусных инфекций, оценки эффективности противооспенных иммунобиологических препаратов, химиопрепаратов и диагностических наборов.

Ключевые слова: вирус оспы кроликов; лабораторная модель; натуральная оспа; ортопоксвирусы; оспа кроликов

Для цитирования: Стомба Л.Ф., Петров А.А., Белозеров Д.П., Чухраля О.В., Мельников С.А., Борисевич С.В. Оспа кроликов. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(3):232–242. EDN:toebmp.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-232-242>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Финансирование: федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации.

Поступила 08.08.2024 г. Исправленный вариант 30.08.2024 г. Принята к публикации 27.09.2024 г.

© Л.Ф. Стомба, А.А. Петров, Д.П. Белозеров, О.В. Чухраля, С.А. Мельников, С.В. Борисевич, 2024

Rabbitpox

**Lyudmila F. Stovba, Aleksandr A. Petrov, Denis P. Belozеров, Oleg V. Chukhralia,
Sergey A. Melnikov, Sergey V. Borisevich**✉

48 Central Scientific Research Institute
of the Ministry of Defence of the Russian Federation
Oktyabrskaya Street, 11, Sergiev Posad 141306, Russian Federation
✉ e-mail: 48cnii_1@mil.ru

There is a danger that a natural smallpox virus may be reintroduced from the unknown spring or that a similar virus with the same pathogenic properties may appear or that somebody may create a synthetic copy of such a virus. That is why it is crucial to have a proper laboratory pattern that may imitate a natural smallpox disease and other human orthopoxviruses. A rabbitpox virus may provoke a grave and highly contagious disease in rabbits with a high death rate. The symptoms of this disease in rabbits is similar to symptoms of natural smallpox in humans. There have been no cases of rabbitpox in humans.

Purpose of the study – To summarize data on research of a rabbitpox virus and to analyze the symptoms of this disease in rabbits that is similar to a natural pox virus in humans. This analysis may contribute to the development of new drugs against smallpox.

Study base sources – English scientific papers available on the Internet.

Method of the study – Analytical.

Results and discussion. Rabbitpox was first detected in 1930 in lab. rabbits in Utrecht, the Netherlands, then in the USA, at Rockefeller University in New York. From 1941 the outbreaks of rabbitpox were registered in research institutes in Europe and in the USA. However, there were no cases of this disease in rabbits in the wildlife. The analysis has demonstrated that the pattern “a rabbit–a rabbitpox virus” has been quite successful in pre-clinical studies of protective efficiency of orthopoxvirus vaccines, monoclonal antibodies, mRNA-based drugs and chemotherapeutic agents (thiosemicarbazone, Cidofovir, tecovirimat, Brincidofovir, etc.) for different transmission modes including inhalative one. This pattern is also useful for evaluation of diagnostic sets, employed for orthopoxviruses detection.

Conclusion. Pattern “a rabbit–a rabbitpox virus” is safe for humans and is promising for simulation of different pathological states when we conduct various medical and biological studies of orthopoxvirus infections. It also may be used to evaluate the efficiency of immunobiological drugs against smallpox, chemotherapeutic agents and diagnostic sets.

Keywords: rabbitpox virus; laboratory model; variola; rabbitpox; orthopoxviruses

For citation: Stovba L.F., Petrov A.A., Belozеров D.P., Chukhralia O.V., Melnikov S.A., Borisevich S.V. Rabbitpox. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(3):232–242. EDN:toebmp.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-232-242>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Funding: 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation.

Received August 8, 2024. Revised August 30, 2024. Accepted September 27, 2024

Оспа кроликов впервые была описана между 1930 и 1933 годами, вызвав вспышки у лабораторных кроликов в институтах Европы и США [1, 2]. Однако эпизоотий оспы кроликов среди зайцев в дикой природе не зарегистрировано [3].

Возбудителем оспы кроликов является вирус оспы кроликов, дальнейшее изучение которого показало, что он принадлежит к семейству оспенных вирусов (*Poxviridae*), роду ортопоксвирусов (*Orthopoxvirus*) [4]. Внутри рода он не образует отдельный вид, а класси-

фицирован как подвид вируса вакцины. Чувствительным животным и хозяином этого возбудителя является кролик, который относится к семейству грызунов (*Lagomorpha*) [4].

Цель работы – обобщение материалов по исследованию вируса оспы кроликов и анализ симптомов заболевания у кроликов, вызванного оспой кроликов, имитирующих заболевание натуральной оспой у человека применительно к разработке новых противооспенных препаратов.

Источниковая база исследования – англоязычная научная литература, доступная через сеть Интернет.

Метод исследования – аналитический.

Задачей данного исследования являлось изучение адекватной лабораторной модели, имитирующей заболевание у человека, вызванное вирусом натуральной оспы, для оценки иммунобиологических препаратов против натуральной оспы и других патогенных для человека ортопоксвирусов.

Вирус оспы кроликов способен вызвать у кроликов чрезвычайно тяжелое контактное заболевание с высокой летальностью. Клинические симптомы включают лихорадку с быстрым наступлением анорексии, слабости, потери веса, вязкими выделениями из глаз и носа, снижением скорости дыхания в покое. В целом, клиническое течение заболевания варьирует от латентного до тяжелого с наступлением гибели между 6 и 10 сутками, с поражением кожи (рисунк 1) и слизистых даже при интраназальном пути заражения [5, 6].

Подобная трансмиссия возбудителя схожа передаче вируса натуральной оспы у людей [7]. Однако за все время наблюдения не зафиксировано ни одного случая заболевания человека оспой кроликов [8].

Искоренение натуральной оспы не исключает опасности реинтродукции этого вируса или появления генетически подобного вируса с такими же патогенными свойствами, включая его синтетические варианты [9, 10]. Поскольку работы с вирусом натуральной оспы ограничены двумя лабораториями в Атланте (США) и в Кольцово (Россия), то были проведены исследования по поиску лабораторных моделей, наиболее полно имитирующих это заболевание у человека. Модель должна обладать высокой смертностью при низкой инфекционной дозе, течением заболевания со стадиями и патогенезом, сходными с натуральной оспой у человека [4, 11]. Анализировались различные животные



Рисунок 1 – Характерные поражения кожных покровов у кролика, больного оспой кроликов (рисунок адаптирован по [6])

Figure 1 – Skin lesions typical for a rabbit infected with rabbitpox (the figure is adapted according to [6])

(мыши, обезьяны, кролики) и возбудители, вызывающие у них летальное заражение [12]. Таковой моделью оказались кролики при их заражении вирусом оспы кроликов [5]. Поэтому оспа кроликов в лабораторных условиях используется, в основном, как модель, имитирующая заболевание у человека (модель «кролик-вирус оспы кроликов»), вызванное вирусом натуральной оспы, включая такие симптомы и синдромы заболевания как наличие инкубационного периода, анорексии, отека мордочки, обезвоживания, диареи, густых серозных выделений из глаз и носа, сыпи, генерализации инфекции и естественной передачи от животного к животному [13, 14].

Ряд показателей, характеризующих течение оспы кроликов у аэрогенно инфицированных животных, позволяет моделировать заболевание натуральной оспой человека (таблица 1) [15].

При низких заражающих дозах (менее 200 БОЕ¹) инкубационный период составлял 4–6 сут. Первыми клиническими признаками заболевания являлись лихорадка, затем отмечались анорексия, слабость, быстрая потеря массы тела, депрессия, вялость, падение температуры тела до субнормальных значений и гибель на 8–14-е сутки после инфицирования [16].

¹ ЛД₅₀ – доза вируса, вызывающая гибель 50 % инфицированных лабораторных животных; БОЕ – бляшкообразующая единица.

Таблица 1 – Сходство и различия между натуральной оспой и оспой кроликов (при аэрозольном способе заражения)**Table 1 – Similarities and differences between natural smallpox and rabbitpox (aerosol mode of transmission)**

Показатель / Indicator	Нозологическая форма / Nosological entity		
	натуральная оспа (большая оспа) / Variola major	оспа кроликов (заражающая доза <200 БОЕ) / Rabbitpox (the infective dose <200 BFU)	оспа кроликов (заражающая доза >200 БОЕ) / Rabbitpox (the infective dose >200 BFU)
Способ передачи / Transmission mode	Аэрозольный / Aerosol		
Инкубационный период, сут / Incubation period, days	7–17	4–6	2–3
Продромальная фаза, сут / Prodromal period, days	2–4		0–2
Клинические признаки заболевания / Clinical symptoms of the disease	Лихорадка, фарингит, повреждения на коже / Fever, pharyngitis, skin lesions		Лихорадка, фарингит, повреждения на коже, эрозии в носоглотке / Fever, pharyngitis, skin lesions, nasopharyngeal cavity erosions
Характеристика повреждений кожи / Skin lesions	Макулы – папулы – везикулы – пустулы – корки – оспины / Maculae – papulae – vesicules – blains – crusts – marks	Макулы – папулы – везикулы – пустулы / Maculae – papulae – vesicules – blains	Макулы – папулы – везикулы / Maculae – papulae – vesicules
Осложнения / Complications	Пневмония, слепота, энцефалит / Pneumonia, blindness, cephalitis	Пневмония, множественные некрозы / Pneumonia, multiple necroses	
Летальность заболевания, % / Disease death rate, %	≈30	≈100	100
Время гибели, сут с начала заболевания / Time of death, days (from the onset of the disease)	22–28	8–14	5–7
Примечание. Таблица адаптирована авторами из [15]. Note. The table is adapted from [15] by the authors of the paper.			

При высоких заражающих дозах (более 200 БОЕ) вирус оспы кроликов вызывал быстропрогрессирующую летальную инфекцию, напоминающую геморрагическую форму натуральной оспы. Инкубационный период заболевания в этом случае составлял 2–3 сут. Заболевание заканчивалось гибелью на 6-е сутки [16].

Моделировать это заболевание может и вирус оспы обезьян, однако, эта модельная система требует высоких инфицирующих доз вируса ($>10^6$ оспинообразующих единиц/мл), в то время как вирус оспы кроликов высоко патогенен для кроликов ($LD_{50} \sim 20$ БОЕ)². При респираторном пути инфицирования кроликов вирусом оспы кроликов требуется доза в 10^4 раз меньше, чем для инфицирования приматов вирусом оспы обезьян или мышей вирусом вакцины [6, 14, 17].

² Там же.

Геном вируса оспы кроликов представлен линейной двухцепочечной ДНК размером около 200 тысяч пар оснований, в центральной части которой содержатся гены, относительно консервативные между всеми ортопоксвирусами видами. Гены этой области кодируют структурные компоненты вириона и ферменты, необходимые для транскрипции, репликации и упаковки вирусной ДНК в цитоплазме хозяйской клетки. Весь цикл репродукции всех ортопоксвирусов проходит в цитоплазме хозяйской клетки [18]. Гены по концам вирусного генома более разнообразны, не существенны для репродукции вируса в культуре клеток, но оказывают большое влияние на патогенность вируса для животных. Примерами подобных генов являются рецептор фактора некроза опухоли, рецептор секретируемого интерлейкина-1b,

контрольный белок комплемента и три ингибитора сериновых протеаз, которые осуществляют регулирование иммунного и воспалительных ответов [19, 20].

При репродукции вируса оспы кроликов на хорион-аллантаисных оболочках (ХАО) развивающихся куриных эмбрионов (РКЭ) образуются характерные оспины с геморрагиями со спонтанным образованием около 1 % белооспennных мутантов [21, 22] (рисунок 2). Белооспennный фенотип обусловлен мутацией в одном из генов ингибиторов сериновых протеаз (SPI-2). Дальнейшими исследованиями было показано, что SPI-2 может ингибировать интерлейкин-1 β конвертирующий энзим, роль которого состоит в контроле процесса воспаления [18]. Вторым геном, определяющим этот фенотип, является ген *ps/hr*, который кодирует белок в 45-кДа внеклеточного оболочечного вируса [23]. Эти мутанты имеют ограничения в круге хозяев: не способны репродуцироваться в линии почки свиньи и в фибробластах куриных эмбрионов.

Современные данные свидетельствуют о том, что предшествующая иммунизация противооспennной вакциной может оказывать защитное действие против заболеваний, вызванных ортопоксвирусами, поэтому такая лабораторная модель, как

кролики, при ее дальнейшем инфицировании вирусом оспы кроликов, интенсивно использовалась при анализе иммунобиологических препаратов.

Проведены исследования по защитной эффективности вакцины IMVAMUNE[®] на основе вируса вакцины, штамм MVA (modified vaccinia virus Ankara), которая в настоящее время производится компанией IDT Biologika GmbH (Dessau-Roßlau, Германия), поставляется фирмой Bavarian Nordic (Дания) и используется как вакцина третьего поколения³ [3, 24]. Показатели иммунного ответа у кроликов через 4 недели и через 9 месяцев после иммунизации при последующем их интраназальном заражении летальной дозой вируса оспы кроликов свидетельствовали, что все кролики были полностью защищены [25]. Аналог этой вакцины, производимый в США – JYNNEOS[™], безопасен и может применяться у лиц с ослабленным иммунитетом [26]. Вакцина одобрена в 2018 г. и лицензирована в сентябре 2019 г. Управлением по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA)⁴ [27].

В январе 2024 г. на 154-й сессии Всемирной организации здравоохранения Консультативный комитет по исследованию вируса натуральной оспы рекомендовал

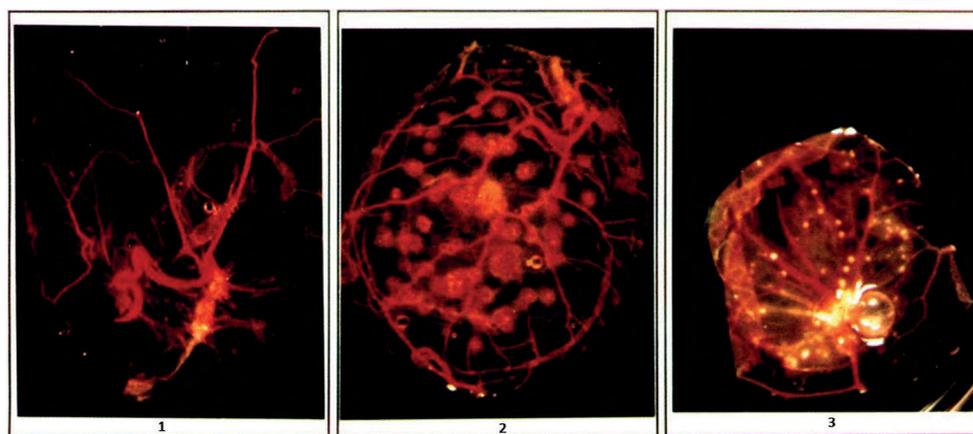


Рисунок 2 – Оспины на ХАО РКЭ, образуемые вирусом оспы кроликов (рисунок адаптирован по [22]): 1 – неинфицированные ХАО РКЭ; 2 – ХАО РКЭ, инфицированные вирусом оспы кроликов; 3 – ХАО РКЭ, инфицированные белооспennным мутантом вируса оспы кроликов

Figure 2 - Marks at chorioallantoic membranes of embryonated hen's eggs provoked by a rabbitpox virus (the figure is adapted according to [22]): 1 - uninfected chorioallantoic membranes of embryonated hen's eggs; 2 - chorioallantoic membranes of embryonated hen's eggs infected with rabbitpox; 3 - chorioallantoic membranes of embryonated hen's eggs, infected with a whitepox mutant of a rabbitpox virus

³ Реализуется под коммерческим названием Imvanex в Европе и Jynneos[™] в США.

⁴ FDA approves first live, non-replicating vaccine to prevent smallpox and monkeypox. URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-live-non-replicating-vaccine-prevent-smallpox-and-monkeypox> (дата обращения: 27.08.2024).

вакцину на основе штамма MVA для профилактики натуральной оспы, оспы обезьян и других ортопоксвирусных инфекций⁵.

Сравнивался защитный иммунный ответ двух штаммов вируса вакцины NYCBVH и ее варианта с deletированным геном E3L – NYCBVHΔE3L [13].

Проводилась оценка защитной эффективности нуклеиновокислотной вакцины против аэрозольного заражения кроликов летальной дозой вируса оспы кроликов [8].

Также показана защитная эффективность человеческих моноклональных антител против летальной оспенной инфекции у кроликов и иммунодефицитных мышей [28].

Для создания набора реагентов, предназначенного для иммуноферментного анализа, позволяющего быстро и с высокой чувствительностью выявлять ортопоксвирусы в клинических образцах использовались криолизаты образцов культуры клеток CV-1, инфицированных вирусами вакцины, оспы коров, оспы кроликов и экстромелии [29].

Для экспериментальной оценки набора для экспресс-иммунохимического обнаружения ортопоксвирусов, базирующегося на методе одностадийного точечного иммуноанализа на плоских белковых матрицах, использовались препараты вируса оспы

обезьян, оспы кроликов, оспы коров и экстромелии. С помощью этого набора можно выявлять ортопоксвирусы в течение 36 мин в неочищенных культуральных образцах вируса и в клинических образцах [30].

Поскольку вакцинация противооспенными вакцинами малоэффективна после начала заболевания, то необходимо применение противовирусных средств. При этом лечение лучше начинать до появления симптомов. Группы животных, получавших лечение на 3–6 сутки, проявляли более выраженное заболевание, вызванное вирусом оспы кроликов, чем группы до симптоматического лечения [11]. В связи с этим на кроликах, инфицированных оспой кроликов, проводились исследования по оценке нескольких противоортопоксвирусных препаратов: тиосемикарбазона [31]; цидофовира [6, 8]; тековиримата (TROXX, ST-246) [32]; бринцидофовира (CMX001) – липофильного нуклеозидного аналога цидофовира [11, 33–35].

Применение тиосемикарбазона выявило его частичную защиту против вируса оспы кроликов [31]. Цидофовир, как ингибитор ДНК-полимеразы эффективно ингибирует репликацию поксвирусов при внутривенном введении [12, 35]. Тековиримат может применяться перорально, причем лечение, начатое сразу после инфицирования, полностью за-

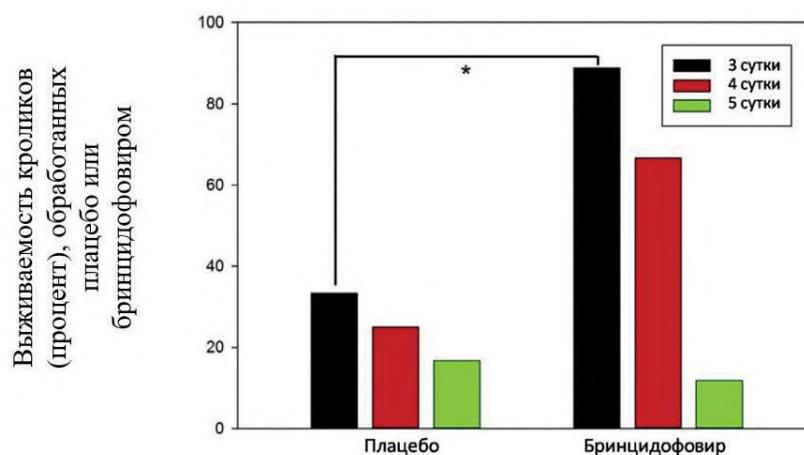


Рисунок 3 – Зависимость выживаемости кроликов, инфицированных вирусом оспы кроликов, от времени применения бринцидофовира (на 3-и, 4-е и 5-е сутки). Ось Y – выживаемость кроликов (процент), получавших плацебо или бринцидофовиром (звездочка указывает на значимость (различий) при $p < 0,05$) (рисунок адаптирован по [34])
Figure 3 – Dependence of survival rate of rabbits, infected with a rabbitpox virus on the time of Brincidofovir treatment (on the 3rd, 4th and on the 5th day). Y axis presents survival rate of rabbits (percentage), who were treated with placebo or of Brincidofovir (a splat shows the significance of differences, where $p < 0.05$) (the figure is adapted according to [34])

⁵ Пункт 18 предварительной повестки дня. 2 января 2024 г. EB154/20. Ликвидация оспы: уничтожение запасов вируса натуральной оспы. Доклад Генерального директора Всемирной организации здравоохранения. URL: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB154/B154_20-ru.pdf (дата обращения: 27.08.2024).

щищало от инфекции и летального исхода [32, 36]. В июле 2018 г. FDA выдало разрешение на применение тековиримата для лечения натуральной оспы, признав его соответствующим всем нормативным требованиям⁶. В 2022 г. он был одобрен в Европе для лечения оспы обезьян, оспы коров и инфекций, вызываемых вирусом вакцины⁷.

Бринцидофовир хорошо переносится и орально биодоступен. Выживаемость кро-

ликов после применения бринцидофовира зависела от времени обработки препаратом. Выживаемость животных, которые получали бринцидофовир на 3-и сутки после инфицирования, составляла 88 %, на 4-е сутки после инфицирования – 67 %, на 5-е сутки – не отличалась от кроликов, получавших плацебо (рисунок 3) [11, 14, 34].

В таблице 2 указаны сведения по публикациям, в которых представлены результаты

Таблица 2 – Использование кроликов, инфицированных вирусом оспы кроликов, для оценки иммунобиологических препаратов

Table 2 – The use of rabbits infected with a rabbitpox virus to evaluate immunobiological drugs

Цель исследования / Purpose of the study	Источник литературы / References
Исследования защитной эффективности вакцины IMVAMUNE® и ее аналога JYNNEOS™ / To evaluate protective efficiency of vaccine IMVAMUNE® and its counterpart JYNNEOS™	[3, 24–27]
Исследование протективной активности аттенуированной вакцины NYCBH и ее варианта NYCBHΔE3L с делетированным геном E3L / To evaluate protective activity of attenuated vaccine NYCBH and its variant u ee варианта NYCBHΔE3L with eliminated gene E3L	[13]
Оценка защитной эффективности нуклеиновокислотной вакцины против аэрозольного заражения кроликов летальной дозой вируса оспы кроликов / To evaluate protective efficiency of nucleic acid vaccine against aerosol infection of rabbits with a fatal dose of a rabbitpox virus	[8]
Выявление защитной эффективности человеческих моноклональных антител у кроликов и иммунодефицитных мышей при летальной ортопоксвирусной инфекции / To determine evaluate protective efficiency of human monoclonal antibodies in rabbits and immunocompromised mice that have lethal orthopoxvirus infection	[28]
Оценка набора реагентов, применяемого для иммуноферментного анализа, позволяющего выявлять ортопоксвирусы в клинических пробах / To evaluate a set of regents applied for the enzyme-linked immunosorbent assay that permits to detect orthopoxviruses in clinical samples	[29]
Экспериментальная оценка набора для экспресс-иммунохимического обнаружения ортопоксвирусов, базирующегося на методе одностадийного точечного иммуноанализа на плоских белковых матрицах / To conduct experimental evaluation of a set used for express immunochemical detection of orthopoxviruses that is based on single stage dotted immunoassay at flat protein matrices	[30]
Определение эффективности тиосемикарбазона против вируса оспы кроликов / To determine efficiency of thiosemicarbazone against a rabbitpox virus	[31]
Оценка эффективности препарата цидофовира при внутривенном введении / To evaluate the efficiency of Cidofovir when injected intravenously	[12, 35]
Оценка действия тековиримата при пероральном введении / To evaluate the efficiency of tecovirimat when used orally	[32, 36]
Изучение противовирусной активности липофильного нуклетидного аналога цидофовира – бринцидофовира в зависимости от времени ведения препарата после инфицирования / To study antiviral activity of lipophilic nucleotid counterpart of Cidofovir – Brincidofovir depending on the time of application of the drug (time spent after infection)	[11, 14, 34]
Примечание. Таблица составлена авторами. Note. Table is compiled by the authors.	

⁶ Пункт 12.6 предварительной повестки дня. 4 апреля 2019 г. A72/28. Ликвидация оспы: уничтожение запасов вируса натуральной оспы. Доклад Генерального директора Всемирной организации здравоохранения. URL: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/328719/A72_28-en.pdf?sequence=1 (дата обращения: 27.08.2024).

⁷ Пункт 18 предварительной повестки дня. 2 января 2024 г. EB154/20. Ликвидация оспы: уничтожение запасов вируса натуральной оспы. Доклад Генерального директора Всемирной организации здравоохранения. URL: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/EB154/B154_20-ru.pdf (дата обращения: 27.08.2024).

исследований по оценке эффективности противооспенных иммунобиологических препаратов с использованием кроликов.

Заключение

Таким образом, результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод о том, что кролики (модель «кролик-вирус оспы кроликов»), широко используемые для моделирования различных патологических состо-

яний при проведении медико-биологических исследований, инфицированные оспой кроликов, в лабораторных условиях являются моделью, имитирующей заболевание у человека, вызванное вирусом натуральной оспы и другими ортопоксивирусными инфекциями, и могут быть использованы в качестве модели для оценки эффективности противооспенных иммунобиологических и химиопрепаратов.

Ограничения исследования / Limitations of the study

Данный аналитический обзор имеет ряд ограничений, а именно: 1) в качестве источников рассмотрены лишь англоязычные статьи или переводные варианты (например, русскоязычных статей); 2) рассматриваемые работы опубликованы в открытых источниках, индексируемых Google, Scopus, Web of Science, eLibrary; 3) не было введено критерия на исключение работ из рассмотрения ввиду недостоверности, невозможности воспроизведения, необъективности и т.д. представленных в них данных. / This analytical review has a number of limitations, such as: (1) The authors of this paper have considered only articles in English or translated versions (for example, English translation of the original Russian articles); (2) The papers under analysis were published in open sources, indexed by Google, Scopus, Web of Science, eLibrary; (3) There was no rule that the papers under analysis should be neglected due to unreliability, non-reproducibility and lack of objectivity of their data.

Список источников/References

1. Greene HSN. A pandemic of rabbitpox. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1933;30:892-94.
<https://doi.org/10.3181/00379727-30-6724>
2. Fenner F. Rabbitpox virus. In: Osterhaus AD, ed. *Virus infections of rodents and lagomorphs*, New York: Elsevier; 1994. P. 51-7.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7117393/>
3. Garza NL, Hatkin JM, Livingston V, Nichols DK, Chaplin PJ, Volkman A, et al. Evaluation of the efficacy of modified vaccinia Ankara (MVA)/IMVAMUNE against aerosolized rabbitpox virus in a rabbit model. *Vaccine.* 2009;27(40):5496-504.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.06.105>
4. Silva NIO, de Oliveira JS, Kroon EG, Trindade GS, Drumond BP. Here, There, and Everywhere: The Wide Host Range and Geographic Distribution of Zoonotic Orthopoxviruses. *Viruses.* 2021;13(1):43.
<https://doi.org/10.3390/v13010043>
5. Westwood JC, Boulter EA, Bowen ET, Maber HB. Experimental respiratory infection with poxviruses. I. Clinical virological and epidemiological studies. *Br J Exp Pathol.* 1966;47(5):453-65.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2093726/>
6. Adams MM, Rice AD, Moyer RW. Rabbitpox Virus and Vaccinia Virus Infection of Rabbits as a Model for Human Smallpox. *J Virol.* 2007;81(20):11084-95.
<https://doi.org/10.1128/JVI.00423-07>
7. Henderson DA. Countering the Posteradication Threat of Smallpox and Polio. *Clin Infect Dis.* 2002;34:79-83.
<https://doi.org/10.1086/323897>
8. Mucker EM, Golden JW, Hammerbeck CD, Kishimori JM, Royals M, Joselyn MD, et al. A Nucleic Acid-Based Orthopoxvirus Vaccine Targeting the Vaccinia Virus L1, A27, B5, and A33 Proteins Protects Rabbits against Lethal Rabbitpox Virus Aerosol Challenge. *J Virol.* 2022;96(3):01504-21.
<https://doi.org/10.1128/JVI.01504-21>
9. Koblenz GD. The de novo synthesis of horsepox virus: implication for biosecurity and recommendations for preventing the reemergence of smallpox. *Health Secur.* 2017;15:620-8.
<https://doi.org/10.1089/hs.2-17.0061>
10. Noyce RS, Lederman S, Evans DH. Construction of an infectious horsepox virus vaccine from chemically synthesized DNA fragments. *PLoS One.* 2018;13:e188453.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0188453>

11. Rice AD, Adams MM, Lampert B, Foster S, Lanier R, Robertson A, et al. Efficacy of CMX001 as a Prophylactic Antiviral Agent in New Zealand White Rabbits Infected with Rabbitpox Virus, a Model for Orthopoxvirus Infections of Humans. *Viruses*. 2011;3:63–82.
<https://doi.org/10.3390/v3020063>
12. Smee DF, Sidwell RW. A review of compounds exhibiting anti-orthopoxvirus activity in animal models. *Antiviral Research*. 2003;57:41–52.
[https://doi.org/10.1016/S0166-3542\(02\)00199-7](https://doi.org/10.1016/S0166-3542(02)00199-7)
13. Denzler KL, Rice AD, Mac Neill AL, Fukushima N, Lindsey SF, Wallace G, et al. The NYCBH vaccinia virus deleted for the innate immune evasion gene, E3L, protects rabbits against lethal challenge by rabbitpox virus. *Vaccine*. 2011;29(44):659–69.
<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.07.140>
14. Roy CJ, Voss TG. Use of the aerosol rabbitpox virus model for evaluation of anti-poxvirus agents. *Viruses*. 2010;2:2096–107.
<https://doi.org/10.3390/v2092096>
15. Nalca A, Nichols DK. Rabbitpox: a model of airborne transmission of smallpox. *J Gen Virol*. 2011;92(1):31–5.
<https://doi.org/10.1099/vir.0.026237-0>
16. Онищенко ГГ, Кириллов ИА, Борисевич СВ, Сизикова ТЕ, Кротков ВТ. Анализ аэриобиологических исследований с ортопоксвирусами, проводимых Министерством обороны США. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024;101(3):399–411.
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-522>
- Onishchenko GG, Kirillov IA, Borisevich SV, Sizikova TE, Krotkov VT. Analysis of aerobiological studies with orthopoxviruses by U.S. Department of Defense. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology*. 2024;101(3):399–411 (in Russian).
<https://doi.org/10.36233/0372-9311-522>
17. Nalka A, Nichols DK. Rabbitpox: a model of airborne transmission of smallpox. *J Gen Virol*. 2011;92:31–5.
<https://doi.org/10.1099/vir.0.026237-0>
18. Li G, Chen N, Rooper RL, Feng Z, Hunter A, Danila M, et al. Complete coding sequence of the rabbitpox virus genome. *J Gen Virol*. 2005;86:2969–77.
<https://doi.org/10.1099/vir.0.81331-0>
19. Pratt CV, Church FC. General features of the heparin-binding serpins antithrombin, heparin cofactor II and protein C inhibitor. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 1993;4:479–90.
<https://doi.org/10.1097/00001721-199306000-00013>
20. Lu Y, Zhao Y, Gao C, Suresh S, Men J, Sawyers A, Smith GL. HDAC5 enhances IRF3 activation and is targeted for degradation by protein C6 from orthopoxviruses including Monkeypox Variola virus. *Cell Reports*. 2024;43(3):113788.
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113788>
21. Moyer RW, Rothe CF. The white pock mutants of rabbit poxvirus. I Spontaneous host range mutants contain deletions. *Virology*. 1980;102(1):119–32.
[https://doi.org/10.1016/0042-6822\(80\)90075-6](https://doi.org/10.1016/0042-6822(80)90075-6)
22. Moyer RW, Brown GD, Graves RL. The white pock mutants of rabbit poxvirus. II The early white pock (M) host range (hr) mutants of rabbit poxvirus uncouple transcription and translation in nonpermissive cells. *Virology*. 1980;106(2):234–49.
[https://doi.org/10.1016/0042-6822\(80\)90247-0](https://doi.org/10.1016/0042-6822(80)90247-0)
23. Martinez-Pomares L, Stern RJ, Moyer RW. The ps/hr Gene (B5R Open Reading Frame Homolog) of Rabbitpox Virus Controls Pock Color, Is a Component of Extracellular Enveloped Virus, and Is Secreted into the Medium. *J Virol*. 1993;67(9):5450–62.
<https://doi.org/10.1128/jvi.67.9.5450-5462.1993>
24. Volz A, Sutter G. Modified *Vaccinia virus* Ankara History, value in basic research, and current perspectives for vaccine development. *Adv Virus Res*. 2017;97:187–243.
<https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.07.001>
25. Jones DI, McGee CE, Sample CJ, Sempowski GD, Pickup DJ, Staats HF. Modified Vaccinia Ankara Virus Vaccination Long-Term Protection against Nasal Rabbitpox Virus Challenge. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2016;23(7):322–34.
<https://doi.org/10.1128/CVI.00216-16>
26. Rizk JG, Lippi G, Henry BM, Dorthal DN, Rizk Y. Preventiol and Treatment of Monkeypox. *Drugs*. 2022;82:957–63.
<https://doi.org/10.1007/s40265-022-01742-y>

27. Hraib M, Jouni S, Albitar M, Alaidi S, Alshehabi Z. The outbreak of monkeypox 2022: An overview. *Ann Med Surg (Lond)*. 2022;79:104069. <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2022.104069>
28. Crickard L, Babas T, Seth S, Silvera P, Koriazova L, Crotty S. Protection of Rabbits and Immunodeficient Mice against Lethal Poxvirus Infection by Human Monoclonal Antibodies. *Plos One*. 2012;7(11):e48706. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048706>
29. Ушкаленко НД, Ерш АВ, Филатов ПВ, Полтавченко АГ. Ускоренный метод иммуноферментного анализа для выявления ортопоксвирусов. *Вопр. вирусол.* 2023;68(3):242–51. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-178>
- Ushkalenko N, Ersh A, Filatov P, Poltavchenko A. Accelerate method immunoferment analysis for detection. Orthopoxviruses. *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2023;68(3):242–51 (in Russian). <https://doi.org/10.36233/0507-4088-178>
30. Ushkalenko N, Ersh A, Sergeev A, Filatov P, Poltavchenko A. Evaluation of Rapid Dot-Immunoassay for Detection Orthopoxviruses Using Laboratory-Grown Viruses and Animal's Clinical Specimens. *Viruses*. 2022;14(11):2580. <https://doi.org/10.3390/v14112580>
31. Quenelle DC, Keith KA, Kern ER. In vitro and in vivo evaluation of isatin-beta-thiosemicarbazone and marboran against vaccinia and cowpox virus infections. *Antivir Res*. 2006;71:24–30. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2006.02.010>
32. Grosenbach DW, Honeychurch K, Rose EA, Chinsangaram J, Frimm A, Maiti B, et al. Oral Tecovirimat for the Treatment of Smallpox. *N Engl J Med*. 2018;379(1):44–53. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1705688>
33. Rice A, Adams M, Wallace G, Burrage AM, Lindsey SF, Smith AJ, et al. Efficacy of CMX001 as a Post Exposure Antiviral in New Zealand White Rabbits Infected with Rabbitpox Virus, a Model for Orthopoxvirus Infections of Humans. *Viruses*. 2011;3:47–62. <https://doi.org/10.3390/v3010047>
34. Trost LC, Rose ML, Khouri J, Keilholz L, Long J, Godin SJ, Foster S. The efficacy and pharmacokinetics of brincidofovir for the treatment of lethal rabbitpox virus infection: A model of smallpox disease. *Antivir Res*. 2015;117:115–21. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2015.02.007>
35. Verreault D, Sivasubramani SK, Talton JD, Doyle LA, Reddy JD, Killeen SZ, et al. Evaluation of inhaled Cidofovir as Postexposure Prophylactic in an Aerosol Rabbitpox Model. *Antivir Res*. 2012;93(1):204–8. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2011.11.013>
- 36 Nalca A, Hatkin JM, Garza NL, Nichols DK, Norris SW, Hruby DE, Jordan R. Evaluation of orally delivered ST-246 as postexposure prophylactic and antiviral therapeutic in an aerosolized rabbitpox rabbit model. *Antivir Res*. 2008;79:121–7. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2008.03.005>

Вклад авторов / Authors contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **Л.Ф. Стомба** – формирование концепции статьи, написание текста рукописи; **А.А. Петров** – анализ данных научной литературы по проблематике и переработка текста рукописи; **Д.П. Белозеров** – составление таблиц; **О.В. Чухраля** – критический пересмотр и коррекция текста рукописи; **С.А. Мельников** – редактирование текста рукописи; **С.В. Борисевич** – сбор и анализ научной литературы, окончательное утверждение рукописи для публикации / All the authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **L.F. Stovba** has formulated the concept of the study, drafted the manuscript; **A.A. Petrov** has analyzed scientific literature and revised the manuscript; **D.P. Belozеров** has compiled the tables; **O.V. Chukhralia** has revised the text and has made necessary amendments to it; **S.A. Melnikov** has edited the manuscript; **S.V. Borisevich** has collected and analyzed scientific literature and has approved the final version of the manuscript for publication.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах / Authors

Федеральное государственное бюджетное учреждение «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, Российская Федерация, Московская область, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, д. 11.

Стовба Людмила Федоровна. Старший научный сотрудник, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7985-5516>

Петров Александр Анатольевич. Начальник управления, д-р мед. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9714-2085>

Белозеров Денис Петрович. Научный сотрудник.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1858-8689>

Чухралья Олег Васильевич. Заместитель начальника научно-исследовательского отдела.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2603-0860>

Мельников Сергей Алексеевич. Старший научный сотрудник, канд. биол. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3487-5829>

Борисевич Сергей Владимирович. Начальник ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, д-р биол. наук, профессор, академик РАН.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Контактная информация для всех авторов: 48cnii@mil.ru

Контактное лицо: Борисевич Сергей Владимирович; 48cnii@mil.ru

48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Octyabrskaya St., 11, Moscow region, SergievPosad-6 141306, Russian Federation.

Lyudmila F. Stovba. Senior Researcher of the Department. Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7985-5516>

Aleksandr A. Petrov. Chief of the Directorate. Dr. Sci. (Med.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9714-2085>

Denis P. Belozеров. Senior Researcher.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-1858-8689>

Oleg V. Chukhralia. Chief of the Department.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2603-0860>

Sergey A. Melnikov. Senior Researcher of the Department. Cand. Sci. (Biol.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3487-5829>

Sergey V. Borisevich. Chief of the Institute. Dr. Sci. (Biol.), Professor, Academician of RAS.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Contact information for all authors: 48cnii@mil.ru

Contact person: Sergey V. Borisevich; 48cnii@mil.ru



Разработка биоцидной пропитки для текстильных материалов различного состава

З.А. Шафигуллина[✉], С.Р. Бухаева, Н.П. Коломацкая, М.С. Сугонякина

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» (г. Екатеринбург) Министерства обороны Российской Федерации
620085, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Звездная, д. 1

✉ e-mail: 47051_l@mail.ru

Текстиль, используемый в медицинских учреждениях и других местах массового скопления людей во время эпидемий и боевых действий, подвержен биологической нагрузке и может являться источником микробного загрязнения.

Цель работы – оценить антимикробную эффективность биоцидных рецептур на основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) и полимерных производных гуанидина в качестве антибактериальных пропиток текстильных материалов из природных и синтетических волокон.

Материалы и методы. Исследовалась научная литература по биоцидным добавкам, доступная через открытые отечественные и англоязычные ресурсы. В работе использовались текстильные материалы из природных и синтетических волокон и антибактериальные пропитки (рецептуры) различного состава. В качестве тест-микроорганизмов – суточные агаровые культуры золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* (штамм 906) и кишечной палочки *Escherichia coli* (штамм 1257). Оценку эффективности антибактериальных пропиток для текстильных материалов в отношении тест-микроорганизмов выполняли с использованием методов «агаровых пластин» и «капельного заражения». Биоцидную пропитку антимикробной ткани считали эффективной, если величина зоны задержки роста тест-микроорганизмов составляла не менее 4 мм.

Результаты и обсуждение. В исследованной литературе не представлены сведения о возможности применения таких композиций в качестве пропитки для создания ткани с антимикробными свойствами. В ходе экспериментальных исследований получены данные о бактериостатических и бактерицидных свойствах используемых рецептур. Проведен сравнительный анализ полученных результатов, позволивший сделать вывод о наиболее эффективных рецептурах, используемых для пропитки различных видов тканей.

Выводы. Наилучшим антибактериальным эффектом в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов обладает пропитка, содержащая 0,05 % алкилдиметилбензиламмоний хлорида, 0,05 % полигексаметиленгуанидин гидрохлорида, 0,05 % триамина и 40,0 % пропиленгликоля, так как ее применение придает защитные свойства не только ткани смешанного состава (хлопок 65 % и полиэстер 35 %), но и синтетической ткани (полиамид 100 %). Рецептура, содержащая 0,05 % катанола и 40,0 % полиэтиленгликоля может быть использована для создания антибактериальной пропитки ткани смешанного состава против грамположительных микроорганизмов.

Ключевые слова: антимикробная пропитка; боевые действия; золотистый стафилококк; зона задержки роста; капельное заражение; кишечная палочка; полигуанидин; текстильный материал; четвертичное аммониевое соединение; эпидемии

Для цитирования: Шафигуллина З.А., Бухаева С.Р., Коломацкая Н.П., Сугонякина М.С. Разработка биоцидной пропитки для текстильных материалов различного состава. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(3):243–255. EDN:jgvkqn.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-243-255>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Финансирование: Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» (г. Екатеринбург) Министерства обороны Российской Федерации.

Поступила 16.05.2024 г. После доработки 22.07.2024 г. Принята к публикации 27.09.2024 г.

© З.А. Шафигуллина, С.Р. Бухаева, Н.П. Коломацкая, М.С. Сугонякина, 2024

Development of Biocidal Soaking Agents for Various Textile Goods

Zlata A. Shafigullina[✉], Svetlana R. Bukhaeva, Nina P. Kolomatskaya[†],
Maiya S. Sugonyakina

Branch Office of 48 Central Scientific Research Institute (Yekaterinburg) of the Ministry
of Defence of the Russian Federation
Zvezdnaya Str. 1, Yekaterinburg 620085, Russian Federation
[✉] e-mail: 47051_l@mil.ru

Textile materials that are used in medical facilities and other mass gathering locations, employed at the time of epidemics and military engagements are vulnerable to bioburden and may become a source of microbial contamination.

Purpose of the study – to evaluate antimicrobial efficiency of biocidal compositions that are based on quaternary ammonium compounds and guanidine derivative polymers that are used as antimicrobial soaking agents for natural and synthetic textiles.

Materials and methods. The authors have analyzed available literature on biocidal additives both in English and Russian languages. The authors also have tested natural and synthetic textiles and different antimicrobial soaking agents (compositions). One-day agar cultures of *Staphylococcus aureus* (strain 906) and *Escherichia coli* (strain 1257) served as test microorganisms. The efficiency of antimicrobial soaking agents for textiles towards test microorganisms has been evaluated by “agar plates” and “droplet infection” methods. Biocidal treatment of antimicrobial fabric was considered effective, if the inhibition zone of test microorganisms was at least 4 mm.

Results. The papers under analysis have no data on the possibility of use of such compositions as soaking agents that will permit to obtain antimicrobial fabrics. The experimental studies provided data on bacteriostatic and bactericidal properties of used compositions. The comparative analysis has allowed to determine the most efficient compositions used for soaking of different fabrics.

Conclusions. The soaking that contains 0,05% alkyldimethylbenzylammonium chloride, 0,05% polyhexamethylene guanidine hydrochloride, 0,05% triamin and 40,0% propylene glycol has turned out to be the most efficient one towards gram-positive and gram-negative microorganisms. It gives protective properties both to synthetic (polyamide 100%) and mixed fabrics (cotton 65% and Composition that contains 0,05% katanol and 40,0% polyethyleneglycol may be used to create antimicrobial soaking for fabrics of mixed compositions. This soaking may also be effective towards gram-positive microorganisms.

Keywords: antimicrobial soaking agents; droplet infection; epidemics; *Escherichia coli*; inhibition zone; military engagements; polyguanidine, *Staphylococcus aureus*; textile materials; quaternary ammonium compound

For citation: Shafigullina Z.A., Bukhaeva S.R., Kolomatskaya N. P., Sugonyakina M.S. Development of Biocidal Soaking Agents for Various Textile Goods. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(3):243–255. EDN:jgvkqn. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-243-255>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Funding: Branch Office of 48 Central Scientific Research Institute of the Ministry of Defence of the Russian Federation (Yekaterinburg), Zvezdnaya Street 1, Yekaterinburg.

Received May 16, 2024. Revised July 22, 2024. Accepted September 27, 2024

Текстиль, используемый в медицинских учреждениях и других местах массового скопления людей во время эпидемий и боевых действий, подвержен биологической нагрузке и может являться источником микробного загрязнения. Наибольшему микробному

[†] Deceased.

обсеменению подвергаются униформа медицинских работников [1, 2], одежда и постельное белье пациентов в период их госпитализации [3, 4], шторы и жалюзи в помещениях [5, 6].

В связи с массовым внедрением в практику медицинской дезинфекции средств на основе поверхностно-активных веществ (ПАВ), в частности биоцидных рецептур на основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), становится актуальной проблема возможного формирования к ним устойчивых штаммов микроорганизмов. Для решения этой проблемы необходима разработка многокомпонентных дезинфицирующих композиций, в состав которых входят активнодействующие вещества в минимальных эффективных концентрациях.

Цель работы – оценить антимикробную эффективность биоцидных рецептур на основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) и полимерных производных гуанидина в качестве антибактериальных пропиток текстильных материалов из природных и синтетических волокон.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

1. Провести анализ достигнутого уровня в создании текстильных материалов, обладающих бактерицидными свойствами.

2. Экспериментально оценить бактериостатические и бактерицидные свойства тестовых образцов.

3. Провести сравнительный анализ и представить оценку эффективности использованных рецептур для создания антимикробной пропитки, применяемой к различным видам тканей.

Материалы и методы

Исследовалась научная литература, доступная через открытые отечественные и англоязычные ресурсы. Основное внимание уделялось поиску и анализу информации о возможности применения композиций на основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС) и полимерных производных гуанидина в качестве антибактериальных пропиток для создания ткани с антимикробными свойствами.

При выборе веществ, используемых для создания антимикробных пропиток, важным условием являлось их соответ-

ствие классу опасности 3 или ниже согласно ГОСТ 12.1.007-76¹. В работе использованы следующие вещества для создания пропиток:

- алкилдиметилбензиламмоний хлорид, содержание основного вещества 50 %, 4 класс опасности, CAS: 68391-01-5, производитель ООО «Спектропласт», Россия;

- полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, 3 класс опасности, производитель ООО «ФАРМА-ПОКРОВ», Россия;

- триамин (N,N-бис(3-аминопропил)додециламин), содержание основного вещества 29,5 %, 4 класс опасности, производитель Lonza, Швейцария;

- 1,2-пропиленгликоль, ХЧ, 3 класс опасности, ТУ 6-09-2434-81 изм. 1-4, производитель ЗАО «Химреактивснаб», Россия;

- катанол, 4 класс опасности, производитель ООО «РусХимСинтез»;

- полиэтиленгликоль (полиэтиленоксид-400, ПЭГ 400), 3 класс опасности, ТУ 2483-007-71150986-2006 изм. 1-4, CAS: 25322-68-3, производитель ГК «НОРКЕМ», Россия.

Для придания текстильным материалам антибактериальных свойств были приготовлены дезинфицирующие рецептуры следующего состава (концентрации компонентов указаны в процентах по активно действующему веществу):

1) алкилдиметилбензиламмоний хлорид – 0,05 %, полигексаметиленгуанидин гидрохлорид – 0,05 %, триамин – 0,05 %, пропиленгликоль – 40,0 % (далее – рецептура № 1);

2) катанол – 0,05 %, полиэтиленгликоль (полиэтиленоксид-400) – 40,0 % (далее – рецептура № 2).

Процентное содержание веществ в представленных рецептурах определено на основании показателей минимальных эффективных концентраций для тест-микроорганизмов, использованных в исследовании².

В качестве тест-образцов текстильных материалов для испытаний по оценке эффективности антимикробных пропиток использованы:

- хлопок 65 % и полиэстер 35 % – ткань костюма летнего ВКПО, тип А, ТУ 858 6549 2019);

- ткань синтетическая мембранная (полиамид 100 %, политетрафторэтиленовая мем-

¹ ГОСТ 12.1.007 76. Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие технические требования безопасности. М.: Стандартинформ; 2007. 7 с.

² Изучение антимикробной активности основных дезинфицирующих веществ дезинфицирующих средств и кожных антисептиков (тема 4.1.1): отчет о научно-исследовательской работе (промежуточный). ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора; рук. Шестопалов Н.В.; исполн.: Федорова Л.С. [и др.]. М.; 2019. 22 с.

брана) – ткань костюма ветровозащитного, артикул 01.004619;

- полиамид 98 % и эластан 2 % – ткань куртки-ветровки.

Типовым текстильным материалом (образцом сравнения) при оценке эффективности тестируемых антибактериальных пропиток служил хлопок 100 %, ГОСТ 29298.

Анализ достигнутого уровня в создании текстильных материалов, обладающих бактерицидными свойствами. Одной из тенденций, направленных на минимизацию микробной нагрузки и снижение рисков контактного переноса патогенных микроорганизмов является создание текстиля с антимикробными свойствами. Такие текстильные материалы находят широкое применение в медицинских организациях³. Они используются для производства нательного и постельного белья, спецодежды⁴ [7] и изготовления перевязочных материалов⁵, что позволяет снизить риск распространения внутрибольничных инфекций [8].

На примере экспериментальных исследований по оценке антибактериальных свойств текстиля медицинского назначения было показано, что образцы тканей производителей «Вологодский льнокомбинат» (нити волокон обработаны триклозаном на стадии изготовления в процессе крейзинга) и «Чайковский текстиль» (антибактериальная отделка AntiBacterial швейцарской компании Sanitized AG) обладают высокой антимикробной активностью. Размер зоны задержки роста по периметру тест-образцов из данных тканей в отношении *Staphylococcus epidermidis* составил от 4 до 5 мм, а *Pseudomonas aeruginosa* – 2 мм. Ткани производства «Вологодский льнокомбинат» способны сохранять антибактериальные свойства в отношении эпидермального стафилококка после 5 стирок, тогда как ткани производства «Чайковский текстиль» – после 10 стирок. Образцы тканей вышеуказанных производителей проявляют

бактериостатические свойства в отношении госпитального штамма *P. aeruginosa*⁶.

Ткани, способные длительное время сохранять бактерицидные свойства, часто используют для изготовления перевязочного материала, салфеток, простыней для операционных; антисептического белья, одежды и матрацев для инфекционных больниц, родильных домов, поликлиник, хирургических отделений больниц и ожоговых центров [9].

Антимикробные текстильные материалы и волокна также могут быть использованы в быту при изготовлении чехлов для матрацев, скатертей, полотенец, носовых платков, а также упаковочных материалов для пищевых продуктов. Возможно, такие материалы найдут применение для изготовления носков, чулок и белья для людей, находящихся в особых условиях, когда невозможна частая смена белья⁷.

Разнообразие материалов, производимых текстильной промышленностью, представлено природными полимерами (в основном целлюлозными волокнами из хлопка), синтетическими полимерами (обычно полиэфирами, например, полиэтилентерефталатом, полиакрилатами и их сополимерами) и полимерными смесями (чаще всего смесью хлопковых волокон и полиэтилентерефталата в разных весовых соотношениях). В мире для производства текстиля на долю хлопкового волокна приходится около 33 %. На долю применения синтетических волокон, таких как полиэстер, полиамид, полипропилен, полиэтиленвинилацетат, полиуретановый эластомер (спандекс, лайкра, эластан) и другие высокопластичные волокна приходится более 60 % [10]. Таким образом, при разработке составов биоцидных пропиток необходимо учитывать их сочетаемость с другими отделочными препаратами и текстильно-вспомогательными веществами, а также адсорбирующие свойства текстильных материалов, на которые они будут нанесены.

³ Ткани для медицинских изделий специального назначения (чехлы и наматрасники). URL: <https://textile.ru/production/technology/speznaznach> (дата обращения: 20.10.2023).

⁴ Пат. RU 2619704, МПК D06M10/00. Способ получения текстильного материала с антимикробными свойствами для спецодежды : № 20161197112А; заявл. 20.05.2016; опубл. 17.05.2017 / В.В. Хамматова, И.Ф. Сайфутдинова, Д.Р. Шатаева; заявитель ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский университет». – 1 с.

⁵ Rajendran S. Advanced textiles for wound care. 2018. URL: <https://www.sciencedirect.com/book/9780081021927/advanced-textiles-for-wound-care> (дата обращения: 19.06.2023).

⁶ Виноградова Н.А. Разработка методов оценки качества тканей медицинского назначения, предназначенных для сотрудников поликлиник: автореф. дис. ... канд. тех. наук. М.; 2019. 16 с.

⁷ Изучение антимикробной активности основных дезинфицирующих веществ дезинфицирующих средств и кожных антисептиков (тема 4.1.1): отчет о научно-исследовательской работе (промежуточный). ФБУН НИИ Дезинфектологии Роспотребнадзора; рук. Шестопалов Н.В.; исполн.: Федорова Л.С. [и др.]. М.; 2019. 22 с.

Существует два основных подхода к созданию текстильных материалов с антимикробными свойствами – это химическая и физико-механическая модификация [11].

Простым и доступным методом получения текстильного материала с антимикробными свойствами является обработка готовой ткани (изделий) антимикробным составом (разновидность химической модификации). Данный метод экономически наиболее выгоден, так как не требует значительной перестройки технологического процесса.

По механизму действия антимикробные агенты, используемые для пропитки тканей, можно разделить на 2 группы – биостатические и биоцидные. Биостатические добавки подавляют микроорганизмы, но не приводят к их гибели, тогда как пропитки с биоцидным эффектом обеспечивают снижение количества жизнеспособных клеток⁸.

Для придания тканям противомикробных свойств применяется широкий спектр действующих веществ, среди которых наиболее распространены: N-галамины, галогенированные фенолы, металлы, соли металлов и их оксиды, соединения природного происхождения (флавоноиды, хиноны, дубильные вещества, пептиды), полимерные производные гуанидина [12] и четвертичные аммониевые соединения [11, 13].

Применение таких катионных полимеров, как хлорид диметилдодecil [3-(триметоксилил) пропил] аммония в качестве пропитки для хлопчатобумажной ткани позволяет получить материал с выраженными антибактериальными свойствами [14]. При стирке такой хлопчатобумажной ткани с анионным моющим средством происходит инактивация антибактериальных агентов. Решением этой проблемы является увеличение количества наносимого на текстиль катионного полимера, однако чрезмерная пропитка ухудшает драпируемость ткани, повышает ее жесткость и шероховатость.

Известен способ получения вискозного штапельного волокна с антимикробными свойствами. Способ заключается в про-

мывке сформованных вискозных нитей, отжиме и последующей обработке водным раствором катамина АБ [15]. Полученный материал обладает повышенными антимикробными свойствами, пониженным аэродинамическим сопротивлением. Однако при применении катамина АБ следует соблюдать осторожность, так как раствор катамина оказывает раздражающее действие на кожу и слизистую оболочку глаз⁹ [16].

Доказано, что композиции, содержащие ЧАС и гуанидиновые поликатионы, обладают большим бактерицидным действием, чем каждый из дезинфектантов в отдельности. Это позволяет расширить спектр противомикробной активности. Благодаря способности полигуанидинов образовывать на обрабатываемой поверхности молекулярную полимерную пленку срок сохранения антимикробного действия рецептуры возрастает в несколько раз [17]. В исследованной нами литературе не представлены сведения о возможности применения таких композиций в качестве пропитки для создания ткани с антимикробными свойствами.

Результаты

Внешний вид тест-образцов текстильных материалов, используемых в испытаниях представлен на *рисунке 1*.

Из вышеуказанных тканей изготавливали тест-образцы размером (2×2) см и (2×2,5) см. Подготовка тест-образцов включала их погружение в емкости с растворами испытываемых дезинфицирующих рецептур до полного смачивания и высушивание в сушильном шкафу ED 115 (Binder, Германия) при температуре плюс (37,0±1,0) °С.

В качестве тест-микроорганизмов использовали суточные агаровые культуры золотистого стафилококка – *Staphylococcus aureus* (штамм 906) и кишечной палочки – *Escherichia coli* (штамм 1257) из коллекции филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Екатеринбург), обладающие стандартной устойчивостью к эталонным дезинфицирующим средствам в соответствии с Руководством Р. 4.2.3676-20¹⁰.

⁸ Калонтаров ИЯ, Ливерант ВЛ. Придание текстильным материалам биоцидных свойств и устойчивости к микроорганизмам. Душанбе: Дониш; 1981. 202 с.

⁹ Пат. RU 2304186С1, МПК D01F 2/06, МПК D04Н 1/46. Способ получения вискозного штапельного волокна с антимикробным препаратом и нетканого материала из него / П.А. Буягин, В.Х. Демтиров, Ю.В. Карасев [и др.]; заявитель и патентообладатель ООО Научно-исследовательский центр химических волокон Вискоза, ООО Центральная компания Межгосударственной промышленно-финансовой группы Формаш. № 2006109634/04; заявл. 28.03.2006; опубл. 10.08.2007. 7 с.

¹⁰ Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Руководство Р 4.2.3676 20. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2020. 490 с.

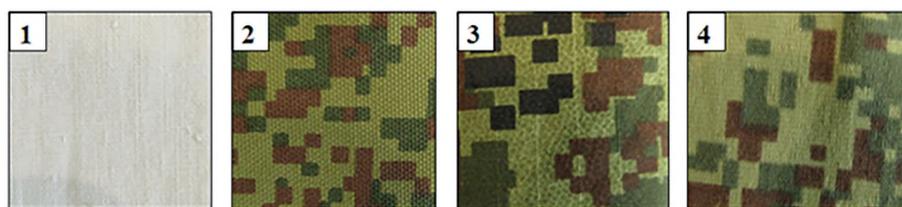


Рисунок 1 – Используемые образцы текстильных материалов: 1 – хлопок 100 %; 2 – хлопок 65 % и полиэстер 35 %; 3 – ткань синтетическая мембранная (полиамид 100 %, политетрафторэтиленовая мембрана); 4 – полиамид 98 % и эластан 2 % (фотографии выполнены авторами)

Figure 1 – Samples of textile materials used: 1 – 100% cotton; 2 – 65% cotton and 35% polyester; 3 – synthetic membrane fabric (100% polyamide, polytetrafluoroethylene membrane); 4 – 98% polyamide and 2% elastane (photos taken by the authors)

Биологическую концентрацию тест-микроорганизмов в микробной суспензии определяли в соответствии с п.п. 3.2.2.4 Руководства Р. 4.2.3676-20¹¹. Для культивирования *S. aureus* (штамм 906) применяли триптон-соевый агар (каталожный номер M290, фирма HiMedia, Индия), а для *E. coli* (штамм 1257) – агар Эндо (каталожный номер M029, фирма HiMedia, Индия). Внешний вид колоний тест-микроорганизмов на плотных питательных средах представлен на рисунке 2.

Испытания проводили в лабораторных условиях при температуре окружающей среды и рецептур для создания антибактериальной пропитки (22,0±0,1) °С.

В соответствии с п.п. 3.8.1.1 Руководства Р. 4.2.3676-20¹² для предварительной оценки антибактериальных свойств тканей, пропитанных тестируемыми дезинфицирующими рецептурами, применяли метод «агаровых пластин». Для этого растопленный на водяной бане и охлажденный до плюс 45 °С питательный агар смешивали в соотношении

100:1 со взвесью тест-микроорганизмов, содержащей 10^8 КОЕ·см⁻³, и разливали в чашки Петри по 20 см³. После застывания смеси питательного агара с микроорганизмами в центр каждой чашки Петри помещали тест-образец испытываемой ткани с пропиткой размером (2×2) см и инкубировали в термостате при температуре (37,0±1,0) °С. Учет результатов в отношении тест-культуры *E. coli* (штамм 1257) проводили через 24 ч, а в отношении *S. aureus* (штамм 906) – через 48 ч.

Величину зон задержки роста микроорганизмов определяли путем измерения расстояния от края тест-образца до границы роста микроорганизмов вокруг теста (по четырем сторонам каждого тест-объекта). Антимикробные ткани, исследованные данным методом, считали эффективными, если величина зоны задержки роста тест-микроорганизмов составляла не менее 4 мм¹³.

Для количественной оценки антимикробной активности исследуемых тканей

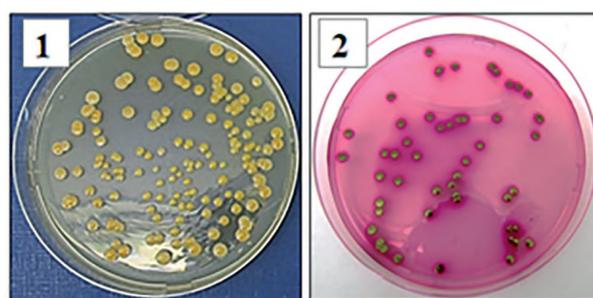


Рисунок 2 – Внешний вид колоний тест-микроорганизмов на плотных питательных средах. 1 – *S. aureus* (штамм 906), 2 – *E. coli* (штамм 1257) (фотографии выполнены авторами)

Figure 2 – Test microorganisms colonies on solid nutrient media. 1 – *S. aureus* (strain 906), 2 – *E. coli* (strain 1257) (photos taken by the authors)

¹¹ Там же.

¹² Там же.

¹³ Там же.

применяли метод «капельного заражения»¹⁴. На исследуемые тест-образцы размерами (2×2,5) см, пропитанные дезинфицирующими составами, наносили пипеткой 0,1 см³ суспензии 18-часовой культуры микроорганизмов *S. aureus* (штамм 906) или *E. coli* (штамм 1257) из расчета получения плотности контаминации не менее 1×10⁵ КОЕ·см⁻². В качестве контрольных тест-образцов использовали аналогичные ткани, не обработанные антимикробными пропитками. По истечении 5; 15 и 30 мин экспозиции опытные и контрольные образцы помещали во флаконы с 10 см³ нейтрализующей жидкости (2,5 % тиосульфата натрия, 7,0 % лецитина, 3,0 % твина 80 и 0,05 % лаурилсульфата натрия) и фарфоровой дробью. Отобранные пробы шутеллировали в течение 30 с и высевали на плотную питательную среду. После инкубации проводили подсчет колоний тест-микроорганизмов, выросших на чашках Петри.

Наглядная иллюстрация этапов оценки антибактериальной активности тканей методом «капельного заражения» представлена на рисунке 3.

Количество жизнеспособных микроорганизмов на единицу площади тест-образца (1 см²) рассчитывали по формуле (1):

$$N = \frac{x \cdot v}{s \cdot v_1} \cdot r \quad (1)$$

где N – количество жизнеспособных тест-микроорганизмов на поверхности, КОЕ·см⁻²;

x – среднее количество колоний, выросших на чашках Петри, КОЕ; v – объем смывной (нейтрализующей) жидкости, см³;

s – площадь поверхности, с которой взят смыв, см²;

v_1 – объем смывной (нейтрализующей) жидкости, посеянной на чашку Петри, см³;

r – разведение пробы, безразмерный коэффициент.

Испытания были проведены в трехкратной повторности, полученные результаты подвергали статистической обработке с доверительной вероятностью, равной 0,95. Результаты исследований, приведенные в таблицах, представлены в виде среднего арифметического значения ± стандартная ошибка среднего.

В рамках экспериментального исследования оценена эффективность антибактериальных пропиток (рецептуры № 1 и 2) для образцов тканей различного состава с использованием метода «агаровых пластин» и «капельного заражения».

Обсуждение результатов

Результаты предварительной оценки антибактериальных свойств тканей, пропитанных рецептурами № 1 и 2 в отношении тест-культуры *S. aureus* (штамм 906) представлены в таблице 1.

Пропитка тест-образцов из хлопка, а также из хлопка с полиэстером рецептурой № 1 обеспечивала задержку роста клеток *S. aureus* (штамм 906) на (4,49±0,57) мм и (4,16±0,44) мм соответственно. Применение той же рецептуры для придания антибактериальных свойств тканевым образцам из полиамида и полиамида с эластаном обеспечивало задержку роста клеток золотистого стафилококка на (1,69±0,44) мм и (1,13±0,99) мм соответственно (таблица 1).

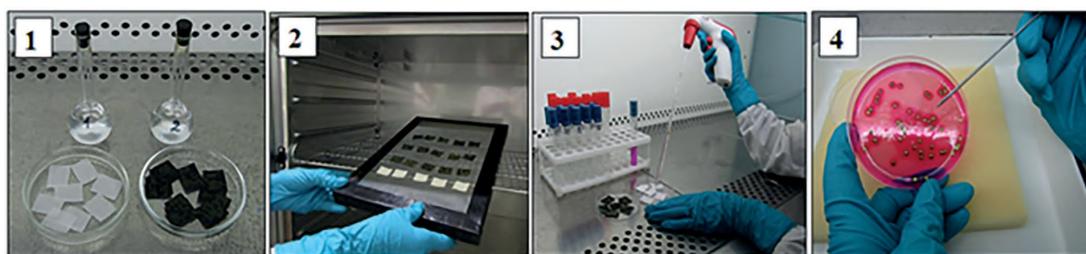


Рисунок 3 – Этапы оценки антибактериальной активности тканей методом «капельного заражения»: 1 – пропитка тест-образцов текстильных материалов рецептурой; 2 – высушивание тест-образцов на сетчатой подложке в сухожаровом шкафу; 3 – капельное заражение тканевых образцов суспензией микроорганизмов; 4 – учет количества тест-микроорганизмов на чашках Петри (фотографии выполнены авторами)

Figure 3 – Stages of antimicrobial activity evaluation of tissues (droplet infection method): 1 – to soak textile material test samples with the formula; 2 – to dry test samples on netted bedding in a dry heat oven; 3 – to infect tissue samples with a suspension that contains microorganisms by droplets; 4 – consider the amount of test microorganisms on Petri dishes (photos taken by the authors)

¹⁴ Там же.

Таблица 1 – Размеры зоны задержки роста клеток *S. aureus* (штамм 906) по периметру тканевых тест-образцов, пропитанных тестируемыми дезинфицирующими рецептурами
Table 1 – Dimensions of *S. aureus* cells inhibition zone (strain 906) along the perimeter of tissue test samples soaked with the tested disinfectant formulations

Состав ткани / Fabric composition	Пропитка / Soaking agent	Размер зоны задержки роста, мм / Inhibition zone size, mm
Хлопок 100 % / Cotton 100%	№ 1	4,49±0,57
	№ 2	3,62±0,47
Хлопок 65 % + полиэстер 35 % / Cotton 65% + Polyester 35%	№ 1	4,16±0,44
	№ 2	3,88±0,50
Полиамид 100 % / Polyamide 100%	№ 1	1,69±0,44
	№ 2	1,37±0,51
Полиамид 98 % + эластан 2 % / Polyamide 98% + Elastane 2%	№ 1	1,13±0,99
	№ 2	<1,00

Примечание.
Таблица составлена авторами по собственным данным.
Note.
The table is compiled by the authors according to their own data.

Фотографии, представленные на рисунке 4, наглядно отображают размеры зон задержки роста тест-культуры *S. aureus* (штамм 906) по периметру тканевых образцов, пропитанных рецептурой № 1.

В таблице 2 приведены значения размеров зон задержки роста тест-культуры *E. coli* (штамм 1257) по периметру тканевых образцов с пропиткой № 1 и 2.

Зона ингибирования роста колоний тест-микрорганализма *E. coli* (штамм 1257)

вокруг образцов из хлопка, пропитанных рецептурой № 1, составляла (2,75±0,89) мм, а для образцов из хлопка с полиэстером – (2,04±0,38) мм (таблица 2).

Следует отметить, что для тест-образцов из хлопка и хлопка с полиэстером, обладающих высокой гигроскопичностью, размер зоны задержки роста микроорганизмов больше, чем для образцов из синтетической ткани. Представленные на рисунке 5 фотографии наглядно это демонстрируют.

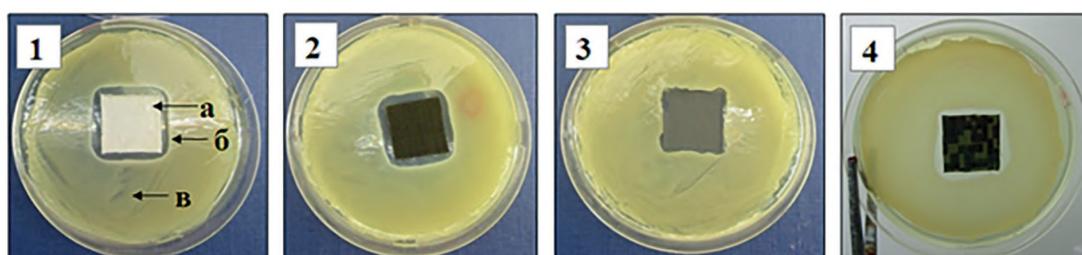


Рисунок 4 – Зоны задержки роста клеток *S. aureus* (штамм 906) по периметру тест-образцов, пропитанных рецептурой № 1. Тест-образцы текстильных материалов с пропиткой: 1 – хлопок 100 %; 2 – хлопок 65 % и полиэстер 35 %; 3 – полиамид 100 %; 4 – полиамид 98 % и эластан 2 %; а – тканевый тест-образец, б – зона задержки роста тест-микрорганализма, в – рост тест-микрорганализма на плотной питательной среде (фотографии выполнены авторами)

Figure 4 – *S. Aureus* inhibition zone (strain 906) along the perimeter of test samples, soaked with the formulation № 1. Test samples of textiles soaked with the formulation: № 1 – cotton 100%; 2 – cotton 65% and polyester 35%; 3 – polyamide 100%; 4 – polyamide 98% and elastane 2%; a – tissue test sample, б – test microorganism inhibition zone, в – growth of test microorganism on a solid nutrient medium (photos taken by the authors)

Таблица 2 – Размеры зоны задержки роста клеток *E. coli* (штамм 1257) по периметру тканевых тест-образцов, пропитанных тестируемыми дезинфицирующими рецептурами
Table 2 – Dimensions of *E. coli* cells inhibition zone (strain 1257) along the perimeter of tissue test samples soaked with the tested disinfectant formulations

Состав ткани / Fabric composition	Пропитка / Soaking agent	Размер зоны задержки роста, мм / Inhibition zone size, mm
Хлопок 100 % / Cotton 100%	№ 1	2,75±0,89
	№ 2	<1,00
Хлопок 65 % + полиэстер 35 % / Cotton 65% + Polyester 35%	№ 1	2,04±0,38
	№ 2	<1,00
Полиамид 100 % / Polyamide 100%	№ 1	<1,00
	№ 2	Отсутствует / Absent
Полиамид 98 % + эластан 2 % / Polyamide 98% + Elastane 2%	№ 1	<1,00
	№ 2	Отсутствует / Absent
Примечание. Таблица составлена авторами по собственным данным. Note. The table is compiled by the authors according to their own data.		

Пропитка образцов тканей рецептурой № 2 не обеспечивала регламентированной Руководством Р. 4.2.3676-20 задержки роста тест-микроорганизмов *S. aureus* (штамм 906) и *E. coli* (штамм 1257) (таблица 1 и 2).

В таблице 3 приведены данные об эффективности испытываемых рецептур для пропитки текстильных материалов в отношении тест-культуры *S. aureus* (штамм 906). Пропитка образцов из хлопка рецептурами № 1 и 2 обеспечивала полную инактивацию клеток *S. aureus* (штамм 906) через 15 мин

после нанесения на них микробной культуры. На тест-образцах ткани из хлопка с полиэстером, пропитанных рецептурами № 1 и 2, полной гибели микроорганизмов удавалось достичь при тридцатиминутной экспозиции (таблица 3).

Пропитка тест-образцов из полиамида дезинфицирующей рецептурой № 1 обеспечивала снижение плотности контаминации клетками *S. aureus* (штамм 906) на три порядка по сравнению с контрольными образцами, в то время как обработка данным

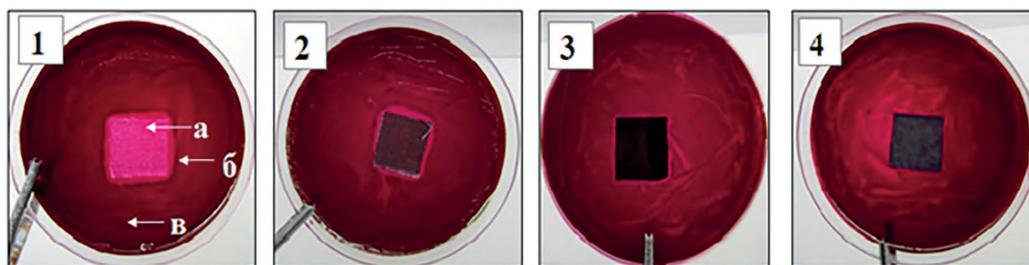


Рисунок 5 – Зоны задержки роста клеток *E. coli* (штамм 1257) по периметру тест-образцов, пропитанных рецептурой № 1 (тест-образцы текстильных материалов с пропиткой: 1 – хлопок 100 %; 2 – хлопок 65 % и полиэстер 35 %; 3 – полиамид 100 %; 4 – полиамид 98 % и эластан 2 %; а – тканевый тест-образец, б – зона задержки роста тест-микроорганизма, в – рост тест-микроорганизма на плотной питательной среде (фотографии выполнены авторами)

Figure 5 – *E. coli* inhibition zone (strain 1257) along the perimeter of test samples, soaked with the formulation № 1. Test samples of textiles soaked with the formulation № 1: 1 – cotton 100%; 2 – cotton 65% and polyester 35%; 3 – polyamide 100%; 4 – polyamide 98% and elastane 2%; a – tissue test sample, б - growth retardation zone of the test microorganism, в - growth of the test microorganism on a solid nutrient medium (photos taken by the authors)

Таблица 3 – Эффективность испытанных рецептур для пропитки тканевых образцов в отношении тест-культуры *S. aureus* (штамм 906)
Table 3 – The efficiency of the tested formulations for soaking of test samples in terms of *S. aureus* test culture (strain 906)

Состав ткани / Fabric composition	Пропитка / Soaking agent	Исходная плотность контаминации тест-образцов, 10 ⁵ КОЕ·см ⁻² / The initial contamination density of the test samples, 10 ⁵ CFU·cm ⁻²	Остаточное количество жизнеспособных микроорганизмов на опытных тест-образцах через ... мин, КОЕ·см ⁻² / The residual amount of viable microorganisms at the experimental test samples in ... min, CFU·cm ⁻²		
			5	15	30
Хлопок 100 % / Cotton 100%	№ 1	4,30±1,71	(5,70±0,30)·10 ³	Не обнаружено / Not detected	Не обнаружено / Not detected
	№ 2	4,45±1,51	(9,00±1,07)·10 ²	Не обнаружено / Not detected	Не обнаружено / Not detected
Хлопок 65 % + полиэстер 35 % / Cotton 65% + Polyester 35%	№ 1	2,47±0,64	(4,88±1,22)·10 ³	(9,60±0,58)·10 ²	Не обнаружено / Not detected
	№ 2	2,82±0,85	(1,25±0,66)·10 ⁴	(4,97±1,68)·10 ²	Не обнаружено / Not detected
Полиамид 100 % / Polyamide 100%	№ 1	3,53±1,21	(6,20±1,05)·10 ³	(7,20±3,39)·10 ²	(6,08±1,60)·10 ²
	№ 2	3,38±0,74	(2,88±0,75)·10 ⁵	(2,30±1,57)·10 ⁵	(1,25±0,62)·10 ⁵
Полиамид 98 % + эластан 2 % / Polyamide 98% + Elastane 2%	№ 1	4,70±1,15	(2,00±0,19)·10 ⁵	(8,00±1,47)·10 ⁴	(3,35±1,63)·10 ⁴
	№ 2	4,93±1,33	(1,93±0,17)·10 ⁵	(1,60±0,59)·10 ⁵	(1,43±0,50)·10 ⁴
Примечание. Таблица составлена авторами по собственным данным. Note. The table is compiled by the authors according to their own data.					

составом образцов из полиамида с эластаном позволяла снизить плотность заражения на один порядок (таблица 3).

Из данных, представленных в таблице 3, видно, что пропитка тканевых образцов из полиамида и полиамида с эластаном рецеп-

турой № 2 не придавала им антимикробных свойств в отношении золотистого стафилококка в течение тридцатиминутной экспозиции.

В таблице 4 представлены показатели исходной и остаточной плотности заражения

Таблица 4 – Эффективность испытанных рецептур для пропитки тканевых образцов в отношении тест-культуры *E. coli* (штамм 1257)
Table 4 – The efficiency of the tested formulations for soaking of test samples in terms of *E. coli* test culture (strain 1257)

Состав ткани / Fabric composition	Пропитка / Soaking agent	Исходная плотность контаминации тест-образцов, 10 ⁵ КОЕ·см ⁻² / The initial contamination density of the test samples, 10 ⁵ CFU·cm ⁻²	Остаточное количество жизнеспособных микроорганизмов на опытных тест-образцах через ... мин, КОЕ·см ⁻² / The residual amount of viable microorganisms at the experimental test samples in ... min, CFU·cm ⁻²		
			5	15	30
Хлопок 100 % / Cotton 100%	№ 1	1,90±0,76	(2,66±0,64)·10 ³	(3,00±1,40)·10 ¹	Не обнаружено / Not detected
	№ 2	1,70±0,38	(4,96±1,96) 10 ³	(4,80±0,28)·10 ²	Не обнаружено / Not detected
Хлопок 65 % + полиэстер 35 % / Cotton 65% + Polyester 35%	№ 1	2,13±0,66	(9,83±0,16)·10 ⁴	(1,60±0,10)·10 ⁴	(8,45±0,43)·10 ²
	№ 2	4,33±1,83	(1,43±0,95)·10 ⁵	(1,33±0,75)·10 ⁵	(1,47±0,22)·10 ⁴

Продолжение таблицы 4

Состав ткани / Fabric composition	Пропитка / Soaking agent	Исходная плотность контаминации тест-образцов, 10^5 КОЕ·см ⁻² / The initial contamination density of the test samples, 10^5 CFU·cm ⁻²	Остаточное количество жизнеспособных микроорганизмов на опытных тест-образцах через ... мин, КОЕ·см ⁻² / The residual amount of viable microorganisms at the experimental test samples in ... min, CFU·cm ⁻²		
			5	15	30
Полиамид 100 % / Polyamide 100%	№ 1	2,78±1,33	$(4,92±2,26)·10^4$	$(3,33±1,63)·10^4$	$(8,86±3,77)·10^3$
	№ 2	2,78±1,33	$(2,00±0,70)·10^5$	$(1,79±0,17)·10^5$	$(1,66±0,36)·10^5$
Полиамид 98 % + эластан 2 % / Polyamide 98% + Elastane 2%	№ 1	3,75±1,28	$(9,79±1,39)·10^4$	$(1,70±0,80)·10^4$	$(2,27±0,42)·10^3$
	№ 2	7,49±2,05	$(4,55±1,13)·10^5$	$(1,47±0,21)·10^5$	$(6,30±3,70)·10^4$
Примечание. Таблица составлена авторами по собственным данным. Note. The table is compiled by the authors according to their own data.					

клетками *E. coli* (штамм 1257) тканевых тест-образцов с пропитками № 1 и 2.

Наибольшей эффективностью в отношении тест-культуры *E. coli* (штамм 1257) обладала пропитка № 1 (таблица 4). Применение данного состава на образцах из хлопка обеспечивало полную инактивацию клеток кишечной палочки в течение 30 мин, а на образцах из хлопка с полиэстером снижало плотность контаминации на три порядка (таблица 4).

После 30 мин экспозиции на тест-образцах из полиамида и полиамида с эластаном, пропитанных рецептурой № 1, зафиксировано снижение плотности контаминации клетками *E. coli* (штамм 1257) на два порядка (таблица 4) по сравнению с контрольными образцами из тех же тканей.

Рецептура № 2 эффективна в отношении клеток *E. coli* (штамм 1257) в качестве пропитки хлопка (30 мин), на других тканях снижение уровня контаминации этого тест-микроорганизма происходило не более чем на один порядок.

Выводы

1. Пропитка ткани из хлопка с полиэстером рецептурой № 1, содержащей 0,05 % алкилдиметилбензиламмоний хлорида, 0,05 %

полигексаметиленгуанидин гидрохлорида, 0,05 % триамина, и 40,0 % пропиленгликоля, придает текстильному материалу антимикробные свойства, обеспечивая полную инактивацию клеток *S. aureus* (штамм 906) и снижение контаминации клетками *E. coli* (штамм 1257) на три порядка через 30 мин экспозиции.

2. Применение рецептуры № 1 для пропитки синтетической мембранной ткани из полиамида позволяет получить материал, обеспечивающий снижение микробной контаминации на три порядка в отношении тест-культуры *S. aureus* (штамм 906) и на два порядка в отношении тест-культуры *E. coli* (штамм 1257).

3. Рецептура № 2, содержащая 0,05 % катанола и 40,0 % полиэтиленгликоля, может быть применена для создания антибактериальной пропитки ткани из хлопка с полиэстером в отношении грамположительных бактерий, например *S. aureus* (штамм 906).

4. В качестве антибактериальной пропитки текстильных материалов различного состава может быть рекомендована рецептура № 1, так как ее применение придает защитные свойства не только ткани смешового состава (хлопок 65 % и полиэстер 35 %), но и синтетической ткани (полиамид 100 %).

Ограничения исследования / Limitations of the study

Сохраняемость антимикробных свойств текстильного материала после их пропитки, а также показатели их токсичности, в данной работе не изучались, что является предметом наших дальнейших исследований / The persistence of antimicrobial properties of textile materials after impregnation, as well as their toxicity indicators, were not studied in this work, which is the subject of our further research.

Список источников/References

1. Goyal S, Khot SC, Ramachandran V, Shah KP, Musher DM. Bacterial contamination of medical provides while coast and surgical scrubs: a systematic review. *American Journal of Infection Control*. 2019;47(8):994–1001. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2019.01.012>
2. Mishra SK, Maharjan S, Yadav SK, Sah NP, Sharma S, Parajuli K, et al. Bacteria on medical professionals while coast in a university hospital. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2020;2020:5957284. <https://doi.org/10.1155/2020/5957284>
3. Dunn D. Linen: the new frontier in infection control and prevention. *AORN Journal*. 2022;115:310–324. <https://doi.org/10.1002/aorn.13643>
4. Cheng VCC, Chen JHK, Leung SSM, So SYC, Wong SCY, et al. Seasonal outbreak of bacillus bacteremia associated with contaminated linen in Hong Kong. *Clinical Infectious Diseases*. 2017;64(suppl_2):S91–7. <https://doi.org/10.1093/cid/cix044>
5. Ohl M, Schweizer M, Graham M, Heilmann K, Boyken L, Diekema D. Hospital privacy curtains are frequently and rapidly contaminated with potentially pathogenic bacteria. *American Journal of Infection Control*. 2012;40(10):904–6. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2011.12.017>
6. Shek K, Patidar R, Kohja Z, Liu S, Gawaziuk JP, Gawthrop M, et al. Rate of contamination of hospital privacy curtains in a burns/plastic ward: a longitudinal study. *American Journal of Infection Control*. 2018;46(9):1019–21. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2018.03.004>
7. Simoncic B, Tomsic B. Structures of Novel Antimicrobial Agents for Textiles – A Review. *Textile Research Journal*. 2010;80(16):1721–37. <https://doi.org/10.1177/0040517510363193>
8. Li H, Fernandez A, Pleixats R, Vallribera A. Anti-inflammatory cotton fabrics and silica nanoparticles with potential topical medical application. *ACS Applied Materials & Interfacess*. 2020;12(23):25658–75.
9. Халиуллина МК, Гадельшина ЭА. Использование различных бактерицидных и фунгицидных добавок в полимерах при производстве антимикробных текстильных материалов. *Вестник Казанского технологического университета*. 2014;17(8):87–91.
Khaliullina MK, Gadelshina EA. The use of various bactericidal and fungicidal additives in polymers in the production of antimicrobial textile materials. *Bulletin of Kazan Technological University*. 2014;17(8):87–91 (in Russian).
10. Chrusciel JJ. Modifications of Textile Materials with Functional Silanes, Liquid Silicone Softeners, and Silicone Rubbers – A Review. *Polymers*. 2022;14(20):4382. <https://doi.org/10.3390/polym14204382>
11. Сахаров КА, Андреев СВ, Зверев СА. Функциональный текстиль с антимикробными свойствами. Краткий обзор. *Дезинфекционное дело*. 2020;3:28–39. EDN:ywbscb. <https://doi.org/10.35411/2076-457X-2020-3-28-42>
12. Khaliullina MK, Gadelshina EA. The use of various bactericidal and fungicidal additives in polymers in the production of antimicrobial textile materials. *Bulletin of Kazan Technological University*. 2014;17(8):87–91 (in Russian).
13. Liu J, Dong C, Wei D, Zhang Z, Xie W, Li Q, Lu Z. Multifunctional Antibacterial and Hydrophobic Cotton Fabrics Treated with Cyclic Polysiloxane Quaternary Ammonium Salt. *Fibers and Polymers*. 2019;20:1368–74. <https://doi.org/10.1007/s12221-019-1091-2>
14. Jin-Kyu K, Seung-Chan L, Song-Bae K. Synthesis of quaternary ammonium functionalized silica get through grafting of dimethyl dodecyl 3-(trimetoxysilyl) propyl ammonium chloride for nitrate removal in batch and column studies. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 2019;102:153–62. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2019.05.019>
15. Han H, Liu C, Zhu J, Li FX, Wang XL, Yu JY, et al. Contact/Release Coordinated Antibacterial Cotton Fabrics Coated with N-Halamin and Cationic Antibacterial Agent for Durable Bacteria-Killing Application. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020;21(24):E9489. <https://doi.org/10.3390/ijms21249489>
16. Ванюкова ЕА. Современные технологии получения материалов кожевенной и текстильной промышленности с антимикробными свойствами. *Вестник технологического университета*. 2015;18(21):58–61.
Vanukova E.A. Modern technologies for producing materials for the leather and textile industries with antimicrobial properties. *Herald of Technology University*. 2015;18(21):58–61 (in Russian).

17. Ефимов КМ, Дитюк АИ, Панкратова ГП, Левчук НН, Рысина ТЗ, Богданов АИ и др. Новые полигуанидины – инновационные дезсредства пролонгированного антимикробного действия. *Дезинфекционное дело*. 2015;3:13–20. EDN:uibzup

Efimov KM, Dityuk AI, Pankratova GP, Levchuk NN, Rysina TZ, Bogdanov AI, Snezhko AG. New polyguanidines are innovating disinfectants with prolonged antimicrobial effect. *Disinfection affairs*. 2015;3:13–20 (in Russian). EDN:uibzup

Вклад авторов / Authors contributions

Все авторы подтверждают соответствие авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **З.А. Шафигуллина** – формирование концепции статьи, проведение экспериментальных исследований, анализ полученных данных, написание текста рукописи; **С.Р. Бухаева** – проведение экспериментальных исследований, получение фотоматериалов, редактирование текста рукописи; **Н.П. Коломацкая** – анализ экспериментальных данных и научной литературы по тематике статьи, составление таблиц; **М.С. Сугоныкина** – проведение экспериментальных исследований / All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contributions are as follows: **Z.A. Shafigullina** has formulated the concept of the study, has conducted experimental studies, has analyzed obtained data, has written the text of the study; **S.R. Bukhaeva** has conducted experimental studies, has taken photos, has edited the text of the paper; **N.P. Kolomatskaya** has analyzed experimental data and scientific papers on the topic of the article, has compiled tables; **M.S. Sugonyakina** has conducted experimental studies.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах / Authors

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» (г. Екатеринбург) Министерства обороны Российской Федерации. 620085, Российская Федерация, г. Екатеринбург, ул. Звездная, д. 1.

Шафигуллина Злата Александровна. Ведущий научный сотрудник, канд. биол. наук.

Бухаева Светлана Рамазановна. Научный сотрудник отдела.

Коломацкая Нина Павловна. Научный сотрудник отдела.

Сугоныкина Майя Сергеевна. Младший научный сотрудник отдела.

Контактная информация для всех авторов: 47051_1@mil.ru

Контактное лицо: Шафигуллина Злата Александровна; 47051_1@mil.ru

Branch Office of 48 Central Scientific Research Institute (Yekaterinburg) of the Ministry of Defence of the Russian Federation Zvezdnaya Street 1, Yekaterinburg 620085, Russian Federation.

Zlata A. Shafigullina. Leading Researcher, Cand. Sci. (Biol.).

Svetlana R. Bukhaeva. Researcher.

Nina P. Kolomatskaya. Researcher.

Maiya S. Sugonyakina. Junior Researcher.

Contact information for all authors: 47051_1@mil.ru

Contact person: Zlata A. Shafigullina; 47051_1@mil.ru



Детоксификация пептид-содержащих биотоксинов

И.В. Лягин^{1,2}, О.В. Маслова¹, О.В. Сенько^{1,2}, Н.А. Степанов^{1,2}, Е.Н. Ефременко^{1,2},✉

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет
119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3

²Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4

✉ e-mail: elena_efremenko@list.ru

Основные моменты

Пептидные биотоксины представляют собой серьезную проблему для здоровья людей и как поражающие агенты из-за широкого разнообразия их структур и источников.

Пептидные биотоксины и прионные белки могут быть эффективно нейтрализованы различными методами, включая обработку протеазами.

Актуальность – биотоксины пептидной природы представляют серьезную угрозу для здоровья людей и как поражающие агенты. Если направлениям, касающимся иммунологических систем защиты от таких токсинов, посвящено большое количество аналитических обзоров, то вопросы ферментативной детоксификации биотоксинов в лучшем случае рассматриваются поверхностно.

Цель работы – провести анализ основных современных направлений разработки средств ферментативной детоксификации биотоксинов пептидной природы.

Источниковая база исследования – преимущественно англоязычная научная литература, доступная через глобальную сеть Интернет, а также собственные опубликованные экспериментальные исследования авторов.

Метод исследования – аналитический.

Результаты. В настоящее время эффективность детоксифицирующих иммунологических препаратов возросла благодаря высокопроизводительным методам скрининга и отбору эффективных клонов – продуцентов моноклональных антител. В статье особое внимание уделено применению для детоксификации пептидных биотоксинов гидролитических ферментов, рассматриваемых в данной работе как альтернатива иммунобиологическим препаратам. Природный аналог детоксифицирующих ферментов – система «токсин–антитоксин» прокариот. Известно не менее четырех типов ингибиторов биотоксинов: блокирующие их каталитическую активность; экранирующие их рецепторы-мишени; ингибирующие токсин путем воздействия на его структуру; аллостерически модулирующие активность биотоксина. Имеются обнадеживающие данные по использованию детоксифицирующих ферментов для нейтрализации прионов в почве и лечения прионных осложнений, вызванных «вакцинацией» нуклеиновыми кислотами.

Вывод. Использование ферментов-протеаз для детоксикации пептидных биотоксинов и прионных белков можно рассматривать как перспективную альтернативу детоксифицирующим иммунобиологическим препаратам.

Ключевые слова: антитело; антитоксин; защитное действие; ингибитор; нейтрализация; пептидный биотоксин; прион

Для цитирования: Лягин И.В., Маслова О.В., Сенько О.В., Степанов Н.А., Ефременко Е.Н. Детоксификация пептид-содержащих биотоксинов. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(3):256–269. EDN:jokpyt.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-256-269>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: Е.Н. Ефременко является членом редколлегии с 2019 г. Это не повлияло на процесс рецензирования и его результаты.

Финансирование: Работа была выполнена в рамках Государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова (тема № 121041500039-8) и ИБХФ РАН (тема № 122041300210-2).

Поступила 10.08.2024 г. После доработки 19.09.2024 г. Принята к публикации 27.09.2024 г.

Detoxification of Peptide-Containing Biotoxins

Ilya V. Lyagin^{1,2}, Olga V. Maslova¹, Olga V. Senko^{1,2}, Nikolay A. Stepanov^{1,2,✉}
Elena N. Efremenko^{1,2}

¹Faculty of Chemistry, Lomonosov Moscow State University
Lenin Hills, 1/3, Moscow 119991, Russian Federation

²N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of RAS
Kosygin Str., 4, Moscow 119334, Russian Federation

✉ e-mail: elena_efremenko@list.ru

Highlights

Peptide biotoxins are important problem for human health and as lethal agents due to their wild diversity of chemical structures and biological sources.

Such peptide biotoxins and prion proteins can be effectively neutralized by different methods, including by protease treatment.

Relevance – biological toxins containing peptides possess serious danger for life and well being of humans. There are a lot of reviews summarizing immunologic protective measures against these toxins. As opposed to that an enzymatic detoxification of biotoxins is, at best, considered superficially.

The purpose of the work is analysis of the main up-to-date trends of development of protective remedies against biotoxins of peptide nature.

The source base of the research is mainly English-language scientific literature available via the global Internet network, as well as the authors' own published experimental studies.

The research method is analytical.

Results. Currently the efficiency of detoxifying immunological drugs is surging due to highly productive methods of screening and selection of effective clones producing monoclonal antibodies. Special attention in the review is paid to application of hydrolytic enzymes which are considered in the work as alternative for immunobiological agents during detoxication of peptide biotoxins. The natural analogue of detoxifying enzymes is a system “toxin–antitoxin” of procaryotes. More than four types of inhibitors of biotoxins are know: blocking of their catalytic activity; hindering of their target receptors; inhibiting of toxin by acting on its structure; and allosterically modulating of biotoxin activity. There are encouraging data on application of detoxifying enzymes for neutralization of prions in soils and for treatment of prion complication.

Conclusions. Application of proteases for detoxification of peptide biotoxins and prion peptides could be considered as viable alternative to detoxifying immunobiological agents.

Keywords: antibody; antitoxin; biological toxin; inhibitor; neutralization; protective action; prion

For citation: Lyagin I.V., Maslova O.V., Senko O.V., Stepanov N.A., Efremenko E.N. Detoxification of Peptide-Containing Biotoxins. *Journal of NBC Protection Corps*. 2024;8(3):256–269. EDN:jokpyt.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-256-269>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: E.N. Efremenko is a member of the Editorial Board of the journal (since 2019). This did not affect the review process or its results.

Funding: The work was realized within state task of Lomonosov Moscow State University (No. 121041500039-8) and Institute of Biochemical Physics of RAS (No. 122041300210-2).

Received August 10, 2024. Revised September 19, 2024. Accepted September 27, 2024

К настоящему времени известно большое количество токсинов из разных биологических источников, включая бактерий, грибов, растений и животных [1]. Биотоксины нашли свое применение в военном деле, как потенциальные поражающие агенты биологического

оружия, в медицине и меньшей степени – в пищевой промышленности, сельском хозяйстве, быту и т.д. По своей химической структуре биотоксины могут быть разделены на множество классов и подклассов [2]. Наиболее изученными и представляющими наи-

большую опасность для человека представляет группы токсинов пептидной природы, как бактериального [3], так и животного происхождения [4] (рисунок 1). Рекомбинантные формы таких токсинов в настоящее время могут быть синтезированы в клетках различных таксонов (бактериях, грибах, отдельных клеточных линиях эукариотов или целых трансгенных организмах) или получены бесклеточным синтезом, локализованы в заданной структуре клетки, тканях или органах, могут иметь целевые модификации (генетические, пост-трансляционные) и др. Исследование наиболее тонких механизмов действия биотоксинов позволяет получать их производные, обладающие неизвестным патогенным потенциалом. Поэтому проблема создания избирательных и эффективных средств защиты, направленных против таких биотоксинов, по-прежнему актуальна. Если направлениям, касающимся иммунологических средств [4] (рисунок 2), систем токсин-антитоксин [5, 6], ингибиторов [7] и нано-препаратов [8], посвящено довольно большое число аналитических обзоров, то вопросы

ферментативной детоксификации биотоксинов в лучшем случае рассматриваются поверхностно и кратко, как бы «на дальнейшую перспективу», или совсем не принимаются в расчет.

Цель обзора – провести анализ основных современных направлений разработки средств ферментативной детоксификации биотоксинов пептидной природы.

Источниковая база исследования – преимущественно англоязычная научная литература, доступная через глобальную сеть Интернет, а также собственные опубликованные экспериментальные исследования авторов.

Метод исследования – аналитический.

В работе рассмотрены классические средства защиты от биотоксинов пептидной природы, основанные на иммунном ответе организма человека и ингибировании. Кроме того, обсуждаются системы «токсин-антитоксин» и альтернативные подходы к инактивации действия биотоксинов путем их ферментативной модификации. В заключении сформулированы выводы о перспективных направ-

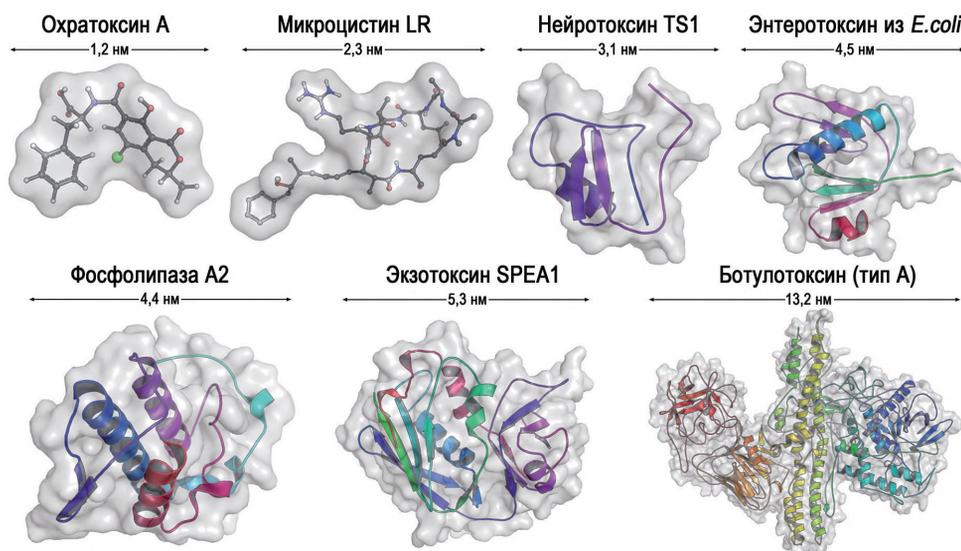


Рисунок 1 – Структура отдельных токсинов биологического происхождения (рисунок подготовлен авторами). Средний размер молекул (по наибольшей диагонали) увеличивается в ряду от охратоксина А до ботулинического нейротоксина. Структура микроцистина LR из *Microcystis aeruginosa* (1LCM), нейротоксина TS1 из *Tityus serrulatus* (1B7D), термостабильного энтеротоксина из *Escherichia coli* (1B44), фосфолипазы А2 из *Daboia russelli pulchella* (1FV0), пирогенного экзотоксина SPEA1 из *Streptococcus pyogenes* (1B1Z) и ботулинического нейротоксина типа А из *Clostridium botulinum* (3BTA) приведена согласно рентгеноструктурным данным, депонированным в базе данных Protein Data Bank (PDB, <https://www.rcsb.org>)

Figure 1 – Structures of some toxins of biological origins (the illustration was prepared by authors). The average size of molecules (by their largest diagonal) is increased in a row ochratoxin A – botulinum toxin. The structure of microcystin-LR from *Microcystis aeruginosa* (1LCM), neurotoxin TS1 from *Tityus serrulatus* (1B7D), thermostable enterotoxin from *Escherichia coli* (1B44), phospholipase A2 from *Daboia russelli pulchella* (1FV0), pyrogenic exotoxin SPEA1 from *Streptococcus pyogenes* (1B1Z) and botulinum toxin type A from *Clostridium botulinum* (3BTA) is presented according to XRD data deposited in Protein Data Bank (PDB, <https://www.rcsb.org>)

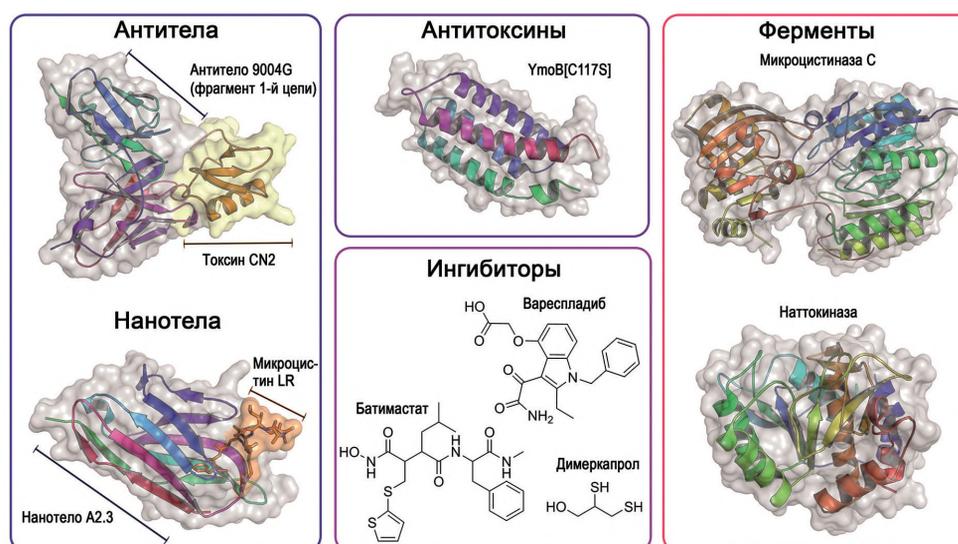


Рисунок 2 – Примеры основных групп защитных средств, рассматриваемых в данном обзоре (рисунок подготовлен авторами). Комплексы фрагмента одной из цепей антитела 9004G человека с токсином CN2 (2YBR), а также нанотела A2.3 верблюда с микроцистином LR (8FIF) взяты из базы данных PDB. Отдельно представлены YmoB[C117S] системы токсин-антитоксин в *Yersinia enterocolitica* (2MN2), а также микроцистиназа C из *Sphingomonas* sp. (7YLQ) и наттокиназа из *Bacillus subtilis* var. natto (4DWW)

Figure 2 – Examples of main types of protective agents considered in the study (the illustration was prepared by authors). Complex of single chain human antibody fragment 9004G with CN2 toxin (2YBR) and complex of A2.3 camel nanobody with microcystin-LR have been obtained from PDB. Other molecules, i.e., YmoB[C117S] of the toxin-antitoxin system from *Yersinia enterocolitica* (2MN2), as well as microcystinase C from *Sphingomonas* sp. (7YLQ) and nattokinase from *Bacillus subtilis* var. natto (4DWW), are shown in separate

лениях дальнейшего развития биозащитных средств от пептидных биотоксинов и прогнозируемых прорывных инновациях в данной области науки и практики.

Классические средства защиты, основанные на клеточном и антительном иммунном ответе

Исторически противоядия и иммунные сыворотки были (и остаются) единственным вариантом противодействия пептидным биотоксином, поразившим человека или животных. Они представляли собой «коктейли» различных белков, включая иммуноглобулины (рисунок 2), которые могут обладать специфичностью действия к одному или нескольким компонентам, входящим в состав яда, которым иммунизировали организмы продуцентов антител [9].

Достаточно крупные токсины пептидной природы обладают несколькими антигенными детерминантами (эпитопами), к которым могут формироваться специфичные антитела, что может несколько улучшать их распознавание и связывание *in vitro*. С целью увеличения иммунного ответа организма-продуцента антител, проводилась и про-

водится модификация антигена [10, 11] или его части [12].

Со временем стало понятно, что более эффективным (как на этапе получения защитного препарата, так и на этапе его применения) представляется ограничение спектра нейтрализуемых компонентов (т.е. моновалентность) и выбор максимально специфичных вариантов (т.е. моноклональность). В настоящее время разработаны и активно используются высокопроизводительные методы скрининга и отбора самых эффективных клонов продуцентов моноклональных антител [13, 14].

Дальнейшее развитие такие препараты получили при их гибридизации с одноцепочечными антителами (так называемыми нанотелами), обладающими такими важными, с прикладной точки зрения, характеристиками, как большая стабильность и меньшая цитотоксичность. В отдельных экспериментальных работах защитные свойства у таких химерных препаратов в реакциях нейтрализации пептидных биотоксинов, в частности, ботулинического нейротоксина удалось увеличить тысячекратно в сравнении с исходными специфическими антителами [15].

Система «токсин–антитоксин»

Такие внутриклеточные системы, как «токсин–антитоксин»¹ уже реализованы природой в одноклеточных организмах-прокариотах и представляются прекрасной иллюстрацией возможных путей нейтрализации других биотоксинов [5, 6]. Исследовано и введено в оборот несколько классификаций подобных систем. В сущности, главными компонентами во всех них являются собственно токсин и его антипод – антитоксин (рисунок 2). Находясь во взаимодействии, они компенсируют действия друг друга, обеспечивая существование клетке. Если по какой-либо причине антитоксин отсоединяется, деградирует, инактивируется и т.д., тогда токсин начинает свое разрушительное действие, обычно приводя клетку к гибели.

Ограничившись только токсинами пептидной природы, можно отметить системы на основе гуанилилтрансферазы TgIT (токсин) и протеинкиназы TakA (антитоксин) из клеток *Mycobacterium tuberculosis* [16]; рибонуклеазы HerT (токсин) и аденилилтрансферазы MntA (антитоксин) из *Shewanella oneidensis* [17]; литического пептида GhoT (токсин) и рибонуклеазы GhoS (антитоксин) из *Escherichia coli* [18]; токсина Nha, модулирующего экспрессию гемолизина, и цистеин-оксидазы TomB (антитоксин) из *Escherichia coli* [19]; токсина DarT, АДФ-рибозилирующего тимидины одноцепочечной ДНК, и АДФ-рибозилазы DarG (антитоксин) из *Mycobacterium tuberculosis* [20].

Принимая во внимание приведенные исследования, можно сделать вывод о том, что варианты противодействия токсичному эффекту не ограничиваются лишь связыванием биотоксина специфическими антителами, а используется обширный арсенал его возможной каталитической (ферментативной) модификации.

Ферментативные ингибиторы действия биотоксинов

Известны не менее четырех типов таких ингибиторов (рисунок 2):

- блокирующие каталитическую активность биотоксинов. Например, среди них

можно упомянуть вареспладиб (рисунок 2), селективно связывающийся с фосфолипазой A₂; батимастат, являющийся негидролизующим аналогом субстратов для протеаз; димеркапрол, проявляющий металл-хелатирующие свойства и тем самым инактивирующий металл-зависимые ферменты; и т.д. Комбинирование в одном средстве компонентов, направленных на разные мишени, может дать синергетический эффект как по универсальности препарата к токсинам разного состава, так и их нейтрализуемой;

- экранирующие от биотоксинов их рецепторы-мишени, мешая их связыванию. Например, блокирование пуринергических рецепторов (P₂) дифенилениодонием защищает эритроциты от β-гемолизина из *Staphylococcus aureus* [22];

- ингибирующие токсин путем воздействия на его структуру. Например, действие каррагинанов на морфологию липополисахаридов и образование интерполимерных комплексов снижает воспалительную реакцию организма [23];

- связывающиеся с биотоксинами и аллостерически действующие на их активность. Например, нитрофенилпсорален (3-(4-nitrophenyl)-7H-furo[3,2-g]chromen-7-one), образуя стабильный комплекс с ботулиническим нейротоксином типа А, эффективно его ингибировал смешанным образом [24].

Не зависимо от того, по одному ли механизму действует вещество-эффектор или сразу по нескольким, его действие будет приводить к ингибированию токсичности биотоксина.

Если раньше первоначальный поиск ингибиторов биотоксинов был по большей части эмпирическим процессом, то в настоящее время активное внедрение компьютерных методов симуляции межмолекулярных взаимодействий значительно облегчает предварительный скрининг и отбор эффективных ингибиторов. Кроме того, особенно результативным является использование природоподобных подходов, например, методов эволюционной биологии [25, 26].

В качестве ингибиторов чаще всего рассматриваются низкомолекулярные соеди-

¹ Когда говорят о системе «токсин–антитоксин» (англ. toxin-antitoxin system), то речь не идет о классических бактериальных токсинах типа ботулинического или столбнячного [3]. Это набор двух и более тесно связанных генов, которые в совокупности кодируют и белок-«яд», и соответствующее ему «противоядие». Когда такая система локализована на плазмиде (автономном генетическом элементе), то в результате деления исходной клетки, содержащей плазмиду, дочерняя клетка выживет только в том случае, если унаследует плазмиду. Если дочерняя клетка лишена плазмиды, то нестабильный антитоксин, унаследованный с цитоплазмой матери, разрушается, а стабильный токсичный белок убивает клетку; это явление получило название «постсегрегационное убийство» (англ. post-segregational killing). См. Toxin-antitoxin system. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Toxin-antitoxin_system (дата обращения: 06.07.2024).

нения, связывание которых является равновесным процессом. То есть, возможно произвольное высвобождение биотоксина из инактивирующего комплекса со всеми негативными последствиями. Например, молекулы ботулинического нейротоксина могут находиться в клетках приблизительно недели или месяцы, превосходя по продолжительности удержания их низкомолекулярные ингибиторы. Для предотвращения такого результата предпринимаются попытки дополнительной стабилизации инактивирующего комплекса за счет специальных модификаций ингибитора, например, путем введения химически активного остатка, образующего связь с цистеином биотоксина, в структуру металл-хелатирующей гидроксамовой кислоты [27]. Тем самым, кратно улучшается константа и продолжительность связывания биотоксина и ингибитора.

Альтернативным путем представляется химическая модификация самого биотоксина в составе такого комплекса и/или его связывание с образованием прочной ковалентной связи. Не принимая во внимание биокаталитические методы такой модификации, о которых пойдет речь ниже, наиболее приближенным к ней вариантом можно считать средства защиты, создаваемые на основе наноматериалов [28]. Как минимум, некоторые из этих нанолекарств предполагают прочное связывание биотоксинов наночастицами. Однако здесь требуются дальнейшие исследования. В частности, различные синтетические полимеры, широко применяемые на практике для изготовления различных изделий (тканей, в том числе применяемых для производства индивидуальных средств защиты, а также технологических поверхностей, деталей оборудования, инструментов и т.д.), которые могут деградировать при эксплуатации и присутствовать далее в окружающей человека среде в виде микро- и наночастиц, способны сорбировать различные соединения, включая биотоксины [29, 30]. Это не только не отменяет последующее беспрепятственное высвобождение подобных токсичных соединений при деградации самих полимерных частиц [31, 32], но и может происходить без деградации полимеров при изменении условий их пребывания (изменения влажности, pH среды, температурных условий, появления поверхностно-активных веществ в составе, например, моющих или антибактериальных дезинфицирующих средств и т.д.).

Ферментативная детоксификация

Использование отдельных ферментов в качестве нейтрализаторов токсичного действия биотоксинов представляется логичным следствием и развитием упомянутых ранее систем «токсин–антитоксин». И действительно: рассматриваемые токсины имеют пептидную природу, а, следовательно, статистически могут быть субстратом одной или даже нескольких протеаз. Таких протеолитических ферментов к настоящему времени уже изучено огромное количество (рисунок 2), и это лишь «верхушка айсберга» – в реальности их может быть многократно больше.

Необходимо отметить, что сейчас существуют многочисленные общедоступные базы данных, например, MEROPS и др.², позволяющие подобрать индивидуальный фермент, исходя из аминокислотной последовательности пептидного субстрата (токсина), и наоборот.

Таким образом, уже на этапе планирования экспериментов представляется возможным предварительный отбор потенциально более специфично действующих вариантов протеаз *in silico* перед их непосредственным тестированием *in vitro*. Конечно, может оказаться на практике, что подобранные ферменты проявляют широкую субстратную специфичность *in vivo* и действуют, в том числе, и на нецелевые мишени в защищаемом организме. Именно поэтому, в любом случае, отбор и исследование ферментов для детоксификации пептидных биотоксинов требует обязательных исследований их безопасности и/или выявления формируемого ими или с их участием возможных токсических эффектов причем еще на уровне проведения экспериментов *in vitro*.

Возвращаясь к обсуждению средств широкого спектра действия, надо отметить, что хорошо известный многие годы трипсин давно и активно используется для предобработки (трипсинолиза) различных полипептидов перед их анализом методом хроматографии с масс-спектрометрическим определением получаемых пептидов. В частности, многие (если не все) пептидные биотоксины могут быть определены таким образом, в частности, фосфолипаза A2 [33], ботулинический нейротоксин [34, 35], рицин [36] и многие другие [37]. Здесь опять нужно упомянуть, что чрезмерно широкий субстратный спектр действия трипсина (как одного из представителей подобных протеаз) – это не всегда благо, так как увеличивается вероятность

² MEROPS. URL: <https://www.ebi.ac.uk/merops/>; PeptideCutter. URL: https://web.expasy.org/peptide_cutter/; Degradome. URL: <https://degradome.uniovi.es/dindex.html>.

побочного действия. Кроме того, очень часто ферменты с широким субстратным профилем активности могут проигрывать «узкоспецифичным» ферментам по своей удельной активности в реакциях с отдельными субстратами.

Следует подчеркнуть, что по аналогии с трипсином такой же гидролиз могут катализировать и другие ферменты. Так, например, мелитин (цитолитический компонент пчелиного яда) может быть гидролизован не только трипсином из бычьей поджелудочной железы [38], но и человеческим плазмином или дуоденазой (протеаза из бычьей двенадцатиперстной кишки) [39], а также неуставленной протеазой из *Escherichia coli* [40]. В целом, сайты гидролиза токсина естественно отличаются для разных ферментов, хотя некоторые из них могут частично и совпадать. В этом случае требуется проведение их сравнительного анализа в аналогичных условиях, часто приближенных к физиологическим. В этой связи можно отметить, что именно трипсин оказался наиболее активным по сравнению с другими указанными выше исследованными ферментами.

Алкалаза из *Bacillus licheniformis* способна катализировать гидролиз мелитина почти между любыми двумя его аминокислотными остатками, давая набор олигопептидов [41]. Однако степень конверсии токсина этим ферментом (менее 20 % за 2 ч) низкая. Потребуется значительно ее увеличить перед тем, как рассматривать такую протеазу в качестве защитного средства от мелитина. Кроме того, гидролизованный токсин, а также его отдельные фракции имели такую же токсичность в отношении клеточной линии фибробластов из легких человека, что и исходный мелитин [41].

Последовательная обработка мелитина бромелаином (растительная протеаза) и упомянутой выше алкалазой привела к образованию более длинноцепочечных пептидов [42]. Тем не менее, токсин, гидролизованный таким образом, уже не проявлял цитотоксичности, в частности, в отношении клеточной линии эпителиальных клеток из грудных желез человека. Вероятно, отличия в токсичности мелитина, гидролизованного алкалазой без или с бромелаином, могут частично объясняться различиями в процедурах их пост-обработки в проведенных исследованиях. В частности, возможна контаминация исходным токсином продукта реакции [41].

Отдельного обсуждения требуют эндогенные протеазы человека. Известно, что в ответ на отравление неизвестным токсином

в тканях человека, как и других млекопитающих, одними из первых реагируют тучные клетки [43]. Причем предварительная sensibilization только усиливает такую реакцию. Активированные тучные клетки секретируют «коктейль» первичных и вторичных мессенджеров, а самое главное – набор протеолитических ферментов. Среди них следует отметить химазу (аналог химотрипсина), триптазу (аналог трипсина), карбоксипептидазу А3 и катепсин G. Все они имеют многочисленные основные и вспомогательные каталитические функции [44] и, конечно же, обладают разной субстратной специфичностью действия. Ключевым моментом является то, что они способны напрямую нейтрализовать биотоксины, в частности, триптаза (но не химаза или карбоксипептидаза А3) гидролизует оксидазу L-аминокислот, входящую в состав различных ядов [45]. Химаза и карбоксипептидаза А3 осуществляют нейтрализацию эндотелина и сарафотоксина 6В [44].

Классические методы скрининга микроорганизмов-продуцентов по-прежнему действенны, хотя и требуют огромных временных затрат и определенной целеустремленности у исследователей. В качестве примера можно упомянуть микроцистиназы, гидролизующие микроцистины – циклические пептиды, продуцируемые фотосинтетическими микроорганизмами, и аналогичные им по структуре токсичные пептиды [46]. Хотя бактерии *Sphingopyxis* sp., продуцирующие микроцистиназу, на самом деле последовательно используют несколько протеаз [47], чтобы, соответственно, линеаризовать исходный циклический пептид, а затем уже его разрезать на аминокислоты. Тем не менее, отмеченная выше работа [46] послужила своеобразным спусковым крючком и запустила серию подобных публикаций по исследованию аналогичных ферментов [48]. Более того, микроцистиназа MlgA была иммобилизована на оксиде графена, активированного карбодиимидом, сукцинимидом и цистеином [49].

Проведенная оценка токсичности такого бионанопрепарата показала его умеренную токсичность по отношению к лимфоцитам рыбок данио-рерио, но при этом данный иммобилизованный фермент полностью нейтрализовал токсичность нодуларина в исследованной концентрации. При этом надо принять во внимание тот факт, что подобные иммобилизованные формы ферментов, способных катализировать гидролиз биотоксинов, скорее могут быть предназначены не

для введения в организм человека, а использоваться в составе средств биозащиты (материалах, костюмах, покрытиях, фильтрующих картриджах и т.п.).

Эндшпиль: прионные белки

В ряду биологических токсинов пептидной природы особое место занимают прионные белки (prion proteins), как частный случай амилоидных образований. Хотя до сих пор нет консенсуса (или доминирующей научной теории) даже на счет того, какой именно компонент ответственен за передачу инфекции, формирование амилоидных агрегатов с одновременным проявлением токсического эффекта (например, в виде дегенеративных процессов в нервной системе) уже давно не подвергается сомнению. Ограничиваясь рассмотрением лишь амилоидных агрегатов, сформированных прионными белками, можно заметить, что они отличаются от остальных биотоксинов пептидной природы только увеличенной плотностью упаковки. Как следствие – они резистентны к действию протеаз [50].

Чтобы как-то преодолеть резистентность амилоидных агрегатов к действию протеолитических ферментов и ускорить процесс их гидролиза, предпринимаются попытки подобрать условия гидролитической реакции.

Для уничтожения прионных белков, связанных с почвой и вызывающих хроническую изнуряющую болезнь у оленей (chronic wasting disease, CWD) и болезнь скрепи у овец (sheep scrapie), использовался коммерчески доступный фермент прионзим М (сериновая протеаза из *Bacillus subtilis*). Прионовая активность CWD исчезала при обработке ферментом почвы в течение 7 суток при температуре 22 °С и рН 7,4 (для всех типов почв; среднее извлечение CWD из почв составляло 51 %) [51]. Однако концентрация гиперпатогенной линии трансмиссивной энцефалопатии хомячков (HY TME) в суглинистой почве снижалась лишь на 74 % в аналогичных условиях (среднее извлечение 27 %). Исчерпывающее разложение детектируемого HY TME (>97 %) в суглинистой почве было возможно лишь при температуре 50 °С и высоком рН (12,5) [51].

Кератиназа из *B. licheniformis*, помимо определенной термической предобработки, для нейтрализации прионов необходимо еще и присутствие детергентов [52]. В некоторых случаях, как, например, для субтилизина 309 из *Bacillus clausii* и его мутантной формы 309-v, только строго определенные условия (55 °С, рН 7,9) позволяют в ходе ферментативного гидролиза снизить остаточную кон-

центрацию приона до такого уровня, чтобы погибала только половина лабораторных животных, а не все [53]. Такой подход не приближает создание терапевтических или защитных средств, которые можно было бы применять в физиологически релевантных условиях. Однако такие подходы могут быть предприняты для детоксификации технических поверхностей, например, инструментов.

Ряд других ферментов, например, наттокиназа (субтилизин из *Bacillus subtilis* var. *natto*), протеиназа К и субтилизин Карлсберга проявляют активность в отношении амилоидных белков при более физиологичных условиях [54]. Самое важное, что та же наттокиназа не проявляет явных токсических свойств и на животных, и на людях [55]. Более того, она же снижает проявление нейротоксических эффектов прионных белков на определенных животных моделях [56], что дает основания на осторожную надежду на введение в практику данного препарата. К тому же наттокиназа имеет и другие потенциальные области медицинского применения, например, в комплексном лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы, что может дополнительно ускорить ее практическое внедрение [57].

В настоящее время в программе лечения пост-ковидных синдромов, проявляющихся в виде проблем в функционировании сердечно-сосудистой системы человека и приобретенных в результате «вакцинации» нуклеиновыми кислотами, или перенесенного вирусного заболевания, предлагается использовать оральное применение наттокиназы в комбинации с бромелаином (растительной протеазой) и куркумином [58] для детоксификации так называемого спайкового белка коронавируса, обладающего прионными свойствами и длительно циркулирующего в кровеносном русле [59].

Здесь нужно отметить, что имеется некоторая вероятность того, что агрегаты прионных белков сами являются ответом клеток организма на некие токсигенные процессы, протекающие вне рассматриваемых причин, связанных с воздействием именно биотоксинов [60]. Поэтому, как обычно, требуется осторожное, вдумчивое обращение даже с самыми, казалось бы, надежно установленными фактами.

Хотя текущий обзор ограничивался лишь биотоксинами пептидной природы, его выводы и методологию можно экстраполировать и на токсины другого химического строения. И действительно, сапонины, имеющие в своем составе остатки углеводов, инактивируются путем гидролиза томатыназой (глю-

каназа из *Botrytis cinerea*) [61]; β -глюкозидаза нейтрализует афлатоксин и зеараленон [62] и т.д. То есть, все рассмотренные в данном обзоре ключевые направления детоксификации биотоксинов могут с некоторыми вариациями исследоваться для применения в отношении неограниченного круга других биотоксинов. Это представляется весьма актуальным, так как постоянно открываются новые биотоксины, или неожиданно обнаруживается токсический потенциал у давно известных объектов исследования, как, например, в случае амилоидных структур, формируемых лизоцимом [63].

Заключение

Таким образом, широчайшее многообразие биологических токсинов пептидной природы (рисунки 1) обосновало необходимость и вынудило создать гораздо больший арсенал средств защиты от них (рисунки 2). Помимо традиционных иммунологических препаратов, а также различных соединений-ингибиторов и наноматериалов, могут успешно применяться разнообразные ферментативные нейтрализаторы токсического действия. Естественно, гидролитические ферменты, как наиболее доступные, хорошо изученные и предсказуемые в своем действии нейтрализаторы, занимают доминирующее положение. Однако имеется еще шесть других классов ферментов, которые почти никак не представлены в настоящее время среди исследуемых вариантов ферментных защитных средств, что гарантирует значи-

тельный потенциал для дальнейших исследований. Конечно же, будущие исследования уже немислимы без активного использования компьютерного моделирования. И их роль будет только возрастать, а предиктивные модели значительно улучшатся, что откроет новые горизонты создания каталитически активных и других средств защиты от биотоксинов.

Наконец, нельзя не отметить, что сейчас разные направления разработки действенных средств защиты работают параллельно, по разным мишеням (даже в одном и том же токсичном объекте) и практически никак не соприкасаются. Очевидно, что это упущение нужно устранять, и лучше всего – задействовав уже готовые решения, используемые производителями биотоксинов в них. Например, ботулинический нейротоксин, столбнячный токсин и другие имеют свою систему наведения, нацеливающую каждого из них на определенный рецептор на поверхности или внутри клетки. Аналогичным образом можно было бы использовать иммуноглобулины как нацеливающую боеголовку фьюжн-препарата, вторую часть которого может представлять протеолитический фермент, инактивирующий целевой биотоксин. Похожие препараты уже долгое время разрабатываются или даже уже используются в качестве противораковых средств целевого иммунохимического действия. Точно так же можно попытаться скомбинировать и другие отдельные компоненты, рассмотренные в данном обзоре.

Ограничения исследования / Limitations of the study

Данный аналитический обзор имеет ряд ограничений, а именно: 1) в качестве источников рассмотрены лишь англоязычные статьи или переводные варианты (например, русскоязычных статей); 2) рассматриваемые работы опубликованы в открытых источниках, индексируемых Google, Scopus, Web of Science, eLibrary; 3) не было введено критерия на исключение работ из рассмотрения ввиду неустойчивости, необъективности и т.д. представленных в них данных. / This analytical review has several limitations, namely: (1) only English language articles and those translated to English (e.g., Russian language studies) were considered; (2) the considered works were published in open sources indexed by Google, Scopus, Web of Science, eLibrary; (3) the criterion on exclusion of articles from consideration (due to data uncertainty, irreproducibility, preconception, etc.).

Список источников/References

1. Clark GC, Casewell NR, Elliott CT, Harvey AL, Jamieson AG, Strong PN, et al. Friends or foes? Emerging impacts of biological toxins. *Trends Biochem Sci.* 2019;44(4):365–79. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2018.12.004>
2. Efremenko E, Aslanli A, Lyagin I. Advanced situation with recombinant toxins: Diversity, production and application purposes. *Int J Mo. Sci.* 2023;24(5):4630. <https://doi.org/10.3390/ijms24054630>
3. Супотницкий МВ. Биологические свойства бактериальных токсинов. *Вестник войск РХБ защиты.* 2024;8(1):34–64. EDN:jtrfxo <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-34-64>

- Supotnitskiy MV. The Biological properties of bacterial toxins. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(1):34–64. EDN:jtrfxo
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-1-34-64>
4. Osipov A, Utkin Y. What are the neurotoxins in hemotoxic snake venoms? *Int J Mol Sci.* 2023;24(3):2919.
<https://doi.org/10.3390/ijms24032919>
5. Page R, Peti W. Toxin–antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence. *Nat Chem Biol.* 2016;12(4):208–14.
<https://doi.org/10.1038/nchembio.2044>
6. Andryukov BG, Somova LM, Timchenko NF, Bynina MP, Lyapun IN. Toxin–antitoxin systems and their role in maintaining the pathogenic potential of causative agents of Saprinoses. *Infect Disord Drug Targets.* 2020;20(5):570–84.
<https://doi.org/10.2174/1871526519666190715150444>
7. Gutiérrez JM, Albulescu LO, Clare RH, Casewell NR, Abd El-Aziz TM, Escalante T, et al. The search for natural and synthetic inhibitors that would complement antivenoms as therapeutics for snakebite envenoming. *Toxins.* 2021;13(7):451.
<https://doi.org/10.3390/toxins13070451>
8. Wang X, Xia Z, Wang H, Wang D, Sun T, Hossain E, et al. Cell-membrane-coated nanoparticles for the fight against pathogenic bacteria, toxins, and inflammatory cytokines associated with sepsis. *Theranostics.* 2023;13(10):3224–44.
<https://doi.org/10.7150/thno.81520>
9. Romero-Giraldo LE, Pulido S, Berrío MA, Flórez MF, Rey-Suárez P, Nuñez V, et al. Heterologous expression and immunogenic potential of the most abundant phospholipase a2 from coral snake *Micrurus dumerilii* to develop antivenoms. *Toxins.* 2022;14(12):825.
<https://doi.org/10.3390/toxins14120825>
10. Ryabchevskaya EM, Granovskiy DL, Evtushenko EA, Ivanov PA, Kondakova OA, Nikitin NA, et al. Designing stable *Bacillus anthracis* antigens with a view to recombinant anthrax vaccine development. *Pharmaceutics.* 2022;14(4):806.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14040806>
11. Granovskiy DL, Ryabchevskaya EM, Evtushenko EA, Kondakova OA, Arkhipenko MV, Kravchenko TB, et al. New formulation of a recombinant anthrax vaccine stabilised with structurally modified plant viruses. *Front Microbiol.* 2022;13:1003969.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1003969>
12. Karpov DS, Goncharenko AV, Usachev EV, Vasina DV, Divisenko EV, Chalenko YM, et al. A Strategy for the Rapid Development of a Safe *Vibrio cholerae* Candidate Vaccine Strain. *Int J Mol Sci.* 2021;22(21):11657.
<https://doi.org/10.3390/ijms222111657>
13. Rudenko N, Nagel A, Zamyatina A, Karatovskaya A, Salyamov V, Andreeva-Kovalevskaya Z, et al. A monoclonal antibody against the C-terminal domain of *Bacillus cereus* hemolysin II inhibits HlyII cytolytic activity. *Toxins.* 2020;12(12):806.
<https://doi.org/10.3390/toxins12120806>
14. Abramov VM, Kosarev IV, Motin VL, Khlebnikov VS, Vasilenko RN, Sakulin VK, et al. Binding of LcrV protein from *Yersinia pestis* to human T-cells induces apoptosis, which is completely blocked by specific antibodies. *Int J Biol Macromol.* 2019;122:1062–70.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.054>
15. Godakova SA, Noskov AN, Vinogradova ID, Ugriumova GA, Solovyev AI, Esmagambetov IB, et al. Camelid VHHs Fused to Human Fc Fragments Provide Long Term Protection Against Botulinum Neurotoxin A in Mice. *Toxins.* 2019;11(8):464.
<https://doi.org/10.3390/toxins11080464>
16. Yu X, Gao X, Zhu K, Yin H, Mao X, Wojdyla JA, et al. Characterization of a toxin-antitoxin system in *Mycobacterium tuberculosis* suggests neutralization by phosphorylation as the antitoxicity mechanism. *Commun Biol.* 2020;3(1):216.
<https://doi.org/10.1038/s42003-020-0941-1>
17. Yao J, Zhen X, Tang K, Liu T, Xu X, Chen Z, et al. Novel polyadenylation-dependent neutralization mechanism of the HEPN/MNT toxin/antitoxin system. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(19):11054–67.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkaa855>
18. Wang X, Lord DM, Cheng HY, Osbourne DO, Hong SH, Sanchez-Torres V, et al. A new type V toxin-antitoxin system where mRNA for toxin GhoT is cleaved by antitoxin GhoS. *Nat Chem Biol.* 2012;8(10):855–61.
<https://doi.org/10.1038/nchembio.1062>

19. Marimon O, Teixeira JM, Cordeiro TN, Soo VW, Wood TL, Mayzel M, et al. An oxygen-sensitive toxin-antitoxin system. *Nat Commun.* 2016;7:13634.
<https://doi.org/10.1038/ncomms13634>
20. Jankevicius G, Ariza A, Ahel M, Ahel I. The toxin-antitoxin system DarTG catalyzes reversible ADP-ribosylation of DNA. *Mol Cell.* 2016;64(6):1109–16.
<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2016.11.014>
21. Albulescu L-O, Xie C, Ainsworth S, Alsolaiss J, Crittenden E, Dawson CA, et al. A therapeutic combination of two small molecule toxin inhibitors provides broad preclinical efficacy against viper snakebite. *Nat Commun.* 2020;11(1):6094.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-19981-6>
22. Guo Z, Yue N, Chen M, Li J, Lv R, Wang J, et al. Purinergic Receptor Antagonists Inhibit Hemolysis Induced by *Clostridium perfringens* Alpha Toxin. *Pathogens.* 2024;13(6):454.
<https://doi.org/10.3390/pathogens13060454>
23. Yermak IM, Volod'ko AV, Khasina EI, Davydova VN, Chusovitin EA, Goroshko DL, et al. Inhibitory Effects of Carrageenans on Endotoxin-Induced Inflammation. *Mar Drugs.* 2020;18(5):248.
<https://doi.org/10.3390/md18050248>
24. Patel KB, Kononova O, Cai S, Barsegov V, Parmar VS, Kumar R, et al. Botulinum neurotoxin inhibitor binding dynamics and kinetics relevant for drug design. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2021;1865(9):129933.
<https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2021.129933>
25. Yang Z, Wang C, Liu J, Xiao L, Guo L, Xie J. *In Silico-Ex Vitro* Iteration Strategy for Affinity Maturation of Anti-Ricin Peptides and the SPR Biosensing Application. *Toxins.* 2023;15(8):490.
<https://doi.org/10.3390/toxins15080490>
26. Aziz UBA, Saoud A, Bermudez M, Mieth M, Atef A, Rudolf T, et al. Targeted small molecule inhibitors blocking the cytolytic effects of pneumolysin and homologous toxins. *Nat Commun.* 2024;15(1):3537.
<https://doi.org/10.1038/s41467-024-47741-3>
27. Lin L, Olson ME, Sugane T, Turner LD, Tararina MA, Nielsen AL, et al. Catch and Anchor Approach To Combat Both Toxicity and Longevity of Botulinum Toxin A. *J Med Chem.* 2020;63(19):11100–20.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.0c01006>
28. Desai N, Pande S, Salave S, Singh TRR, Vora LK. Antitoxin nanoparticles: design considerations, functional mechanisms, and applications in toxin neutralization. *Drug Discov Today.* 2024;29(8):104060.
<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2024.104060>
29. Ефременко ЕН, Лягин ИВ, Маслова ОВ, Сенько ОВ, Степанов НА, Асланлы АГ. Каталитическое разложение микропластиков. *Успехи химии.* 2023;92(2):RCR5069.
<https://doi.org/10.57634/RCR5069>
- Efremenko EN, Lyagin IV, Maslova OV, Senko OV, Stepanov NA, Aslanli AG. Catalytic degradation of microplastics. *Russ Chem Rev.* 2023;92(2):RCR5069.
<https://doi.org/10.57634/RCR5069>
30. Маслова ОВ, Сенько ОВ, Степанов НА, Лягин ИВ, Ефременко ЕН. Биокатализ в деградации синтетических полимеров. *Вестник Московского университета. Серия 2: Химия.* 2024;65(2):161–8.
<https://doi.org/10.55959/MSU0579-9384-2-2024-65-2-161-168>
- Maslova OV, Senko OV, Stepanov NA, Lyagin IV, Efremenko EN. Biocatalysis in the Degradation of Synthetic Polymers. *Moscow Univ Chem Bull.* 2024;79(2):140–5.
<https://doi.org/10.3103/S0027131424700019>
31. Wang D, Pan Q, Yang J, Gong S, Liu X, Fu Y. Effects of Mixtures of Engineered Nanoparticles and Cocontaminants on Anaerobic Digestion. *Environ. Sci Technol.* 2024;58(6):2598–2614.
<https://doi.org/10.1021/acs.est.3c09239>
32. Wei L, Li J, Wang Z, Wu J, Wang S, Cai Z, et al. Evaluating effects of tetrabromobisphenol A and microplastics on anaerobic granular sludge: Physicochemical properties, microbial metabolism, and underlying mechanisms. *J Environ Manage.* 2024;359:121077.
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.121077>
33. Samel M, Vija H, Kurvet I, Künnis-Beres K, Trummal K, Subbi J, et al. Interactions of PLA2-s from *Vipera lebetina*, *Vipera berus berus* and *Naja naja oxiana* venom with platelets, bacterial and cancer cells. *Toxins.* 2013;5(2):203–23.
<https://doi.org/10.3390/toxins5020203>
34. Barr JR, Moura H, Boyer AE, Woolfitt AR, Kalb SR, Pavlopoulos A, et al. Botulinum neurotoxin detection and differentiation by mass spectrometry. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(10):1578–83.
<https://doi.org/10.3201/eid1110.041279>

35. Kalb SR, Baudys J, Wang D, Barr JR. Recommended mass spectrometry-based strategies to identify botulinum neurotoxin-containing samples. *Toxins*. 2015;7(5):1765–78.
<https://doi.org/10.3390/toxins7051765>
36. Dupré M, Gilquin B, Fenaille F, Feraudet-Tarisse C, Dano J, Ferro M, et al. Multiplex quantification of protein toxins in human biofluids and food matrices using immunoextraction and high-resolution targeted mass spectrometry. *Anal Chem*. 2015;87(16):8473–80.
<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b01900>
37. Alam SI, Kumar B, Kamboj DV. Multiplex detection of protein toxins using MALDI-TOF-TOF tandem mass spectrometry: application in unambiguous toxin detection from bioaerosol. *Anal Chem*. 2012;84(23):10500–07.
<https://doi.org/10.1021/ac3028678>
38. Mirgorodskaya OA, Kazanina GA, Mirgorodskaya EP, Vorotyntseva TI, Zamolodchikova TS, Alexandrov SL. A Comparative study of the specificity of melittin hydrolysis by duodenase, trypsin and plasmin. *Prot Pept Lett*. 1996;3(5):315–20.
39. Sokolova EA, Mirgorodskaya OA, Roepstorff P, Savelyeva NV, Zamolodchikova TS. Comparative study of the action of bovine duodenal proteinases (duodenases) on polypeptide substrates. *Biochemistry (Mosc)*. 2001;66(1):62–7.
<https://doi.org/10.1023/a:1002833729744>
40. Mirgorodskaya O, Kazanina G, Mirgorodskaya E, Matveyev V, Thiede B, Khaitlina S. Proteolytic cleavage of melittin with the actin-digesting protease. *Prot Pept Lett*. 1996;3(2):81–8.
41. El-Didamony SE, Kalaba MH, Sharaf MH, El-Fakharany EM, Osman A, SitoHy M, et al. Melittin alcalase-hydrolysate: a novel chemically characterized multifunctional bioagent; antibacterial, anti-biofilm and anticancer. *Front Microbiol*. 2024;15:e1419917.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1419917>
42. Lee H-S, Kim YS, Lee K-S, Seo H-S, Lee C-Y, Kim KK. Detoxification of Bee Venom Increases Its Anti-inflammatory Activity and Decreases Its Cytotoxicity and Allergenic Activity. *Appl Biochem Biotechnol*. 2021;193(12):4068–82.
<https://doi.org/10.1007/s12010-021-03653-2>
43. Galli SJ, Metz M, Starkl P, Marichal T, Tsai M. Mast cells and IgE in defense against lethality of venoms: Possible “benefit” of allergy. *Allergo J Int*. 2020;29(2):46–62.
<https://doi.org/10.1007/s40629-020-00118-6>
44. Hellman L, Akula S, Fu Z, Wernersson S. Mast Cell and Basophil Granule Proteases - In Vivo Targets and Function. *Front Immunol*. 2022;13:918305
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.918305>
45. Anderson E, Stavenhagen K, Kolarich D, Sommerhoff CP, Maurer M, Metz M. Human Mast Cell Tryptase Is a Potential Treatment for Snakebite Envenoming Across Multiple Snake Species. *Front Immunol*. 2018;9:1532.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01532>
46. Xu Q, Ma H, Zhang H, Fan J, Yin C, Liu X, et al. Purification and activity of the first recombinant enzyme for biodegrading hepatotoxin by *Sphingopyxis* sp. USTB-05. *Algal Res*. 2020;47:101863.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101863>
47. Zou Q, Teng J, Wang K, Huang Y, Hu Q, Chen S, et al. Purification and mechanism of microcystinase MlrC for catalyzing linearized cyanobacterial hepatotoxins using *Sphingopyxis* sp. USTB-05. *Toxins*. 2022;14(9):602.
<https://doi.org/10.3390/toxins14090602>
48. Teng J, Song M, Xu Q, Zou Q, Zhang H, Yin C, et al. Purification and activity of the second recombinant enzyme for biodegrading linearized microcystins by *Sphingopyxis* sp. USTB-05. *Toxins*. 2023;15(8):494.
<https://doi.org/10.3390/toxins15080494>
49. Wu X, Wu H, Gu X, Zhang R, Sheng Q, Ye J. Effect of the immobilized microcystin-LR-degrading enzyme MlrA on nodularin degradation and its immunotoxicity study. *Environ Pollut*. 2020;258:113653.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113653>
50. Johnson CJ, Bennett JP, Biro SM, Duque-Velasquez JC, Rodriguez CM, Bessen RA, et al. Degradation of the disease-associated prion protein by a serine protease from lichens. *PLoS One*. 2011;6(5):19836.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019836>
51. Saunders SE, Bartz JC, Vercauteren KC, Bartelt-Hunt SL. Enzymatic digestion of chronic wasting disease prions bound to soil. *Environ Sci Technol*. 2010;44(11):4129–35.
<https://doi.org/10.1021/es903520d>
52. Langeveld JPM, Wang J-J, Van de Wiel DFM, Shih GC, Garssen GJ, Bossers A, et al. Enzymatic degradation of prion protein in brain stem from infected cattle and sheep. *J Infect Dis*. 2003;188(11):1782–9.
<https://doi.org/10.1086/379664>
53. Pilon JL, Nash PB, Arver T, Hoglund D, VerCauteren KC. Feasibility of infectious prion digestion using mild conditions and commercial subtilisin. *J Virol Methods*. 2009;161(1):168–72.
<https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2009.04.040>

54. Hsu RL, Lee KT, Wang JH, Lee LY, Chen RP. Amyloid-degrading ability of nattokinase from *Bacillus subtilis natto*. *J Agric Food Chem*. 2009;57(2):503–8.
<https://doi.org/10.1021/jf803072r>
55. Lampe BJ, English JC. Toxicological assessment of nattokinase derived from *Bacillus subtilis var. natto*. *Food Chem Toxicol*. 2016;88:87–99.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.12.025>
56. Naik S, Katariya R, Shelke S, Patravale V, Umekar M, Kotagale N, et al. Nattokinase prevents β -amyloid peptide (A β 1–42) induced neuropsychiatric complications, neuroinflammation and BDNF signalling disruption in mice. *Eur J Pharmacol*. 2023;952:175821.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2023.175821>
57. Chen H, McGowan EM, Ren N, Lal S, Nassif N, Shad-Kaneez F, et al. Nattokinase: A Promising Alternative in Prevention and Treatment of Cardiovascular Diseases. *Biomark. Insights*. 2018;13:1177271918785130.
<https://doi.org/10.1177/1177271918785130>
58. Hulscher N, Procter BC, Wynn C, McCullough PA. Clinical Approach to Post-acute Sequelae After COVID19 Infection and Vaccination. *Cureus*. 2023;15(11):e49204.
<https://doi.org/10.7759/cureus.49204>
59. Parry PI, Lefringhausen A, Turni C, Neil CJ, Cosford R, Hudson NJ, Gillespie J. ‘Spikeopathy’: COVID-19 Spike Protein Is Pathogenic, from Both Virus and Vaccine mRNA. *Biomedicines*. 2023;11:2287.
<https://doi.org/10.3390/biomedicines11082287>
60. Jack K, Jackson GS, Bieschke J. Essential components of synthetic infectious prion formation *de novo*. *Biomolecules*. 2022;12(11):1694.
<https://doi.org/10.3390/biom12111694>
61. You Y, Suraj HM, Matz L, Valderrama ALH, Ruigrok P, Shi-Kunne X, et al. *Botrytis cinerea* combines four molecular strategies to tolerate membrane-permeating plant compounds and to increase virulence. *Nat Commun*. 2024;15(1):6448.
<https://doi.org/10.1038/s41467-024-50748-5>
62. Efremenko E, Lyagin I, Stepanov N, Senko O, Maslova O, Aslanli A, et al. Luminescent Bacteria as Bioindicators in Screening and Selection of Enzymes Detoxifying Various Mycotoxins. *Sensors*. 2024;24(3):763.
<https://doi.org/10.3390/s24030763>
63. Roy S, Srinivasan VR, Arunagiri S, Mishra N, Bhatia A, Shejale KP, et al. Molecular insights into the phase transition of lysozyme into amyloid nanostructures: Implications of therapeutic strategies in diverse pathological conditions. *Adv Colloid Interface Sci*. 2024;331:103205.
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2024.103205>

Вклад авторов / Authors contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: концептуализация – **Е.Н. Ефременко**; анализ литературы – **И.В. Лягин, О.В. Маслова, О.В. Сенько, Н.А. Степанов, Е.Н. Ефременко**; написание оригинального текста – **И.В. Лягин, Е.Н. Ефременко**; подготовка рисунков – **И.В. Лягин**; рецензирование и редактирование текста – **Е.Н. Ефременко**. Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию рукописи. / All the authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Conceptualization – **E.N. Efremenko**; literature analysis – **I.V. Lyagin, O.V. Maslova, O.V. Senko, N.A. Stepanov, E.N. Efremenko**; writing of the original text – **I.V. Lyagin, E.N. Efremenko**; preparation of drawings – **I.V. Lyagin**; reviewing and editing of the text – **E.N. Efremenko**. All the authors made a significant contribution to the preparation of the article, read and approved the final version of the manuscript.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах / Authors

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, 119991, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3.

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4.

Лягин Илья Владимирович. Старший научный сотрудник, канд. хим. наук, член коллектива, выполняющего исследование.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3970-4334>

Маслова Ольга Васильевна. Старший научный сотрудник, канд. хим. наук, член коллектива, выполняющего исследование.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6358-1231>

Сенько Ольга Витальевна. Научный сотрудник, канд. хим. наук, член коллектива, выполняющего исследование.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7831-6222>

Степанов Николай Алексеевич. Научный сотрудник, канд. тех. наук, член коллектива, выполняющего исследование.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0821-8226>

Ефременко Елена Николаевна. Зав. лабораторией, докт. биол. наук, профессор, руководитель коллектива, выполняющего исследование.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6992-854X>

Контактная информация для всех авторов: elena_efremenko@list.ru
Контактное лицо: Ефременко Елена Николаевна; elena_efremenko@list.ru

Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry. Lenin Hills 1-3, Moscow 119991, Russian Federation.

Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences, Kosygina str., 4, Moscow 119334, Russian Federation.

Ilya V. Lyagin. Senior Researcher, Cand Sci (Chem). Grant team member.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3970-4334>

Olga V. Maslova. Senior Researcher, Cand Sci (Chem). Grant team member.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6358-1231>

Olga V. Senko. Researcher, Cand Sci (Chem). Grant team member.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7831-6222>

Nikolay A. Stepanov. Researcher, Cand. Sci. (Techn.). Grant team member.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0821-8226>

Elena N. Efremenko. Laboratory Chief. Dr Sci. (Biol.). Professor. Grant team member.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6992-854X>

Contact information for all authors: elena_efremenko@list.ru
Contact person: Elena N. Efremenko; elena_efremenko@list.ru



Средства индивидуальной защиты органов дыхания и кожи от патогенных биологических агентов многоразового использования

В.В. Васильев, С.Н. Соловых, Н.В. Данякин, П.В. Горбачев✉

Федеральное государственное военное казенное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» (г. Кострома)
Министерства обороны Российской Федерации
156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16
✉ e-mail: varhbz@mil.ru

Основные моменты

В условиях борьбы с новой коронавирусной инфекцией возникла острая проблема обеспечения подразделений войск радиационной, химической и биологической защиты средствами индивидуальной защиты органов дыхания и кожи от патогенных биологических агентов.

Актуальность. Единственным штатным средством индивидуальной защиты кожи от патогенных биологических агентов является общевойсковой защитный комплект. При проведении дезинфекции специальной техники, участков местности, зданий, сооружений, санитарной обработки личного состава при локализации очага (района) биологической заражения данный комплект оказывает излишнее изнуряющее и сковывающее действие на личный состав. Таким образом, разработка комплекта средств индивидуальной защиты органов дыхания и кожи от патогенных биологических агентов для подразделений войск радиационной, химической и биологической защиты является актуальной задачей.

Цель работы – разработка предложений к конструкции и материалу комплекта средств индивидуальной защиты кожи и органов дыхания от патогенных биологических агентов, предназначенных для подразделений войск радиационной, химической и биологической защиты.

Материалы и методы. Теоретическое обоснование выбора материала и особенностей конструкции костюма осуществлялось на основании литературного и патентного анализа, а также анализа экспертного анкетирования. Выбор материала будущего комплекта осуществляли на основании экспериментальных исследований более 100 образцов материалов, предоставленных промышленностью, гравиметрическим методом, а актуализация конструкции отдельных элементов костюма осуществлялась методом экспертных оценок.

Обсуждение результатов. Взаимодействие с администрацией Костромской области позволило провести анализ более 100 материалов, предлагаемых для изготовления средств индивидуальной защиты кожи, в том числе оценено влияние дезинфицирующих рецептур на характеристики материалов.

Выводы. В результате проведенных испытаний, на основе выработанных рекомендаций, предложений и технических решений на предприятиях началось массовое производство средств индивидуальной защиты для медицинских работников Костромской и других областей, обеспечивающих высокую степень защищенности. Особенности конструкции костюма средств индивидуальной защиты кожи легли в основу перспективного комплекта средств индивидуальной защиты кожи от патогенных биологических агентов для подразделений войск радиационной, химической и биологической защиты.

Ключевые слова: дезинфекция; защитная обувь; защитный изолирующий костюм; защитный фартук; коронавирусная инфекция; многоразовое использование; пандемия COVID-19; специальная защитная маска; средства защиты кожи рук; средства индивидуальной защиты органов дыхания и кожи

Для цитирования: Васильев В.В., Соловых С.Н., Данякин Н.В., Горбачев П.В. Средства индивидуальной защиты органов дыхания и кожи от патогенных биологических агентов многоразового использования. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(3):270–286. EDN:ndezwp.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-270-286>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: нет.

Финансирование: Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Поступила 05.06.2024 г. Исправленный вариант 20.09.2024 г. Принята к публикации 27.09.2024 г.

Reusable Respiratory and Skin Protective Devices Will Help Russian NBC Protection Troops to Avoid Pathogenic Biological Agents

Valerii V. Vasilyev, Sergei N. Solovykh, Nikita V. Danyakin, Pavel V. Gorbachev✉

Nuclear Biological Chemical Defence Military Academy Named after Marshal of the Soviet Union
S.K. Timoshenko (Kostroma), the Ministry of Defence of the Russian Federation,
Gorkogo Str. 16, Kostroma 156015, Russian Federation
✉ e-mail: varhbz@mil.ru

Highlights

As a novel coronavirus infection spreads around the world, it is crucial to provide Russian NBC Protection Troops with respiratory and skin protective devices that will help them to avoid pathogenic biological agents.

Relevance. A common protective set is the only authorized equipment that is able to protect skin of military men from pathogenic biological agents. When military men wear this suit during disinfection of special vehicles, edifices, buildings and plots of land, personnel decontamination in case of biological contamination area is found, it sometimes immobilizes them excessively and they feel completely exhausted. Thus, it is crucial to develop a new more efficient respiratory and skin protective set for the Russian NBC Protection Troops that will help them to avoid pathogenic biological agents.

Purpose of the study is to make proposals for the design and materials that are to be used in manufacturing of the set of respiratory and skin protective devices. This set will further be sent to Russian NBC Protection Troops and will help them to avoid pathogenic biological agents.

Materials and methods. The materials selection and design features choice have been justified by the analysis of academic sources and patents. The authors have also conducted a questionnaire survey for experts. The results of this survey have been considered in the study. The materials for a future set have been chosen based on the results of the experimental studies of more than 100 of material samples. These samples have been provided by the industrial enterprises of the region. During the studies, a gravimetric method has been employed. Some design features of the set have been implemented pursuant to expert opinions, expressed in the questionnaires.

Discussion. With the help of the authorities of the Kostroma region, the authors of this paper have analyzed more than 100 fabrics that are to be used in manufacturing of respiratory and skin protective devices. They also have evaluated the impact that detergent formulae exert on the material properties.

Conclusions. The conducted tests have helped to make recommendations, suggestions as well as elaborate certain engineering solutions. Considering all that the enterprises started a large-scale production of efficient respiratory and skin protective devices for medical staff in Kostroma and other regions of the Russian Federation. Design features of garment with respiratory and skin protective devices have served as a pattern for a promising protective set for Russian NBC Protection Troops that will help them to avoid pathogenic biological agents.

Keywords: COVID-19 pandemic; coronavirus infection; disinfection; hand skin protective devices; impermeable protective suit; protective apron; protective footwear; protective mask; respiratory and skin protective devices; reuse

For citation: Vasilyev V.V., Solovykh S.N., Danyakin N.V., Gorbachev P.V. Reusable Respiratory and Skin Protective Devices Will Help Russian NBC Protection Troops to Avoid Pathogenic Biological Agents. *Journal of NBC Protection Corps.* 2024;8(3):270–286. EDN:ndezwp.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-270-286>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The authors state that there is no funding for the study.

Received June 5, 2024. Corrected August 26, 2024. Accepted September 27, 2024

Впервые в XXI веке весь мир столкнулся с пандемией инфекционного заболевания – новой коронавирусной инфекцией (COVID-19). После официального объявления 11 марта 2020 г. Всемирной организацией здравоохранения о начале пандемии COVID-19 в кратчайшие сроки были подготовлены рекомендации по ее диагностике, лечению и профилактике, а также массово перепрофилированы медицинские организации с развертыванием дополнительных мест для лечения инфекционных больных. Так, по данным Министерства здравоохранения Российской Федерации (РФ) с марта по декабрь 2020 года в РФ было развернуто более 270 тысяч инфекционных коек, и, соответственно, возросло число медицинского персонала, независимо от специальностей и должностей привлекаемого для работы с заболевшими [1].

В условиях противостояния медицинских работников с вновь возникшей угрозой, встала острая проблема обеспечения персонала, выполняющего работы в «красной зоне», средствами индивидуальной защиты органов дыхания и кожи (СИЗОДиК) от биологических агентов. При этом, предлагаемые комплекты СИЗОДиК, должны соответствовать рекомендациям Роспотребнадзора.

Несмотря на широкий спектр всевозможных СИЗОДиК, медицинские работники при использовании средств индивидуальной защиты (например, производимых компаниями «DuPont», (ООО) «Лаборатория Технологической Одежды») субъективно испытывали дискомфорт, отмечались проявления, ухудшения функционального состояния организма и снижение работоспособности, связанные, прежде всего, с нарушением теплового обмена и эргономики.

В ходе анализа результатов анкетирования медицинских работников было выявлено: повышенное потоотделение (до 100 %); удушье (до 83 %); усталость (до 75 %); одышка (до 61 %); чувство жары (до 51 %); головная боль (до 28 %); сдавление кожи в одной или не-

скольких областях (до 19 %); кожная аллергия и дерматиты, вызванные воздействием синтетических материалов комплектов средств индивидуальной защиты (до 11 %); скользкость бахил (до 9 %). При этом 93 % респондентов отмечали неплотное прилегание защитных масок органов дыхания и респираторов к лицу, вызывающее, в том числе, запотевание средств защиты глаз.

Кроме того, уже в первые дни пандемии COVID-19 руководители медицинских организаций Российской Федерации (РФ) столкнулись с острой нехваткой СИЗОДиК, производимых, как правило, зарубежными компаниями и из импортных материалов и комплектующих, обусловленным следующими проблемами:

- в связи с масштабной географией пандемии, охватывающей весь мир, заказы на изготовления качественных СИЗОДиК были оплачены компаниям-производителям на один год вперед и более;

- ввоз сырья, веществ, материалов, комплектующих и готовых изделий на территорию РФ был значительно затруднен из-за «закрытых» государственных границ¹ и санкционных ограничений [2], связанных с предупреждением завоза (заноса) и распространения новой коронавирусной инфекции между странами.

В этой связи разработка нового комплекта средств индивидуальной защиты органов дыхания и кожи от патогенных биологических агентов является актуальной.

Цель работы – разработка предложений к конструкции и материалу комплекта средств индивидуальной защиты кожи и органов дыхания от патогенных биологических агентов, предназначенных для подразделений войск радиационной, химической и биологической защиты.

Материалы и методы. Теоретическое обоснование выбора материала и особенностей конструкции костюма осуществлялось на основании литературного и патентного анализа, а также анализа экспертного ан-

¹ Getting Your Workplace Ready for COVID-19 International Labour Organization. URL: https://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---ed_dialogue/---act_emp/documents/publication/wcms_741557.pdf (дата обращения: 28.03.2022).

кетирования. Выбор материала будущего комплекта осуществляли на основании экспериментальных исследований более 100 образцов материалов, предоставленных промышленностью, гравиметрическим методом, а актуализация конструкции отдельных элементов костюма осуществлялась методом экспертных оценок.

Результаты и обсуждение

В соответствии с указанием начальника Генерального штаба Вооруженных Сил Российской Федерации (ВС РФ), указаниями Начальника войск радиационной, химической и биологической (РХБ) защиты ВС РФ и на основании заседаний Оперативного штаба при Губернаторе Костромской области по предупреждению завоза и распространения новой коронавирусной инфекции в Костромской области (протокол заседания от 03 апреля 2020 г., подписанный Губернатором Костромской области) специалистам федерального государственного казенного военного образовательного учреждения высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» Министерства обороны РФ (Военная академия РХБ защиты) была поставлена задача из отечественных материалов и комплектующих разработать СИЗОДиК многоцветного использования с целью своевременного обеспечения ими сотрудников медицинских учреждений, в том числе непосредственно работающих в условиях возможности заражения коронавирусной инфекцией.

Проведенный анализ существующих СИЗОДиК² показал, что в разрабатываемом комплекте многоцветного использования, предназначенном для средств индивидуальной защиты органов дыхания и кожи чело-

века от содержащихся в окружающей атмосфере и передающихся воздушно-капельным (капельным) путем различных вредных примесей (например, веществ-аллергенов), загрязнений (например, пыли) и патогенных биологических агентов (например, бактерий и вирусов), наиболее целесообразно использовать специальную защитную маску, защитный изолирующий костюм, средства защиты кожи рук, защитную обувь и фартук.

При этом проводимые исследования для каждого элемента разрабатываемого комплекта были направлены на решение двух основных задач: подбор материалов и комплектующих строго отечественного производства, имеющих наилучшие защитные характеристики от патогенных биологических агентов, и разработка (совершенствование) конструкции (каждого элемента комплекта), обеспечивающей повышение защитных характеристик готового изделия, улучшение его эргономических свойств и увеличение количества циклов использования.

Исследование отечественных материалов, необходимых для изготовления комплекта СИЗОДиК многоцветного использования. Для поиска и сбора образцов доступных в РФ материалов Военной академией РХБ защиты было организовано взаимодействие с Управлением Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Костромской области, а также заключены договоры о научно-техническом сотрудничестве с ООО «Производственно-промышленное объединение «ОРБИТА»³ и ООО «Баска»⁴, которым решением Оперативного штаба при Губернаторе Костромской области по предупреждению завоза и распространения новой коронавирусной инфекции в Костромской области была поставлена задача массового

² Biological hazard protection. Dupont Personal Protection. URL: <https://www.dupont.com/personal-protection/biological-hazard-protection.html/> (дата обращения: 28.03.2022).

Microbiology – anti-plague suits and isolating systems. Lamsystems. URL: <https://www.lamsystems-lto.ru/katalog/mikrobiologiya/> (дата обращения: 28.03.2022).

Covid-19 Coronavirus PPE & Safety Equipment. Safety Supplies. URL: <https://www.safetysupplies.co.uk/tag/covid-19-coronavirus/> (дата обращения: 28.03.2022).

Short-term use clothing. Delta Plus – Your safety at work. URL: <https://delta.plus/73-odezhda-kratkosrochno-ispolzovaniya/> (дата обращения: 28.03.2022).

Catalog of manufacturers of personal protective equipment, as well as materials and equipment for their production. SportCasualMoscow. URL: <https://online.sportcasualmoscow.ru/siz-producers/> (дата обращения: 28.03.2022).

These Outdoor Companies are Making Personal Protective Equipment to Fight COVID-19. POWDER Magazine. URL: <https://www.powder.com/stories/news/these-outdoor-companies-are-making-personal-protective-equipment-to-fight-covid-19/> (дата обращения: 28.03.2022).

Product Family. ОПЕС СБРNe. URL: <https://opezcbrne.com/product-family/> (дата обращения: 28.03.2022).

Personal Protective Equipment. PPE BERNER International GmbH. URL: https://www.berner-safety.de/personal_protective_equipment_en_65.html (дата обращения: 28.03.2022).

³ About the company Orby. ООО «РРО ОРБИТА». URL: <https://orby.ru/about> (дата обращения: 28.03.2022).

⁴ ООО Baska. Rusprofile. URL: <https://www.rusprofile.ru/id/7774365/> (дата обращения: 28.03.2022).

пошива медицинской одежды многоразового применения для обеспечения работников здравоохранения Костромской области. Указанные организации в кратчайшие сроки представили более 150 образцов материалов и готовых изделий, имеющих в достаточном количестве в запасах на территории РФ и доступных к массовому производству отечественными предприятиями.

Для выбора из полученных образцов материалов, отвечающих требованиям для каждого элемента комплекта СИЗОДиК, было проведено более 2000 исследований и испытаний⁵ (рисунок 1):

- по оценке паропроницаемости в диапазоне дисперсности аэрозолей, являющихся переносчиками коронавирусной инфекции, гравиметрическим методом⁶;

- по определению коэффициента проницаемости аэрозольных частиц размером $(0,5 \pm 0,1)$ мкм в соответствии с ГОСТ EN 13274-7;

- по оценке проницаемости микроорганизмами в соответствии с ГОСТ 12.4.136-84 (уровень контаминации внутренней поверхности материала для экспозиции не менее 600 минут при уровне контаминации наружной поверхности материала не менее $(5 \pm 1) \times 10^{-3}$ м.т.·см⁻³ и уровень контаминации внутренней поверхности материала для экспозиции не менее 300 минут при уровне контаминации наружной поверхности материала не менее $(5 \pm 1) \times 10^{-3}$ м.т.·см⁻³);

- по оценке физико-механических характеристик в соответствии с ГОСТ 29104.4;

- по определению максимального сопротивления дыханию на вдохе или выдохе, измеряемого в момент наибольшей скорости движения воздуха при продолжительной работе, соответствующей потреблению кислорода до 2-3 л/мин, в соответствии с ГОСТ 12.4.005-85 (для специальной защитной маски многоразового использования);



Рисунок 1 - Проведение исследований материалов специалистами кафедры «Специальных конструкционных материалов, вооружения и средств РХБ защиты» Военной академии РХБ защиты (фотографии выполнены авторами)

Figure 1 - The experts of the chair of Special construction materials weaponization and NBC protection devices of the Military Academy of Nuclear, Biological and Chemical Defence named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko are analyzing materials (the pictures are taken by the authors)

⁵ «Vesti nedeli». Broadcast from 04/19/2020. Online publication "Smotrim". URL: <https://smotrim.ru/video/2017326/> (дата обращения: 28.03.2022).

⁶ Данякин Н.В., Зайцева К.В. Методика определения проницаемости материалов по летучим жидкостям в статических условиях. Кострома: ВА РХБЗ; 2020. 15 с.

ГОСТ 33355-2015 (ISO 7783:2011) Материалы лакокрасочные. Определение характеристик паропроницаемости. Метод чашки. М.: Стандартинформ; 2015. 15 с.

ГОСТ 25898-2012 Материалы и изделия строительные. Методы определения паропроницаемости и сопротивления паропропусканию. М.: Стандартинформ; 2014. 11 с.

ГОСТ 29060-91 (ИСО 6179-89) Ткани с резиновым покрытием. Определение паропроницаемости летучих жидкостей (гравиметрический метод). М.: ИПК Изд-во стандартов; 2004. 5 с.

– по оценке влияния на изменение исследуемых параметров циклов дезинфекции, проводимых при нормальных условиях (температура не более 25 °С, давление не более 0,104 МПа (780 мм рт.ст.)) четырьмя разными дезинфицирующими растворами (отдельно): 3 % раствором хлорамина в течение 120 минут в соответствии с СП 1.3.3118-13, 3 % раствором перекиси водорода в течение 60 минут в соответствии с СП 1.3.3118-13, 1 % раствором «Пероксам ультра» в течение 15 мин в соответствии с ТУ 20.20.14-126-129104 34-2018 и 0,3 % раствором «Ника хлор» в течение 30 мин в соответствии с ТУ 9392-034-12910434-2009 (указанные растворы на основе «Пероксам ультра» и «Ника хлор» являются наиболее используемыми в организациях здравоохранения Костромской области). Один цикл дезинфекции включал три этапа: замачивание (полное погружение) в дезинфицирующий раствор образца материала на установленное время; полоскание в чистой воде (температура воды не более 30 °С); сушка (обязательно полное высыхание изделия с лицевой и изнаночной стороны).

На основании полученных результатов был определен перечень отечественных материалов, имеющих наилучшие характеристики и сохраняющих свои свойства в пределах отклонений не более 10 % после не менее 25 циклов дезинфекции, для производства каждого элемента нового комплекта СИЗОДиК многократного использования, а также установлена их номенклатура в количестве девяти наименований (рисунк 2).

Однако значения выявленных параметров и характеристик годных (без дефектов) образцов материалов отличаются от аналогичных значений готовых изделий. При этом

наибольшие отклонения наблюдаются, как правило, в местах соединения составных частей изделия, которые изготавливаются из цельных годных отрезков (кусков) используемого материала.

Учитывая указанный факт, ООО «Производственно-промышленное объединение «ОРБИТА» и ООО «Баска» были предоставлены образцы различных частей разрабатываемых изделий, соединенных в промышленных условиях различными способами: с использованием специальных машинных швов, их герметизацией (проклейкой), применением нитей, имеющих различную толщину и изготовленных из различных материалов, и др. На основании проведенных исследований был сделан вывод о том, что в разрабатываемых СИЗОДиК наиболее целесообразно использовать следующие специальные машинные швы: «стачивающий с закрытым срезом» и «стачивающий с окантовкой открытого среза». Более того отдельно были проведены испытания нитей отечественного производства, не теряющие своих свойств после не менее 25 циклов специальной обработки. Для создания средств индивидуальной защиты от биологических агентов I группы патогенности в ходе проведенной работы разработаны рекомендации по порядку проклейки специальных соединительных машинных швов, обеспечивающий сверхнизкие значения проницаемости и возможность их дезинфекции, с учетом технологической трудоемкости и экономических затрат на данное мероприятие⁷.

Разработка специальной защитной маски многократного использования. Анализ существующего уровня техники в области устройств, предназначенных для индивиду-

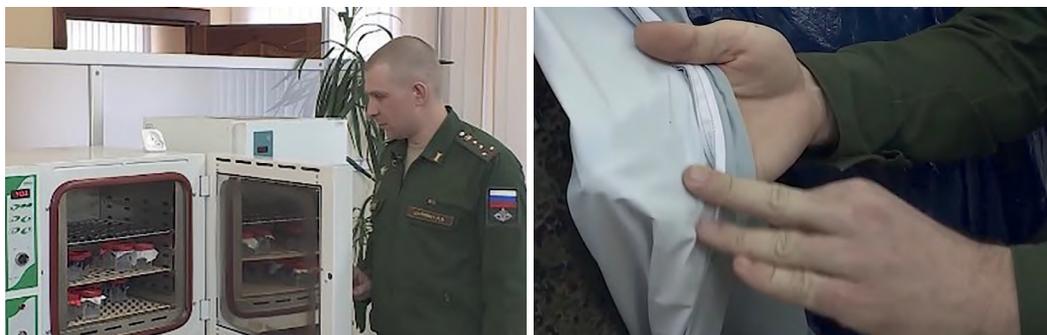


Рисунок 2 – Демонстрация отечественных материалов, имеющих наилучшие защитные характеристики (фотографии выполнены авторами)

Figure 2 – Presentation of the Russian materials with the best protective features (the pictures are taken by the authors)

⁷ Military chemists showed how anti-plague suits are tested in Kostroma. Online publication “State Internet Channel “Russia” (GTRK Kostroma). URL: <https://gtrk-kostroma.ru/news/voennye-khimiki-pokazali-kak-v-kostrome-testiruyut-protivochumnye-kostyumu/> (дата обращения: 28.03.2022).

альной защиты органов дыхания человека от патогенных биологически агентов, показал, что известно много типов и видов средств индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД) [3–8], в том числе регламентированных ГОСТ 12.4.034-2017, которые отличаются различного рода конструктивными особенностями. При этом наиболее эргономичными и комфортными для использования устройствами, обладающими удовлетворительными защитными характеристиками, являются маски, респираторы. На первом этапе работы были выявлены следующие общие недостатки.

1. Средства крепления большинства масок и респираторов на лице не предусматривают особенности формы овала лица, что приводит к подосу неочищенного воздуха, в подмасочное пространство, а также запотевание очков в холодную погоду.

2. Время защитного действия масок и респираторов, определяющее срок их непрерывного ношения, фактически не указывается.

3. Большинство устройств не имеют отдельных фильтрующих картриджей или других создачных приспособлений, что приводит к одновременному использованию материала основы в качестве фильтрующего элемента. Данный способ не предусматривает многократного их использования и методов восстановления защитных характеристик маски, респиратора.

4. Ряд образцов СИЗОД в области фильтрации воздуха, через который проходит и фильтруется более 75 % вдыхаемого воздуха, имеют швы. Что приводит к «заносу» зараженного воздуха под масочное пространство.

Для устранения указанных недостатков, повышения защитных и эргономических свойств и увеличения количества циклов использования (применения) СИЗОД по назначению специалистами Военной академии РХБ защиты была разработана «Специальная защитная маска многоразового использования», представленная на *рисунках 3, 4*.

В разработанном СИЗОД респираторный узел выполнен из двух слоев фильтрующего материала или одного многослойного материала и материала-подкладки, которые в совокупности имеют общее максимальное сопротивление дыханию на вдохе или выдохе, измеряемое в момент наибольшей скорости движения воздуха при продолжительной работе, соответствующей потреблению кислорода до 2–3 л/мин, не более 80 мм вод.ст. на скоростных пиках.

Конструкция маски разрабатывалась с возможностью использования выпускного

клапана, облегчающего пользователю выдыхание воздуха, например, диафрагменного типа [9]. Однако использование любого рода клапана выдоха влечет за собой недопустимость использования таких СИЗОД больным пользователем, способным передавать инфекционные болезни воздушно-капельным путем, ввиду возможности заражения окружающих его людей.

Маски без сменного вкладыша обеспечивают сохранение защитных характеристик в течение не менее 6 часов непрерывного ношения. С целью увеличения времени непрерывного ношения предусмотрен карман между фильтрующим пакетом респираторного узла и материалом-подкладкой. В данную область устанавливается дополнительный сменный фильтрующий элемент (картридж, блок-фильтр и т.п.), изображенный на *рисунке 5*.

Для изготовления сменных фильтрующих элементов респираторного узла возможно использовать любые технологии, например, нанесение мелкоразмерных частиц металлов и др. [10, 11]. Также при изготовлении фильтрующих элементов существует возможность использования специальных материалов, обладающих требуемыми свойствами при необходимости защиты органов дыхания от специальных вредных примесей.

Респираторный узел состоит из зеркально симметричных правой и левой частей, отделенных одна от другой вертикальной общей складкой с возможностью складывания по ней в плоский пакет и разворачивания в рабочее состояние («выпуклую» конфигурацию) за счет использования в нижней части пяти швов, обеспечивающих уменьшение возможности соприкосновения материала-подкладки с ротовой частью при вдохе и, соответственно, снижение пневматического сопротивление респираторного узла, а также риск увлажнения фильтрующего пакета и (или) дополнительного фильтрующего элемента. Более того, такая конфигурация респираторного узла обеспечивает плотное прилегание устройства к лицу пользователя, при котором нижняя кромка проходит в области верхней части горла над кадыком, обеспечивая «жесткий обхват» подбородка, не смещающийся при движении нижней челюсти.

При вдохе, равно как и при выдохе (при отсутствии дополнительного выпускного клапана), воздух, поступающий из наружного пространства, проходит через все слои респираторного узла и дополнительный сменный фильтрующий элемент (при его

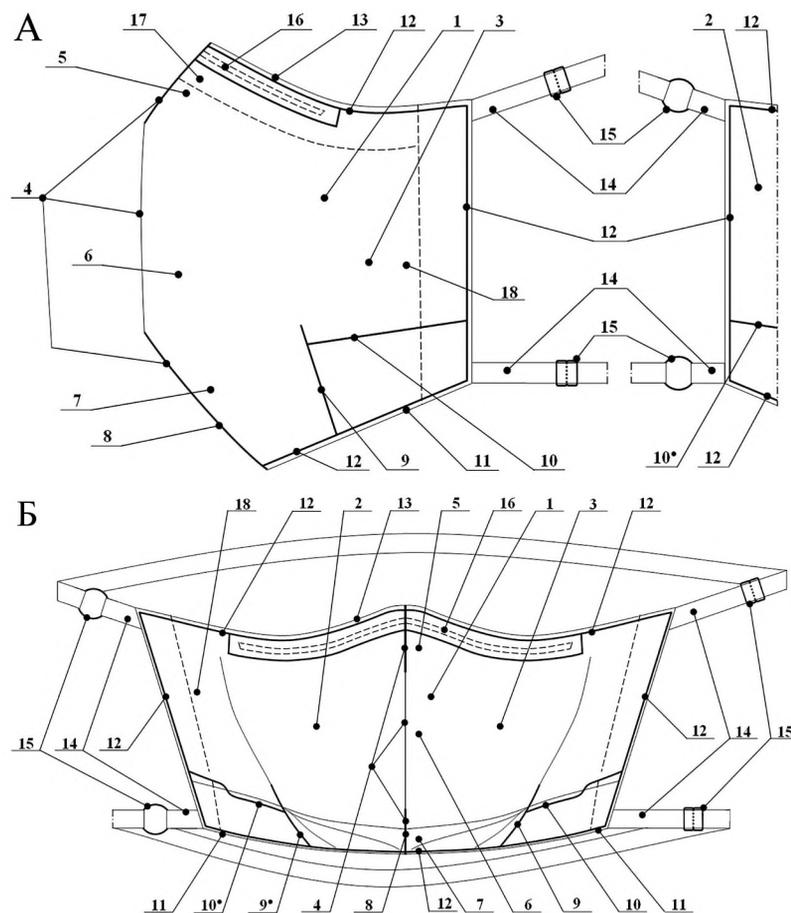


Рисунок 3 – Схематичное изображение конструкции специальной защитной маски многоразового использования: А – вид устройства в профиль (подобным образом устройство выглядит в сложенном состоянии); Б – вид устройства в анфас (подобным образом устройство выглядит в разложенном (рабочем) состоянии); 1 – респираторный узел; 2, 3 – зеркально симметричные, соответственно, правая и левая части респираторного узла; 4 – общая складка; 5, 6, 7 – соответственно, верхняя, средняя и нижняя части респираторного узла; 8, 9, 9*, 10, 10* – швы, выполненные любым известным способом, в зависимости от применяемых материалов, позволяющие сформировать «выпуклую» конфигурацию респираторного узла с воздушным карманом; 11, 13 – соответственно, нижняя и верхняя кромки респираторного узла; 12 – шов, выполненный по всему периметру респираторного узла на расстоянии от 2 до 3 мм от его внешней кромки, который скрепляет между собой все фильтрующие слои (первый и второй) пакета респираторного узла, а также материал-подкладку; 14 – растягивающиеся полоски шириной от 4 до 15 мм из эластичного материала (например, нитей, переплетенных с резиной); 15 – регулировочно-затягивающиеся механизмы-фиксаторы; 16 – носовой фиксатор, выполненный в виде отрезка проволоки длиной от 60 до 120 мм и диаметром от 1 до 2 мм; 17 – накладка из газонепроницаемой пленки (например, из поливинилхлорида) шириной от 10 до 30 мм и толщиной до 10 мкм; 18 – материал-подкладка (рисунки выполнены авторами)

Figure 3 – A drawing of a reusable protective mask: (A) sideface view of the device (this is the way device looks when it is folded); (B) a full face view of the device (this is the way device looks when it is unfolded) (operational mode); (1) a respiratory unit (2), (3) left and right part of the respiratory unit that are symmetrical; (4) a common fold; (5), (6), (7) upper middle and lower part of the respiratory unit, respectively; (8), (9), (9*), (10), (10*) joints made by any of the known methods depending on the materials employed. These joints are to make a respiratory unit more convexed and to create an air pocket; (11), (13) lower and upper edges of the respiratory unit respectively; (12) joint that is made along the perimeter of the respiratory unit at the distance of 2-3 mm from its external edge. This joint links all filter layers of the respiratory unit bag as well as material lining; (14) stretched stripes with the width of 4 to 15 mm made of flexible material (for example they can be made of threads bound with rubber); (15) adjustable tightened locks; (16) a nasal lock in the form of a wire section with the length of 60-120 mm and with a diameter of 1-2 mm; (17) an insert made of gas-proof film (PVC for example) with the width of 10-30 mm and thickness up to 10 μ m; (18) a lining (drawings are made by the authors)



Рисунок 4 – Варианты применения специальной защитной маски многоразового использования (фотографии выполнены авторами)

Figure 4 – Modes of application of a reusable protective mask (the pictures are taken by the authors)



Рисунок 5 – Варианты сменных вкладышей для специальной защитной маски многоразового использования кратковременного действия на основе марли (слева) и длительного действия на основе металлических нанокompозитов (справа) (фотографии выполнены авторами)

Figure 5 – Samples of replaceable insets for a reusable protective mask. Short-term, made of gauze (to the left); long-term made of metal nanocomposites (to the right) (the pictures are taken by the authors)

наличии). В результате этого осуществляется его очистка и фильтрация от содержащихся в окружающей атмосфере и передающихся воздушно-капельным (капельным) путем различных вредных примесей, загрязнений и патогенов.

Разработанное СИЗОД имеет девять типоразмеров (размерную линейку), учитывающих возрастные и типичные антропометрические особенности человеческого лица, отличающиеся разными геометрическими размерами.

Разработка комплекта средств индивидуальной защиты кожи многоразового использования. Анализ существующего уровня техники в области средств индивидуальной защиты кожи (СИЗК) показал, что единый стандарт РФ, определяющий требования к защитной одежде для работы с биологическими агентами I–IV группы патогенности, в настоящее время отсутствует. Поэтому для более качественной оценки преимуществ и недостатков, существующих СИЗК, отличающихся конструктивными особенностями, материалами исполнения и способами их соединения (сшивания), был проведен экс-

пертный опрос специалистов, выполнявших работы в ходе борьбы с коронавирусной инфекцией.

На основании результатов экспертного опроса 86 работающих (работавших) в «красной зоне» респондентов из 4 медицинских учреждений Костромской области, репрезентативность которого составляет 91,6 %, специалистами Военной академии РХБ защиты сформулированы общие медико-технические требования к защитной одежде для работы с биологическими агентами I–IV группы патогенности и разработана конструкция нового комплекта СИЗК многоразового использования (рисунок 6А, 6Б).

Изолирующий костюм выполнен в виде комбинезона. Куртка с капюшоном и брюки скреплены герметичным швом. Перед куртки состоит из спинки и двух полочек, застегивающихся на диагонально расположенную застежку-молнию, с внутренней стороны которой пришит защитный клапан, а снаружи застежку-молнию закрывает клапан с застежкой-молнией, в свою очередь закрывающийся клапаном, фиксирующимся на ленту-контакт (рисунок 6В, 7А) [12].

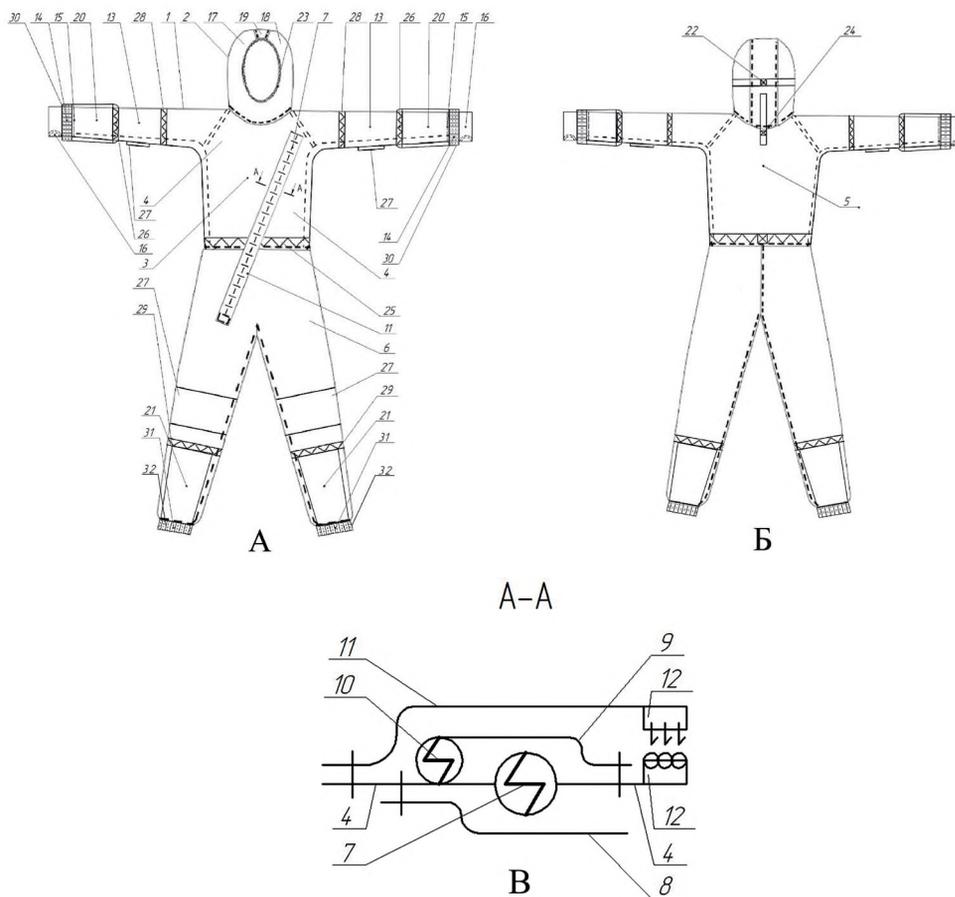


Рисунок 6 – Схематичное изображение конструкции защитного изолирующего костюма: А – вид устройства спереди; Б – вид устройства сзади; В – разрез А-А; 1 – куртка; 2 – капюшон втачной; 3 – перед куртки; 4 – полочка переда куртки; 5 – спинка куртки; 6 – брюки; 7 – застежка-молния; 8 – защитный клапан на внутренней стороне застежки-молнии (7); 9 – защитный клапан с наружной стороны застежки-молнии (7); 10 – застежка-молния наружного защитного клапана (9); 11 – наружный защитный клапан застежки-молнии (10); 12 – лента-контакт; 13 – рукава втачные двушовные рубашечного покроя; 14, 30, 31, 32 – герметичные напульсники, стянутые стяжками из эластичной тесьмы; 15 – шов, которым к основному материалу рукавов (13) пришиты герметичные напульсники (14) и трикотажный манжет с широкой проёмой для большого пальца (16); 16 – трикотажный манжет с проёмом для большого пальца; 17, 18 и 19 – соответственно, две боковые и центральная части капюшона, соединенные герметичными швами; 20, 21 – надставки; 22 – эластичный шнур с фиксатором капюшона по горизонтали; 23 – стяжка из эластичной тесьмы по линии обтюрации лицевого выреза капюшона; 24 – хлястик на затылке капюшона, позволяющий регулировать его в зависимости от антропометрических параметров головы; 25, 26, 28, 29 – эластичные стяжки с фиксатором-регулятором длины, соответственно, по линии талии костюма, в областях предплечья, плеча и голени; 27 – специальные усиленные накладки (в области коленей и локтей) (рисунки выполнены авторами)

Figure 6 – A drawing of impermeable protective suit: (A) front view; (B) back view; (B) section A-A; (1) jacket; (2) a sewn-in hood; (3) the front of the jacket; (4) jacket front edge; (5) the back of the jacket; (6) trousers; (7) a zipper; (8) a protective valve in the inner part of the zipper (7); (9) a protective valve in the external part of the zipper; (10) zipper of external protective valve (9); (11) an external protective valve of the zipper (10); (12) a contact band; (13) sewn-in double seamed sleeves of a shirt kind; (14), (30), (31), (32) leak-proof wrist bracers tightened with strips, made of elastic band; (15) joint that links sleeves with leak-proof wrist bracers and a knitted cuff with a space for a thumb (16); (16) a knitted cuff with a space for a thumb; (17), (18) and (19), respectively, two lateral and a central part of the hood, seamed with leak-proof joints; (20), (21) extensions; (22) an elastic cord with a hood lock in a horizontal line; (23) a strip made of elastic band that located along the sealing line of the face neck of the hood; (24) a half-belt at the back of the hood that helps to adjust it to anthropometric measurement of a head of a military man; (25), (26), (28), (29) elastic bands with a lock that helps to adjust length along the suit waist line, near to forearm, shoulder and shank; (27) reinforced protective pads for knees and elbows) (the drawings are made by the authors)

Указанный способ герметизации обеспечивает высокую степень защиты от попадания патогенных микроорганизмов в подкостюмное пространство, так как диагональное расположение застежки-молнии не позволяет образоваться зазору в подбородочной области между бегунком застежки-молнии и СИЗОД, что снижает риск подсоса и (или) заноса неочищенного воздуха из окружающей атмосферы в подкостюмное пространство. Кроме того, в случае возникновения с одной застежкой-молнией неисправностей, в конструкции костюма предусмотрена альтернативная застежка-молния, выполняющая барьерные функции как в штатных, так и при аварийных ситуациях.

Капюшон втачной скроен из центральной и двух боковых частей, соединенных герметичными швами, и имеет по линии обтюрации лицевого выреза стяжку из эластичной тесьмы (рисунок 7Б). В конструкцию капюшона встроены эластичный шнур с фиксатором по горизонтали.

На затылке расположен хлястик, позволяющий регулировать капюшон в зависимости от антропометрических параметров головы, длина его может меняться с помощью пряжки-удавки (рисунок 8). Капюшон по разработанной конструкции не сковывает движения пользователя головой, не спадает на его глаза или имеет излишнюю натянутость, а также обеспечивает правильную посадку и оптимальное прилегание капюшона к СИЗОД, что исключает попадание окружающего (нефильтрованного) воздуха в подкостюмное пространство.

Для обеспечения целостности материала костюма в местах, подверженных риску воз-

никновения механических повреждений и частому сгибанию (колени, локти), предусмотрены специальные усиленные накладки, выполненные из слоя основного материала.

Все соединения однородных и разнородных материалов изолирующего костюма многократного использования выполнены путем их сшивания герметизированными швами по технологии, обеспечивающей защиту от протекания жидкости.

Для защиты кожи рук в комплекте используются две пары перчаток: первая надевается на голую кисть, вторая – на трикотажный манжет с проймой для большого пальца, что исключает возможность при работе «зацепить» инструмент или иные предметы. При выполнении задач на улице в условиях отрицательной температуры воздуха рекомендуется использовать в качестве первой пары перчатки перчатки и (или) перчатки особой прочности.

Обувь комплекта имеет два варианта исполнения, и выбирается в зависимости от выполняемой задачи и микробиологической обстановки:

- бахилы со встроенными резиновыми галошами (рисунок 9) – для работы в лабораториях, специализированных инфекционных стационарах (отделениях) и т.п.;

- защитные сапоги с противоскользящей поверхностью подошв из полиуретана и вспененного полиуретана с внутренним многослойным чулком (рисунок 9) – для работ по захоронению трупов, при работе в условиях заражения патогенными микроорганизмами на пересеченной местности, при ликвидации последствий аварий на разрушенных



А

Б

Рисунок 7 – Элементы изолирующего костюма многократного использования: А – застежка-молния с защитным закрывающимся клапаном; Б – вариант использования стяжки из эластичной тесьмы по линии обтюрации лицевого выреза капюшона (фотографии выполнены авторами)

Figure 7 – Samples of replaceable insets for a reusable protective mask. Short-term, made of gauze (to the left); long-term made of metal nanocomposites (to the right) (the pictures are taken by the authors)



Рисунок 8 – Вариант хлястика, позволяющего регулировать капюшон (фотография выполнена авторами)
Figure 8 – Sample of a half-belt that helps to modify the hood (the picture are taken by the authors)

биологически опасных объектах и при выполнении других специальных задач.

В комплект входят клеенчатый, прорезиненный или полиэтиленовый фартук, используемый сотрудниками патологоанатомических или судебно-медицинских отделений при вскрытии или захоронении трупов, а также для выполнения специальных задач.

Проведенные исследования и испытания показали, что разработанный комплект СИЗК многоразового использования обеспечивает сохранение защитных характеристик в течение не менее 24 часов. Однако для исключения случаев ухудшения функционального состояния организма пользователя и (или) снижения его работоспособности не рекомендуется более 12 часов (в зависимости от температуры окружающей среды) непрерывного ношения (применения по назначению) разработанного комплекта.

Результаты выполненной работы. Апробация комплекта СИЗОДиК многоразового использования. Полученные специалистами Военной академии РХБ защиты результаты, разработанные технические решения и выработанные предложения в кратчайшие сроки были внедрены в производственные процессы ряда организаций Костромской области, в части касающейся:

- определения перечня материалов для производства нового комплекта СИЗОДиК многоразового использования и установления их номенклатуры, в частности, для комплекта СИЗК в количестве 11 (одинадцати) наименований, для специальной защитной маски в количестве 5 (пяти) наименований;

- изменения конструкций изолирующих костюмов многоразового использования и специальной защитной маски многоразового



Рисунок 9 – Варианты использования бахилы со встроенной резиновой галошей (слева) и защитных сапог с противоскользящей поверхностью подошв из полиуретана и вспененного полиуретана с внутренним многослойным чулком (справа) (фотографии выполнены авторами)

Figure 9 – Use case for shoe protector with integrated rubbers (to the left) and for protective boots with anti-slip soles made of polyurethane and foamed polyurethane with inner multilayered stocking (to the right) (the pictures are taken by the authors)

использования с включением в технологические карты и конструкторские документации на их производство.

Произведенные в промышленных условиях опытные образцы новых СИЗОДиК (рисунок 10) были апробированы сотрудниками медицинских организаций Костромской области, выполнявших различные задачи в условиях возможного заражения COVID-19 (выездные мобильные бригады, медперсонал «красной зоны» и др.). Представленные Департаментом здравоохранения Костромской области результаты использования разработанных СИЗОДиК показали, что они являются удобными и эргономичными, обеспечивая комфортное выполнение сотрудниками своих функциональных обязанностей в течение смены (не менее 6 часов), не требуют дополнительной помощи для их одевания и снятия, а малый вес комплекта в целом, составляющий вместе с сумкой-переноской менее одного килограмма, «не ощущается», что исключает снижение работоспособности из-за физической усталости.

На основании проведенных практических испытаний, обнаруженных недостатках, а также полученных от медицинских организаций рекомендаций специалистами Военной академии РХБ защиты совместно с предприятиями промышленности Костромской области проведена доработка комплекта СИЗОДиК, в том числе, определена его цветовая гамма.

Кроме того, в ходе опытной эксплуатации выявлена необходимость разработки порядков (алгоритмов) одевания и снятия СИЗОД, а также уточнено, что по истечению установленного времени использования комплекта, зависящего, в том числе, и от характеристик дополнительного сменного фильтрующего элемента СИЗОД, поверхности всех его элементов до снятия дезинфицируются в специально отведенном помещении или на участке местности (так называемая, «грязная зона»), в зависимости от возможностей медицинского учреждения и условий окружающей среды, посредством дезинфицирующих рамок, распылителей и т.п. После этого пользователь в СИЗОДиК перемещается в «чистую зону» (другое помещение или участок местности, находящийся на расстоянии не менее 100 м от участка дезинфекции), снимает все элементы комплекта и переходит на участок проведения санитарной обработки.

Использованные СИЗОДиК сортируются по элементам (при наличии дополнительного сменного фильтрующего элемента в СИЗОД он извлекается) и регенерируется (дезинфицируется, стерилизуется, очищается и т.п.) следующими способами (одним или несколькими): выдержка в атмосфере оксида этилена, специальная обработка и (или) стирка с использованием дезинфицирующего средства (3 % раствор хлорамина, 3 % раствор перекиси водорода, 1 % раствор «Пероксам



Рисунок 10 – Апробация сотрудниками медицинских организаций Костромской области опытных образцов новых СИЗОДиК, произведенных в промышленных условиях (фотография выполнена авторами)

Figure 10 – The personnel of medical institutions of the Kostroma regions is testing new manufactured samples of respiratory and skin protective devices (the pictures are taken by the authors)

ультра» или 0,3 % раствор «Ника хлор»), обработка паром (возможна только для разработанного СИЗОД). Результаты опытной эксплуатации показали, что все используемые в комплекте СИЗОДиК материалы сохраняют свои первоначальные свойства после не менее 25 применений по назначению и, соответственно, 25 циклов регенерации указанными способами.

Разработанные специалистами Военной академии РХБ защиты порядки (в том числе, алгоритмы, способы и средства) использования (в том числе, одевания и снятия) и дезинфекции (в соответствии с СП 1.3.3118-13) разработанного комплекта СИЗОДиК были включены в техническую документацию на его использование.

На основании полученных положительных результатов проведенных испытаний, разработанных специалистами Военной академии РХБ защиты технических решений и выработанных предложений промышленностью Костромской области, началось массовое производство комплектов СИЗОДиК для медицинских работников Костромской области и других областей, что позволило обеспечить 39 субъектов РФ.

Необходимо отметить, что изготовленный по рекомендациям специалистов Военной академии РХБ защиты изолирующий противоионификационный костюм «Здоровье» много разового использования прошел испытания в Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения, а ООО «Производственно-промышленное объединение «ОРБИТА» стало пятым предприятием в РФ, получившим регистрационное удостоверение на медицинское изделие № РЗН 2020/10102 от 21 апреля 2020 г. Произведенные ООО «Баска» изолирующие противоионификационные костюмы много разового использования серии «Лайтер» успешно прошли ряд испытаний в следующих организациях:

– филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны (МО) РФ (оценка защитных свойств образца ткани на проницаемость микроорганизмами. Протокол от 16.12.2020 г., г. Киров);

– ФБУН «Научно-исследовательский институт дезинфектологии» Роспотребнадзора (оценка устойчивости к многократному воздействию дезинфицирующих средств к ткани. Протокол № 11.338-3754/20 от 20.08.2020 г., г. Москва);

– ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт ме-

дицинской техники» Росздравнадзора (токсикологическое исследование медицинского изделия. Протокол № ТТ-20-260 от 26.01.2021 г., г. Москва);

– АО «Электростальское научно-производственное объединение «Неорганика» (оценка времени защитного действия от паров тест-вещества защитных материалов образцов изолирующих костюмов. Протокол № 02-21 от 19.05.2021 г., г. Электросталь);

– испытательная лаборатория средств индивидуальной защиты ООО «Мониторинг» (проведение испытаний материала ткани на соответствие требованиям ГОСТ ISO 16602-2019 (п. 6.8, 6.9) по показателям стойкости к прониканию (отталкиванию) жидкостей. Протокол от 11.08.2021 г., г. Санкт-Петербург).

Более того, ООО «Баска» выиграло тендер, на основании которого в полном объеме обеспечивает медицинские организации Костромской области комплектами СИЗОДиК.

Технические решения и результаты работы, выполненной специалистами Военной академии РХБ защиты, были представлены на:

– конкурсах инновационных проектов «День инноваций войск РХБ защиты – 2020», «День инноваций войск РХБ защиты – 2021» и «День инноваций войск РХБ защиты – 2022» в 2020, 2021 и 2022 гг.;

– международных военно-технических форумах «АРМИЯ-2020» и «АРМИЯ-2021» в 2020 и 2021 гг.;

– II Всероссийской научно-технической конференции «Состояние и перспективы развития современной науки по направлению «Нанотехнологии и наноматериалы» Военно-инновационного технополиса «ЭРА» в 2020 г.;

– международной выставке Bulmedica/Buldental в 2020 г.;

– выставке «Научно-техническое творчество и инновации» (НТТИ-2021) в 2021 г.;

– Всероссийском форуме с международным участием «Перспективы развития видов обеспечения военно-воздушных сил» в 2022 г.

Апробация разработанного комплекта СИЗОДиК на указанных мероприятиях показала, что он высоко востребован в МО РФ, МВД России, МЧС России, ФСБ России, ФМБА России, а также в отраслях экономики и промышленности, связанных с решением задач защиты личного состава от биологических агентов различной группы патогенности.

Разработчики нового комплекта СИЗОДиК были награждены медалями Ми-

нистерства обороны Российской Федерации «За усердие при выполнении задач радиационной, химической и биологической защиты» и благодарностями от Губернатора Костромской области.

В настоящее время выполняется научно-исследовательская и опытно-конструкторская работа по совершенствованию комплекта СИЗОДиК с целью его использования личным составом войск РХБ защиты ВС РФ при выполнении специальных задач в условиях воздействия биологических агентов природного и техногенного характера, при работах в специализированных подвижных и стационарных биологических лабораториях, локализации последствий эпидемиологического характера, а также при профилактике опасных инфекционных заболеваний.

Заключение

Разработанный комплект СИЗОДиК может применяться для:

– проведения дезинфекции вооружения, военной и специальной техники, участков местности, зданий, сооружений, санитарной обработки личного состава при ло-

кализации очага (района) биологической зараżenia;

– проведения специальных работ с возбудителями опасных и особо опасных инфекционных заболеваний в подвижных и стационарных биологических лабораториях;

– выполнения задач подразделениями РХБ разведки по отбору проб в районах с биологическим заражением в интересах административных округов на период мирного времени;

– использования в производственном цикле создания медицинских иммунобиологических препаратов;

– обеспечения личного состава, привлекаемого к выполнению специальных задач в инфекционных отделениях медицинских учреждений;

– обеспечения исследований по контролю объектов окружающей среды и качества продукции, предполагающих работы с биологическими агентами I–IV группы патогенности;

– проведения аварийно-спасательных работ;

– обеспечения работ фармацевтических организаций.

Ограничения исследования / Limitations of the study

Данный аналитический обзор имеет ряд ограничений, а именно: 1) Все исследования проводились с целью определения наилучшего материала, предложенного промышленностью Костромской области. 2) Итогом проведенных исследований являлись предложения для промышленности Костромской области по изготовлению средств индивидуальной защиты органов дыхания и кожи / This analytical review has a number of limitations, such as: (1) All the studies have been conducted in order to choose the best material that can be produced in the Kostroma region. (2) As a result of the conducted studies, several patterns of respiratory and skin protective devices have been proposed for manufacturing in the Kostroma region.

Список источников / References

1. Бухтияров И.В. Эпидемиологические и клинико-экспертные проблемы профессиональной инфекционной заболеваемости работников при оказании медицинской помощи в условиях пандемии COVID-19. *Медицина труда и промышленная экология*. 2021;61(1):4–12.
<https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-1-4-12>

Bukhtiyarov I.V. Epidemiological, clinical, and expert problems of occupational infectious diseases of workers during medical care in the COVID-19 pandemic. *Russian Journal of Occupational Health and Industrial Ecology*. 2021;61(1):4–12 (In Russian).
<https://doi.org/10.31089/1026-9428-2021-61-1-4-12>

2. Тимофеев И.Н. COVID-19 и политика санкций: опыт ивент-анализа. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Международные отношения*. 2020;13(4):449–64.
<https://doi.org/10.21638/spbu06.2020.402>

Timofeev I.N. COVID-19 and the policy of sanctions: An event analysis. *Vestnik of Saint Petersburg University. International Relations*. 2020;13(4):449–64 (In Russian).
<https://doi.org/10.21638/spbu06.2020.402>

3. Дениэл Рал Т, Дана Ноури В. Личная дыхательная система, устройство и процессы. Патент US 6394090 B1, МПК А62В7/10. заявл. 17.02.1999; опублик. 28.05.2002.

Daniel Ral T, Dana Nouri V. Personal respiratory system, structure and processes. Patent US 6394090 B1, МПК А62В7/10. Announced on 17/02/1999; publ. 28/05/2002 (in Russian).

4. Атрошенко АА, Горбушкин ВД, Колесников ГН, Скобцов АА, Зародов ВП, ЩербакOVA ОА. Полумаска фильтрующая для защиты от аэрозолей и пыли. Патент RU 2550329 C2, МПК A62B 18/00. заявл. 05.07.2013; опублик. 10.05.2015.

Atroshenko AA, Gorbushkin VD, Kolesnikov GN, Skobtsov AA, Zarodov VP, Shcherbakova OA. Half mask filtering for protection against aerosols and dust. Patent RU 2550329 C2, МПК A62B 18/00. Announced on 05/07/2013; publ. 10/05/2015 (in Russian).

5. Петросян АР. Маска медицинская. Патент RU 139546 U1, МПК A62B18/02. заявл. 24.05.2013; опублик. 20.04.2014.

Petrosyan AR. Medical mask. Patent. RU 139546 U1, МПК A62B18/02. Announced on 05/24/2013; publ. 20/04/2014 (in Russian).

6. Спичаков ПВ. Маска одноразовая медицинская. Патент RU 110937 U1, МПК A41D13/11, B01D39/04. заявл. 07.07.2011; опублик. 10.12.2011.

Spichakov PV. Disposable medical mask. Patent RU 110937 U1, МПК A41D13/11, B01D39/04. Announced on 07/07/2011; publ. 10/12/2011.

7. Спичаков ПВ. Медицинская защитная маска с регулируемым размером. Патент RU 2654400 C1, МПК A41D13/11. заявл. 17.04.2017; опублик. 17.05.2018 (in Russian).

Spichakov PV. Medical protective mask with adjustable size. Patent RU 2654400 C1, МПК A41D13/11. Announced on 17/04/2017; publ. 17/05/2018.

8. Даниякин НВ, Соловых СН, Васильев ВВ, Якупов РП, Барсукова АА, Даниякина ЕА. Защитная маска многоразового использования. Патент RU 205800 U1, МПК A41D13/11. заявл. 02.12.2020; опублик. 11.08.2021.

Danyakin NV, Solovykh SN, Vasiliev VV, Yakupov RP, Barsukova AA, Danyakina EA. Reusable protective mask. Patent RU 205800 U1, МПК A41D13/11. Announced on 02/12/2020; publ. 11/08/2021 (in Russian).

9. Yarpuntich DA, Grannis VB, Seppala HJ, Ferguson AB. One-way liquid valve. Patent US 5325892 A, МПК A62B18/10. Announced on 29/05/1992; publ. 05/07/1994.

10. Кравцов АГ, Воробьев АВ, Пинчук ЛС, Гольдаде ВА, Громыко ЮВ. Способ получения электретиного тонковолокнистого фильтрующего материала для респираторов. Патент RU 2198718 C1, МПК A62B23/02, B01D39/16. заявл. 01.01.2001; опублик. 20.02.2003.

Kravtsov AG, Vorobyov AV, Pinchuk LS, Goldade VA, Gromyko YV. Method for producing electret fine-fiber filter material for respirators. Patent RU 2198718 C1, МПК A62B23/02, B01D39/16. Announced on 01/01/2001; publ. 20/02/2003 (in Russian).

11. Ангадживанд СА, Джонс МЕ, Мейер ДЕ. Способ электризации нетканого полотна, электретиная фильтрующая среда, упругая фильтрующая маска и респираторная маска в сборе. Патент RU 2130521 C1, МПК B01D39/14, A62B7/00, A62B18/00. заявл. 17.08.1994; опублик. 20.05.1999.

Angajivand SA, Jones ME, Meyer DE. Method for electrifying non-woven fabric, electret filter medium, elastic filter mask and respirator mask assembly. Patent RU 2130521 C1, МПК B01D39/14, A62B7/00, A62B18/00. Announced on 17/08/1994; publ. 20/05/1999 (in Russian).

12. Горбачев ПВ, Даниякин НВ, Соловых СН, Васильев ВВ, Ананьев АА, Яковлев ИВ, Захаров НР. Изолирующий костюм с капюшоном. Патент RU 214621 U1, МПК A41D13/11. заявл. 24.12.2021; опублик. 08.11.2022.

Gorbachev PV, Danyakin NV, Solovykh SN, Vasiliev VV, Ananyev AA, Yakovlev IV, Zakharov NR. Isolation suit with hood. Patent RU 214621 U1, МПК A41D13/11. Announced on 24/12/2021; publ. 08/11/2022 (in Russian).

Вклад авторов / Authors' contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **В.В. Васильев** – доработка текста, окончательное утверждение версии рукописи для публикации; **С.Н. Соловых** – формирование концепции статьи, написание текста рукописи; **Н.В. Даниякин** – написание текста рукописи; **П.В. Горбачев** – коррекция текста рукописи, переработка текста / All authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contributions are as follows: **V.V. Vasiliev** has made follow-on revision, has approved a final version of the article for publication; **S.N. Solovykh** has formulated the concept of the study, has written the text of the article, **N.V. Danyakin** has written the text of the article; **P.V. Gorbachev** has made necessary amendments to the text, has revised the text.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах/ Authors

Федеральное государственное военное казенное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» (г. Кострома), 156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16.

Васильев Валерий Васильевич. Заместитель начальника Военной академии РХБ защиты, канд. воен. наук.

Соловых Сергей Николаевич. Начальник кафедры, канд. техн. наук, старший научный сотрудник.

Данякин Никита Вячеславович. Преподаватель кафедры, канд. техн. наук.

Горбачев Павел Валерьевич. Преподаватель кафедры, канд. техн. наук.

Контактная информация для всех авторов: varhbx@mil.ru

Контактное лицо: Горбачев Павел Валерьевич; varhbx@mil.ru

Nuclear Biological Chemical Defence Military Academy Named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko (Kostroma) of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Gorkogo Street, 16, Kostroma 156015, Russian Federation.

Valerii V. Vasilyev. Deputy Head of the Nuclear Chemical Biological Defence Military Academy. Cand. Sci. (Military).

Sergei N. Solovykh. Head of the department. Cand. Sci. (Techn.).

Nikita V. Danyakin. Lecturer of the department. Cand. Sci. (Techn.).

Pavel V. Gorbachev. Lecturer of the department. Cand. Sci. (Techn.).

Contact information for all authors: varhbx@mil.ru

Contact person: Pavel V. Gorbachev; varhbx@mil.ru



Современные подходы к созданию средств индивидуальной защиты органов дыхания и головы военнослужащего

Ю.С. Мигачев^{1,✉}, А.А. Камьянов², А.В. Болтыков¹

¹Федеральное государственное военное казенное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» (г. Кострома) Министерства обороны Российской Федерации 156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16
✉ e-mail: varhbz@mil.ru

²Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации 111024, Российская Федерация, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19
e-mail: 27nc_1@mil.ru

Основные моменты

Существует необходимость концепции развития средств индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД) с их дальнейшей интеграцией в систему комплекта боевой экипировки военнослужащего (КБЭВ) путем создания комплексного средства защиты головы (КСЗГ).

В статье представлены наиболее важные конструктивные решения, планируемые к реализации в новом защитном комплекте.

Актуальность. Исследования, направленные на разработку нового образца войсковых СИЗОД, кожи лица и глаз от физиологически активных веществ (ФАВ), «Противогаз-бронешлем» 2-го поколения на базе многофункционального бронешлема в составе перспективного КБЭВ, обеспечивающего комфортные условия эксплуатации личным составом и интегрированную защиту от поражающих факторов (ОВ и БА) и осколков, является актуальным.

Цель работы – обобщение информации из литературных источников по существующим направлениям развития СИЗОД, кожи лица и глаз и определение наиболее важных конструктивных решений, планируемых к включению в состав перспективного КБЭВ.

Материалы и методы. Обоснование конструкции «Противогаз-бронешлем» 2-го поколения осуществлялось аналитическим методом на основании анализа открытых источников, содержащих информацию о средствах индивидуальной бронезащиты головы и органов дыхания от ФАВ. В качестве материалов использовались технические описания, руководства и инструкции по эксплуатации таких средств, а также открытая научная литература, содержащая информацию об их устройстве и принципах действия.

Обсуждение результатов. Современный КБЭВ представляет собой объединенный комплекс, состоящий из систем поражения, управления, защиты, жизнеобеспечения и энергообеспечения, предназначенных для выполнения военнослужащим боевых задач, как индивидуально, так и в составе отделения, взвода и т.п. Важнейшим направлением при совершенствовании КБЭВ является обеспечение многофункциональной защиты личного состава от поражающих факторов ОМП и оружия на новых физических принципах.

Вывод. В настоящее время в нашей стране и за рубежом ведутся серьезные исследования в области развития СИЗОД, кожи лица и глаз и определение наиболее важных конструктивных решений, планируемых к включению в состав перспективного КБЭВ. Одним из направлений в области создания современного КБЭВ является разработка комплексного средства защиты головы. В тоже время, с учетом опыта современных военных конфликтов, в России и западных странах ведутся разработки в области создания универсальных средств броне- и респираторной защиты.

Мигачев Ю.С., Камьянов А.А., Болтыков А.В.
Migachev Y.S., Kam'yanov A.A., Boltykov A.V.

Ключевые слова: «бронешлем-противогаз»; «бронемаска-респиратор»; комплект боевой экипировки военнослужащего; комплексное средство защиты головы; противогаз; средства индивидуальной защиты органов дыхания; физиологически-активные вещества; фильтрующе-поглощающая система

Для цитирования: Мигачев Ю.С., Камьянов А.А., Болтыков А.В. Современные подходы к созданию средств индивидуальной защиты органов дыхания и головы военнослужащего. Вестник войск РХБ защиты. 2024;8(3):287–300. EDN:izbwag.
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-287-300>

Прозрачность финансовой деятельности: авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: нет.

Финансирование: Федеральное государственное казенное военное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» Министерства обороны Российской Федерации.

Поступила 05.06.2024 г. Исправленный вариант 20.09.2024 г. Принята к публикации 27.09.2024 г.

Modern Approaches to the Development of Head and Respiratory Protective Devices for Military Men

Yuri S. Migachev^{1,✉}, Alexei A. Kam'yanov², Aleksandr V. Boltykov¹

¹Nuclear Biological Chemical Defence Military Academy Named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko (Kostroma), the Ministry of Defence of the Russian Federation
Gorkogo Str. 16, Kostroma 156015, Russian Federation
✉ e-mail: varhzb@mil.ru

²Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky of the Ministry of Defence of the Russian Federation
Entuziastov Passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation
e-mail: 27nc_1@mil.ru

Highlights

It is necessary to elaborate the plan of development of respiratory protective devices. This plan should suggest that these devices should be further implemented into combat uniform set for military men. It also should propose a multifunctional head protective device.

This article presents the most relevant design concepts that are to be implemented into a new protective set.

Relevance. The paper discusses studies aimed at development of new samples of respiratory protective devices, as well as facial skin and eye protective devices for military men. These devices should protect from physiologically active substances. The article dwells on “ballistic helmet gasmask of the 2nd generation” created on the basis of a multifunctional ballistic helmet. It should be implemented into an innovative combat uniform set that is user-friendly for military men and provide complex safety from damage effects (poison agents and BA) and splinters. Such studies are quite relevant nowadays.

The aim of the study – To analyze scientific sources and to summarize data on the development of respiratory protective devices, facial skin and eyes protective equipment and to outline the most crucial design patterns that are to be implemented into an innovative combat uniform set.

The source base includes open documentary sources containing information on individual head armor and respiratory protection means against Physiologically-Active Substances (PAS) considered for use in the composition of the prospective individual combat equipment of a serviceman; technical descriptions, manuals, and operating instructions for such means, as well as open scientific literature containing information about their design and operating principles.

Materials and methods. The design of a ballistic helmet gas mask of the 2nd generation has been justified based on the analysis of the available sources that contain data on head armored protection devices and respiratory protection

devices from physiologically active substances. The authors also analyzed technical specifications and user manuals for such devices and available academic sources that contain information on their structure and functioning.

Discussion. A modern combat uniform set is a combined set that consists of weapon system, management system, protection system life maintenance system and power supply system that are meant to help military men to perform their battle missions both on their own and as a part of a squad, platoon, etc. The crucial moment for a combat uniform set improvement is to ensure a complex staff protection from damage effects of mass destruction weapons and weapons based on new physical principles.

Conclusion. Nowadays both in Russia and in foreign countries scientists have been conducting extensive studies on the development of the respiratory protective devices, facial skin and eyes protective equipment. The scientists have been trying to find out the most crucial design patterns that are to be implemented into an innovative combat uniform set. One of the most prominent ways is to create a multifunctional head protection device. At the same time considering the past experience of the modern military conflicts in Russia and abroad, the scientists have been working on the development of universal means of armored and respiratory protection.

Keywords: “Ballistic helmet-gasmask”; “armored mask-respirator”; military combat uniform; multifunctional head protective device; gas mask; respiratory protective devices; physiologically active substances; filter and absorbing system

For citation: Migachev Y.S., Kam'yanov A.A., Boltykov A.V. Modern Approaches to the Development of Head and Respiratory Protective Devices for Military Men. *Journal of NBC Protection Corps*. 2024;8(3):287–300. EDN:izbwag. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2024-8-3-287-300>

Financial disclosure: The authors have no financial interests in the submitted materials or methods.

Conflict of interest statement: The authors declare no conflict of interest.

Funding: Nuclear Biological Chemical Defence Military Academy Named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko (Kostroma) of the Ministry of Defence of the Russian Federation.

Received June 5, 2024. Corrected August 26, 2024. Accepted September 27, 2024

Вследствие усложнения характера боевых действий, роста их темпа, размаха и напряженности, повышаются требования к экипировке военнослужащих. Экипировка военнослужащих должна соответствовать современным требованиям тактики, основанной на новых подходах к выполнению боевых и специальных задач. Создание современного снаряжения для военнослужащих и обеспечение дистанционного контроля их функционального состояния и боеготовности в настоящее время базируется на теоретических основах фундаментальной науки и достижениях в области перспективных направлений исследований, в том числе в области нанотехнологий. Создание перспективной боевой индивидуальной экипировки военнослужащего требует комплексного подхода и является сложной научно-технической и организационной задачей ввиду ее объемности и многофакторного характера. Для ее решения требуется проведение целенаправленных оперативно-тактических, технико-экономических, медико-биологических и технологических исследований, серьезных конструкторских изысканий и практических работ по реализации.

В этой связи исследования, направленные на разработку нового образца «Противогаз-бронешлем» 2-го поколения на базе многофункционального бронешлема в составе перспективного комплекта боевой экипировки военнослужащего (КБЭВ), обеспечивающего комфортные условия эксплуатации личным составом Вооруженных Сил, военной полиции, специалистов спасательных служб и интегрированную защиту от поражающих факторов отравляющих веществ (ОВ) и биологических агентов (БА) и осколков, являются актуальными.

Цель работы – обобщение информации из литературных источников по существующим направлениям развития средств индивидуальной защиты органов дыхания (СИЗОД), кожи лица и глаз и определение наиболее важных конструктивных решений, планируемых к включению в состав перспективного КБЭВ.

Материалы и методы. Обоснование конструкции «Противогаз-бронешлем» 2-го поколения осуществлялось аналитическим методом на основании анализа открытых источников, содержащих информацию о средствах индивидуальной бронезащиты

головы и органов дыхания от ФАВ; технические описания, руководства и инструкции по эксплуатации таких средств, а также открытая научная литература, содержащая информацию об их устройстве и принципах действия.

Общие требования к перспективным средствам индивидуальной защиты органов дыхания. Перспективные СИЗОД должны удовлетворять требованиям¹:

- сочетаться с табельным армейским обмундированием, десантным и стальным шлемами, оружием и снаряжением;
- позволять выполнять нормативы по боевой подготовке, в том числе при работе с оптическими приборами не ниже, чем на «удовлетворительно»;
- позволять личному составу вести боевые действия в дневных и ночных условиях во всем диапазоне климатических условий;
- не снижать эргономические характеристики после проведения специальной обработки;
- не снижать эргономические характеристики при воздействии на них пота, горючесмазочных материалов и воздействии атмосферных осадков.

Конструкция, материалы, геометрические и весовые характеристики всех видов СИЗОД должны обеспечивать²:

- максимально возможное общее и бинокулярное поле зрения при применении образца;
- возможность пользования оптическими и измерительными приборами, электронно-дальномерными устройствами и т.п.;
- безопасное пребывание в общевойсковом фильтрующем противогазе в течение 24 часов в любых климатических зонах;
- возможность сна, приема воды и жидкой пищи в противогазе.

СИЗОД должны быть простыми по устройству с минимальным количеством частей и деталей, надежными в использовании.

Интеграция современных общевойсковых противогазов со средствами бронезащиты. Система противогазовой защиты органов дыхания должна быть модульной, сопрягаемой, при необходимости, с конструкцией боевого шлема и другими элементами КБЭВ (рисунок 1) [1].

Для практически мгновенной защиты органов дыхания от внезапного воздействия первичного облака ОВ и БА необходима автоматическая система срабатывания затворов,



Рисунок 1 – Общевойсковые противогазы и средства бронезащиты головы. А – ПМГ; Б – ПМК-2; В – ПМК-3; Г – ПМК-4 (рисунок подготовлен авторами по [1])

Figure 1 – Field gas masks and head armored protection means. А – PMG; Б – PMK-2; В – PMK-3; Г – PMK-4 (the figure is compiled by the authors of this article according to [1])

включающих фильтрующе-поглощающую систему (ФПС) или индивидуальную фильтровентиляционную установку (ФВУ), или изолирующие источники воздуха (кислорода) по электросигналам индивидуальных или групповых датчиков РХБ опасности с быстродействием не более 1 с. Для предохранения очкового узла противогаза от выхода из строя при применении аэрозолей соответствующих веществ необходимо применять заменяемые пленочные экраны, а для предохранения фильтрующе-поглощающей коробки (ФПК) – заменяемые тонкие накладные предфильтропоглощающие блоки.

Предлагаемое конструктивное решение противогаза в виде унифицированного бронешлема, т.е. единого средства защиты головы, постоянно находящегося на голове, с приведением его в положение «газы» путем ручного автоматического нажатия на кнопку бронезащитного забрала, которое выполняет также функцию лицевой части противогаза, по нашему мнению, недостаточно оптимально. Необходимость постоянно носить шлем с встроенной системой защиты от РХБ поражающих факторов независимо от вероятности применения химического и биологического оружия перспективно для специальных подразделений при выполнении специальных задач по предназначению, с целью обеспечения максимальной индивидуальной защищенности военнослужащих от воздействия разных видов оружия [2].

Совершенствование ФПС противогаза проводилось с целью повышения защитных свойств от различных химических классов

¹ Хомичев БА. Перспективная боевая и тактическая экипировка российских военнослужащих. URL: <http://sotnic.net/articles/perspektivnayatacticheskayai> (дата обращения: 21.02.2024).

² Российская боевая экипировка «Ратник». URL: <http://www.vpk.name> (дата обращения: 21.02.2024).

токсичных веществ и снижения массогабаритов. Для этого провели исследования по следующим направлениям³:

– заменили металлическую ФПК на огнезащищенную, не впитывающую органические вещества полимерную коробку;

– включили в ФПК слой микронановолокон для отфильтровывания частиц РХБ агентов менее 100 нм;

– разработали индивидуальные датчики остаточной адсорбционной емкости шихты ФПК;

– повысили защитные свойства от ОВ и биологически поражающих агентов (БПА), внедряя достижения нанотехнологий (угольные нанотрубки, аэрогели, фуллерены);

– изучили варианты расположения ФПС противогаза, внутри бронешлема, в области щек, на спине и на груди.

Низкопрофильная маска и гофротрубка обеспечивают сочетаемость со всеми средствами бронезащиты головы. Компанией ОАО «АРТИ-Завод» разработан и принят на снабжение внутренних войск МВД России специальный фильтрующий противогаз специального назначения ПМК-С, обладающий целым рядом существенных преимуществ перед отечественными предшественниками (ПМГ-2, ПМК, ПМК-2, ПМК-3) (рисунок 2) [3, 4].

В данном образце объединены противогаз и шлем для обеспечения защиты органов дыхания и головы от токсичных химикатов. В лобовой части шлема имеется узел крепления в виде углубления. Для зацепления металлической скобы крепежной обоймы очкового узла, а в ушной части – два узла фиксации с регулируемыми эластичными фиксаторами для присоединения лицевой части. Посредством узла байонетного соединения в затылочной части к шлему крепится ФПС, под шлемом расположен воздухопровод, спереди соединенный с переходником лицевой части, а сзади через байонетное крепление с ФПС (рисунок 2).

Система выявления, оценки и передачи данных о фактах РХБ заражения. Еще одним современным подходом для модернизации средств индивидуальной защиты является создание подсистемы средств защиты от поражающих факторов ОМП и нелетального оружия.

Очевидно, что для повышения эффективности защиты военнослужащего от поражающих факторов РХБ природы необходимо



Рисунок 2 – Средство защиты органов дыхания и головы. А – ПМГ; Б – ПМК-2; В – ПМК-С; Г – ПМК-С с гофротрубкой (рисунок подготовлен авторами по [4])
Figure 2 – Respiratory and head protective device. А – PMG; Б – PMK-2; В – PMK-C; Г – PMK-C with a corrugated pipe (the figure is compiled by the authors of this article according to [4])

включить в состав разрабатываемой КБЭВ средства контроля и индикации ОВ, аварийно химически опасных веществ (АХОВ), БА и радиоактивной пыли (РП).

Среди большого разнообразия физико-химических методов локального анализа ОВ, АХОВ наибольший интерес для перспективного КБЭВ представляет адсорбционно-кинетический метод с использованием полупроводниковых наноструктурных сенсоров [5].

Научно-исследовательской лабораторией ООО «Омега» с применением оригинальных методик синтеза, топологии нанесения и спекания полупроводниковых оксидов (сурьмы, титана, вольфрама, ванадия, индия, трехвалентного железа и др.) в наноструктурной форме созданы бюджетные полупроводниковые сенсоры, обладающие высокой чувствительностью, селективностью, стабильностью работы, низкими массогабаритными размерами и потребляемой мощностью.

На основе мультисенсорного аналитического детектора формируется индивидуальная газоаналитическая система (ИГС), которая включает в себя устройство управления, обработки и передачи информации на централизованный пульт сбора информации. При необходимости ИГС может быть подключена к применяемым (или планируемыми к применению) системам связи и коммутации, входящим в состав современного (перспективного) КБЭВ. В качестве функциональных расширений в ИГС целесообразно включить часы (таймер) реального времени и определение местоположения военнослужа-

³ Индивидуальная боевая экипировка. URL: <http://www.army-news.ru> (дата обращения: 21.02.2024).



Рисунок 3 – Варианты размещения мультисенсорной системы на шлеме «Multicam». А – верхнее размещение; Б – размещение по директиве направления (рисунок подготовлен авторами по [5])

Figure 3 – Variants of arrangement of multisensory system on a "Multicam" helmet. А – upper arrangement; Б – arrangement along the direction guideline (the figure is compiled by the authors of this article according to [5])

щего (координаты по формату GPS либо по любому другому).

Варианты размещения мультисенсорной системы на шлеме «Multicam» представлены на рисунке 3 [5].

Комплексное средство защиты головы и органов дыхания военнослужащего. Разработанное средство защиты «противогаз-бронешлем» (СЗПБ) представлено на рисунке 4 [6].

В данном устройстве для повышения сорбционной емкости фильтрующе-поглощающей системы использовался новый подход, заключающийся в использовании активированного эластичного нетканого материала



Рисунок 4 – Прототип образца средства защиты «противогаз-бронешлем» (рисунок подготовлен авторами по [6])

Figure 4 – Pilot sample of the protective device "Ballistic helmet-gasmask" (the figure is compiled by the authors of this article according to [6])

модифицированного резорцин-формальдегидным аэрогелем. Впервые выявлены закономерности процесса модификации углеродных сорбентов аэрогелем, с повышением удельной поверхности с 1000 до 1500 м²/г, а объем микропор – с 0,6 до 0,9 см³/г [2, 6, 7].

Определение комплексных поражающих факторов (осколки боеприпасов и световое излучение). В настоящее время не в полном объеме определены требования, которым должны соответствовать системы типа «бронешлем-противогаз». В частности, в качестве основных, определены лишь требования по защите военнослужащего от поражений радиоактивными, химически и биологически опасными веществами, и отсутствуют требования по степени противоосколочной защищенности забрала. При этом отметить, что этому элементу конструкции шлема, и, кроме челюстно-лицевой области, ЛОР-органов, костей черепа и мягких тканей головы, забрало должно будет обеспечивать надежную защиту офтальмологического профиля лица военнослужащего. В тоже время, подобного рода комплексные средства не предусматривают защиту органов зрения военнослужащего от светового излучения высокой интенсивности, которое вполне способно привести к серьезному поражению и снижению боеспособности военнослужащего⁴ [8].

По мнению авторов, одним из направлений решения озвученной проблемы может являться разработка обобщенного инструмента (методики), позволяющего оценивать комплексные защитные свойства забрала системы «бронешлем-противогаз».

Предлагаемая авторами методика, разработанная посредством программного комплекса MicrosoftOfficeExcel, на языке программирования VisualBasicforApplications (VBA) и представляет собой алгоритм расчета, характера поведения исследуемого материала забрала системы «бронешлем-противогаз» при воздействии на него нескольких поражающих факторов (рисунок 5). В качестве комплексного поражающего фактора рассматриваются: поражающие элементы боеприпасов (осколки) различного типа, которые дифференцируются в зависимости от показателей силовых характеристик (рисунок 5), и световое излучение высокой интенсивности, которое характеризуется энергетическими и геометрическими параметрами светящейся области вспышки.

⁴ Жирнов ВВ. К вопросу оценки противоосколочной стойкости визора системы «Бронешлем-противогаз». I-я Всерос. научно-практич. конф. (11.11.2020) ВА РХБЗ. Кострома; 2020. С. 96–101.



Рисунок 5 – Забрала системы «бронешлем-противогаз» (рисунок подготовлен авторами по [8])
Figure 5 – Visors for the set "Ballistic helmet-gasmask" (the figure is compiled by the authors of this article according to [8])

Также, учитывая параметры светового импульса, производится расчет мощности светового излучения высокой интенсивности и максимального значения лучистой энергии светящейся области источника излучения, которые являются основными параметрами, определяющими поражающее действие светового излучения на органы зрения военнослужащего (рисунок 6).

В рамках проведенных научных исследований оружия на новых физических принципах действия разработаны действующие модели следующих образцов: простейший имитатор радиочастотного оружия, действующая модель электромагнитного ускорителя масс, лабораторная установка для оценки защиты от лазерного излучения [9].

С учетом сравнения (рисунок 7) и выявленных недостатков у вышерассмотренных образцов, создана полезная модель «противогаз-бронешлем» 2-го поколения.

Данная полезная модель выполненная из стойкого к воздействию высокоскоростных поражающих элементов и вторичных осколков материала, полностью защищающего голову и верхнюю часть шеи, в



Рисунок 6 – Лабораторная установка для оценки защиты от лазерного излучения электронного термометра (рисунок подготовлен авторами по [9])
Figure 6 – VLaboratory facility aimed at evaluating the level of protection from laser emissions of an electronic thermometer (the figure is compiled by the authors of this article according to [9])

корпус которого с боковых сторон интегрированы места для фильтрующе-поглощающих элементов, впереди в нижнюю часть интегрировано место для клапана выдоха, приспособление для подключения средства защиты к системе подачи чистого воздуха и других дополнительных систем для решения различных боевых задач, внутри спереди встроен подмасочник, а в затылочной части подшлемного пространства размещен фильтрующе-поглощающий материал, изготовленный из активированного углеволокна с нанесенными на него нано- и микроволокнами полиметилметакрилата и полистирола.

Комплексное средство защиты головы (КСЗГ) «Противогаз-бронешлем» 2-го поколения предназначено для использования в составе КБЭВ с целью улучшения защиты военнослужащих при выполнении мероприятий в условиях воздействия поражающих факторов ОМП. В КСЗГ «Противогаз-бронешлем» 2-го поколения проведена интеграция средств очистки воздуха со средствами индивидуальной бронезащиты головы снабженное защитным стеклом (забралом), подмасочником, низкопрофильными фильтрующими элементами и двумя микровентиляторами, которые подключены к аккумулятору с помощью тумблера.

«Бронемаска респиратор», включает бронешлем «Тор», на боковой поверхности которого выполнены крепления для бронемаски, защитные бронеочки 6Б50 и бронемаску.

Бронемаска является основным элементом, защищающим нижнюю часть лица и шею от воздействия на них как осколков, так и токсичных веществ. В корпус бронемаски с боковых частей интегрированы места для фильтрующе-поглощающих элементов, в центральной части интегрировано место для пререговорного устройства, в нижней части интегрировано место для клапана выдоха, а внутри размещен подмасочник.



Рисунок 7 - Прототипы СИЗОД, интегрированных в многофункциональный бронешлем. А - «Противогаз-бронешлем» 1-ого поколения (рисунок подготовлен авторами по [6]); Б - «Бронемаска-респиратор» (рисунок подготовлен авторами по [10]); В - «Противогаз-бронешлем 2-ого поколения» (рисунок подготовлен авторами по [11])

Figure 7 - Pilot samples of respiratory protective devices implemented into a multifunctional ballistic helmet. A - «Gas mask-ballistic helmet of the 1st generation (the figure is compiled by the authors of this article according to [6]); Б - «Armored mask-respirator» (the figure is compiled by the authors of this article according to [10]); В - «Ballistic helmet gas mask of the 2nd generation» (the figure is compiled by the authors of this article according to [11])

Бронемаска может использоваться как для защиты нижней части лица и шеи от высокоскоростных поражающих элементов и осколков, при этом все составные части в нее не вставляются, а места присоединения закрываются заглушками, так и для защиты органов дыхания военнослужащего от воздействия на них токсичных веществ, для чего

в нее вставляются все составные элементы, а заглушки убираются. Бронемаска изготавливается из стойкого к воздействию высокоскоростных поражающих элементов и вторичных осколков материала.

«Противогаз-бронешлем» 2-го поколения (рисунок 8) обеспечивает надежную защиту головы, лица, глаз и органов дыхания от по-



Рисунок 8 - Конструкция противогаза-бронешлема 2-го поколения (рисунок выполнен авторами): 1 - корпус бронешлема; 2 - защитное стекло; 3 - фильтрующе-поглощающие коробки с изолирующей полимерной крышкой-накладкой; 4 - клапан выдоха; 5 - нижние воздухозаборники; 6 - верхние воздухозаборники; 7 - гнездо ФПК с клапаном вдоха; 8 - нетканый материал; 9 - корпус фильтрующе-поглощающего элемента; 10 - фильтрующе-сорбирующий слой ФПЭ; 11 - изолирующая полимерная крышка-накладка ФПК; 12 - фильтрующе-сорбирующий слой в затылочной части шлема; 13 - пневматический obtюратор; 14 - подмасочник; 15 - приспособление для подключения к ФВУ

Figure 8 - The design of ballistic helmet gasmask of the 2nd generation (the figure is compiled by the authors): 1 - the case of a ballistic helmet gas mask; 2 - protective glass; 3 - filter and absorbing boxes with insulating polymer covering lid; 4 - expiratory valve; 5 - lower air intakes; 6 - upper air intakes; 7 - Socket of filter and absorbing box with an inspiratory valve; 8 - bonded fabric; 9 - A case of a filter and absorbing unit; 10 - filter and absorbing layer of filter and absorbing elements; 11 - An insulating polymer covering lid of filter and absorbing box; 12 - filter and absorbing layer at the back part of the helmet; 13 - pneumatic seal; 14 - protective clothing; 15 - a device for connection with filtering and ventilation Unit

ражающих факторов ОМП и физиологически активных веществ (ФАВ), а также защиту головы от pistolетных пуль, осколков и механических повреждений.

Размещенная в образце КСЗГ «противогаз-бронешлем» 2-го поколения изолирующе-фильтрующая система [12] позволяет пользоваться им при выполнении работ в условиях недостатка (содержание кислорода в общем объеме менее 17 %) или полного отсутствия кислорода в окружающей среде, а также при наличии во вдыхаемом воздухе ФАВ в различных сочетаниях и концентрациях. Разработанная система позволяет осуществлять работу образца в режиме полной изоляции. Данная система состоит из бронешлема с размещенным в нем пневмообтюратором, переходника для присоединения элементов изолирующего противогаза [13].

Помимо этого, существует возможность подключения, данного устройство к системе подачи воздуха к органам дыхания членов расчета объектов автобронетанковой техники, для обеспечения подачи очищенного воздуха в подшлемное пространство для защиты личного состава при стрельбе от пороховых газов и при задымлении обитаемых отделений.

Кроме того, в составе КСЗГ размещена подсистема принудительной подачи и очистки воздуха, обеспечивающая принудительную подачу предварительно очищенного от ФАВ воздуха в подмасочное пространство «противогаза-бронешлема» 2-го поколения. Данная система включает в себя микроэлектровентилятор, элементы питания и фильтрующе-поглощающие элементы [14].

Также специалистами войск РХБ защиты был разработан универсальный «противогаз-бронешлем» (УПБ) для защиты военнослужащих от пуль, осколков, радиоактивной пыли (РП), ОВ, токсичных химикатов (ТХ) и БА (рисунок 9) [15].

Наиболее важными конструктивными решениями, реализованными в предложенном защитном устройстве УПБ, являются:

– использование дискообразных сменных/съемных фильтрующе-сорбирующих элементов (ФСЭ) суточного применения для селективного использования, в зависимости от типа применяемого ОМП и динамики изменения поражающих факторов в условиях угрозы и опасности РХБ заражения, с различными показателями по коэффициенту проницаемости и, соответственно, сопротивлению дыханию, позволяющих обеспечить комплексную защиту от радиоактивной пыли (РП), ОВ, промышленных токсичных

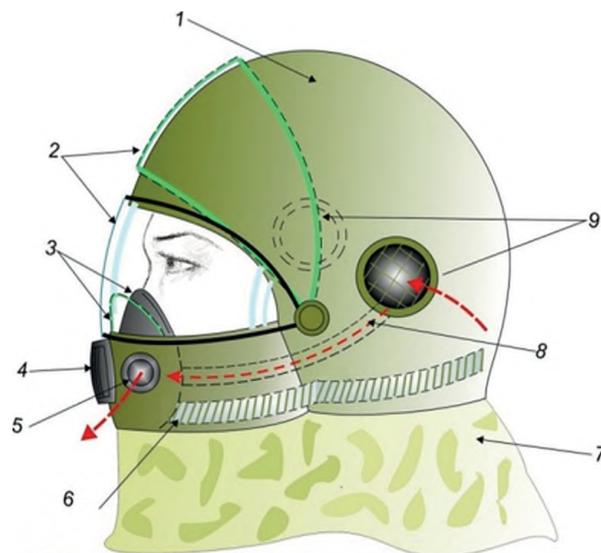


Рисунок 9 – Конструкция универсального «противогаз-бронешлем»: 1 – защитный шлем; 2 – прозрачное забрало; 3 – носогубный эластичный экран; 4 – переговорное устройство; 5 – выдыхательный клапан; 6 – линия обтюрации; 7 – защитная пелерина шеи; 8 – внутренние воздуховоды для подачи выдыхаемого воздуха от фильтрующе-сорбирующих элементов внутрь экрана; 9 – фильтрующие (сорбирующие) сменные фильтры суточного действия (рисунок подготовлен авторами по [15])

Figure 9 – The design of multifunctional ballistic helmet gasmask: 1 – a protective helmet; 2 – a transparent visor; 3 – a nasolabial elastic screen; 4 – an intercom device; 5 – an expiratory valve; 6 – sealing line; 7 – a neck curtain; 8 – inner air ducts that are designed to deliver expiratory air from filter and absorbing elements into the screen; 9 – filter (absorbing) replaceable filters the effect of which lasts for 24 hours (the figure is compiled by the authors of this article according to [15])

химикатов (ТХ) и БА с предложенными конструктивными решениями;

– вариант эксплуатации в режиме «наготове» с возможностью превентивного перевода в положение «боевое» в условиях угрозы РХБ заражения, и с оперативностью не более 3–4 с в условиях опасности заражения, что снижает возможные поражения войск до 50 раз по сравнению с существующей организацией использования СИЗ после срабатывания приборов разведки;

– обоснованные рекомендации по организации использования военнослужащими УПБ в различных условиях боевой обстановки и места подразделения военнослужащего в боевом порядке (оперативном, стратегическом построении) войск.

Устройство составных элементов крепления и фиксации респиратора к шлему. На рисунках 10, 11 представлен облегченный



Рисунок 10 - Общий вид защитного универсального бронереспиратора (фотографии выполнены авторами)

Figure 10 - An overall view of a multifunctional protective armored respirator (the photos are taken by the authors of this article)

защитный универсальный бронереспиратор (ЗУБР), разработанный с использованием активированных углеродных волокнистых материалов УВИС-АК-Т, предназначен для обеспечения защиты органов дыхания военнослужащего от аэрозолей, газов и паров от-

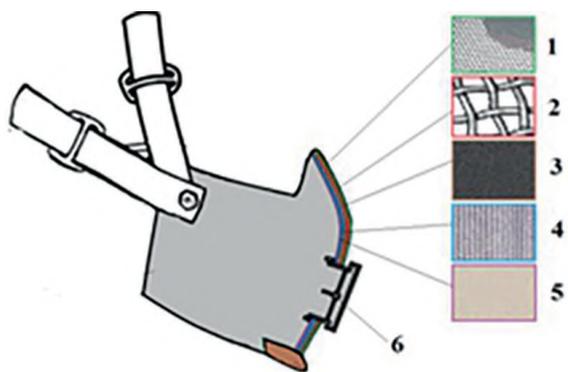


Рисунок 11 - Конструкция защитного универсального бронереспиратора (схема выполнена авторами): 1 - камуфлированный огнезащитный материал; 2 - металлическая сетка; 3 - полимерный фильтрующий материал; 4 - сорбирующий материал; 5 - лавсановый нетканый материал; 6 - клапан выдоха

Figure 11 - The design of multifunctional protective armored respirator (the layout is compiled by the authors of this article): 1 - disguised fire protection material; 2 - metal gauze; 3 - polymer filter material; 4 - absorbing material; 5 - PET bonded fabric; 6 - an expiratory valve

5 Филатов ДА, Иванов АН. Технические решения в создании конструкции защитного универсального бронереспиратора на основе фильтрующе-сорбирующего материала УВИС-АК-Т. ВА РХБЗ, сборник статей IV Военно-науч. практич. конф. Ч. II. 2023. С. 306–310.

6 Новые боевые шлемы армии США. URL: <https://gefrmix.ru/archives> (дата обращения: 21.02.2024).

7 Защитная маска «Киборг» для Вооруженных Сил Украины. URL: <https://militaryreview.su/299-mask-a-kiborg> (дата обращения: 21.02.2020).

8 Американскую армию оденут в «мотоциклетные шлемы». URL: <https://warspot.ru> (дата обращения: 21.02.2024).

равляющих веществ и аварийных химически опасных веществ, а также защищающий челюстно-лицевую область военнослужащего от механических воздействий, поражающего действия осколков, и обеспечивающий маскировку лица.

В работе использовался новый способ модификации активированных углеродных волокон УВИС-АК-Т углеродными наноструктурами – фуллеренами⁵.

Получен модифицированный фильтрующе-сорбирующий материал УВИС-АК-Т с улучшенными сорбционными характеристиками и обеспечивающего время защитного действия не менее 120 мин.

Использование иностранными армиями бронешлема для защиты лица и как платформы для навесного оборудования. Основной подход в армиях НАТО сосредоточен в увеличении живучести и повышении боевой эффективности отдельного солдата, основываясь на технологических достижениях⁶ [16–18]. В Японии фирмой Devtac, занимающейся разработкой и производством средств индивидуальной защиты был представлен новый защитный шлем Ronin для перспективного КБЭВ. В данной разработке реализован принцип защиты головы и шеи от пуль и осколков, а также вентиляции подшлемного пространства [19].

Работы в данном направлении ведутся и в Украине⁷. Инженеры разработали баллистическую защитную маску под названием «Киборг», которая представлена на рисунке 12. Маска «Киборг» предназначена для специальных подразделений, принимающих участие в боевых действиях, там, где присутствует повышенный риск получения осколочного ранения.

Основные тактико-технические характеристики бронешлема IHPS⁸ представлены в таблице 1.

Суммарная стоимость контракта составляет более 52 млн долларов.

Основные направления исследований в зарубежных армиях:

1. Определение предельных значений массы, площади защиты и защитных свойств общевойсковых бронешлемов.



Рисунок 12 – Внешний вид защитных шлемов армий зарубежных государств: А – баллистический шлем Integrated Head Protection System (IHPS) США (рисунок подготовлен авторами по материалам сайта: Американскую армию оденут в «мотоциклетные» шлемы. URL: <https://warspot.ru>; дата обращения: 21.02.2024); Б – защитный шлем Ronin Япония (рисунок подготовлен авторами по материалам сайта: Броня будущего: баллистический шлем DevtacRonin. URL: <https://weaponland.ru/news/balisticheskij-shlem-ronin>; дата обращения: 21.02.2024); В – баллистическая защитная маска «Киборг» Украина (рисунок подготовлен авторами по материалам сайта. URL: <https://militaryreview.su/299-mask-a-kiborg>; дата обращения: 21.02.2020)

Figure 12 – The overall view of the protective helmets used by the foreign armies: А – a ballistic helmet Integrated Head Protection System (IHPS) USA (the figure is adapted by authors from the web page: “The American Army Could Field Motorcycle-Style, Ballistic Helmet”. URL: <https://warspot.ru>; date of access: 21.02.2024); Б – A protective helmet Ronin, Japan (the figure is adapted by authors from the web-page: Armor of the future: DevtacRonin ballistic helmet URL: <https://weaponland.ru/news/balisticheskij-shlem-ronin>; date of access: 21.02.2024); В – Ballistic protective mask “Cyborg”, Ukraine (the figure is adapted by authors from the web-page URL: <https://militaryreview.su/299-mask-a-kiborg>; date of access: 21.02.2020)

2. Обоснование необходимости обеспечения защиты лица пользователя при сохранении эксплуатационных характеристик общевойсковых бронешлемов.

3. Радиофикация, оснащение бронешлема системами контроля функционального состояния и визуализации информации.

4. Улучшенное внешнего покрытия бронешлема (износостойкость, огнестойкость, маскировка в том числе адаптивный камуфляж) [2].

По мнению иностранных военных специалистов в области экипировки и средств

защиты военнослужащих, дальнейшее развитие общевойсковых СИЗОД помимо улучшения их защитных характеристик, будет проходить в рамках создания комплексной экипировки нового типа с учетом совместности с боевым и индивидуальным снаряжением⁹ [18].

Выводы

Таким образом, существует необходимость концепции развития СИЗОД с их дальнейшей интеграцией в систему КБЭВ путем создания КСЗГ.

Таблица 1 – Основные тактико-технические характеристики бронешлема IHPS
Table 1 – Specification for ballistic helmet IHPS

Тактико-технические характеристики / Specification	Показатель / Value
Масса (без дополнительных элементов), кг / Weight (without additional elements), kg	1,3
Масса (в полной комплектации), кг / Weight (a full set), kg	2,3
Противоосколочная стойкость $V_{50\%}$, м/с / Splinterproofness $V_{50\%}$, m/s	1000
Примечание. Таблица адаптирована авторами по материалам сайта: Американскую армию оденут в «мотоциклетные шлемы». URL: https://warspot.ru (дата обращения: 21.02.2024). Note. The table is adapted by authors from the web page: “The American Army Could Field Motorcycle-Style, Ballistic Helmet”. URL: https://warspot.ru (date of access: 21.02.2024).	

⁹ Copeland P. Future Warrior Exhibits Super Powers. American Forces Press Service. Washington. 2004. July 27.

Наиболее важными конструктивными решениями, планируемыми к реализации в новом защитном комплекте, являются:

- бронезащита головы военнослужащего при ведении всех видов боевых действий, в том числе при десантировании парашютным способом и высадке в морском десанте;

- защита глаз и части лица военнослужащего от осколков снарядов, мин, гранат, капель химически агрессивных (неразьедающих) жидкостей, грубодисперсных аэрозолей, тепловых факторов, атмосферных воздействий и механических повреждений при ведении всех видов боевых действий и в ходе выполнения мероприятий повседневной деятельности;

- защита органов слуха военнослужащего от воздействия акустических ударов, возникающих при выстрелах, взрывах и т.д. и работе с цифровыми радиостанциями ТЗУ по тракту «прием–передача»;

- защита органов дыхания от радиоактивной пыли, отравляющих веществ (токсичных химикатов) и биологических средств;
- индикация оперативной служебной информации;

- возможность крепления дополнительного оборудования.

В состав КСЗГ перспективного КБЭВ, должны входить:

- бронешлем модульный с подтулейным устройством;

- противоосколочное забрало (съёмное);

- гарнитура с активной системой защиты слуха с возможностью сопряжения с существующими и перспективными радиостанциями;

- блок вывода служебной информации;

- элементы противоосколочной защиты челюстно-лицевой области;

- СИЗОД;

- комплект очков защитных открытого типа.

Ограничения исследования / Limitations of the study

Данный аналитический обзор имеет ряд ограничений, а именно: 1) исследование основывается на анализе открытых источников, включая литературные источники, технические описания, руководства по эксплуатации и открытую научную литературу; 2) анализ технических описаний и инструкций по эксплуатации средств индивидуальной защиты может не охватывать все аспекты их функционирования и потенциальных ограничений; 3) интеграция средств защиты органов дыхания с конструкцией боевого шлема и другими элементами КБЭВ требует тщательного проектирования и может иметь технические ограничения; 4) анализ использования бронешлемов иностранными армиями основывается на открытых источниках и может не отражать полную картину их применения и эффективности / (1) The study is based on the analysis of open sources, including literature, technical descriptions, user manuals, and open scientific literature; (2) The analysis of technical descriptions and user manuals of personal protective equipment may not cover all aspects of their functionality and potential limitations; (3) The integration of respiratory protection with the design of the combat helmet and other elements of the combat ensemble requires careful design and may have technical limitations; (4) The analysis of the use of helmets by foreign armies is based on open sources and may not reflect the full picture of their application and effectiveness.

Список источников/References

1. Чернышов ЕА, Абросимов АА, Романов ИД, Романов АД, Романова ЕА. Современная боевая травма и развитие средств индивидуальной бронезащиты. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2014;(9-1):42–6.

Chernyshov EA, Abrosimov AA, Romanov AD, Romanova EA. Modern battle trauma and development of individual armor protection. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2014;(9-1):42–6 (in Russian).

2. Камьянов АА. Исследование возможности интеграции перспективных средств индивидуальной защиты органов дыхания в состав комплекта индивидуальной боевой экипировки военнослужащего. *Наука и военная безопасность*. 2019;1(16):131–7.

Kam'yanov AA. Research on the possible integration of future-proof individual respiratory protective equipment into the serviceman's individual combat protective equipment kit. *Science and Military Security*. 2019;1(16):131–7 (in Russian).

3. Бендик ВМ. Противогаз ПМК-С – эффективное средство защиты. *Войсковой вестник*. 2014;(2):51–6. Bendik VM. Gas mask PMK-S – an effective piece of protective equipment. *Army Bulletin*. 2014;(2):51–6 (in Russian).

4. Бендик ВМ. Перспективные средства индивидуальной защиты подразделений внутренних войск МВД России. *Докл. Академии военных наук*. 2013;1(54):23–9.

Bendik VM. Future-proof individual protective equipment of the Internal Troops Units of the Russian Ministry of Internal Affairs. *Papers of the Academy of Military Sciences*. 2013;1(54):23-29 (in Russian).

5. Эль-Салим СЗ, Черемисина ОВ, Черемисина ЕА. Перспективы применения полупроводниковых мультисенсорных устройств в газовом анализе. *Нанотехнологии*. 2008;(1):6–21.

El-Salim SZ, Cheremisina OV, Cheremisina EA. Prospects of applying semiconductor multisensory devices in gas analysis. *Nanotechnologies*. 2008;(1):6–21 (in Russian).

6. Хантов ВП, Мигачев ЮС, Горошинкин МВ, Камьянов АА, Ешигин МЮ. Устройство для защиты органов дыхания и головы «Противогаз-бронешлем». Патент RU на полезную модель № 190408U1. Оpubл.14.10.2019. Бюл. № 19.

Hantov VP, Migachov YuS, Goroshinkin MV, Kam'yanov AA, Eshigin MYu. Device for respiratory and head protection "Ballistic Helmet Gasmask". Patent of utility model of the Russian Federation No. 190408U1. Publ. 14.10.2019. Bulletin. No. 19 (in Russian).

7. Камьянов АА, Лермонтов СА, Мигачев ЮС, Малкова АН, Сипягина НА, Пинюгин АВ. Способ получения модифицированных сорбирующих углеродных материалов на основе активного угля ФАС-Э и активированного нетканого материала «Карбопон-актив» с закрепленными гранулами резорцин формальдегидного аэрогеля. Патент RU на изобретение № 2736950С1; 2019130545. Оpubл. 23.11.2020. Бюл. № 33.

Kam'yanov AA, Lermontov SA, Migachov YuS, Malkova AN, Sipyagina NA, Pinugin AV. Method of producing modified sorbent carbon materials based on FAS-E activated carbon and 'Carbopon-active' activated nonwoven material with fixed resorcinol-formaldehyde airgel granules. Patent RU No. 2736950S1. Publ. 23.11.2020. Bulletin. No. 33 (in Russian).

8. Жирнов ВВ, Лукьяновец РП, Шатов ИС. Анализ соотношения поражающих факторов в условиях современного общевойскового боя: Доклады АВН (Поволжское отделение). Научное издание. 2020;3(87). 71 с.

Zhirnov VV, Luk'yanovets RP, Shatov IS. Analysis of effects ratio in modern combined arms operations: *Papers of the Academy of Military Sciences (Volga region department)*. Scientific edition. 2020;3(87). 71 p (in Russian).

9. Андраханов ИА, Козлов СЮ, Мигачев ЮС, Мамचेков АВ, Варакин ЕЮ. Учебно-лабораторная установка по оценке эффективности защиты от воздействия простейшего имитатора лазерного оружия. Патент RU на полезную модель № 2771199С1. Оpubл. 28.04.2022. Бюл. № 13.

Androhanov IA, Kozlov SYu, Migachov YuS, Mamchenkov AV, Varakin EYu. Educational and laboratory unit for evaluating the effectiveness of protection against the impact of a simplest laser weapon simulator. Patent of utility model of the Russian Federation No. 2771199S1. Publ. 28.04.2022. Bulletin. No. 13 (in Russian).

10. Мигачев ЮС, Горошинкин МВ, Камьянов АА, Мочалов ЭЮ, Козлов НН, Козловский РЮ. Бронемаска-респиратор. Патент RU на полезную модель № 200125U1. Оpubл.07.10.2020. Бюл. № 28.

Migachov YuS, Goroshinkin MV, Kam'yanov AA, Mochalov EdYu, Kozlov NN, Kozlovsky RYu. Armourfacepiece mask. Patent of utility model of the Russian Federation No. 200125U1. Publ. 07.10.2020. Bulletin. No. 28 (in Russian).

11. Мигачев ЮС, Гриненко РГ, Горошинкин МВ, Климов СН, Комиссаров ДА, Статин НС. Устройство для защиты органов дыхания и головы. Патент RU на полезную модель № 207264U1. Оpubл. 21.11.2021. Бюл. № 30.

Migachov YuS, Grinenko RG, Goroshinkin MV, Klimov SN, Komissarov DA, Statin NS. Device for respiratory and head protection. Patent of utility model of the Russian Federation No. 207264U1. Publ. 21.11.2021. Bulletin No. 30 (in Russian).

12. Мигачев ЮС, Гриненко РГ, Горошинкин МВ, Меньшов ДА, Болтыков АВ, Статин НС. Устройство для защиты органов дыхания и головы. Патент RU на полезную модель № 207265U1. Оpubл. 21.11.2021. Бюл. № 30.

Migachov YuS, Grinenko RG, Goroshinkin MV, Men'shov DA, Boltykov AV, Statin NS. Device for respiratory and head protection. Patent of utility model of the Russian Federation No. 207264 U1. Publ. 21.11.2021. Bulletin No. 30 (in Russian).

13. Горошинкин МВ, Мигачев ЮС, Трунилов ДВ, Самосват ДА, Хамитова ЕВ, Нефёдов МЭ. Пневмоаппарат для устройства защиты органов дыхания и головы. Патент RU на полезную модель № 213564U1. Оpubл. 15.09.2022. Бюл. № 26.

Goroshinkin MV, Migachov YuS, Trunilov DV, Samosvat DA, Khamitova EV, Nefodov ME. Device for respiratory and head protection. Patent of utility model of the Russian Federation No. 213564U1. Publ.15.09.2022. Bulletin. No. 26 (in Russian).

14. Мигачев ЮС, Горошинкин МВ, Самосват ДА, Трунилов ДВ, Пыхтунов ИС. Устройство для защиты головы и органов дыхания фильтрующего типа. Патент RU на полезную модель № 216626U1. Оpubл. 15.02.2023. Бюл. № 5.

Migachov YuS, Goroshinkin MV, Samosvat DA, Trunilov DV, Pykhtunov IS. Permeable device for respiratory and head protection. Patent of utility model of the Russian Federation No. 213564U1. Publ. 15.02.2023. Bulletin No. 5 (in Russian).

15. Брусенин АА, Пенязь ВН, Голышев МА. Перспективный облик средств индивидуальной защиты военнослужащих Сухопутных войск от поражающих факторов химического и биологического оружия. *Вестник войск РХБ защиты*. 2020;4(4):462–9. EDN:nzmbyn
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-4-462-469>

Brusenin AA, Penyaz VN, Golyshev MA. Advanced Models of Personal Protective Equipment for Ground Forces Against Chemical and Biological Weapons Effects. *Journal of NBC Protection Corps*. 2020;4(4):462–9. EDN:nzmbyn (in Russian).
<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2020-4-4-462-469>

16. Лесов ИА. Средства индивидуальной защиты органов дыхания фильтрующего типа. *Зарубежное военное обозрение*. 2011;(5):53–5.

Lesov IA. Permeable individual respiratory protective equipment. *Foreign Military Review*. 2011;(5):53–5.

17. Царев ЛН. Разработки новых средств индивидуальной защиты в интересах Сухопутных войск США. *Зарубежное военное обозрение*. 2013;(8):38–57.

Tsarev LN. Development of new individual protection equipment in the interest of the US Army. *Foreign Military Review*. 2013;(8):38–57 (in Russian).

18. Mitch J. Science Transforms the Battlefield. *Chemical & Engineering News* 2003;81(32):28–34.

Вклад авторов / Authors' contributions

Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: **Ю.С. Мигачев** – формирование концепции статьи, сбор, анализ и систематизация информации, изложенной в научной литературе, написание текста, редактирование рукописи; **А.А. Камьянов** – критические обсуждения материалов статьи, редактирование текста рукописи; **А.В. Болтыков** – составление рисунков / All the authors confirm that they meet the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. **Y.S. Migachev** has formulated the concept of the study, has collected analyzed and summarized the data obtained from academic sources, has written the text and has revised the paper; **A.A. Kam'yanov** has made critical reviews on the paper, has edited the text of the paper; **A.V. Boltykov** has compiled the figures.

Сведения о рецензировании / Peer review information

Статья прошла двустороннее анонимное «слепое» рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе / The article has been doubleblind peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

Об авторах/ Authors

Федеральное государственное военное казенное образовательное учреждение высшего образования «Военная академия радиационной, химической и биологической защиты имени Маршала Советского Союза С.К. Тимошенко» (г. Кострома), 156015, Российская Федерация, г. Кострома, ул. Горького, д. 16.

Мигачев Юрий Сергеевич. Начальник кафедры, д-р тех. наук, доцент.

Болтыков Александр Вадимович. Преподаватель кафедры, канд. тех. наук.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр имени академика Н.Д. Зелинского» Министерства обороны Российской Федерации, Российская Федерация, 111024, г. Москва, проезд Энтузиастов, д. 19.

Камьянов Алексей Александрович. Старший научный сотрудник, канд. тех. наук.

Контактная информация для всех авторов: varhbx@mil.ru

Контактное лицо: Мигачев Юрий Сергеевич; varhbx@mil.ru

Nuclear Biological Chemical Defence Military Academy Named after Marshal of the Soviet Union S.K. Timoshenko (Kostroma) of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Gorkogo Street, 16, Kostroma 156015, Russian Federation.

Yuri S. Migachev. Head of the Department, Dr. Sci. (Techn.), Professor.

Alexsandr V. Boltykov. Lecturer of the Department. Cand. Sci. (Techn.).

27 Scientific Centre Named after Academician N.D. Zelinsky of the Ministry of Defence of the Russian Federation. Entuziastov Passage, 19, Moscow 111024, Russian Federation.

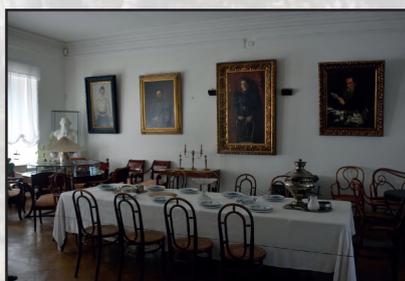
Alexei A. Kam'yanov. Scientific employee, Cand. Sci. (Techn.).

Contact information for all authors: varhbx@mil.ru

Contact person: Yuri S. Migachev; varhbx@mil.ru

Наша замечательная Россия

Заповедник «Усадьба Ясная Поляна»



Государственный мемориальный и природный заповедник «Ясная поляна» находится в 14 км к юго-западу от Тулы вблизи автомагистрали Москва–Крым. Лев Николаевич Толстой (1828–1910) родился в усадьбе Ясная Поляна, получил ее в наследство от матери и прожил в ней более 60 лет. Здесь он написал свои основные произведения, на ее территории он похоронен. Облик усадьбы сформирован дедом Льва Николаевича по материнской линии – князем Николаем Сергеевичем Волконским (1753–1821), сделавшим карьеру при Екатерине II и вышедшем в отставку при Павле I. Князь отличался сильным и энергичным характером, который он реализовал в строительстве яснополянского усадебного ансамбля, включавшего трехэтажный барский дом, два флигеля, пруды, теплицы, яблоневые сады, аллею «Прешпект», конюшню, кучерскую и ряд других построек. В 1854 г. барский дом был разобран по причине ветхости, но его описание можно найти в трилогии «Детство», «Отрочество» и «Юность». После смерти Толстого хранителем усадьбы стала вдова писателя – С.А. Толстая (1844–1919), затем ее дочь – А.Л. Толстая (1984–1979). В 1921 г. Декретом ВЦИК усадьба Ясная Поляна была национализирована и взята под государственную охрану. На ее основе был создан мемориальный музей и культурно-просветительный центр по изучению и пропаганде творчества великого русского писателя.

На верхней фотографии флигель, в котором жил Л.Н. Толстой. Слева от дома деревья аллеи «Прешпект» (обновлены в 1962 г.), справа – парк «Клины», разбит дедом писателя по образцу регулярных французских парков. Фотографии нижнего ряда: слева – дом князя Волконского (самое старое здание в усадьбе, в настоящее время научная библиотека), при жизни семьи Толстых использовалось как хозяйственная постройка; в центре – столовая; справа – могила Льва Николаевича на краю оврага, ни надгробного камня, ни креста – такова была его воля.

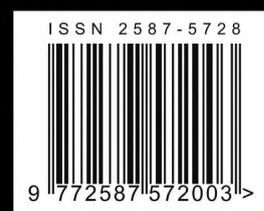
Фотографии М.В. Супотницкого



Сайт журнала



РИНЦ



ISSN 2587-5728

9 772587 572003 >