

Новые методы лечения при сепсисе: модели на животных «не работают» (обзор)*

Ж.-М. Кавайон

Институт Пастера, Франция, г. Париж, 75015, ул. du Dr Roux, 25-28

New Approaches to Treat Sepsis: Animal Models «Do Not Work» (Review)*

Jean-Marc Cavaillon

Institut Pasteur, 25-28 Rue du Dr Roux, 75015 Paris, France

Сепсис, как и многие патологические инфекционные процессы, в основном изучается *in vivo* с использованием моделей на мышах. За последние 30 лет подобные исследования привели к значимым достижениям в понимании патофизиологии сепсиса. Однако, к сожалению, ни одно из них не привело к каким-либо «открытиям» в терапии пациентов. В настоящем обзоре мы ставим под сомнение актуальность используемых экспериментальных моделей, перечислим некоторые из редко принимаемых во внимание аспектов и обсудим пути выхода из создавшегося тупика.

Ключевые слова: модели на животных; лечение сепсиса

Like many other pathological infectious processes, sepsis is mainly studied *in vivo* using mice models. Over the past 30 years, such studies have led to significant achievements in understanding of the sepsis pathophysiology. However, unfortunately, none of them led to any «discoveries» in the treatment of patients. In this review, we question the relevance of the experimental models applied, list some aspects rarely taken into account and discuss ways to resolve the deadlock.

Keywords: animal model; treatment of sepsis

DOI:10.15360/1813-9779-2018-3-46-53

* Текст является переводом статьи Cavaillon J. M. Nouvelles thérapies du sepsis: l'échec des modèles animaux, Bull. Assoc. Anc. El. Inst. Pasteur, 2017, 59, 230, 58–60. Перевод с французского выполнен фирмой «Академперевод», Москва, Россия.

* The text is a translation of the article: Cavaillon J. M. New methods of treating sepsis: failure of animal models, Bull. Assoc. Anc. El. Inst. Pastor, 2017, 59, 230, 58–60. Translation from French by «Akadem-perevod», Moscow, Russia.

А король-то голый!

За последние 30 лет было великолепно продемонстрировано и доказано, что при сепсисе задействованы клеточные и молекулярные механизмы, многочисленные медиаторы. Нейтрализация этих медиаторов и клеточных/молекулярных процессов позволила спасти жизни тысячам лабораторных мышей. Помогли ли эти успешные лабораторные испытания на животных выработать хотя бы один единственный инновационный и действенный подход для лечения и улучшения состояния пациентов с сепсисом? Ответ — нет! Но ведущие специалисты в этой области отказываются признавать, что неудачи в ходе многочисленных клинических исследований, проведенных после испытаний на животных, которые включали десятки тысяч пациентов и стои-

The Emperor's New Clothes: But He Hasn't Got Anything On!

Over the past 30 years, it has been perfectly demonstrated and proven that sepsis involves cellular and molecular mechanisms, as well as numerous mediators. Neutralization of these mediators and cellular/molecular processes saved lives of thousands of laboratory mice. Have these successful animal laboratory tests helped to develop at least one innovative and effective approach to the treatment of septic patients and improvement of their state? The answer is «no»! But leading experts in the field refuse to admit that the failure of numerous clinical studies conducted after animal tests, which included tens of thousands of patients and cost millions of dollars, is due to the fact that the animal models «do not work». We are not going to saw off the branch on which leading

Адресс для корреспонденции:

Жан-Марк Кавайон
E-mail: jean-marc.cavaillon@pasteur.fr

Correspondence to:

Jean-Marc Cavaillon
E-mail: jean-marc.cavaillon@pasteur.fr

ли миллионы долларов, обусловлены тем, что модели на животных «не работают». Мы совсем не намерены пилить сук, на котором «сидят» ведущие специалисты, и ставить под сомнение излюбленные ими модели, благодаря которым они продолжают издавать публикации в журналах с неизменно высоким рейтингом. Кто не помнит историю Андерсена «Новое платье короля»? Я уже не ребенок и осмелюсь сказать: король голый, то есть существующие модели на животных не подходят!

Животные и люди

Сегодня по вполне очевидным причинам мышь остается излюбленным животным при проведении экспериментов. Размеры, стоимость, доступность единокровных идентичных животных и животных с отключенным геном, скорость их размножения являются аргументами в пользу использования мышей. Модель сепсиса путем перевязки и пункции слепой кишки (cecal ligation and puncture, CLP) была разработана командой Иршада Чаудри (Irshad Chaudry) в 1979 году на крысах, а затем и на мышах [1, 2]. Она стала своего рода «золотым стандартом», хотя экспериментаторы и отмечают некоторые ее недостатки [3].

Бернар Гаспар (Bernard Gaspard), Франсуа Мажанди (François Magendie), Стефан Тарнье (Stéphane Tarnier), Сатурнен Арлуан (Saturnin Arloing), Виктор Фельц (Victor Feltz), Леон Коз (Leon Coze), Карл Саломонсен (Carl Salomonsen) и Николай Гамалея (Nikolai Gamaleia) доказали в 1822-1888 годах, что «гнилостные вещества» содержат гнилостные бактерии, которые вызывают сепсис и приводят к смерти экспериментальных животных. Некоторые из них использовали собак, овец, голубей, кроликов, свиней, морских свинок, ослов, иногда даже муфлонов или лис, но никто не использовал мышей. И это к лучшему, потому что, без сомнения, иначе, наши предшественники, эти ученые доктора девятнадцатого века, потерпели бы неудачу. Казимир Давен (Casimir Davaine) в 1863 году впервые успешно продемонстрировал на кроликах, что овечья кровь, зараженная сибирской язвой, передает болезнь и вызывает смерть. Правда он не придал широкой огласке тот факт, что на крысах это ему сделать не удалось [4]!

Бактерии и люди

Действительно, устойчивость животных к возбудителям инфекций сильно различается от одного вида к другому [5]. Другими словами, бактериальная нагрузка, которую может переносить мышь без развития какого-либо воспалительного процесса, чрезвычайно высока по сравнению с той, от которой «свалится» кролик, не говоря уже о человеке. Нередко приходится вводить до 10^9 бактерий (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) мыши, чтобы вызвать у нее некоторое расстройство жиз-

experts experts are sitting and to question their favorite models, thanks to which they continue to publish papers in journals with consistently high impact factors. Who does not remember Andersen's story «The Emperor's New Clothes»? I'm not a child anymore and make bold to say, «But the Emperor hasn't got anything on!» I mean, current animal models do not work.

Animals and humans

Today, the mouse remains a favorite experimental animal for obvious reasons. Their size, cost, availability of consanguineous, identical animals and animals with a invalidated gene, and the speed of their reproduction are arguments in favor of the use of mice. The cecal ligation and puncture sepsis model (CLP) was developed on rats and later on mice by Irshad Chaudry's team in 1979 [1, 2]. It has become a kind of a «gold standard» despite certain defects noted by researchers [3].

In 1822–1888, Bernard Gaspard, François Magendie, Stéphane Tarnier, Saturnin Arloing, Victor Feltz, Leon Coze, Carl Salomonsen, and Nikolai Gamaleia proved that «putrefactive substances» contain putrefying bacteria that cause sepsis and lead to the death of experimental animals. Some of them used dogs, sheep, pigeons, rabbits, pigs, Guinea pigs, donkeys, sometimes even mouflons or foxes, but no one used mice. And it's for the better, because otherwise, and there is no doubt in it, our predecessors, these nineteenth-century erudite doctors would have failed. In 1863, for the first time, Casimir Davaine successfully demonstrated in rabbits that sheep blood infected with anthrax transmitted the disease and caused death. However, he did not give wide publicity to the fact that he could not reach similar observation with rats [4]!

Bacteria and humans

Indeed, the resistance of animals to infectious agents varies greatly from one species to another [5]. In other words, the bacterial load that a mouse can tolerate without developing any inflammatory process is extremely high as compared to that sufficient to «tumble» a rabbit, not to mention a human. Quite often, we have to inject up to 10^9 bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) to a mouse in order to cause just a slight indisposition. This dose is equal to about three trillion bacteria for a human!

A low persistent potential of microorganisms used for the research (in comparison with clinical situations) is one of the errors revealed during experiments. What matters is the use of clinical isolates rather than bacterial strains stored in the laboratory. It has been demonstrated that endotoxin lipid A (lipopolysaccharide, LPS) isolated from *Pseudomonas aeruginosa* differs in structure and activity depending on what these microbes are: clinical isolates or laboratory strains [6]. The presence of virulence genes also affects the severity of sepsis and the mortality [7]. But these differences in virulence are rarely taken into account in animal models.

недеятельности. Для человека это эквивалентно примерно трем триллионам бактерий!

Низкий персистентный потенциал микроорганизмов, используемых для исследований, по сравнению с клиническими ситуациями, является одной из погрешностей, выявляемых при экспериментах. Имеет значение использование клинических изолятов или штаммов бактерий, хранящиеся в лабораторных условиях. Было доказано, что липид А эндотоксинов (липополисахарид, ЛПС), выделенный из *Pseudomonas aeruginosa*, отличается по структуре и активности в зависимости от того, чем являются эти микробы — клиническими изолятами или лабораторными штаммами [6]. Наличие генов вирулентности также влияет на тяжесть сепсиса и смертность [7]. Редко когда эти различия в вирулентности учитываются при испытаниях в моделях на животных. Более того, наличие устойчивых к антибиотикам микроорганизмов влияет на эффективность лечения пациентов. При испытаниях в моделях на животных, в большинстве которых антибиотики не используются, это также редко когда учитывается [8]. Следует отметить, что патофизиология ответа на заражение Грам-положительными бактериями отличается от такого ответа при заражении Грам-отрицательными бактериями. Была доказана диаметрально противоположная роль CD137 при обоих типах заражений [9]. Еще одна погрешность при таких исследованиях — это неумеренное использование модели CLP (модели перевязки и пункции слепой кишки), в то время, как она не соответствует основным входным воротам инфекции при сепсисе у человека. Экспериментальная модель CLP имитирует перитонит с ишемией тканей; однако у пациентов с сепсисом основными входными воротами инфекции являются легкие, в то же время у значительной доли пациентов сепсис является осложнением инфекции мочевыводящих путей или использования внутривенного катетера. Между тем, модели на животных показывают, что патофизиологические механизмы при легочных, кожных или брюшинных инфекциях абсолютно отличаются [10–12].

Параметры, которые обычно не принимаются во внимание

Сегодня все чаще говорят о появлении и необходимости персонализированной медицины, именно при сепсисе такой подход особенно необходим. Что общего между молниеносным менингитом у молодого человека и инфекцией мочевыводящих путей у женщины с диабетом, или внутрибольничной пневмонией у пожилого человека с сопутствующей патологией? Можно ли надеяться на моделирование сепсиса, используя одну-единственную доклиническую модель, и что того хуже — модель CLP? Хотя ответ кажется очевидным, авторы продолжают исследования сепсиса в общем, в глобальном смысле. Однако, необхо-

Moreover, the presence of antibiotic-resistant microorganisms affects the effectiveness of treatment. In animal models, most of which do not use antibiotics, this is also rarely taken into account [8]. It should be noted that the pathophysiology of the response to Gram-positive bacteria infection is different from that of Gram-negative bacteria. The diametrically opposite role of CD137 has been proved for both types of infections [9]. An excessive use of the CLP (cecal ligation and puncture) model is another error in such studies, while it does not correspond to the entry of infection in human sepsis. The experimental CLP model simulates peritonitis with tissue ischemia; however, in patients with sepsis, the lungs are the most frequent entry of infection, while sepsis can also be a complication of an urinary tract infection or the use of an intravenous catheter. Meanwhile, animal models show that pathophysiological mechanisms in lung, skin or peritoneal infections are completely different [10–12].

Parameters That are Not Normally Taken Into Account

Today, much is spoken about an emergence of and a need for personalized medicine; and this approach is especially required for sepsis. What is in common between fulminant meningitis in a young man, an urinary tract infection in a woman with diabetes, or nosocomial pneumonia with comorbidities in an elderly person? Can we lay our hopes on sepsis modeling using one single pre-clinical model, and, what is even worse, the CLP model? While the answer seems obvious, the authors continue to study sepsis in a general, global sense. Furthermore, it is necessary to take into account many distinctive characteristics of mice, as well.

Genetics. Studies are mostly conducted on mice of the same strain. However, not all mice are equally susceptible to pathogens. While most C57BL/6 line mice survive after an intravenous injection of 10^7 of *Staph. aureus*, all A/J, DBA2 and BALB/c mice die within just a week [13]. Similarly, in response to intranasal administration of *Streptococcus pneumoniae* (10^6 CFU), 100% of BALB/c mice survive, while 100% of CBA, SJL or C3H/He mice die [14]. A similar observation is described for viral infections [15]. As for the CLP model, the use of the same experimental protocol leads to the death of less than 50% of C57BL/6 mice and 100% of BALB/c mice [16]. The importance of the genetic background has also been demonstrated with the use of knockout mice. 129SV knockout IL-4 mice are more sensitive to *Staph. aureus* infection, whereas a similar invalidation of C57BL/6 mice reduces mortality [17]. Let's remind that C57BL/6 mice have a mutation of the Nrp1 gene (natural resistance-associated macrophages protein 1), which does not occur in mice of other lines. *In vitro* transcriptomics studies on bone marrow macrophages activated by endotoxins show very different gene expression profiles depending on the mouse strain (DBA/2, C57BL/6 or BALB/c) [18].

димо принимать во внимание еще и многие отличительные параметры самих мышей.

Генетика. Исследования, по большей части, ведутся на мышах одной линии. Однако не все мыши одинаково восприимчивы к возбудителям болезней. В то время как большинство мышей линии C57BL/6 выживают при внутривенном введении 10^7 *Staph. aureus*, все мыши A/J, DBA2 и BALB/c умирают всего за неделю [13]. Аналогично, в ответ на интраназальное введение *Streptococcus pneumoniae* (10^6 КОЕ), выживают 100% мышей BALB/c, в то время, как 100% мышей CBA, SJL или C3H/He погибают [14]. Подобное наблюдение описано и для вирусных инфекций [15]. Что касается модели CLP, использование одного и того же экспериментального протокола приводит к смерти менее 50% мышей C57BL/6, и к смерти 100% мышей BALB/c [16]. Важность генетического фона была также продемонстрирована с использованием нокаутных мышей. Нокаутные мыши IL-4 линии 129SV более чувствительны к инфекции *Staph. aureus*, тогда как подобная инвалидация у мышей линии C57BL/6 снижает смертность [17]. Напомним, что мыши C57BL/6 имеют мутацию гена Nramp1 (natural resistance-associated macrophages protein 1), который не встречается у мышей других линий. Исследования транскриптомики *in vitro* на макрофагах костного мозга, активированных эндотоксинами, демонстрируют очень различные профили экспрессии генов в зависимости от линии мышей (DBA/2, C57BL/6 или BALB/c) [18].

Пол. Половые гормоны оказывают сильное влияние на качество иммунного ответа [19]. Самцы и самки мышей имеют разную чувствительность к инфекциям. Одна и та же инъекция *Strep. pyogenes*, полулетальная для самок, приводит к 100-процентной смертности у самцов. И напротив, мыши-самки более чувствительны к *Listeria monocytogenes* [20]. Это различие между полами исчезает у мышей, лишенных гена интерлейкина-10 (IL-10). Использование модели CLP в изолированном виде, или после травмы/кровопотери, также выявляет разницу между самцами и самками в проэструсе. Последние гораздо более устойчивы [21]. И снова, возможно, сказывается влияние генетического фона. Так, после инъекции ЛПС содержание кортикостерона в сыворотке крови идентично у самцов и самок мышей C57BL/6, тогда как у мышей BALB/c оно выше у самок, чем у самцов [22].

Возраст. Несмотря на то, что в развитых странах возраст большинства пациентов с сепсисом превышает 65 лет, подавляющее большинство исследований проводится на «мышах-подростках» (7–8 недель). Однако, молодые мыши более устойчивы к летальным дозам инъекций ЛПС, чем «пожилые» мыши, и вырабатывают меньшее количество циркулирующих цитокинов [23]. Реактивность «пожилых» мышей при использовании модели перитонита выше, чем молодых [24]. Как при

Sex. Sex hormones have a strong effect on the quality of the immune response [19]. Male and female mice have different sensitivity to infections. The same injection of *Strep. pyogenes* which is semilethal for females leads to a 100 percent mortality in males. In contrast, female mice are more sensitive to *Listeria monocytogenes* [20]. This difference between sexes disappears in mice genetically rendered deficient for the interleukin-10 gene (IL-10). The use of a CLP model, an isolated one or the one after injury/hemorrhage, also demonstrates the difference between males and females in the proestrus. The latter are much more resistant [21]. And again, perhaps, it is the effect of a genetic background. For example, after an LPS injection, the corticosterone serum concentration was identical in male and female C57BL/6 mice, while in BALB/c mice it was higher in females than in males [22].

Age. Although in developed countries the age of most patients with sepsis is more than 65 years, the vast majority of studies are conducted on «teenage mice» (7–8 weeks). However, young mice are more resistant to lethal doses of LPS than the «elderly» mice and produce less circulating cytokines [23]. The reactivity of the «elderly» in the peritonitis model is higher than that of young mice [24]. Both in endotoxemia model [25] and in the cytokine storm model [26], adipose tissue and its leukocyte infiltrates cause formation of an excessive inflammatory response and a lethal outcome. When comparing experimental young mice with young human patients in clinical situations, there were still differences. For instance, a transcriptome analysis revealed 131 genes modulated by sepsis which were identified as common ones for mice and children versus 486 genes specific for children and 593 genes specific for mice [27].

Circadian rhythm. The circadian rhythm is very rarely taken into account, and the time of the research is rarely mentioned in the experiments. However, the same dose of LPS administered in the daytime or at night leads to different mortality rates [28]. The circadian rhythm disorders make mice more sensitive to the endotoxin with the subsequent development of shock [29]. Meanwhile, in some intensive care units, the light is kept on all the time.

Housing of mice. Experimental mice are kept in a nursery; they are provided with food *ad libitum* and with the absence of any exercise. As a result, the mice used for the experiment develop metabolic disorders [30]. What is worse, the thermal neutrality in mice is about 32°C [31, 32]. When animals are kept at a temperature of 20 to 22°C, their body temperature does not increase, but, on the contrary, decreases, which is not suitable to simulate a response to infection in humans. On the contrary, when mice are kept at elevated temperatures, their body temperature rises, and the infection is controlled more easily [33].

Characteristics that are unique to mice. Numerous immunological parameters differ in mice and humans [34]. Let us mention some of the differences:

модели эндотоксинемии [25], так и при модели цитокинового шторма [26], жировая ткань и ее лейкоцитарные инфильтраты обуславливают формирование чрезмерной воспалительной реакции и летальный исход. При сравнении экспериментальных молодых мышей с молодыми пациентами в клинических ситуациях, различия все равно будут присутствовать. Так, транскриптомный анализ выявил 131 ген, модулированный сепсисом, которые были идентифицированы, как общие для мышей и детей, против 486 специфичных для детей и 593 специфичных для мышей [27].

Циркадный ритм. Циркадный ритм очень редко принимается во внимание, в экспериментах редко упоминается время проведения исследований. Однако, одна и та же доза ЛПС, вводимая днем либо ночью, приводит к разной смертности [28]. Нарушения циркадного ритма делает мышей более чувствительными к эндотоксину с последующим развитием шока [29]. Между тем, в некоторых отделениях реанимации свет постоянно держится включенным.

Содержание мышей. Изучаемые мыши содержатся в условиях питомника, их вволю обеспечивают пищей и не «предлагают» им никаких нагрузок. В результате этого у мышей, используемых для эксперимента, развиваются метаболические нарушения [30]. Что еще хуже, термонеутральная зона у мышей составляет около 32°C [31, 32]. При содержании при температуре окружающей среды от 20 до 22°C у мышей не повышается, а наоборот понижается температура тела, что совсем не подходит для имитации реакции на инфекцию у людей. И напротив, при содержании мышей при повышенных температурах у них повышается температура тела, и инфекция подавляется легче [33].

Характеристики, свойственные исключительно мышам. У мышей и людей различаются многочисленные иммунологические параметры [34]. Для примера упомянем некоторые различия:

- У мышей, в отличие от людей, полинуклеарные нейтрофилы представляют собой меньшую популяцию клеток циркулирующей крови (15%). Более того, ферментативная способность мышиных нейтрофилов гораздо ниже, чем у человеческих нейтрофилов, они не высвобождают альфа-дефензины.

- Активность системы комплемента чрезвычайно низка в плазме крови мышей по сравнению с другими видами животных и человеком [35, 36].

- Различные белки острой фазы воспаления участвуют при воспалительном и инфекционном процессе. В отличие от людей, при воспалении у мышей не увеличиваются концентрации С-реактивного белка и альфа-1 анти-трипсина.

- Мыши чрезвычайно устойчивы к токсинам. Если смертельная доза дифтерийного токсина составляет менее 100 нг/кг для человека или кролика, то чтобы убить мышью потребуется 1,6 мг/кг токсина. Также считается, что мыши в 10^5 раз более

- Unlike humans, in mice, polynuclear neutrophils represent a smaller population of circulating blood cells (15%). Moreover, the enzymatic capacity of mouse neutrophils is much lower than that of human neutrophils, and they do not release alpha-defensins.

- The complement system activity is extremely low in the plasma of mice as compared to other animal species and humans [35, 36].

- Various acute-phase proteins are involved in the inflammatory and infectious process. Unlike humans, inflammation in mice does not increase the concentrations of C-reactive protein and alpha-1 anti-trypsin.

- Mice are extremely resistant to toxins. Whereas the lethal dose of diphtheria toxin is less than 100 ng/kg for a human or a rabbit, 1.6 mg/kg of toxin will be required to kill the mouse. It is also believed that mice are 10^5 times more resistant to endotoxins of Gram-negative bacteria than humans.

- Unlike humans, mice do not have genes responsible for interleukin-8, interleukin-32, interleukin-37 and TLR10 production.

Comorbidities. In humans, reactivation of some viral infections, for example, caused by cytomegalovirus or Herpes simplex, is often observed in sepsis (in 25–33% of cases) [37, 38]. This is rarely taken into account in studies with murine models, although such concomitant infections significantly affect the sensitivity of mice to endotoxins and bacterial infections [39–41].

Possible ways to break the deadlock

It is necessary to ban the «mouse is our only option» approach and start using experimental animals of other species, especially rabbits, which are very sensitive to bacterial infections, and whose inflammatory response to an infection caused, for example, by *Staph. aureus*, is similar to that in humans [42]. Swine genes are much closer to human genes than those of mice, which is manifested upon activation of macrophages and in homeostasis [43, 44]. In experiments, non-human primates can also be used, although they are different from humans, even in reactions to LPS administration. However, it is complicated by their high cost and their use raises critical ethical issues [45, 46]. There are humanized mice, the use of which is often considered the best solution to the problem when creating remarkable models that simulate certain clinical situations in humans [47]. However, although today there is an opportunity to create more «complex» humanized mice [48], at present, their endothelium, epithelium, and peripheral nervous system remain murine, and, I think, no one will deny the involvement of these tissues in the septic reaction. Progress in understanding the pathophysiology of sepsis can also be expected from organ-on-a-chip [49] technologies or the use of organoids [50, 51], but it is also necessary to review the development of models for animal studies of human diseases. A step in the opposite direction

устойчива к эндотоксинам грамотрицательных бактерий, чем люди.

- В отличие от людей, у мышей нет генов, отвечающих за продукцию интерлейкина-8, интерлейкина-37 и TLR10

Сопутствующие заболевания. У человека при сепсисе часто (в 25—33% случаев) наблюдается реактивация некоторых вирусных инфекций, например, вызываемых цитомегаловирусом или Herpes simplex [37, 38]. Это редко принимается во внимание при исследованиях на моделях, хотя подобные сопутствующие инфекции значительно влияют на чувствительность мышей к эндотоксинам и бактериальным инфекциям [39—41].

Возможные пути выхода из тупика

Необходимо запретить подход «мышь наше все» и начать использовать экспериментальных животных других видов, особенно кроликов, которые очень чувствительны к бактериальным инфекциям, и у которых при заражении, например, *Staph. Aureus*, воспалительная реакция похожа на реакцию человека [42]. Гены свиней намного ближе к генам человека, чем мышей, что проявляется при активации макрофагов и при гомеостазе [43, 44]. В экспериментах можно также использовать некоторых нечеловекообразных обезьян, хотя они и отличаются от людей, даже в реакциях на введение ЛПС. Это, однако, осложнено их высокой стоимостью и вызывает острые вопросы этического характера [45, 46]. Существуют еще гуманизированные мыши, использование которых часто рассматривается как наилучшее решение проблемы при создании замечательных моделей, которые имитируют определенные клинические ситуации у человека [47]. Однако, хотя сегодня есть возможность создания все более «сложных» гуманизированных мышей [48], на данный момент их эндотелий, эпителий, и периферическая нервная система остаются все-же мышинными, а, я думаю, никто не будет отрицать участие этих тканей в септической реакции. Прогресс в понимании патофизиологии сепсиса можно ожидать и от технологий «органа на чипе» (organs-on-a-chip) [49], или с использованием органоидов [50, 51], но все же необходимо также пересмотреть формирование моделей для исследования болезней человека на животных. Шаг в обратном направлении, с тем, чтобы имитировать на мышах определенный специфический фенотип, идентифицированный и связанный с развитием сепсиса, найти при этом адекватные методы лечения, а затем «вернуться» к пациенту, кажется мне небольшим, но абсолютно необходимым [52].

Иммунная недостаточность и сепсис 3.0

После того, как мы потерпели поражение, пытаюсь спасти пациентов с сепсисом, борясь с чрезмерной воспалительной реакцией, ведущие специалисты

in order to simulate a specific phenotype on mice, identified and associated with the development of sepsis, in order to find adequate treatment options, and then «return» to a human patient seems to me a small one, but absolutely necessary [52].

Immunodeficiency and sepsis 3.0

While we suffered a defeat trying to save patients with sepsis, struggling with an excessive inflammatory reaction, leading experts in the field are now proposing to focus on changes in the immune system after the success in rescuing laboratory mice [53]. In fact, in humans, as in mice, immune cell response is impaired, but the nature of this disorder is completely different and opposite depending on the studied compartment [54]. Moreover, stimulation of the immune system can have harmful consequences [55]. Again, in the case of mindless interpolation of approaches that have been successful for mice to clinical cases with humans, there is a great risk of new frustration. In addition, a new definition of sepsis (sepsis 3.0) states: «Sepsis is a life-threatening organ dysfunction caused by a dysregulated host response to infection». Therefore, it will be quite difficult to simulate sepsis in an animal, because then it will be necessary to change its immune system to make the response «dysregulated». But what are we talking about? In short, we should fear that years will pass, and scientists will not agree to make a «freeze-frame» to offer new relevant solutions that will ultimately save the lives of not only mice but also humans.

в этой области теперь предлагают сосредоточиться на изменении иммунной системы человека после успехов, достигнутых в спасении лабораторных мышей [53]. Фактически, у людей, как и у мышей, реакция иммунных клеток нарушается, но характер этого изменения абсолютно отличается и противоположен, в зависимости от изучаемого компартмента [54]. Более того, стимуляция иммунной системы может иметь пагубные последствия [55]. Опять же, при бездумном копировании подходов, которые были успешными для мышей, на клинические случаи у людей, есть большой риск нового разочарования. Кроме того, новое определение сепсиса (sepsis 3.0) гласит: «Сепсис это угрожающая жизни дисфункция, обусловленная разрегулированным ответом организма хозяина на инфекцию» (Sepsis is caused by a dysregulated host response to infection). Таким образом, будет довольно сложно имитировать сепсис у животного, ведь тогда необходимо будет предварительно так изменить его иммунную систему, чтобы реакция организма оказалась «разрегулированной». Но о чем мы говорим? Словом, следует опасаться, что ближайшие годы пройдут, а ученые так и не согласятся сделать «стоп-кадр», чтобы предложить новые релевантные решения, которые, в конечном итоге, сохраняют жизнь не только мышам, но и людям.

References

- Baker C.C., Chaudry I.H., Gaines H.O., Baue A.E. Evaluation of factors affecting mortality rate after sepsis in a murine cecal ligation and puncture model. *Surgery*. 1983; 94 (2): 331-335. PMID: 6879447
- Chaudry I.H., Hirasawa H., Baue A.E. Impairment of reticuloendothelial system function with sepsis and its improvement with ATP-MgCl₂ plus glucose administration. *Adv. Shock Res.* 1979; 2: 153-162. PMID: 262800
- Dejager L., Pinheiro L., Dejonckheere E., Libert C. Cecal ligation and puncture: the gold standard model for polymicrobial sepsis? *Trends Microbiol.* 2011; 19 (4): 198-208. DOI: 10.1016/j.tim.2011.01.001. PMID: 21296575
- Davaine C. Recherches sur les infusoires du sang dans la maladie connue sous le nom de sang de rat. *C.R. Acad. Sci.* 1863; 57: 220-223, 351-353.
- Warren H.S., Fitting C., Hoff E., Adib-Conquy M., Beasley-Toppliffe L., Tesini B., Liang X., Valentine C., Hellman J., Hayden D., Cavaillon J.M. Resilience to bacterial infection: difference between species could be due to proteins in serum. *J. Infect. Dis.* 2010; 201 (2): 223-232. DOI: 10.1086/649557. PMID: 20001600
- Hajjar A.M., Ernst R.K., Tsai J.H., Wilson C.B., Miller S.I. Human toll-like receptor 4 recognizes host-specific LPS modifications. *Nat. Immunol.* 2002; 3 (4): 354-359. DOI: 10.1038/ni777. PMID: 11912497
- Mora-Rillo M., Fernández-Romero N., Navarro-San Francisco C., Díez-Sebastián J., Romero-Gómez M.P., Fernández F.A., López J.R.A., Mingorance J. Impact of virulence genes on sepsis severity and survival in *Escherichia coli* bacteremia. *Virulence*. 2015; 6 (1): 93-100. DOI: 10.4161/21505594.2014.991234. PMID: 25654604
- Seboxa T., Amogne W., Abebe W., Tsegaye T., Azaz A., Hailu W., Fuja K., Grude N., Henriksen T.H. High mortality from blood stream infection in Addis Ababa, Ethiopia, is due to antimicrobial resistance. *PLoS One*. 2015; 10 (2): e0144944. DOI: 10.1371/journal.pone.0144944. PMID: 26670718
- Nguyen Q.T., Nguyen T.H., Ju S.A., Lee Y.S., Han S.H., Lee S.C., Kwon B.S., Yu R., Kim G.Y., Lee B.J., Kim B.S. CD137 expressed on neutrophils plays dual roles in antibacterial responses against Gram-positive and Gram-negative bacterial infections. *Infect. Immun.* 2013; 81 (6): 2168-2177. DOI: 10.1128/IAI.00115-13. PMID: 23545301
- Blanchet C., Jouvion G., Fitting C., Cavaillon J.M., Adib-Conquy M. Protective or deleterious role of scavenger receptors SR-A and CD36 on host resistance to *Staphylococcus aureus* depends on the site of infection. *PLoS One*. 2014; 9 (1): e87927. DOI: 10.1371/journal.pone.0087927. PMID: 24498223
- Deng M., Scott M.J., Loughran P., Gibson G., Sodhi C., Watkins S., Hackam D., Billiar T.R. Lipopolysaccharide clearance, bacterial clearance, and systemic inflammatory responses are regulated by cell type-specific functions of TLR4 during sepsis. *J. Immunol.* 2013; 190 (10): 5152-5160. DOI: 10.4049/jimmunol.1300496. PMID: 23562812
- Metzger D.W., Salmon S.L., Kirimanjeswara G. Differing effects of interleukin-10 on cutaneous and pulmonary *Francisella tularensis* live vaccine strain infection. *Infect. Immun.* 2013; 81 (6): 2022-2027. DOI: 10.1128/IAI.00024-13. PMID: 23529615
- von Köckritz-Blickwede M., Rohde M., Oehmcke S., Miller L.S., Cheung A.L., Herwald H., Foster S., Medina E. Immunological mechanisms underlying the genetic predisposition to severe *Staphylococcus aureus* infection in the mouse model. *Am. J. Pathol.* 2008; 173 (6): 1657-1668. DOI: 10.2353/ajpath.2008.080337. PMID: 18974303
- Gingles N.A., Alexander J.E., Kadioglu A., Andrew P.W., Kerr A., Mitchell T.J., Hopes E., Denny P., Brown S., Jones H.B., Little S., Booth G.C., McPheat W.L. Role of genetic resistance in invasive pneumococcal infection: identification and study of susceptibility and resistance in inbred mouse strains. *Infect. Immun.* 2001; 69 (1): 426-434. DOI: 10.1128/IAI.69.1.426-434.2001. PMID: 11119534
- De Albuquerque N., Baig E., Ma X., Zhang J., He W., Rowe A., Habal M., Liu M., Shalev I., Downey G.P., Gorczynski R., Butany J., Leibowitz J., Weiss S.R., McGilvray I.D., Phillips M.J., Fish E.N., Levy G.A. Murine hepatitis virus strain 1 produces a clinically relevant model of severe acute respiratory syndrome in A/J mice. *J. Virol.* 2006; 80 (21): 10382-10394. DOI: 10.1128/JVI.00747-06. PMID: 17041219
- Watanabe H., Numata K., Ito T., Takagi K., Matsukawa A. Innate immune response in Th1- and Th2-dominant mouse strains. *Shock*. 2004; 22 (5): 460-466. DOI: 10.1097/01.shk.0000142249.08135.e9. PMID: 15489639
- Hultgren O., Kopf M., Tarkowski A. Outcome of *Staphylococcus aureus*-triggered sepsis and arthritis in IL-4-deficient mice depends on the genetic background of the host. *Eur. J. Immunol.* 1999; 29 (8): 2400-2405. DOI: 10.1002/(SICI)1521-4141(199908)29:08<2400::AID-IMMU2400>3.0.CO;2-E. PMID: 10458752
- Wells C.A., Ravasi T., Faulkner G.J., Carninci P., Okazaki Y., Hayashizaki Y., Sweet M., Wainwright B.J., Hume D.A. Genetic control of the innate immune response. *BMC Immunol.* 2003; 4: 5-22. DOI: 10.1186/1471-2172-4-5. PMID: 12826024
- Klein S.L., Flanagan K.L. Sex differences in immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* 2016; 16 (10): 626-638. DOI: 10.1038/nri.2016.90. PMID: 27546235
- Pasche B., Kalaydjiev S., Franz T.J., Kremmer E., Gailus-Durner V., Fuchs H., Hrabé de Angelis M., Lengeling A., Busch D.H. Sex-dependent susceptibility to *Listeria monocytogenes* infection is mediated by differential interleukin-10 production. *Infect. Immun.* 2005; 73 (9): 5952-5960. DOI: 10.1128/IAI.73.9.5952-5960.2005. PMID: 16113316
- Zellweger R., Wichmann M.W., Ayala A., Stein S., DeMaso C.M., Chaudry I.H. Females in proestrus state maintain splenic immune functions and tolerate sepsis better than males. *Crit. Care Med.* 1997; 25 (1): 106-110. DOI: 10.1097/00003246-199701000-00021. PMID: 8989185
- Harizi H., Homo-Delarche F., Amrani A., Coulaud J., Mormède P. Marked genetic differences in the regulation of blood glucose under immune and restraint stress in mice reveals a wide range of corticoidsensitivity. *J. Neuroimmunol.* 2007; 189 (1-2): 59-68. DOI: 10.1016/j.jneuroim.2007.06.019. PMID: 17658621
- Tateda K., Matsumoto T., Miyazaki S., Yamaguchi K. Lipopolysaccharide-induced lethality and cytokine production in aged mice. *Infect. Immun.* 1996; 64 (3): 769-774. PMID: 8641780
- Saito H., Sherwood E.R., Varma T.K., Evers B.M. Effects of aging on mortality, hypothermia, and cytokine induction in mice with endotoxemia or sepsis. *Mech. Ageing Dev.* 2003; 124 (10-12): 1047-1058. DOI: 10.1016/j.mad.2003.08.002. PMID: 14659593
- Starr M.E., Evers B.M., Saito H. Age-associated increase in cytokine production during systemic inflammation: adipose tissue as a major source of IL-6. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2009; 64 (7): 723-730. DOI: 10.1093/gerona/glp046. PMID: 19377014
- Mirsoian A., Bouchlaka M.N., Skisiel G.D., Chen M., Pai C.C., Maverakis E., Spencer R.G., Fishbein K.W., Siddiqui S., Monjazebe A.M., Martin B., Maudsley S., Hesdorffer C., Ferrucci L., Longo D.L., Blazar B.R., Wiltrout R.H., Taub D.D., Murphy W.J. Adiposity induces lethal cytokine storm after systemic administration of stimulatory immunotherapy regimens in aged mice. *J. Exp. Med.* 2014; 211 (12): 2373-2383. DOI: 10.1084/jem.20140116. PMID: 25366964
- Lambeck S., Weber M., Gonnert F.A., Mrowka R., Bauer M. Comparison of sepsis-induced transcriptomic changes in a murine model to clinical blood samples identifies common response patterns. *Front. Microbiol.* 2012; 3: 284. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00284. PMID: 23024636
- Scheiermann C., Kunisaki Y., Lucas D., Chow A., Jang J.E., Zhang D., Hashimoto D., Merad M., Frenette P.S. Adrenergic nerves govern circadian leukocyte recruitment to tissues. *Immunity*. 2012; 37 (2): 290-301. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.05.021. PMID: 22863835
- Castanon-Cervantes O., Wu M., Ehlen J.C., Paul K., Gamble K.L., Johnson R.L., Besing R.C., Menaker M., Gewirtz A.T., Davidson A.J. Dysregulation of inflammatory responses by chronic circadian disruption. *J. Immunol.* 2010; 185 (10): 5796-5805. DOI: 10.4049/jimmunol.1001026. PMID: 20944004
- Martin B., Ji S., Maudsley S., Mattson M.P. «Control» laboratory rodents are metabolically morbid: why it matters. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010; 107 (14): 6127-6133. DOI: 10.1073/pnas.0912955107. PMID: 20194732
- Gordon C. Thermal physiology of laboratory mice: defining thermoneutrality. *J. Thermal. Biology*. 2012; 37: 654-685.
- Karp C.L. Unstressing intemperate models: how cold stress undermines mouse modeling. *J. Exp. Med.* 2012; 209 (6): 1069-1074. DOI: 10.1084/jem.20120988. PMID: 22665703
- Jiang Q., Cross A.S., Singh I.S., Chen T.T., Viscardi R.M., Hasday J.D. Febrile core temperature is essential for optimal host defense in bacterial peritonitis. *Infect. Immun.* 2000; 68 (3): 1265-1270. DOI: 10.1128/IAI.68.3.1265-1270.2000. PMID: 10678936
- Mestas J., Hughes C.C. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J. Immunol.* 2004; 172 (5): 2731-2738. DOI: 10.4049/jimmunol.172.5.2731. PMID: 14978070
- Ong G.L., Mattes M.J. Mouse strains with typical mammalian levels of complement activity. *J. Immunol. Methods*. 1989; 125 (1-2): 147-158. DOI: 10.1016/0022-1759(89)90088-4. PMID: 2607149
- Ratelade J., Verkman A.S. Inhibitor(s) of the classical complement pathway in mouse serum limit the utility of mice as experimental models of neuromyelitis optica. *Mol. Immunol.* 2014; 62 (1): 104-113. DOI: 10.1016/j.molimm.2014.06.003. PMID: 24980869
- Limaye A.P., Kirby K.A., Rubenfeld G.D., Leisenring W.M., Bulger E.M., Neff M.J., Gibran N.S., Huang M.L., Santo Hayes T.K., Corey L., Boeckh M. Cytomegalovirus reactivation in critically ill immunocompetent patients. *JAMA*. 2008; 300 (4): 413-422. DOI: 10.1001/jama.300.4.413. PMID: 18647984
- Luyt C.E., Combes A., Deback C., Aubriot-Lorton M.H., Nieszkowska A., Trouillet J.L., Capron F., Agut H., Gibert C., Chastre J. Herpes simplex virus lung infection in patients undergoing prolonged mechanical ventilation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2007; 175 (9): 935-942. DOI: 10.1164/rccm.200609-1322OC. PMID: 17234903
- Alonso J.M., Guiyoule A., Zaranonelli M.L., Ramisse F., Pires R., Antignac A., Deghmane A.E., Huerre M., van der Werf S., Taha M.K. A model of meningococcal bacteremia after respiratory superinfection in influenza A virus-infected mice. *FEMS Microbiol. Lett.* 2003; 222 (1): 99-106. DOI: 10.1016/S0378-1097(03)00252-0. PMID: 12757952

40. Nansen A., Christensen J.P., Marker O., Thomsen A.R. Sensitization to lipopolysaccharide in mice with asymptomatic viral infection: role of T cell-dependent production of interferon-gamma. *J. Infect. Dis.* 1997; 176 (1): 151-157. DOI: 10.1086/514017. PMID: 9207361
41. Speshock J.L., Doyon-Reale N., Rabah R., Neely M.N., Roberts P.C. Filamentous influenza A virus infection predisposes mice to fatal septicemia following superinfection with *Streptococcus pneumoniae* serotype 3. *Infect. Immun.* 2007; 75: 3102-3111. DOI: 10.1128/IAI.01943-06. PMID: 17403870
42. Salgado-Pabón W., Breshears L., Spaulding A.R., Merriman J.A., Stach C.S., Horswill A.R., Peterson M.L., Schlievert P.M. Superantigens are critical for *Staphylococcus aureus* infective endocarditis, sepsis, and acute kidney injury. *MBio.* 2013; 4 (4): pii: e00494-13. DOI: 10.1128/mBio.00494-13. PMID: 23963178
43. Fairbairn L., Kapetanovic R., Beraldi D., Sester D.P., Tuggle C.K., Archibald A.L., Hume D.A. Comparative analysis of monocyte subsets in the pig. *J. Immunol.* 2013; 190 (12): 6389-6396. DOI: 10.4049/jimmunol.1300365. PMID: 23667115
44. Kapetanovic R., Fairbairn L., Beraldi D., Sester D.P., Archibald A.L., Tuggle C.K., Hume D.A. Pig bone marrow-derived macrophages resemble human macrophages in their response to bacterial lipopolysaccharide. *J. Immunol.* 2012; 188 (7): 3382-3394. DOI: 10.4049/jimmunol.1102649. PMID: 22393154
45. Barreiro L.B., Marioni J.C., Blehman R., Stephens M., Gilad Y. Functional comparison of innate immune signaling pathways in primates. *PLoS Genet.* 2010; 6 (12): e1001249. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001249. PMID: 21187902
46. Brinkworth J.F., Pechenkina E.A., Silver J., Goyert S.M. Innate immune responses to TLR2 and TLR4 agonists differ between baboons, chimpanzees and humans. *J. Med. Primatol.* 2012; 41 (6): 388-393. DOI: 10.1111/jmp.12002. PMID: 22978822
47. Melican K., Michea Veloso P., Martin T., Bruneval P., Duménil G. Adhesion of *Neisseria meningitidis* to dermal vessels leads to local vascular damage and purpura in a humanized mouse model. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (1): e1003139. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003139. PMID: 23359320
48. Rongvaux A., Willinger T., Martinek J., Strowig T., Gearty S.V., Teichmann L.L., Saito Y., Marches F., Halene S., Palucka A.K., Manz M.G., Flavell R.A. Development and function of human innate immune cells in a humanized mouse model. *Nat. Biotechnol.* 2014; 32 (4): 364-372. DOI: 10.1038/nbt.2858. PMID: 24633240
49. Huh D., Kim H.J., Fraser J.P., Shea D.E., Khan M., Bahinski A., Hamilton G.A., Ingber D.E. Microfabrication of human organs-on-chips. *Nat. Protoc.* 2013; 8 (11): 2135-2157. DOI: 10.1038/nprot.2013.137. PMID: 24113786
50. Lancaster M.A., Knoblich J.A. Organogenesis in a dish: modeling development and disease using organoid technologies. *Science.* 2014; 345 (6194): 1247125. DOI: 10.1126/science.1247125. PMID: 25035496
51. Zhang Y.G., Wu S., Xia Y., Sun J. *Salmonella*-infected crypt-derived intestinal organoid culture system for host-bacterial interactions. *Physiol. Rep.* 2014; 2 (9): pii: e12147. DOI: 10.14814/phy2.12147. PMID: 25214524
52. Efron P.A., Mohr A.M., Moore F.A., Moldawer L.L. The future of murine sepsis and trauma research models. *J. Leukoc. Biol.* 2015; 98 (6): 945-952. DOI: 10.1189/jlb.5MR0315-127R. PMID: 26034205
53. Hotchkiss R.S., Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2013; 13 (12): 862-874. DOI: 10.1038/nri3552. PMID: 24232462
54. Suzuki T., Shimizu T., Szalay L., Choudhry M.A., Rue L.W. 3rd, Bland K.I., Chaudry I.H. Androstenediol ameliorates alterations in immune cells cytokine production capacity in a two-hit model of trauma-hemorrhage and sepsis. *Cytokine.* 2006; 34 (1-2): 76-84. DOI: 10.1016/j.cyt.2006.04.007. PMID: 16737821
55. Cavillon J.M., Eisen D., Annane D. Is boosting the immune system in sepsis appropriate? *Crit. Care.* 2014; 18 (2): 216-225. DOI: 10.1186/cc13787. PMID: 24886820

Received 13.04.18

ПЛАН МЕРОПРИЯТИЙ – 2018

4–7 июля

VIII Балтийский форум «Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии»,
Светлогорск, Калининградская область • http://www.anesth.ru/meropriyatiya_2018.htm

17–20 июля

Второй Сибирский Нейрохирургический Конгресс,
Новосибирск • <https://www.science-community.org/ru/node/188465>

01–04 сентября

40th ESPEN 2018,
Мадрид, Испания • http://www.espen.org/files/2018-40th-ESPEN-1st-Announcement_WEB.pdf

12–14 сентября

Межрегиональная научно-практическая конференция
с международным участием «Санкт-Петербургский септический форум-2018»,
• <https://www.science-community.org/ru/node/190663>

12–15 сентября

37th Annual ESRA Congress (ESRA 2018)
37-й ежегодный съезд ESRA, Дублин, Ирландия • <http://esra-congress.com>

14 сентября

III Форум «Ошибки, опасности и осложнения в анестезиологии и реаниматологии»,
Москва • <https://con-med.ru/activity/93/240003/>

13–14 сентября

IV Съезд врачей ассоциации экстренной медицинской помощи Узбекистана, Ташкент, Узбекистан

27–28 сентября

XVI Международный конгресс «Реабилитация и санаторно-курортное лечение»,
Москва, • <http://expodata.info/>

28–30 сентября

XVII Съезд Общероссийской общественной организации
«Федерация анестезиологов и реаниматологов», Санкт-Петербург • <http://www.congressfar.ru/>