

## Поражение органов и тканей SARS-CoV-2: биологическая модель на сирийских хомяках *Mesocricetus auratus* для экспериментальных (доклинических) исследований

С.В. Чепур, М.А. Тюнин, В.А. Мясников, И.И. Алексеева, О.О. Владимирова,  
Н.С. Ильинский, А.С. Никишин, В.А. Шевченко, А.В. Смирнова

ФГБУ Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** В условиях пандемии новой коронавирусной инфекции COVID-19 высоко востребованы экспериментальные модели для скрининга как вновь разрабатываемых вакцин и лекарственных средств, так и уже зарегистрированных фармакологических субстанций для применения по новым показаниям. Эффективный скрининг вакцин и противовирусных лекарственных средств для лечения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) возможен при оценке патогенетически значимых для исследуемой патологии изменений биометрических и морфологических показателей. В связи с этим целью настоящего исследования стало описание динамики их изменений на биологической модели SARS-CoV-2-ассоциированного инфекционного процесса у сирийских хомяков *Mesocricetus auratus*. **Материалы и методы.** Исследование выполнено на сирийских хомяках *Mesocricetus auratus* массой 80–100 граммов. Интраназальное заражение особей проводили культурой вируса SARS-CoV-2, содержащей  $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл, в объеме 26 мкл. Регистрировали массу животных перед инфицированием и в течение последующих 14 суток, удельную массу внутренних органов и степень их влагонасыщения на 3-и, 7-е и 14-е сутки после инфицирования. Дополнительно образцы тканей органов фиксировали 10% нейтральным формалином, подготовку гистологических препаратов выполняли по стандартной методике. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью непараметрических критериев. **Результаты.** После заражения сирийских хомяков *Mesocricetus auratus* вирусом SARS-CoV-2 начальные проявления инфекционного заболевания наблюдали через 3 суток, а наиболее выраженные патологические изменения в общем состоянии животных и гистоморфологической картине внутренних органов – через 7 суток после инфицирования. В качестве показателей, характеризующих динамику инфекционного заболевания, были определены снижение массы тела и значимые отклонения гравиметрических коэффициентов легких, сердца, селезенки и почек. При гистологическом исследовании в качестве характерных изменений поражения внутренних органов SARS-CoV-2 идентифицированы формирование полиморфноядерных клеточных инфильтратов в межальвеолярных перегородках легких и очаговые дистрофические изменения нейроцитов экранных центров головного мозга с демиелинизацией комиссуральных нервных проводников. Выявленные гистопатологические проявления по срокам соответствовали нарастанию репликативной активности вируса в легких.

**Заключение.** Экспериментальная модель SARS-CoV-2-ассоциированного инфекционного процесса у сирийских хомяков *Mesocricetus auratus*, характеризуемая выбранными регистрируемыми и расчетными показателями, исследованным профилем патоморфологических изменений, может быть рекомендована для проведения скрининговых экспериментальных (доклинических) исследований эффективности перспективных лекарственных препаратов для патогенетической и этиотропной терапии COVID-19.

**Ключевые слова:** SARS-CoV-2, сирийские хомяки, морфометрия, повреждения структуры органов и тканей

**Для корреспонденции:** Сергей Викторович Чепур. E-mail: gniiivm\_2@mil.ru

**Для цитирования:** Чепур С.В., Тюнин М.А., Мясников В.А., Алексеева И.И., Владимирова О.О., Ильинский Н.С., Никишин А.С., Шевченко В.А., Смирнова А.В. Поражение органов и тканей SARS-CoV-2: биологическая модель на сирийских хомяках *Mesocricetus auratus* для экспериментальных (доклинических) исследований. Клини. эксп. морфология. 2021;10(4):25–34. DOI: 10.31088/SEM2021.10.4.25-34.

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 06.07.2021. Получена после рецензирования 12.08.2021. Принята в печать 22.09.2021.

## Organ and tissue damage related to SARS-CoV-2: the biological model for experimental (preclinical) trials on golden hamsters *Mesocricetus auratus*

S.V. Chepur, M.A. Tyunin, V.A. Myasnikov, I.I. Alekseeva, O.V. Vladimirova, N.S. Ilinskiy, A.S. Nikishin, V.A. Shevchenko, A.V. Smirnova

State Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

**Introduction.** Amid the pandemic of the new coronavirus infection COVID-19, experimental models for screening both newly developed vaccines and drugs, and the already registered active pharmaceutical ingredients tested for new indications are in high demand. The registration of changes in biometric and morphological parameters that are significant for the investigative pathology can be an optimal screening tool for antiviral drugs and vaccines to treat COVID-19. In this regard, the purpose of this study was to describe the changes over time of organ and tissue changes using a biological model of a SARS-CoV-2-associated infection in the golden hamsters *Mesocricetus auratus*.

**Materials and methods.** We performed the study in golden hamsters *Mesocricetus auratus* weighing 80–100 g. The animals were infected through intranasal administration of a culture of SARS-CoV-2 virus containing  $4 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/mL. We recorded the animals' weight before the infection and during the next 14 days and measured the specific gravity of the internal organs and the degree of their moisture saturation on days 3, 7, and 14 after the infection. Additionally, tissue samples were fixed in 10% neutral formalin; the preparation of histological specimens was performed according to the standard procedure. Statistical data processing was carried out using non-parametric tests.

**Results.** In the model of SARS-CoV-2 infection in *Mesocricetus auratus*, we observed the manifestation of the infectious disease after 3 days. The most pronounced pathological changes in the overall health status of the animals and in the histology of internal organs were seen 7 days after the infection. We determined the weight loss and significant deviations in gravimetric coefficients of lungs, heart, spleen, and kidneys to be the indicators revealing the infectious disease course changes over time. Histologic evaluation showed typical changes in the SARS-CoV-2-associated visceral damage: the formation of polymorphonuclear cell infiltrates in the lung interalveolar septa and patchy dystrophic changes in the neurocytes of the brain screen-type centers with the demyelination of the commissural nerve guides. The detected pathological manifestations corresponded in time to an increase in the virus replicative activity in the lungs.

**Conclusion.** The experimental model of the SARS-CoV-2-associated infection in golden hamsters *Mesocricetus auratus* can be recommended for screening experimental (preclinical) studies of the promising drugs' efficacy for pathogenetic and etiologic therapy of COVID-19.

**Keywords:** SARS-CoV-2, golden hamsters, morphometry, organ and tissue structural damage

**Corresponding author:** Sergey V. Chepur. E-mail: gniiivm\_2@mil.ru

**For citation:** Chepur S.V., Tyunin M.A., Myasnikov V.A., Alekseeva I.I., Vladimirova O.V., Ilinskiy N.S., Nikishin A.S., Shevchenko V.A., Smirnova A.V. Organ and tissue damage related to SARS-CoV-2: the biological model for experimental (preclinical) trials on golden hamsters *Mesocricetus auratus*. Clin. exp. morphology. 2021;10(4):25–34. DOI: 10.31088/CEM2021.10.4.25-34 (In Russ.).

**Funding.** The study was carried out within the framework of state budget funding.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received** 06.07.2021. **Received in revised form** 12.08.2021. **Accepted** 22.09.2021.

### Введение

Актуальность изучения биологических моделей SARS-CoV-2-ассоциированного инфекционного процесса сопряжена с высокой социальной значимостью пандемической ситуации, борьба с которой основана на разработке новых вакцин и лекарственных препаратов, оценке возможности применения зарегистрированных фармакологических субстанций по новым показаниям [1]. Молекулярное сходство ангиотензин-превращающего фермента 2 (ACE2) сирийского хомяка *Mesocricetus auratus* и рецепторсвязывающего домена поверхностного шипового белка SARS-CoV-2 стало ключевым фактором для использования животных данного вида в качестве биологической модели инфекции

(COVID-19) [2]. Некоторые авторы считают, что китайский хомяк имеет преимущества по сравнению с сирийским хомяком [3], однако весомые аргументы в пользу этого заключения не приведены.

Применительно к сирийским хомякам инфекция, вызванная SARS-CoV-2, без моделирования дополнительных патологических состояний несмертельна, а данные американских ученых о гибели животных в результате заражения SARS-CoV-2 основаны на выводе из эксперимента особей, потерявших более 20% массы тела и учтенных в публикациях как погибшие [4]. Следует признать, что подобные отклонения массы тела у сирийских хомяков обратимы, а гибель животных от инфекции зарегистрирована лишь в единичных случаях,

составляя, согласно более чем 1000 наблюдений, доли процента. Оснащение предназначенных для работы с биопатогенами лабораторий современным оборудованием физиологического мониторинга не всегда возможно, поэтому для проведения скрининговых экспериментальных (доклинических) исследований наиболее доступным вариантом остается использование простых в измерении критериев, которые вместе с тем могут составить доказательную базу при оценке эффективности перспективных лекарственных препаратов. Именно регистрация гравиметрических и гистологических изменений внутренних органов по сей день остается допустимым подходом при проведении разных по задачам экспериментальных (доклинических) исследований на биологических моделях инфекционных заболеваний.

С учетом указанных выше обстоятельств целью настоящего исследования стало описание динамики гравиметрических и гистологических изменений внутренних органов на биологической модели SARS-CoV-2-ассоциированного инфекционного процесса у сирийских хомяков *Mesocricetus auratus*.

## Материалы и методы

Исследования на животных выполнены по программе, одобренной комиссией по этике и биоэтике ГНИИИ военной медицины Министерства обороны Российской Федерации. Животных содержали в надлежащих условиях вивария (разрешение главного государственного ветеринарного инспектора Санкт-Петербурга № 78-1102/19, сертификат ISO 9001:2015 № ST.RU.0001. M0017187, сертификат соответствия стандарту GLP № GLP-0727-1020).

Эксперименты выполнены на самцах и самках сирийских хомяков *Mesocricetus auratus* в возрасте 4–6 недель (масса тела 80–100 граммов), полученных из питомника НПО «Дом фармации» (Санкт-Петербург). Животных содержали в стандартных условиях вивария при 12-часовом режиме светового дня с постоянным доступом к воде и корму. Штамм вируса был выделен из ПЦР-позитивного материала от больных новой коронавирусной инфекцией (COVID-19) в лабораториях ГНИИИ военной медицины Министерства обороны Российской Федерации и накоплен на культуре клеток Vero (B) («Биолот», Россия), согласно ранее описанным в литературе методикам [5, 6]. Среднюю тканевую цитопатическую дозу вируса (ТЦД<sub>50</sub>) определяли на культуре клеток Vero (B) и рассчитывали по методу Рида и Менча [7]. Механическим дозатором проводили интраназальное заражение сирийских хомяков культурой вируса, содержащей  $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл вирусных частиц, в объеме 26 мкл [8]. Массу тела животных регистрировали перед заражением и ежедневно в течение последующих 14 суток. Каждая группа включала 10 особей. После вывода из эксперимента путем передозировки общего анестетика (раствор ксила 20,0 мг/мл и раствор золетила 100 50,0 мг/мл в соотношении 1:1, 1,0 мл на 1,0 кг, внутримышечно) и пересечения нижней полой

вены определяли удельную (относительно массы тела) массу головного мозга, правого легкого, печени, почек, сердца и селезенки [9]. После взвешивания внутренние органы высушивали в термостате при температуре +60°C в течение 3 суток. Степень влагонасыщения органов косвенно характеризовала выраженность отека и степень их повреждения. Образцы тканей органов после взвешивания фиксировали 10% нейтральным формалином по Лилли и жидкостью Карнуа. Дополнительно гистологическому исследованию подвергли различные отделы головного мозга, обонятельные луковицы, тимус, сердце, кишечник, трахею. После стандартной проводки материал помещали в парафин и готовили срезы толщиной 3–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Регистрацию изменений структуры тканей осуществляли на цифровом фотомикроскопе Leica DM2500 (LEICA Microsystems, Германия) при увеличениях объектива  $\times 20$ –100. Результаты описательной статистики приведены в виде медианы и межквартильного размаха. Для парных сравнений показателей несвязанных групп применяли U-критерий Манна–Уитни, для множественных – H-критерий Краскала–Уоллиса при номинальном уровне значимости различий  $p < 0,05$ . Сравнение проводили с характеристиками животных группы виварного контроля.

## Результаты

Инфекционный процесс вызывал потерю массы тела сирийских хомяков *Mesocricetus auratus* у самцов (рис. 1 А) и самок (рис. 1 В). Уже через 1 сутки после заражения и до окончания наблюдения значения показателя у зараженных животных были значимо ниже, чем у животных в группе виварного контроля. При этом были прослежены половые различия в динамике показателя: наиболее выраженные изменения в динамике массы тела (снижение на 6,4% (4,0; 7,4) относительно исходных значений) определяли у самцов в период 5–7 суток после заражения, в то время как у самок потеря массы тела была менее выраженной (3,2% (1,8; 4,5) от исходных значений) с максимумом отклонений на 3–4-е сутки после заражения. К исходу 14-х суток масса тела самцов оставалась сниженной на 2,3% (0,6; 4,6), масса самок превышала фоновые значения на 1,8% (1,0; 3,4). В связи с этим дальнейшие исследования гравиметрических и гистологических изменений внутренних органов проводили на самцах как более показательной биологической тест-системе.

Восстановление массы тела сирийских хомяков в период с 7-х по 14-е сутки после заражения вирусом SARS-CoV-2, а также элиминация вируса из выбранных тест-тканей к 14-м суткам свидетельствовали о наступлении у животных фазы реконвалесценции, что было подтверждено положительной динамикой результатов гравиметрических исследований.

Косвенно оценить степень выраженности отчетно-пролиферативных изменений в органах и тканях позволило гравиметрическое исследование с определением

относительной массы органов. Гравиметрические индексы печени и головного мозга не изменялись, тогда как применительно к другим органам в экссудативную фазу прослежены достоверные отличия от животных группы виварного контроля (табл. 1).

Уточнение вероятности формирования отечных и дисциркуляторных изменений было проведено после высушивания тканей до конечной массы и определения степени их влагонасыщения. Статистически значимые отклонения коэффициентов прослежены для легкого, влагонасыщение которого на пике заболевания (через 7 суток после заражения) увеличивалось до 80,63 (80,25÷80,69). Напротив, степень влагонасыщения головного мозга у зараженных животных в данный срок снижалась до 76,08 (75,74÷76,99) (табл. 2). В сердце, печени, почках, селезенке признаки значимых экссудативных изменений не зарегистрированы.

Анализ совокупности полученных результатов позволил заключить, что оценку эффективности лекарственных препаратов на исследованной биологической модели SARS-CoV-2-ассоциированного инфекционного процесса у сирийских хомяков *Mesocricetus auratus* целесообразно проводить на 7-е сутки инфекционного процесса, когда референтные значения характеристик группы негативного контроля статистически значимо отличались от характеристик группы животных виварного контроля: снижение массы тела на 6,4% (4,0;7,4); увеличение массовых коэффициентов легких в 1,7 раза (1,5;1,8), сердца в 1,3 раза (1,2;1,4) и селезенки в 1,4 раза (1,3;1,5) повышение влагонасыщения легких и снижение влагонасыщения головного мозга.

При гистологическом исследовании тканей внутренних органов у животных было выявлено нарастающее к 7-м суткам инфекционного процесса мукоидное набухание соединительной ткани слизистой оболочки носовой перегородки и трахеи с десквамацией клеток эпителия.

К 7-м суткам прослеживали формирование неравномерного полнокровия легких со стазом эритроцитов в капиллярах межальвеолярных перегородок (рис. 2 А), тромбообразованием и пропотеванием жидкости в паравазальную соединительную ткань. Значимого альвеолярного выпота не обнаруживали, вместе с тем межальвеолярные перегородки были существенно расширены за счет инфильтрата (рис. 2 В). В его составе выявляли крупноядерные призматические клетки эпителия с фигурами митозов, по-видимому, мигрирующие из альвеолярных ходов, и макрофаги разной степени зрелости, часто с включениями детрита и железопозитивного материала эритроцитов. Макрофаги различных форм и размеров выявляли и в просвете альвеол со слущенными альвеолоцитами и скудным плазматическим выпотом. В сердце к 7-м суткам прослеживали выраженное полнокровие со стазом форменных элементов и набуханием эндотелиальной выстилки. На фоне умеренного интерстициального отека и паравазальной лимфоцитарной инфильтрации структура большинства сократительных элементов миокарда была сохранена (рис. 2 С). До конца эксперимента наблюдали опустошение периартериальных муфт селезенки (рис. 2 D) и фолликулов тимуса, что свидетельствовало о мобилизации системы клеточного иммунитета. В селезенке также обнаруживали диффузную гиперплазию красной

Таблица 1 | Table 1

Массовые коэффициенты внутренних органов у самцов сирийских хомяков *Mesocricetus auratus*, зараженных SARS-CoV-2 ( $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл) в дозе 26 мкл/хомяк, интраназально, Me (Q<sub>1</sub>÷Q<sub>3</sub>), n=10 |

Mass factors of internal organs of male golden hamsters *Mesocricetus auratus* infected with SARS-CoV-2 ( $4 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/mL) at a dose of 26 µl/hamster, intranasal, Me (Q<sub>1</sub>÷Q<sub>3</sub>), n=10

Орган   Organ	Интактные   Intact	После заражения SARS-CoV-2   After SARS-CoV-2 infection		
		3 суток   3 days	7 суток   7 days	14 суток   14 days
Головной мозг   Brain	10,54 (9,85; 10,690)	9,01 (8,82; 9,99)	9,95 (8,77; 11,59)	10,12 (9,63÷10,51)
Правое легкое   Right lung	2,33 (2,20÷2,84)	2,51 (2,41÷2,510)	3,92* (3,88÷4,19)	3,44* (3,32÷3,62)
Сердце   Heart	3,05 (2,94÷3,38)	4,01* (3,61÷4,28)	4,07* (3,87÷4,25)	3,89* (3,65÷4,08)
Печень   Liver	36,51 (34,72; 37,80)	37,32 (35,27; 38,54)	36,77 (36,01; 38,93)	36,35 (34,91÷38,62)
Селезенка   Spleen	0,75 (0,64÷0,81)	1,44* (1,28÷1,57)	1,23* (0,94÷1,53)	0,91 (0,73÷1,08)
Правая почка   Right kidney	3,53 (3,45÷3,65)	3,70 (3,51÷3,95)	4,39* (4,07÷4,67)	3,96 (3,51÷4,33)

\* – различия с группой интактных животных значимы (p<0,05, критерий Краскела–Уоллиса)

\* – the differences with the intact group are significant (p<0.05, Kruskal–Wallis test)

Таблица 2 | Table 2

Влагоднасыщение тканей внутренних органов самцов сирийских хомяков *Mesocricetus auratus*, зараженных SARS-CoV-2 ( $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл) в дозе 26 мкл/хомяк, интраназально, Ме (Q<sub>1</sub>÷Q<sub>3</sub>) (n=10) |  
Moisture saturation of internal organ tissues of male golden hamsters *Mesocricetus auratus* infected with SARS-CoV-2 ( $4 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/mL) at a dose of 26 µl/hamster, intranasal, Me (Q<sub>1</sub>÷Q<sub>3</sub>), n=10

Орган   Organ	Интактные   Intact	После заражения SARS-CoV-2   After SARS-CoV-2 infection		
		3 суток   3 days	7 суток   7 days	14 суток   14 days
Головной мозг   Brain	77,90 (77,53÷78,07)	77,10 (76,52÷77,40)	76,08* (75,74÷76,99)	77,32 (77,04÷77,78)
Правое легкое   Right lung	76,06 (75,32÷76,44)	73,57 (72,03÷73,93)	80,63* (80,25÷80,69)	78,54 (77,34÷79,43)
Сердце   Heart	75,88 (75,56÷76,36)	73,73 (72,92;74,75)	75,78 (73,81÷77,50)	76,21 (75,82÷76,75)
Печень   Liver	65,41 (64,19; 66,05)	65,37 (63,15÷66,19)	65,77 (64,42÷67,00)	64,84 (64,01÷65,76)
Селезенка   Spleen	66,92 (64,82÷69,55)	64,72 (61,14÷67,02)	68,93 (66,20÷73,08)	65,43 (64,53÷66,32)
Правая почка   Right kidney	74,28 (72,92÷74,95)	73,26 (72,59÷75,78)	75,70 (74,78÷76,97)	75,25 (74,72÷75,73)

\* – различия статистически значимы относительно группы интактных животных (p<0,05, критерий Краскела–Уоллиса)

\* – the differences with the intact group are significant (p<0.05, Kruskal–Wallis test)

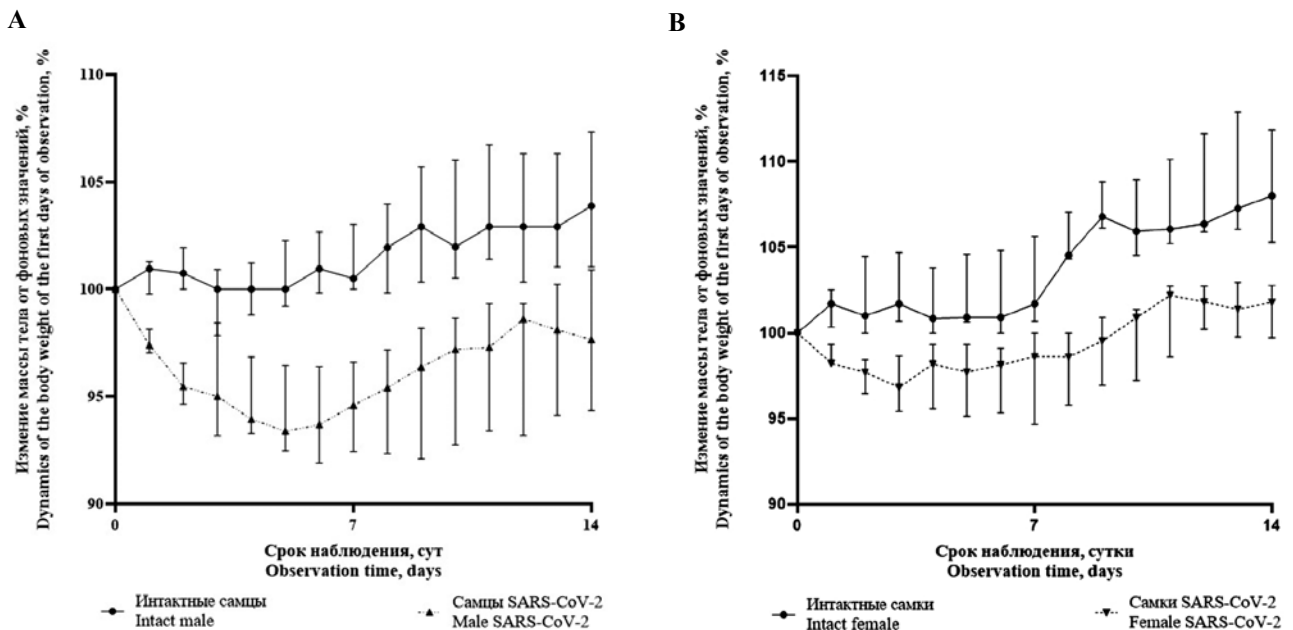


Рис. 1. Динамика массы тела у самцов (А) и самок (В) сирийских хомяков *Mesocricetus auratus* после заражения коронавирусом SARS-CoV-2 ( $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл) в дозе 26 мкл/хомяк, интраназально, Ме (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>). Различия показателей зараженных животных с группой интактного контроля статистически значимы при p<0,05 (критерий Манна–Уитни) с первых суток наблюдения

\* – различия статистически значимы относительно фоновых значений (критерий Фридмана)

Fig 1. Body weight of male (A) and female (B) golden hamsters *Mesocricetus auratus* after SARS-CoV-2 intranasal infection ( $4 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/mL) at a dose of 26 µl/hamster, Me (Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>). The differences between characteristics of infected and intact control groups were significant at p<0.05 (Mann–Whitney U test) from the first days of observation

\* – differences are significant relative to the first days of observation (Friedman test)



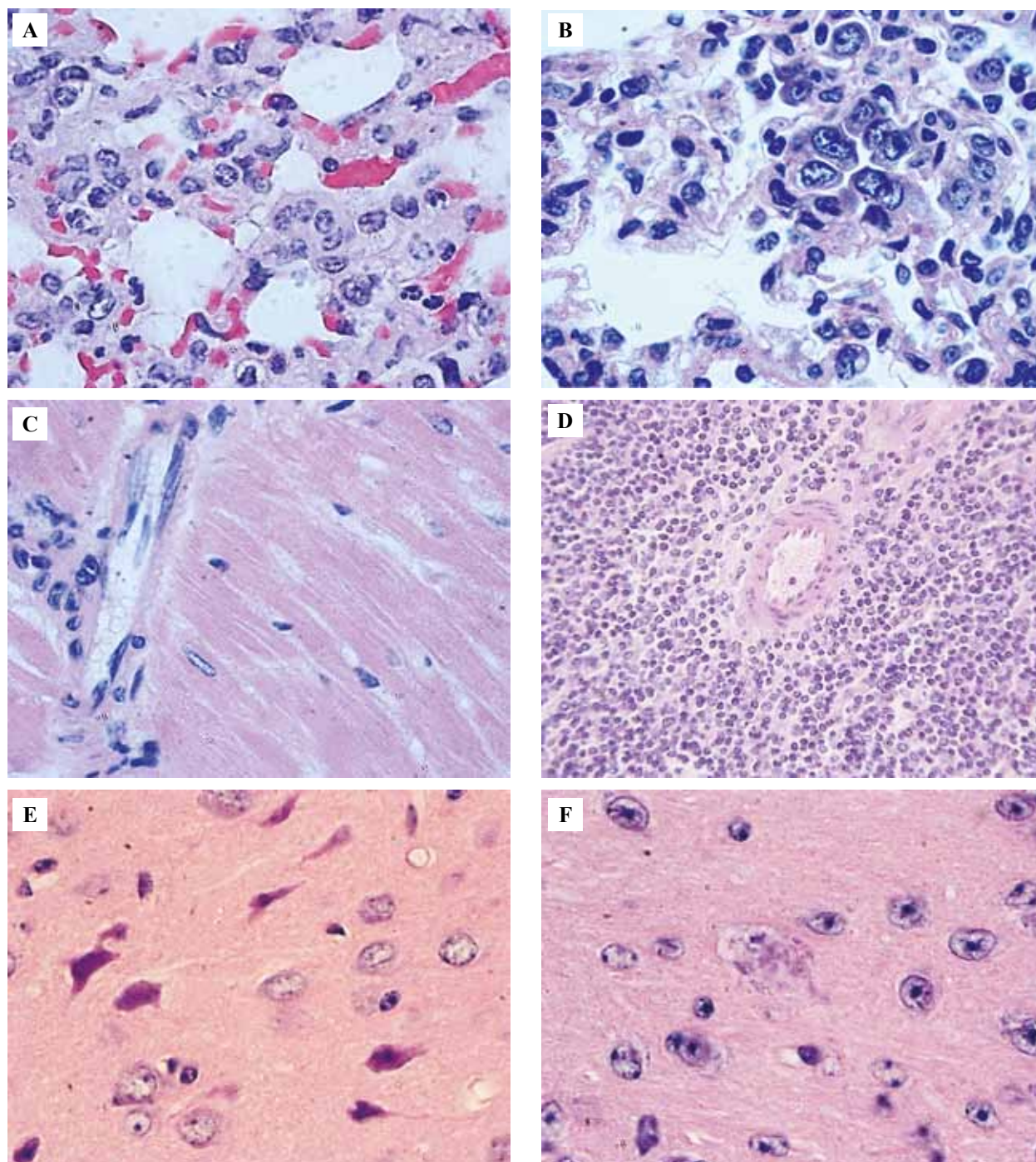


Рис. 2. Гистопатологические изменения во внутренних органах и головном мозге самцов сирийских хомяков *Mesocricetus auratus* через 7 суток после заражения SARS-CoV-2 ( $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл) в дозе 26 мкл/хомяк, интраназально. Окраска гематоксилином и эозином.

А – застой крови и тромбоз микрососудов паренхимы легких,  $\times 40$ . В – появление эпителиоидных клеток и фагоцитов с цитоплазматическими включениями в межальвеолярных перегородках легких,  $\times 100$ . С – полиморфноядерная параваскулярная инфильтрация миокарда при сохранности сократительных элементов,  $\times 100$ . D – снижение плотности клеток периартериальной муфты селезенки,  $\times 40$ . E – пикноз пирамидных нейроцитов сенсоромоторной коры полушарий головного мозга,  $\times 100$ . F – тигролиз нейрона в амигдале с признаками нейрофагии,  $\times 100$

Fig. 2. Pathological changes in the internal organs and brain of male golden hamsters 7 days after SARS-CoV-2 intranasal administration ( $4 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/mL) at a dose 26  $\mu$ l/hamster. H&E stain.

A – congestion and thrombosis of microvessels in the lung parenchyma,  $\times 100$ . B – epithelioid cells and phagocytes with cytoplasmic inclusion bodies in the interalveolar septa,  $\times 100$ . C – polymorphonuclear perivascular infiltration in the myocardium, with the contractile elements being intact,  $\times 100$ . D – decreased cell density of the periarteriolar lymphocyte sheath,  $\times 40$ . E – pyknosis of pyramidal neurons of the sensorimotor cortex,  $\times 100$ . F – neuron tigrulysis in the amygdala cerebelli with neuronophagy signs,  $\times 100$

пульпы, инфильтрацию нейтрофилами, полнокровие сосудов и очаги кровоизлияний. В тонкой кишке выявляли минимальные изменения в виде полнокровия сосудов подслизистой основы, умеренной лимфоцитарной инфильтрации, сокращения количества митозов энтероцитов в криптах и увеличения относительного представления бокаловидных клеток. Патологических изменений в почечных клубочках, извитых канальцах, петлях Генле и собирательных трубочках не выявляли, сосуды гемомикроциркуляторного русла клубочков и соединительной ткани мозгового вещества почек были полнокровными, но без видимых патологических изменений. В портальных трактах печени зараженных животных прослеживали локусы пролиферации холангиоцитов.

Выраженные изменения отмечали при исследовании головного мозга. В наибольшей степени в экранных центрах коры (большие и малые пирамидные клетки мозга (рис. 2 E), полях гиппокампа (но не зубчатой извилины) и в мозжечке (грушевидные клетки Пуркинье) выявляли локусы пикнотичных нейронов, расширение их инициальных дендритов. Прослеживали активацию олигодендроглиоцитов и набухание паравазальных отростков астроцитов в очагах патологических изменений. Капиллярное звено гемомикроциркуляторного русла сохраняло свою структуру, тогда как в мягкой мозговой оболочке и по ходу ветвей пиальных сосудов прослеживали лимфоцитарную инфильтрацию соединительной ткани, свидетельствующую о развитии воспалительного процесса. Очаговый пикноз нейроцитов и тигролиз вещества Ниссля выявляли в черной субстанции и ядрах миндаины (рис. 2 F). В субкортикальных проводящих путях регистрировали признаки очаговой демиелинизации комиссуральных нервных проводников. Необратимые изменения с тигролизом и нейронофагией нейроцитов обонятельных лукович затрагивали менее четверти клеток.

## Обсуждение

К настоящему времени накоплено достаточно данных, свидетельствующих о высокой валидности экспериментальной модели новой коронавирусной инфекции (COVID-19) на сирийских хомяках *Mesocricetus auratus*. Интраназальное, в отличие от внутрибрюшинного, заражение хомяков SARS-CoV-2 соответствует естественному пути передачи вируса и обеспечивает его репликацию в легких, вызывая тяжелые патологические изменения [10]. Минимальная известная инфицирующая доза SARS-CoV-2 для сирийских хомяков *Mesocricetus auratus* составила от 5 инфекционных частиц, что позволило считать животных данного вида очень восприимчивой к инфекции биологической моделью [11]. Учащение дыхания, потерю массы тела и гистопатологические изменения дыхательных путей, легких и тонкой кишки с экспрессией вирусного нуклеокапсидного белка, лимфоидной атрофией селезенки наблюдали в течение первой недели зара-

жения сирийских хомяков вирусом SARS-CoV-2. При компьютерной томографии у хомяков были описаны общие с человеком изменения, включающие массивное двустороннее периферическое мультисегментарное затемнение по типу «матового стекла» и консолидацию ткани легких [12]. При гистологическом исследовании у хомяков так же, как и у человека, были прослежены возрастные различия. В частности, у молодых хомяков восстановление легких регистрировали к 14-м суткам после заражения, тогда как у взрослых особей при таком же сроке наблюдения в легких выявляли выраженный альвеолярный и периваскулярный отек [13].

Одним из наиболее распространенных симптомов инфекции SARS-CoV-2 во время пандемии COVID-19 стала anosmia. Уже через 2 суток после назальной инстилляцией SARS-CoV-2 у сирийских хомяков выявлено массивное повреждение обонятельного эпителия с потерей ресничек и локальной десквамацией. Эпителий и собственная пластинка слизистой были инфильтрованы иммунными клетками. Эти повреждения были связаны с инфицированием большей части субэпителиальных клеток, но не обонятельных нейронов. В обонятельных луковичах хомяков вирус не выявлен. Восстановление эпителия прослеживали к 14-м суткам после заражения [14].

Среди факторов, определяющих повреждение сердца при COVID-19, выделяют прямое поражение кардиомиоцитов вирусом SARS-CoV-2, активацию TGF- $\beta$  (развитие фиброза в сердечной мышце), системную воспалительную реакцию, интерферониндуцированный иммунный ответ и гипоксию [15]. Описаны случаи вирусного миокардита при COVID-19 у людей, однако авторы не исключали ишемический генез изменений [16]. В опытах на сирийских хомяках выявлены сходные с таковыми у людей морфологические проявления кардиомиопатии: утолщение стенок миокарда, развитие фиброза и единичные некрозы кардиомиоцитов [17].

Методом гибридизации *in situ* показано, что вирус SARS-CoV-2 непосредственно поражает клетки иммунной системы в селезенке [18]. Тем не менее клетки иммунной системы не имеют рецепторов к ACE2, и механизм их поражения не выяснен. В качестве возможного механизма рассматривают вирусассоциированное нарушение дифференцировки фолликулярных Т-хелперов под воздействием TNF- $\alpha$  [19]. Наличие вирусных белков и РНК в селезенке сирийских хомяков выявляли начиная с 3-х суток заболевания [16]. Коррелирующие гравиметрические и гистологические изменения селезенки прослеживали уже на 3-и сутки после заражения.

Применимость биологической модели SARS-CoV-2-ассоциированного инфекционного процесса на сирийских хомяках *Mesocricetus auratus* для скрининга лекарственных препаратов показана на различных примерах. В частности, введение нейтрализующих антител (nAbs) к двум эпитопам рецепторсвязывающего домена (RBD)

и к отдельным эпитопам, не относящимся к RBD, на белке шипа (S) предупреждало потерю массы и обеспечивало низкие титры вируса в легких при заражении хомяков SARS-CoV-2 в высоких дозах [20]. Комбинации антител hu-mAb были эффективны для профилактики и терапии COVID-19 у сирийских хомяков при раннем введении. Однако степень нейтрализации вируса *in vitro* не всегда коррелировала с защитой *in vivo*, когда некоторые антитела были более эффективными. Анализ Fc-областей антител показал, что связывание с аффинными Fc-рецепторами хомяков способствует оптимальной защите от SARS-CoV-2 [21]. Хомяков, иммунизированных вакциной, коэкспрессирующей белки мембраны и нуклеокапсида, заражали через 5 недель высокой дозой SARS-CoV-2. Вакцинирование предупреждало тяжелую потерю массы тела и патологические изменения в легких, существенно снижало экспрессию вируса в ротоглотке и легких [22]. Вместе с тем при испытании на хомяках гидроксихлорохина для профилактики или лечения COVID-19 препарат ни в стандартной (6,5 мг/кг), ни в высокой (50 мг/кг) дозе не оказывал положительного влияния на клиническое течение заболевания или кинетику SARS-CoV-2 (репликация/выделение) [23], что сопряжено с механизмами действия производных хлорохина и возможностью его применения с учетом токсичности только в первые дни после заражения SARS-CoV-2 для изменения аффинности вируса к гликопротеинам поверхности клеток [1]. Аналог нуклеозидов МК-4482 при пероральном введении либо за 12 часов до заражения, либо через 12 часов после него ингибировал репликацию SARS-CoV-2 у сирийских хомяков [24]. Профилактическое введение устойчивого к окислению лектина гриффитсина также обеспечивало защиту сирийских хомяков от летального заражения вирусом Нипах NiV [25].

## Заключение

Экспериментальная модель SARS-CoV-2-ассоциированного инфекционного процесса на сирийских хомяках *Mesocricetus auratus*, характеризующая динамикой выбранных регистрируемых и расчетных показателей, исследованным профилем патоморфологических изменений, может быть использована для скрининга лекарственных средств, предназначенных для этиотропной и патогенетической терапии COVID-19. Для указанной экспериментальной модели свойственны половые различия в формировании патологических изменений с особенно выраженной манифестацией проявлений инфекционного процесса у самцов.

К наиболее информативным признакам, обладающим достаточным уровнем отличий от интактного контроля, следует отнести характерное снижение массы тела сирийских хомяков в течение первых 7 суток, увеличение массовых коэффициентов легких, сердца и селезенки, а также повышение влагонасыщения легких через 7 суток после заражения. При оценке эффективности лекарственных средств необходимо учиты-

вать степень консолидации ткани легких, проявления кардита и предупреждение изменений нейронов коры и подкорковых центров головного мозга.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – С.В. Чепур, М.А. Тюнин, В.А. Мясников.

Сбор и обработка материала – М.А. Тюнин, Н.С. Ильинский, И.И. Алексеева, О.О. Владимирова, А.С. Никишин, С.В. Чепур, В.А. Шевченко, А.В. Смирнова.

Написание текста – С.В. Чепур, М.А. Тюнин, Н.С. Ильинский, А.С. Никишин, А.В. Смирнова.

Редактирование – С.В. Чепур, М.А. Тюнин, Н.С. Ильинский, В.А. Шевченко, О.О. Владимирова, И.И. Алексеева.

## Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – S.V. Chepur, M.A. Tyunin, V.A. Myasnikov.

Collected the data and performed the analysis – M.A. Tyunin, N.S. Ilinskiy, I.I. Alekseeva, O.O. Vladimirova, A.S. Nikishin, S.V. Chepur, V.A. Shevchenko, A.V. Smirnova.

Wrote the paper – S.V. Chepur, M.A. Tyunin, N.S. Ilinskiy, A.S. Nikishin, A.V. Smirnova.

Edited the manuscript – S.V. Chepur, M.A. Tyunin, N.S. Ilinskiy, V.A. Shevchenko, O.O. Vladimirova, I.I. Alekseeva.

## Благодарность

Авторы выражают искреннюю признательность Т.Н. Лавриковой за подготовку уникальных гистологических препаратов, А.А. Усаевой и А.С. Исаевой, принимавшим непосредственное участие при создании биологических моделей.

## Acknowledgments

The authors would like to thank T.N. Lavrikova for preparing unique histological specimens, and A.A. Usacheva and A.S. Isaeva for taking part in the creation of the biological models.

## Литература/References

1. Чепур С.В., Плужников Н.Н., Чубарь, О.В. Бакулина Л.С., Литвиненко И.В., Макаров В.А. и др. Респираторные РНК-вирусы: как подготовиться к встрече с новыми пандемическими штаммами. Успехи современной биологии. 2020;140(4):359–377. DOI: 10.31857/S0042132420040043. Chepur SV, Pluzhnikov NN, Chubar OV, Bakulina LS, Litvinenko IV, Makarov VA et al. Respiratory RNA viruses: How to prepare for meeting with new pandemic strains. Biology Bulletin Reviews. 2020;140(4):359–377 (In Russ.). DOI: 10.31857/S0042132420040043.
2. Chan JF, Zhang AJ, Yuan S, Poon VK, Chan CC, Lee AC et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a golden Syrian hamster model: Implications for disease pathogenesis and transmissibility. Clin Infect Dis. 2020;71(9):2428–46. DOI:10.1093/cid/ciaa325.
3. Bertzbach LD, Vladimirova D, Dietert K, Abdelgawad A, Gruber AD, Osterrieder N et al. SARS-CoV-2 infection of Chinese hamsters (*Cricetulus griseus*) reproduces COVID-19 pneumonia in a well-established small animal model. Transbound Emerg Dis. 2021;68(3):1075–9. DOI: 10.1111/tbed.13837.
4. Tostanoski LH, Wegmann F, Martinot AJ, Loos C, McMahan K, Mercado NB et al. Ad26 vaccine protects against SARS-CoV-2 severe clinical disease in hamsters. Nat Med. 2020;26(11):1694–700. DOI: 10.1038/s41591-020-1070-6.



5. Taştan C, Yurtsever B, Sir Karakuş G, Dillek Kançağı D, Demir S, Abanuz S et al. SARS-CoV-2 isolation and propagation from Turkish COVID-19 patients. *Turk J Biol.* 2020;44(3):192–202. DOI: 10.3906/biy-2004-113.
6. Yao P, Zhang Y, Sun Y, Gu Y, Xu F, Su B et al. Isolation and growth characteristics of SARS-CoV-2 in Vero Cell. *Virol Sin.* 2020;35(3):348–50. DOI: 10.1007/s12250-020-00241-2.
7. Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am J Epidemiol.* 1938;27(3):493–7. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.
8. Рыбакова А.В., Макарова М.Н., Кухаренко А.Е., Вичаре А.С., Рюффер Ф. Существующие требования и подходы к дозированию лекарственных средств лабораторным животным. *Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения.* 2018;8(4):207–217. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217.  
Rybakova AV, Makarova MN, Kukharensko AE, Vichare AS, Rueffer FR. Current requirements for and approaches to dosing in animal studies. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products.* 2018;8(4):207–217 (In Russ.). DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-4-207-217.
9. Луговик И.А., Макарова М.Н. Токсикологические исследования. Референтные интервалы массовых коэффициентов внутренних органов на выборке, состоящей из 1000 аутбредных крыс. *Лабораторные животные для научных исследований.* 2021;1:3–11. DOI: 10.29296/2618723X-2021-01-01.  
Lugovic IA, Makarova MN. Toxicological studies. Reference intervals of mass coefficients of internal organs in a sample of 1000 rats. *Laboratory Animals for Science.* 2021;1:3–11 (In Russ.). DOI: 10.29296/2618723X-2021-01-01.
10. Sia SF, Yan LM, Chin AWH, Fung K, Choy KT, Wong AYL et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature.* 2020;583(7818):834–8. DOI: 10.1038/s41586-020-2342-5.
11. Rosenke K, Meade-White K, Letko M, Clancy C, Hansen F, Liu Y et al. Defining the Syrian hamster as a highly susceptible preclinical model for SARS-CoV-2 infection. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):2673–84. DOI: 10.1080/22221751.2020.1858177.
12. Imai M, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Loeber S, Halfmann PJ, Nakajima N et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020;117(28):16587–95. DOI: 10.1073/pnas.2009799117.
13. Osterrieder N, Bertzbach LD, Dietert K, Abdelgawad A, Vladimirova D, Kunec D et al. Age-dependent progression of SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters. *Viruses.* 2020;12(7):779. DOI: 10.3390/v12070779.
14. Bryche B, St Albin A, Murri S, Lacôte S, Pulido C, Ar Gouilh M et al. Massive transient damage of the olfactory epithelium associated with infection of sustentacular cells by SARS-CoV-2 in golden Syrian hamsters. *Brain Behav Immun.* 2020;89:579–86. DOI: 10.1016/j.bbi.2020.06.032.
15. Babapoor-Farrokhran S, Gill D, Walker J, Rasekhi RT, Bozorgnia B, Amanullah A. Myocardial injury and COVID-19: Possible mechanisms. *Life Sci.* 2020;253:117723. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117723.
16. Gavriatopoulou M, Korompoki E, Fotiou D, Ntanasis-Stathopoulos I, Psaltopoulou T, Kastritis E et al. Organspecific manifestations of COVID19 infection. *Clin Exp Med.* 2020;20(4):493–506. DOI: 10.1007/s10238-020-00648-x.
17. Song Z, Bao L, Yu P, Qi F, Gong S, Wang J et al. SARS-CoV-2 causes a systemically multiple organs damages and dissemination in hamsters. *Front Microbiol.* 2021;11:618891. DOI: 10.3389/fmicb.2020.618891.
18. Zhan J, Deng R, Tang J, Zhang B, Tang Y, Wang JK et al. The spleen as a target in severe acute respiratory syndrome. *FASEB J.* 2006;20(13):2321–8. DOI: 10.1096/fj.06-6324com.
19. Kaneko N, Kuo HH, Boucau J, Farmer JR, Allard-Chamard H, Mahajan VS et al. Loss of Bcl-6-expressing T follicular helper cells and germinal centers in COVID-19. *Cell.* 2020;183(1):143–157.e13. DOI: 10.1016/j.cell.2020.08.025.
20. Rogers TF, Zhao F, Huang D, Beutler N, Burns A, He WT et al. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model. *Science.* 2020;369(6506):956–63. DOI: 10.1126/science.abc7520.
21. Schäfer A, Muecksch F, Lorenzi JCC, Leist SR, Cipolla M, Bournazos S et al. Antibody potency, effector function, and combinations in protection and therapy for SARS-CoV-2 infection in vivo. *J Exp Med.* 2021;218(3):e20201993. DOI: 10.1084/jem.20201993.
22. Jia Q, Bielefeldt-Ohmann H, Maison RM, Masleša-Galić S, Cooper SK, Bowen RA et al. Replicating bacterium-vectored vaccine expressing SARS-CoV-2 Membrane and Nucleocapsid proteins protects against severe COVID-19 disease in hamsters. *NPJ Vaccines.* 2021;6(1):47. DOI: 10.1038/s41541-021-00321-8.
23. Rosenke K, Jarvis MA, Feldmann F, Schwarz B, Okumura A, Lovaglio J et al. Hydroxychloroquine prophylaxis and treatment is ineffective in macaque and hamster SARS-CoV-2 disease models. *JCI Insight.* 2020;5(23):143174. DOI: 10.1172/jci.insight.143174.
24. Rosenke K, Hansen F, Schwarz B, Feldmann F, Haddock E, Rosenke R et al. Orally delivered MK-4482 inhibits SARSCoV-2 replication in the Syrian hamster model. *Nat Commun.* 2021;12(1):2295. DOI: 10.1038/s41467-021-22580-8.
25. Lo MK, Spengler JR, Krumpke LRH, Welch SR, Chattopadhyay A, Harmon JR et al. Griffithsin inhibits Nipah virus entry and fusion and can protect Syrian golden hamsters from lethal Nipah virus challenge. *J Infect Dis.* 2020;221(Supplement\_4):S480–S492. DOI: 10.1093/infdis/jiz630.

### Информация об авторах

Сергей Викторович Челур – доктор медицинских наук, профессор, начальник Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации.

Михаил Александрович Тюнин – кандидат медицинских наук, начальник научно-исследовательского отдела Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации.

Вадим Александрович Мясников – кандидат медицинских наук, заместитель начальника центра Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации.

Ирина Ивановна Алексеева – научный сотрудник Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации.

Ольга Олеговна Владимирова – кандидат биологических наук, научный сотрудник Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации.

Никита Сергеевич Ильинский – старший научный сотрудник Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации.

Александр Сергеевич Никишин – научный сотрудник Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации.

Валентин Алексеевич Шевченко – младший научный сотрудник Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации.

Анна Владимировна Смирнова – научный сотрудник Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Министерства обороны Российской Федерации.

### Author information

Sergey V. Chepur – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the State Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-5324-512X>

Mikhail A. Tyunin – Cand. Sci. (Med.), Head of the Research Department, State Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia.

<https://orcid.org/0000-0002-6974-5583>

Vadim A. Myasnikov – Cand. Sci. (Med.), Deputy Head of the Research Department, State Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0001-7232-4678>

Irina I. Alekseeva – Researcher, State Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-0924-9158>

Olga O. Vladimirova – Cand. Sci. (Biol.), Researcher, State Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-8703-6799>

Nikita S. Ilinskiy – Senior Researcher, State Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0001-7406-753X>

Aleksandr S. Nikishin – Researcher, State Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0003-1372-369X>

Valentin A. Shevchenko – Junior Researcher, State Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0002-6984-2914>

Anna V. Smirnova – Researcher, State Research Test Institute of Military Medicine of Defense Ministry of the Russian Federation.

<https://orcid.org/0000-0003-0483-5032>