

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-178-187

УДК 616.98:578.834.1

А.В. Шиповалов, Г.А. Кудров, Е.К. Ивлева, В.В. Омигов, О.В. Пьянков, О.С. Таранов

**Сравнительное исследование патоморфологических изменений тканей легких животных при моделировании инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2***ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация*

**Целью** работы явилось изучение особенностей инфекционного процесса в легких животных, применяемых как модели для оценки патогенности вируса SARS-CoV-2. **Материалы и методы.** В работе использовали штамм геноварианта альфа вируса SARS-CoV-2. Эксперименты проводили на линейных и трансгенных мышах, сирийских хомячках, морских свинках, хорьках и двух видах приматов: макак-резус и зеленая мартышка. Патоморфологическое исследование проводили методом оптической микроскопии гистологических препаратов легких с использованием компьютеризированного микроскопа с цифровым микрофотографированием. **Результаты и обсуждение.** Проведен сравнительный гистологический анализ легких шести различных видов лабораторных животных при моделировании новой коронавирусной инфекции, определены сходные морфометрические признаки тяжести течения заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2 у чувствительных животных, выявлена дозозависимая корреляция патологических изменений в тканях легких при интраназальном введении различных инфицирующих доз. Охарактеризованы особенности патоморфологических изменений у шести различных видов животных при моделировании новой коронавирусной инфекции, определен их дозозависимый характер. Представленные результаты исследований могут быть применены для выбора модельного животного с целью углубленного изучения патогенеза COVID-19, вызванного вновь выделяемыми эпидемически значимыми геновариантами коронавируса, динамики иммунных реакций организма во время развития заболевания, а также при изучении *in vivo* протективного действия перспективных терапевтических препаратов и вакцин.

**Ключевые слова:** SARS-CoV-2, COVID-19, модельное животное, патоморфология, легкие.

*Корреспондирующий автор:* Шиповалов Андрей Владимирович, e-mail: shipovalov\_av@vector.nsc.ru.

*Для цитирования:* Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Ивлева Е.К., Омигов В.В., Пьянков О.В., Таранов О.С. Сравнительное исследование патоморфологических изменений тканей легких животных при моделировании инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 2:178–187. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-178-187

*Поступила 02.02.2024. Отправлена на доработку 20.05.2024. Принята к публ. 23.05.2024.*

A.V. Shipovalov, G.A. Kudrov, E.K. Ivleva, V.V. Omigov, O.V. P'yankov, O.S. Taranov

**Comparative Study of Pathomorphological Changes in Animal Lung Tissue when Modeling Infection Caused by the SARS-CoV-2 Virus***State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation*

**Abstract.** The aim of the work was to study the features of the infectious process in the lungs of animals used as models for assessing SARS-CoV-2 pathogenicity. **Materials and methods.** The strain of SARS-CoV-2 alpha variant virus was used in the work. The experiments were carried out on linear and transgenic mice, Syrian hamsters, guinea pigs, ferrets and two types of primates: rhesus macaques and green monkey. The pathomorphological examination was performed by optical microscopy of histological lung preparations using a computerized microscope with digital microphotography. **Results and discussion.** A comparative histological analysis of the lungs in six different types of laboratory animals was carried out when modeling a new coronavirus infection; similar morphometric signs of the severity of the disease caused by the SARS-CoV-2 virus in sensitive animals were determined, and a dose-dependent correlation of pathological changes in lung tissues with intranasal administration of various infectious doses was revealed. The features of pathomorphological changes in six different animal species in the simulation of a new coronavirus infection have been characterized, and their dose-dependent nature determined. The presented research results can be used to select a model animal for the purpose of in-depth study of the pathogenesis of COVID-19 caused by newly isolated coronavirus variants, the dynamics of immune reactions of the body during the development of the disease, as well as *in vivo* studies of the protective effect of promising therapeutic drugs and vaccines.

**Key words:** SARS-CoV-2, COVID-19, animal model, pathomorphology, lungs.

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

**Funding:** The authors declare no additional financial support for this study.

**Bioethics:** All experiments on animals were approved by the Bioethical Committee of the Federal Budgetary Institution of Science "State Scientific Center of Virology and Biochemistry "Vector" of the Rospotrebnadzor" (protocol dated June 15, 2021 No. 3) and were carried out in accordance with national and international guidelines for the care and humane use of animals.

*Corresponding author:* Andrey V. Shipovalov, e-mail: shipovalov\_av@vector.nsc.ru.

*Citation:* Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Ivleva E.K., Omigov V.V., P'yankov O.V., Taranov O.S. Comparative Study of Pathomorphological Changes in Animal Lung Tissue when Modeling Infection Caused by the SARS-CoV-2 Virus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2024; 2:178–187. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-178-187

*Received 02.02.2024. Revised 20.05.2024. Accepted 23.05.2024.*

Shipovalov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1201-8307>  
Kudrov G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8251-7040>  
Ivleva E.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1194-7219>

Omigov V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2028-6099>  
P'yankov O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3340-8750>  
Taranov O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6746-8092>

Выявление в человеческой популяции в декабре 2019 г. нового коронавируса, способного вызывать тяжелое заболевание с поражением тканей легких, потребовало от научного сообщества создания новых лекарственных препаратов и вакцин. Скрининг перспективных соединений на противовирусную активность в отношении SARS-CoV-2 можно проводить *in vitro* на чувствительных перевиваемых культурах клеток [1]. Доклинические исследования требуют животных моделей, воспроизводящих клинические проявления и патологические нарушения в тканях легких, наблюдаемые у людей [2]. В проведенных ранее исследованиях были выявлены подходящие для моделирования инфекции виды: мыши [3, 4], сирийские хомячки [5], морские свинки [6], хорьки [7] и низшие приматы [8].

«Классическим» показателем патогенности инфекционного агента в исследованиях *in vivo* является летальность [9]. Ни одна из предложенных ранее моделей COVID-19, кроме трансгенных мышей, не отвечает этому требованию. Тем не менее для оценки тяжести инфекционного процесса у лабораторных животных применимы как показатели вирусной нагрузки в назальных смывах, бронхоальвеолярных лаважах, легочной паренхиме и слизистой носовых ходов, так и клинические, биохимические, рентгенологические и патоморфологические маркеры повреждения легких как основного органа-мишени [10].

Степень поражения легочной ткани можно оценивать на прижизненной рентгенографии по балльной шкале Brixia [11] и/или компьютерной томографией (КТ) по баллам, включающим типы поражения (симптом «матового стекла», утолщение альвеолярных перегородок с переменным альвеолярным наполнением, уплотнение или утолщение плевры и объем поражения) и оцененным для каждой доли [12].

Также одним из маркеров тяжести респираторных вирусных инфекций является острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), обнаруживаемый гистологическими методами у погибших от COVID-19. В основе патогенеза ОРДС лежит как прямое цитопатическое действие вируса на эндотелий легочных капилляров и эпителий альвеол, так и повреждение легочной паренхимы каскадом воспалительных реакций, индуцированных вирусными белками [13].

Согласно стандартной методике [14], предложенной для изучения ОРДС при нелетальных инфекциях мелких лабораторных животных, степень поражения тканей легких оценивают по формуле, учитывающей параметры патоморфологических изменений. Основным недостатком данного метода является изучение патологических изменений на ранних (острых) стадиях развития инфекции, без учета геморрагических проявлений и клеточных инфиль-

траций. Кроме того, использование данной методики не позволяет достоверно оценить различия инфекционного процесса в зависимости от инфицирующих доз.

Для мышинной модели был разработан метод сравнительного изучения патологий легких, вызванных различными патогенами, учитывающий большее количество выявляемых гистологических признаков, но не оценивающий их количественно [15]. Позднее метод был модифицирован и использован для оценки различий инфекционного процесса, вызванного вирусом SARS-CoV-2, у сирийских хомячков различного возраста. Патоморфологические признаки повреждений тканей легких были выделены в три группы: (1) оценка воспаления легких, включая тяжесть (i) интерстициальной пневмонии, (ii) бронхита, (iii) эпителиального некроза бронхов и альвеол и (iv) гиперплазии альвеолоцитов II типа; (2) показатель инфильтрации паренхимы с учетом присутствия (i) нейтрофилов, (ii) макрофагов и (iii) лимфоцитов в легких, а также (iv) периваскулярной лимфоцитарной инфильтрации; и (3) показатель накопления внесосудистой жидкости в тканях легких, включающий (i) альвеолярный и (ii) периваскулярный отек [16]. Применение стандартизированных критериев оценки большого количества параметров патологических изменений тканей легких позволило выявить особенности инфекционного процесса у сирийского хомячка в сравнении с низшими приматами (*Macaca mulatta*) и пациентами с COVID-19 [17].

**Целью** данной работы явилось исследование особенностей патоморфологических изменений у разных видов животных при моделировании новой коронавирусной инфекции, возможности использования методов морфометрии для сравнительной гистологической оценки степени повреждения тканей легкого как основного органа-мишени у широкого круга лабораторных животных, включая трансгенных мышей.

## Материалы и методы

**Вирусы.** В работе использовали штамм hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020 (EPI\_ISL\_6565012) геноварианта альфа вируса SARS-CoV-2. Данный штамм получен из Государственной коллекции микроорганизмов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Штамм коронавируса выделен в культуре клеток Vero E6, аликвоты вируса из одной наработки (стока) были заморожены и хранились при температуре минус 70 °С. Инфекционный титр стоков составлял не менее 10<sup>6</sup> ТЦД<sub>50</sub>/мл. Для каждого эксперимента брали новую аликвоту из одного стока.

**Животные.** В эксперименте использовали мышей инбредной линии BALB/c, аутбредных сирийских хомячков, морских свинок и хорьков, по-

лученных из питомника ФБУН ГНЦ БВ «Вектор» Роспотребнадзора, и два вида приматов: макак-резус и зеленая маргышка, – полученных из питомника Научно-исследовательского института медицинской приматологии (Сочи, Россия).

Животные имели неограниченный доступ к пище и воде. Аклиматизация к условиям эксперимента проведена в течение 7 дней до заражения. Во время экспериментов температура в шкафах для содержания животных составляла 22–24 °С, относительная влажность – 40–55 %.

Перед интраназальным заражением животных предварительно наркотизировали внутримышечно препаратом Zoletil 100 (Virbac, Франция).

Все эксперименты на животных одобрены Биоэтическим комитетом ФБУН ГНЦ БВ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол от 15.06.2021 № 3) и проводились в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

**Гистологические исследования.** Для изучения структурных изменений ряда паренхиматозных органов экспериментальных животных использовали образцы, залитые в гистомикс (или смесь легкоплавких парафинов). Асептически извлеченные легкие фиксировали в 4 % растворе забуференного формалина для гистологических исследований («БиоВитрум», Россия). Через сутки легкие нарезали по методике, регламентированной в инструкции отдела микроскопических исследований ФБУН ГНЦ БВ «Вектор» Роспотребнадзора, и снова фиксировали в свежем фиксаторе.

После фиксации образцы проводили через гистологический автомат в соответствии с хорошо отработанной гистологической методикой: последовательное обезвоживание в спиртах возрастающей концентрации, пропитывание в смеси ксилола и парафина и заливка в парафиновые блоки. С помощью аппарата Tissue-Tek TEC 6 (Sacura, Япония) заливали парафиновые блоки и помещали их в холодильник при +6 °С для равномерного застывания гистомикса. Для получения срезов толщиной 4–5 микрон использовали автоматический ротационный микротом Tissue-Tek AutoSection (Sacura, Япония). Данное оборудование обладает программой, в которую заносилась необходимая толщина среза. При помощи кисточки срезы опускали на воду с температурой 43–45 °С для расправления и монтировали их на предметное стекло.

Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, затем покрывали покровной пленкой в автоматическом стейнере Tissue Tek Film (Sacura, Япония). Светооптическое исследование и микрофотосъемку проводили на микроскопе AxioImager Z1 (Zeiss, Германия) с использованием программного пакета AxioVision 4.8.2 (Zeiss, Германия). Оценку распространенности и степени выраженности патологических проявлений инфекционного процесса проводили при анализе сканов серийных срезов, по-

лученных на цифровом сканере микропрепаратов Olympus SlideView VS200 (Olympus, Германия; программный пакет VS200ASW 3.2) с использованием объектива ×20.

При гистологическом исследовании легких животных, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, использовали метод морфометрических стандартизованных критериев для сравнительной оценки степени повреждения тканей. В качестве стандартных (общих для всех чувствительных видов) учитывали следующие признаки: воспалительная клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок, перибронхиальная и периваскулярная воспалительная инфильтрация, кровоизлияние в просвет альвеол и бронхов, наличие фибрина и белкового преципитата в альвеолярном пространстве, выраженность отека, в том числе и межальвеолярных перегородок, проявлений застоя в сосудах малого круга кровообращения.

Степень распространенности основных патоморфологических проявлений – воспалительной клеточной инфильтрации и альвеолярно-геморрагического синдрома – оценивали по 5-балльной шкале, учитывающей площадь патологических изменений на срезе. Все остальные признаки инфекции оценивали по 3-балльной шкале в зависимости от степени выраженности.

## Результаты и обсуждение

В ходе исследования обнаружено, что характер патоморфологических изменений легких различных лабораторных животных, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, не однотипен. Однако определены параметры инфекционной патологии в модели COVID-19, встречающиеся у большинства видов и позволяющие оценить степень повреждения тканей легкого как основного органа-мишени у широкого круга лабораторных животных, включая трансгенных мышей. Ниже приведены результаты патоморфологических изменений, наблюдаемых у конкретного вида лабораторных животных.

**Сирийские хомячки.** Это наиболее чувствительные (восприимчивые) животные к вирусу SARS-CoV-2, что обуславливает их широкое применение в качестве модельного животного. В эксперименте выявлена зависимость между количеством вируса, вызвавшего инфекцию, и тяжестью патоморфологических изменений тканей легких. Животные, инфицированные при совместном содержании, также демонстрировали признаки патологии легких, как и хомячки, зараженные интраназально, но в более легкой форме. Это согласуется с данными других исследователей [18] и подтверждает полученные нами данные. Кроме того, отмечено постепенное изменение основных патологических проявлений в тканях легких при интраназальной инокуляции различными дозами вируса SARS-CoV-2 (рис. 1).

Как показано нами ранее [5], при интраназальном введении сопоставимых доз штаммы генова-

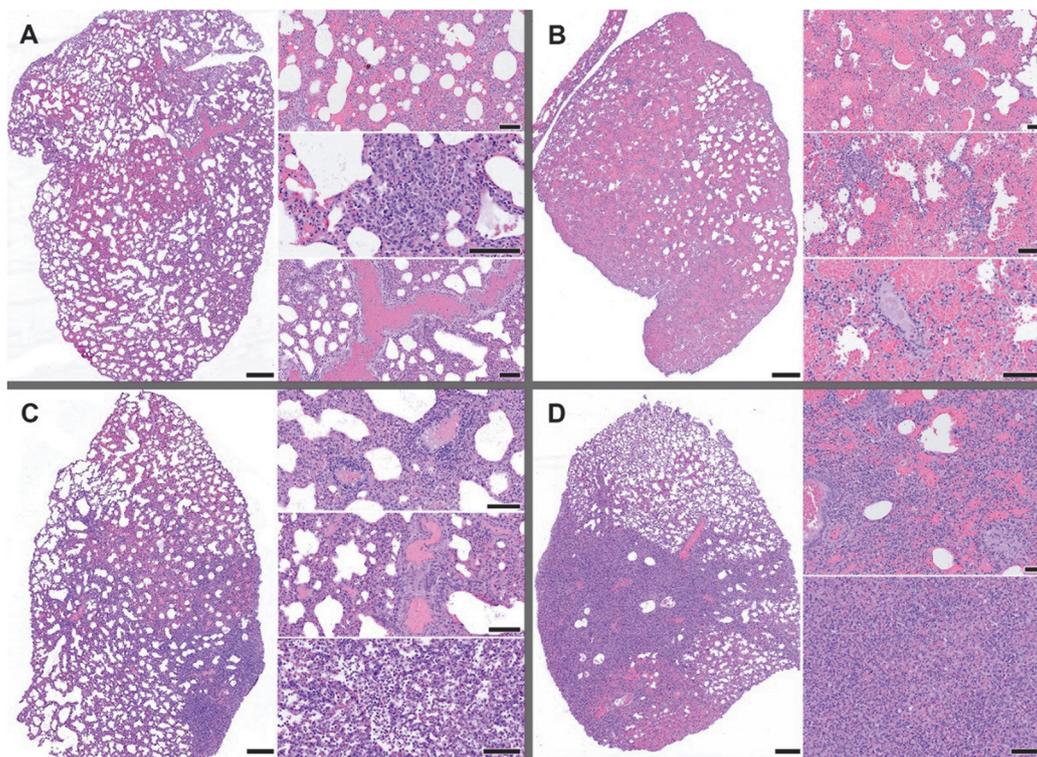


Рис. 1. Гистологический срез легкого сирийских хомячков при различных инфицирующих дозах вируса SARS-CoV-2. Окраска гематоксилином и эозином. Обзорные фото бар 500 мкм (слева), детализирующие – 100 мкм (справа):

*A* – инфицирующая доза  $10^5$  TCID<sub>50</sub>. Обзорное фото: геморрагия, сладж эритроцитов в сосудах, воспалительная инфильтрация межальвеолярных перегородок. Детализирующие фото (сверху вниз): геморрагия, фокус воспалительной инфильтрации с гиперплазией альвеолоцитов, сладж эритроцитов; *B* – инфицирующая доза  $10^4$  TCID<sub>50</sub>. Обзорное фото: массивная геморрагия. Детализирующие фото (сверху вниз): геморрагия, фокус воспалительной инфильтрации, фибрин в кровеносном сосуде; *C* – инфицирующая доза  $10^3$  TCID<sub>50</sub>. Обзорное фото: воспалительная инфильтрация на фоне геморрагии. Детализирующие фото (сверху вниз): периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация, сладж эритроцитов, альвеолоциты и макрофаги в полости альвеол; *D* – инфицирующая доза  $10^2$  TCID<sub>50</sub>. Обзорное фото: массивная воспалительная инфильтрация. Детализирующие фото (сверху вниз): воспалительная инфильтрация на фоне геморрагии, полиморфноклеточная инфильтрация легкого

Fig. 1. Lung histological sections of Syrian hamsters exposed to various infecting doses of SARS-CoV-2 virus. Staining with hematoxylin and eosin. Overview photo bar 500 microns (left), detailing photo – 100 microns (right):

*A* – the infecting dose is  $10^5$  TCID<sub>50</sub>. Overview photo: hemorrhage, erythrocyte sludge in the vessels, inflammatory infiltration of the interalveolar septa. Detailed photos (from top to bottom): hemorrhage, focus of inflammatory infiltration with alveolocyte hyperplasia, erythrocyte sludge; *B* – the infecting dose is  $10^4$  TCID<sub>50</sub>. Overview photo: massive hemorrhage. Detailed photos (from top to bottom): hemorrhage, focus of inflammatory infiltration, fibrin in the blood vessel; *C* – the infecting dose is  $10^3$  TCID<sub>50</sub>. Overview photo: inflammatory infiltration against hemorrhage background. Detailed photos (from top to bottom): perivascular lymphocytic infiltration, erythrocyte sludge, alveolocytes and macrophages in the alveolar cavity; *D* – the infecting dose is  $10^2$  TCID<sub>50</sub>. Overview photo: massive inflammatory infiltration of the lung. Detailed photos (from top to bottom): inflammatory infiltration against the background of hemorrhage, polymorphocellular infiltration of the lung

риантов коронавируса различаются по патогенности для сирийского хомячка. Выявленные различия инфицирующих доз и патологических изменений в легких позволяют сравнивать патогенность различных генетических вариантов. Кроме того, снижение частоты встречаемости патоморфологических изменений тканей легких вследствие подавления репликации вируса SARS-CoV-2 является одной из основных характеристик протективного действия профилактических, терапевтических или иммунологических препаратов.

**Мыши линии BALB/c.** Линейные мыши чувствительны к геновариантам альфа, бета, гамма и омикрон вируса SARS-CoV-2, при этом варианты Ухань и дельта инфекционный процесс не вызывают. Как показано ранее, патоморфологические изменения в тканях легких линейных мышей коррелируют с величиной инфицирующей дозы вируса SARS-CoV-2 [4]. Для изучения патоморфологических изменений использовали мышей линии BALB/c, зараженных серией десятикратных раз-

ведений вируса SARS-CoV-2 геноварианта альфа, с последующей гистологической оценкой препаратов. В результате исследования выявили ряд патологических изменений: дистелектаз, диффузные кровоизлияния, единичные лимфоцитарные инфильтраты. Основные патоморфологические изменения в тканях легких мышей BALB/c приведены на рис. 2. При анализе гистологических препаратов наблюдали прямую зависимость площади кровоизлияний от вирусной нагрузки, что подтверждает взаимосвязь данных изменений с патологическим действием вируса SARS-CoV-2 на легкие мышей. Степень распространенности геморрагического синдрома коррелировала с инфицирующей дозой вируса. Снижение площади дистелектаза обусловлено увеличением площади геморрагий. Такой признак воспаления, как клеточная инфильтрация, был слабо выражен. Клеточная инфильтрация бронха и стенок сосудов находилась в прямой зависимости с дозой заражения. Инфильтрация стенки альвеол имела место, но без видимой взаимосвязи с инфицирующей до-

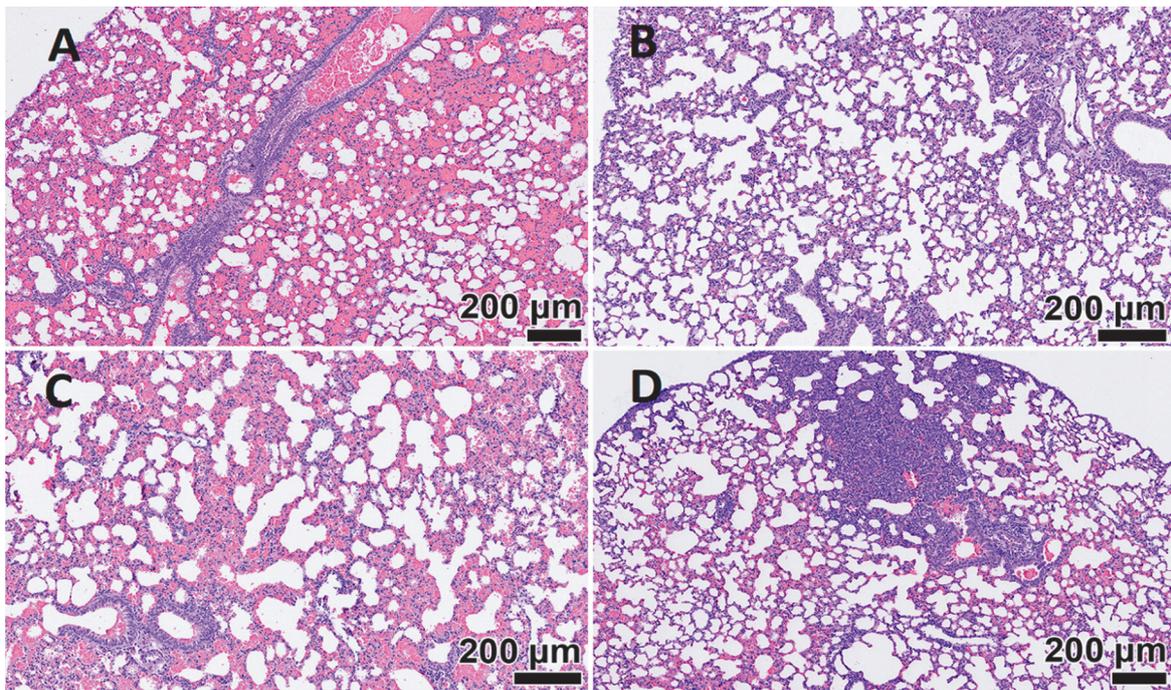


Рис. 2. Гистологический срез легкого мыши BALB/c при различных инфицирующих дозах вируса SARS-CoV-2. Окраска гематоксилином и эозином:

*A* – инфицирующая доза  $10^4$  TCID<sub>50</sub>. Геморрагия, альвеолярно-геморрагический синдром; *B* – инфицирующая доза  $10^3$  TCID<sub>50</sub>. Мелкие очаги кровоизлияния, инфильтрация стенок альвеол и сосудов; *C* – инфицирующая доза  $10^2$  TCID<sub>50</sub>. Геморрагия, альвеолярно-геморрагический синдром; *D* – инфицирующая доза  $10$  TCID<sub>50</sub>. Фокус воспалительной инфильтрации легкого на фоне геморрагии

Fig. 2. Lung histological sections of BALB/c mice exposed to various infecting doses of SARS-CoV-2 virus. Staining with hematoxylin and eosin:

*A* – infecting dose of  $10^4$  TCID<sub>50</sub>. Hemorrhage, alveolar hemorrhagic syndrome; *B* – infecting dose of  $10^3$  TCID<sub>50</sub>. Small foci of hemorrhage, infiltration of the alveolar and vascular walls; *C* – infecting dose of  $10^2$  TCID<sub>50</sub>. Hemorrhage, alveolar hemorrhagic syndrome; *D* – infecting dose of  $10$  TCID<sub>50</sub>. Focus of lung inflammatory infiltration against the hemorrhage background

зой. В виде единичных находок также определялись сладж эритроцитов в сосудах, периваскулярный отек. Основным морфологическим проявлением COVID-19 в легких человека является диффузное альвеолярное повреждение тканей легких в сочетании с вовлечением в патологический процесс сосудистого русла и альвеолярно-геморрагическим синдромом [19]. Выявление подобных признаков протекания заболевания у мышей, зараженных вирусом SARS-CoV-2, говорит об адекватности выбранной животной модели для изучения возбудителя новой коронавирусной инфекции. Среди патологических изменений в легких мышей преобладал признак геморрагии, что нетипично для других животных моделей (сирийский хомячок и приматы), применяемых при моделировании заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, где преимущественно выявлялся признак лимфоцитарной инфильтрации.

**Трансгенные мыши.** Трансгенные мыши характеризуются экспрессией ACE2-рецептора, что увеличивает чувствительность данной модели к вирусу SARS-CoV-2. В эксперименте использованы две трансгенные мышинные модели: UBC-ACE2<sup>Tx</sup> и Rosa-ACE2<sup>Tx</sup>. Основным отличием данных моделей от мышей инбредных линий является чувствительность ко всем геновариантам вируса SARS-CoV-2. Патоморфологические изменения тканей легких, выявленные при инфицировании трансгенных мы-

шей альфа-вариантом коронавируса и изученным ранее геновариантом Ухань [3], были сопоставимы по тяжести и частоте встречаемости. Картина патологических изменений в образцах легких животных обеих моделей включала утолщение бронхов и стенок альвеол, вызванное диффузной гиперплазией клеток альвеолярного эпителия II типа с легкой лимфоцитарной инфильтрацией и отеком, гиперплазией эпителия бронхиол и множественными скоплениями эритроцитов в сосудах (рис. 3). Данная патоморфологическая картина схожа с наблюдаемой в эксперименте у сирийского хомячка.

**Морские свинки.** Выявленные при гистологическом исследовании патоморфологические изменения легочной ткани носили характер диффузного альвеолярного повреждения. На микропрепаратах превалирует внутриальвеолярный отек. Отечная жидкость в просвете альвеол содержит макрофаги и нейтрофилы как маркеры воспалительной реакции, отмечена инфильтрация межальвеолярных перегородок. Цитопатическое действие вируса SARS-CoV-2 приводит к появлению многоядерных клеток, изменению формы и увеличению самих клеток и их ядер. Внутриальвеолярное кровоизлияние с частичным или практически полным заполнением просвета альвеол эритроцитами встречалось достаточно часто. Регистрировали массы эритроцитов в просвете кровеносных сосудов, отмечен тромбоз мелких сосу-

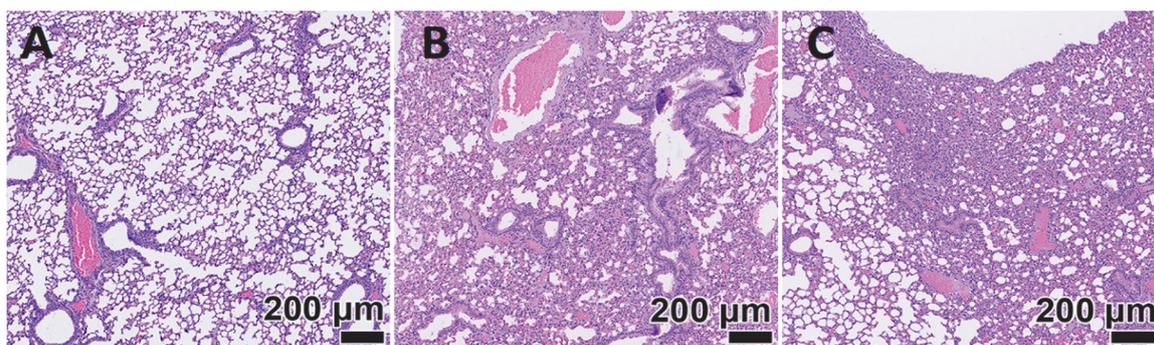


Рис. 3. Гистологический срез легкого линейных мышей, инфицированных вирусом SARS-CoV-2. Окраска гематоксилином и эозином:

*A* – линия BALB/c. Мелкие очаги кровоизлияния, инфильтрация стенок альвеол и сосудов; *B* – линия Rosa-ACE2<sup>Тх</sup>. Массивная воспалительная инфильтрация; *C* – линия UBC-ACE2<sup>Тх</sup>. Лейкоцитарная инфильтрация межальвеолярных перегородок, дистелектаз, фокусы альвеолярной консолидации легочной ткани

Fig. 3. Lung histological sections of linear mice infected with SARS-CoV-2 virus. Hematoxylin and eosin staining:

*A* – BALB/c line. Small hemorrhage foci, infiltration of alveolar and vascular walls; *B* – Rosa-ACE2<sup>Тх</sup> line. Massive inflammatory infiltration; *C* – UBC-ACE2<sup>Тх</sup> line. Leukocyte infiltration of inter-alveolar septa, distelectasis, foci of lung tissue alveolar consolidation

дов. В ряде случаев присутствовала воспалительная инфильтрация вокруг кровеносного сосуда, явления васкулита (рис. 4, А–D).

Определенные нами постинфекционные изменения в тканях легких морской свинки имели сходство с описанными ранее при проведении гистологического анализа тканей легкого пациентов, погибших от COVID-19 [20].

**Хорьки.** У хорьков, инфицированных SARS-CoV-2, наблюдались ринит и трахеит легкой и умеренной степени тяжести с редким одноклеточным некрозом эпителия слизистой. Эпителий слизистой оболочки носовых пазух был ослаблен, терял реснички, в просвете регистрировали некоторое количество слизи, содержащей нейтрофилы. Воспаление бронхов и бронхиол носило локальный характер. Поражения характеризовались инфильтрацией слизистой оболочки бронхов и бронхиол лимфоцитами, плазматическими клетками и нейтрофилами. Кроме того, наблюдали умеренный периваскулит капилляров легочной ткани (рис. 4, Е–F).

**Приматы.** В исследовании использовали два вида приматов: зеленая мартышка (*Chlorocebus aethiops*) и макак-резус (*Macaca mulatta*).

При гистологическом исследовании срезов легких *Ch. aethiops* и *M. mulatta* отмечено наличие минимальных, как правило, мелкоочаговых единичных участков геморрагии и плазморрагии. Нарушение гемодинамики проявлялось резкой гиперемией капилляров с явлениями эритростаза и внутрисосудистого гемолиза. Кроме того, для всех групп приматов было характерно отсутствие либо слабая степень выраженности воспалительной реакции легочной паренхимы. Данный признак проявлялся в виде умеренно выраженного отека межальвеолярных перегородок и лимфоцитарной инфильтрации. В ряде случаев наблюдались участки с выраженными проявлениями васкулита и бронхиолита. Наиболее выраженные проявления нарушения воздухонаполнения легких (в виде дистелектазов) наблюдались

у приматов *Ch. aethiops*. Наименьшие патологические проявления инфекции отмечены у *M. mulatta*, на гистологических препаратах преобладала близкая к норме морфологическая картина легких. У одного животного в одном из образцов присутствовали несколько синцитиальных образований в полости альвеол (единичные очаги). У некоторых животных обоих видов встречались проявления денудации: слущивание альвеолярного эпителия, присутствие в полостях альвеол крупных округлых клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением и эозинофильной цитоплазмой. Отмечены различия патоморфологических проявлений инфекционного процесса в зависимости от вида примата. Перибронхиальная инфильтрация чаще встречалась у *Ch. aethiops*, а альвеолярно-геморрагический синдром – у *M. mulatta* (рис. 5, А–J).

Использование для изучения *in vivo* биологических свойств вируса SARS-CoV-2 различных видов лабораторных животных позволяет решать широкий спектр задач. Применение малоинвазивных методов исследования, начиная с отбора биологического материала (смывы, бронхоальвеолярный лаваж) и до контроля состояния легких (пульсоксиметрия, рентгенография, КТ), позволяет изучить максимальное количество параметров инфекционного процесса при минимальном количестве экспериментальных животных. Тем не менее при отсутствии летальности у изучаемых животных основным методом, подтверждающим клинические проявления инфекции, является анализ гистологических препаратов тканей легких. При этом картина патоморфологических изменений отличается в зависимости от вида лабораторного животного, геноварианта вируса SARS-CoV-2, вызывающего инфекционный процесс, инфицирующей дозы.

Например, при заражении мышей BALB/c и сирийских хомячков высокими дозами коронавируса в тканях легких наблюдаются проявления альвеолярно-геморрагического синдрома, вызванные прямым ци-

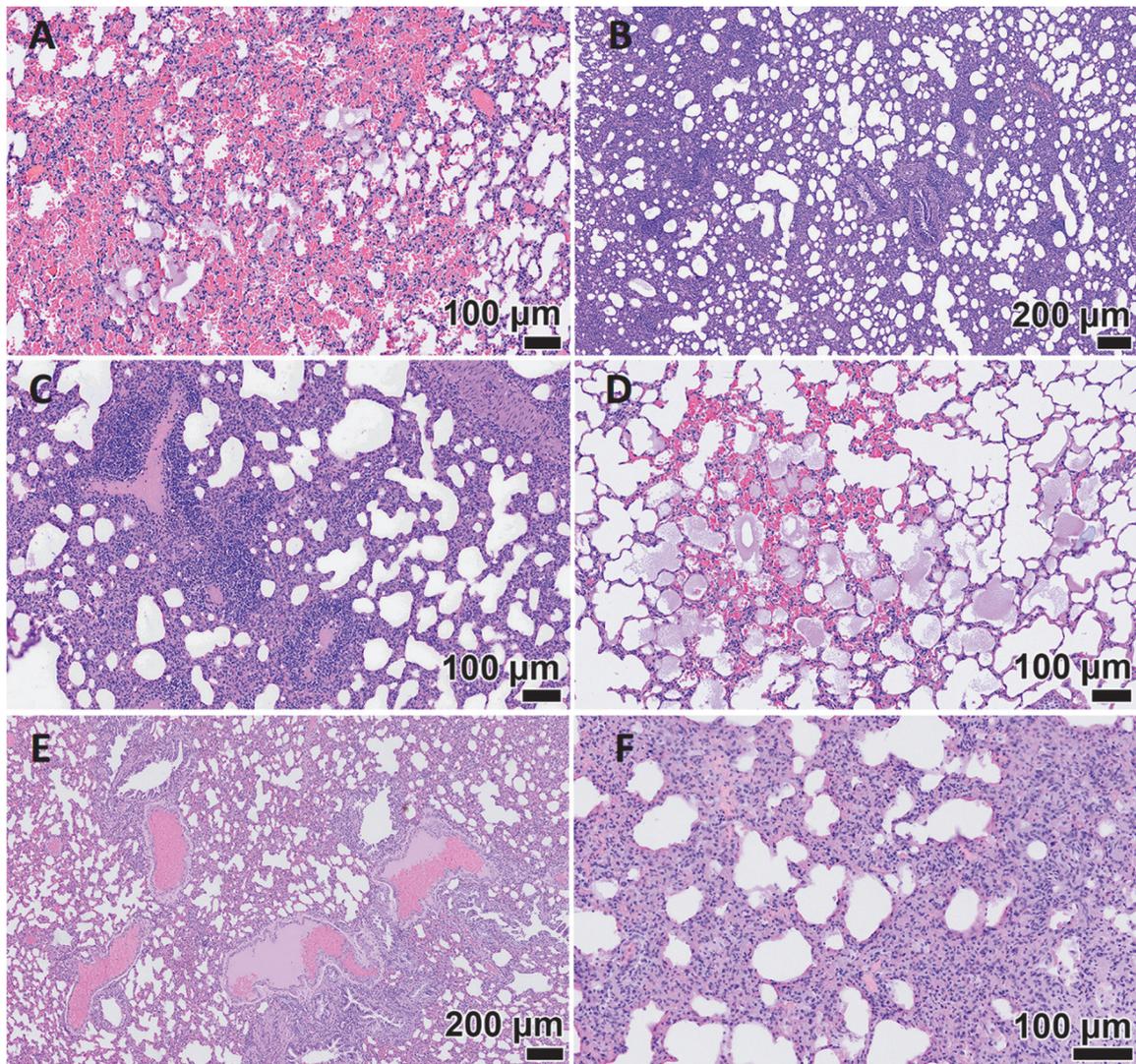


Рис. 4. Гистологические срезы легкого морских свинок (A–D) и хорьков (E–F), инфицированных вирусом SARS-CoV-2. Окраска гематоксилином и эозином.

*A* – геморрагия; *B* – инфильтрация лейкоцитами межальвеолярных перегородок; *C* – периваскулярная инфильтрация, лимфоцитарные «муфты» вокруг сосудов; *D* – альвеолярный отек и геморрагия; *E* – скопление эритроцитов и сепарация плазмы; *F* – лейкоцитарная инфильтрация межальвеолярных перегородок

Fig. 4. Lung histological sections of guinea pigs (A–D) and ferrets (E–F) infected with SARS-CoV-2 virus. Staining with hematoxylin and eosin:

*A* – hemorrhage; *B* – infiltration of inter-alveolar septa by leukocytes; *C* – perivascular infiltration, lymphocytic “couplings” around vessels; *D* – alveolar edema and hemorrhage; *E* – sludge of erythrocytes and plasma separation; *F* – leukocyte infiltration of inter-alveolar septa

топатическим действием вируса на альвеолоциты и эндотелий капилляров, что характерно для многих респираторных инфекционных агентов, включая высокопатогенный вирус гриппа птиц [21].

Однако основной причиной смертности у пациентов с COVID-19 является не увеличение вирусной нагрузки, а длительность инфекционного процесса и сопряженное с ним усиление иммунных и воспалительных реакций организма и, как следствие, возникновение системной воспалительной реакции – острого респираторного дистресс-синдрома [22]. Подобные особенности инфекционного процесса, вызванного вирусом SARS-CoV-2, характерны и для животных моделей. На гистологических препаратах наблюдается ярко выраженная консолидация паренхимы легкого, утолщение межальвеолярных перегородок за счет отека и вос-

палительной инфильтрации. Описываемые изменения тканей легких мы наблюдали у морских свинок, также у мышей BALB/c и сирийских хомячков при низких дозах инфицирования. Следует отметить, что подобное влияние вирус-индуцированного воспаления на тяжесть инфекционного процесса характерно и для вируса гриппа, хотя и в меньшей степени [23, 24].

Хорьки и приматы являются самыми крупными моделями, применяемыми при изучении патогенеза COVID-19. Размеры тела позволяют контролировать инфекционный процесс с помощью рентгенографии и КТ, прижизненно получать бронхоальвеолярный лаваж для определения вирусной нагрузки в тканях легких. Однако размер тела и специальные условия содержания создают некоторые трудности при проведении экспериментов на этих животных.

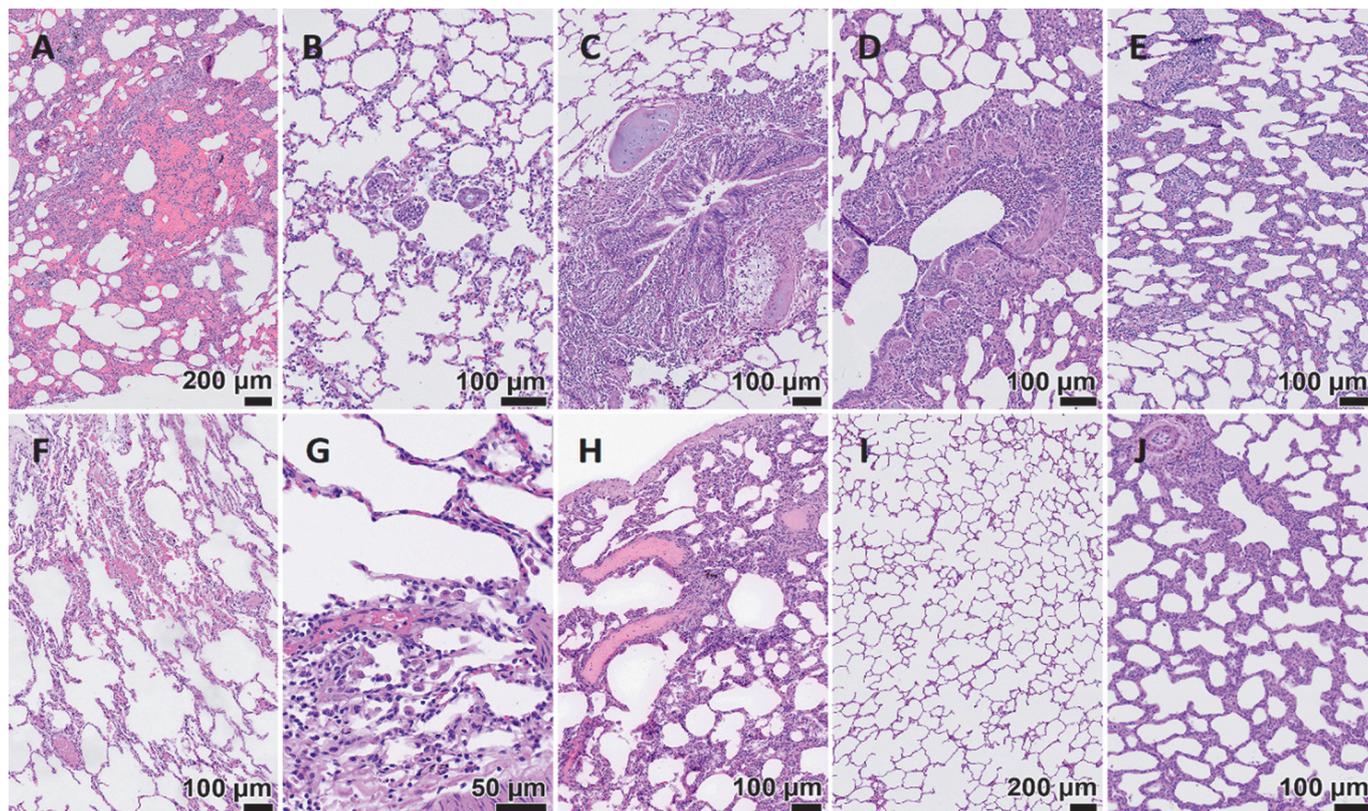


Рис. 5. Гистологические срезы легкого зеленых мартышек (А–Е) и макаки-резус (F–J), инфицированных вирусом SARS-CoV-2. Окраска гематоксилином и эозином.

*A* – геморрагия – альвеолярно-геморрагический синдром; *B* – синцитии в полости альвеол; *C* – перибронхиальная инфильтрация лейкоцитами, дистрофия эпителия, локальный отек стенки бронха; *D* – перибронхиальная инфильтрация, гнойный экссудат в просвете бронха; *E* – лимфоцитарная инфильтрация межальвеолярных перегородок – интерстициальная пневмония; *F* – мелкая геморрагия; *G* – макрофаги в полости альвеол; *H* – полно-кровие альвеолярных капилляров, снижение воздушности по типу дистелектаза; *I* – участок легкого без патологии; *J* – лимфоцитарная инфильтрация межальвеолярных перегородок – интерстициальная пневмония

Fig. 5. Lung histological sections of green monkeys (A–E) and rhesus macaques (F–J) infected with SARS-CoV-2 virus. Hematoxylin and eosin staining.

*A* – hemorrhage – alveolar hemorrhagic syndrome; *B* – syncytia in the alveolar cavity; *C* – peribronchovascular interstitial pneumonia, epithelial dystrophy, local edema of the bronchial wall; *D* – peribronchovascular interstitial pneumonia, purulent exudate in the bronchial lumen; *E* – lymphocytic infiltration of the inter-alveolar septa – interstitial pneumonia; *F* – small hemorrhage; *G* – macrophages in the cavity of the alveoli; *H* – dilation and congestion of capillaries in alveolar walls, decreased airiness by type of distelectase; *I* – lung area without pathology; *J* – lymphocytic infiltration of the inter-alveolar septa – interstitial pneumonia

У макаки-резус инфекционный процесс развивается медленнее, при этом площадь поврежденных тканей легких выше, инкубационный период сопоставим по сроку с человеческим. При сходной клинике у зеленых мартышек регистрировали более быстрое развитие инфекционного процесса, признаки пневмонии, внутриальвеолярные кровоизлияния, утолщение и отек межальвеолярных перегородок с лимфоцитарной инфильтрацией, что указывает на развитие цитокинового шторма. Вирусная нагрузка и картина легочной патологии у зеленых мартышек сопоставимы с таковыми у пациентов с COVID-19.

Инфекционный процесс у хорьков скоротечен, протекает в основном на слизистой оболочке носа, что позволяет использовать их как модель воздушно-капельной передачи коронавируса. Вирусная нагрузка в образцах назальных смывов достигает максимальных значений на вторые сутки после интраназального введения вируса, после чего снижается. На седьмые сутки вирус не определяется, патоморфологические изменения легких отсутствуют.

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что наиболее близкая к человеческой патоморфологическая картина изменений тканей легких среди распространенных модельных животных отмечена у мышей BALB/c и морских свинок. Тем не менее и другие изученные в качестве моделей COVID-19 лабораторные животные также могут быть использованы в экспериментах *in vivo*.

Охарактеризованы особенности патоморфологических изменений у шести различных видов животных при моделировании новой коронавирусной инфекции, определен их дозозависимый характер. Представленные результаты исследований могут быть применены для выбора модельного животного с целью углубленного изучения патогенеза COVID-19, вызванного вновь выделяемыми эпидемически значимыми геновариантами коронавируса, динамики иммунных реакций организма во время развития заболевания, а также при изучении *in vivo* протективного действия перспективных терапевтических препаратов и вакцин.

**Конфликт интересов.** Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

**Финансирование.** Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

**Биоэтика.** Все эксперименты на животных одобрены Биоэтическим комитетом ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол от 15.06.2021 № 3) и проводились в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

### Список литературы

- Leneva I., Kartashova N., Poromov A., Gracheva A., Korchevaya E., Glubokova E., Borisova O., Shtro A., Loginova S., Shchukina V., Khamitov R., Faizuloev E. Antiviral activity of umifenovir *in vitro* against a broad spectrum of coronaviruses, including the novel SARS-CoV-2 virus. *Viruses*. 2021; 13(8):1665. DOI: 10.3390/v13081665.
- Sutton T.C., Subbarao K. Development of animal models against emerging coronaviruses: From SARS to MERS coronavirus. *Virology*. 2015; 479-480:247-58. DOI: 10.1016/j.virol.2015.02.030.
- Dolskiy A.A., Gudymo A.S., Taranov O.S., Grishchenko I.V., Shitik E.M., Prokopov D.Y., Soldatov V.O., Sobolevskaya E.V., Bodnev S.A., Danilchenko N.V., Moiseeva A.A., Torzhkova P.Y., Bulanovich Y.A., Onhonova G.S., Ivleva E.K., Kubekina M.V., Belykh A.E., Tregubchak T.V., Ryzhikov A.B., Gavrilova E.V., Maksyutov R.A., Deykin A.V., Yudkin D.V. The tissue distribution of SARS-CoV-2 in transgenic mice with inducible ubiquitous expression of hACE2. *Front. Mol. Biosci.* 2022; 8:821506. DOI: 10.3389/fmolb.2021.821506.
- Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Томилов А.А., Боднев С.А., Болдырев Н.Д., Овчинникова А.С., Зайковская А.В., Таранов О.С., Пьянков О.В., Максютов Р.А. Изучение восприимчивости линий мышей к вызывающим обеспокоенность вариантам вируса SARS-CoV-2. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:148-55. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-148-155.
- Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Томилов А.А., Боднев С.А., Болдырев Н.Д., Овчинникова А.С., Зайковская А.В., Таранов О.С., Ивлева Е.К., Пьянков О.В., Максютов Р.А. Патогенность вызывающих обеспокоенность вариантов вируса SARS-CoV-2 для сирийского хомячка. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 3:164-9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-164-169.
- Kumar S., Yadav P.K., Srinivasan R., Perumal N. Selection of animal models for COVID-19 research. *Virusdisease*. 2020; 31(4):453-8. DOI: 10.1007/s13337-020-00637-4.
- Kim Y.I., Kim S.G., Kim S.M., Kim E.H., Park S.J., Yu K.M., Chang J.H., Kim E.J., Lee S., Casel M.A.B., Um J., Song M.S., Jeong H.W., Lai V.D., Kim Y., Chin B.S., Park J.S., Chung K.H., Foo S.S., Poo H., Mo I.P., Lee O.J., Webby R.J., Jung J.U., Choi Y.K. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe*. 2020; 27(5):704-709.e2. DOI: 10.1016/j.chom.2020.03.023.
- Рыжиков А.Б., Рыжиков Е.А., Богрянцева М.П., Даниленко Е.Д., Имадинов И.Р., Нечаева Е.А., Пьянков О.В., Пьянкова О.Г., Суслопаров И.М., Таранов О.С., Гудымо А.С., Данильченко Н.В., Слепцова Е.С., Боднев С.А., Онхонова Г.С., Петров В.Н., Моисеева А.А., Торжкова П.Ю., Пьянков С.А., Трегубчак Т.В., Антонец Д.В., Гаврилова Е.В., Максютов Р.А. Иммуногенные и протективные свойства пептидной вакцины против SARS-CoV-2. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2021; 76(1):5-19. DOI: 10.15690/vramn1528.
- Casadevall A., Pirofski L. Host-pathogen interactions: the attributes of virulence. *J. Infect. Dis.* 2001; 184(3):337-44. DOI: 10.1086/322044.
- Yuan L., Tang Q., Cheng T., Xia N. Animal models for emerging coronavirus: progress and new insights. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1):949-61. DOI: 10.1080/22221751.2020.1764871.
- Borghesi A., Zigliani A., Masciullo R., Golemi S., Maculotti P., Farina D., Maroldi R. Radiographic severity index in COVID-19 pneumonia: relationship to age and sex in 783 Italian patients. *Radiol. Med.* 2020; 125(5):461-4. DOI: 10.1007/s11547-020-01202-1.
- Naninck T., Kahlaoui N., Lemaitre J., Maisonnasse P., De Mori A., Pascal Q., Contreras V., Marlin R., Relouzat F., Delache B., Hérate C., Aldon Y., van Gils M., Zabaleta N., Ho Tsong Fang R., Bosquet N., Sanders R.W., Vandenbergh L.H., Chapon C., Le Grand R. Computed tomography and <sup>18</sup>F-FDG PET imaging provide additional readouts for COVID-19 pathogenesis and therapies evaluation in non-human primates. *iScience*. 2022; 25(4):104101. DOI: 10.1016/j.isci.2022.104101.
- Upadhyay S., Rehman J., Malik A.B., Chen S. Mechanisms of lung injury induced by SARS-CoV-2 infection. *Physiology*. 2022; 37(2):88-100. DOI: 10.1152/physiol.00033.2021.
- Matute-Bello G., Downey G., Moore B.B., Greshong S.D., Matthay M.A., Slutsky A.S., Kuebler W.M. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011; 44(5):725-38. DOI: 10.1165/rcmb.2009-0210ST.
- Dieter K., Gutbier B., Wienhold S.M., Reppe K., Jiang X., Yao L., Chaput C., Naujoks J., Brack M., Kupke A., Peteranderl C., Becker S., von Lachner C., Baal N., Slevogt H., Hocke A.C., Witzernath M., Opitz B., Herold S., Hackstein H., Sander L.E., Suttrop N., Gruber A.D. Spectrum of pathogen- and model-specific histopathologies in mouse models of acute pneumonia. *PLoS One*. 2017; 12(11):e0188251. DOI: 10.1371/journal.pone.0188251.
- Osterrieder N., Bertzbach L.D., Dieter K., Abdelgawad A., Vladimirova D., Kunec D., Hoffmann D., Beer M., Gruber A.D., Trimpert J. Age-dependent progression of SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters. *Viruses*. 2020; 12(7):779. DOI: 10.3390/v12070779.
- Gruber A.D., Osterrieder N., Bertzbach L.D., Vladimirova D., Greuel S., Ihlow J., Horst D., Trimpert J., Dieter K. Standardization of reporting criteria for lung pathology in SARS-CoV-2-infected hamsters: what matters? *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2020; 63(6):856-9. DOI: 10.1165/rcmb.2020-0280LE.
- Sia S.F., Yan L.M., Chin A.W.H., Fung K., Choy K.T., Wong A.Y.L., Kaewpredee P., Perera R.A.P.M., Poon L.L.M., Nicholls J.M., Peiris M., Yen H.L. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature*. 2020; 583(7818):834-8. DOI: 10.1038/s41586-020-2342-5.
- Зайратьянц О.В., редактор. Патологическая анатомия COVID-19. Атлас. М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ»; 2020. 140 с.
- Самсонова М.В., Михалева Л.М., Зайратьянц О.В., Варясин В.В., Быканова А.В., Мишнев О.Д., Березовский Ю.С., Тишкевич О.А., Гомзикова Е.А., Черняев А.Л., Хованская Т.Н. Патология легких при COVID-19 в Москве. *Архив патологии*. 2020; 82(4):32-40. DOI: 10.17116/патол20208204132.
- Шестопалова Л.В., Прокопьева Е.А., Корчагина К.В., Максимова Д.А., Зайковская А.В., Шкурупий В.А., Шестопалов А.М. Ультраструктурные изменения альвеолоцитов и макрофагов легких под влиянием высокопатогенного вируса гриппа птиц H5N1. *Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2011; 9(1):58-65.
- Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C., Liu S., Zhao P., Liu H., Zhu L., Tai Y., Bai C., Gao T., Song J., Xia P., Dong J., Zhao J., Wang F.S. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet. Respir. Med.* 2020; 8(4):420-2. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
- Almansa R., Martinez-Orellana P., Rico L., Iglesias V., Ortega A., Vidiña B., Martinez J., Expósito A., Montoya M., Bermejo-Martin J.F. Pulmonary transcriptomic responses indicate a dual role of inflammation in pneumonia development and viral clearance during 2009 pandemic influenza infection. *PeerJ*. 2017; 5:e3915. DOI: 10.7717/peerj.3915.
- To K.K., Hung I.F., Li I.W., Lee K.L., Koo C.K., Yan W.W., Liu R., Ho K.Y., Chu K.H., Watt C.L., Luk W.K., Lai K.Y., Chow F.L., Mok T., Buckley T., Chan J.F., Wong S.S., Zheng B., Chen H., Lau C.C., Tse H., Cheng V.C., Chan K.H., Yuen K.Y. Delayed clearance of viral load and marked cytokine activation in severe cases of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 50(6):850-9. DOI: 10.1086/650581.

### References

- Leneva I., Kartashova N., Poromov A., Gracheva A., Korchevaya E., Glubokova E., Borisova O., Shtro A., Loginova S., Shchukina V., Khamitov R., Faizuloev E. Antiviral activity of umifenovir *in vitro* against a broad spectrum of coronaviruses, including the novel SARS-CoV-2 virus. *Viruses*. 2021; 13(8):1665. DOI: 10.3390/v13081665.
- Sutton T.C., Subbarao K. Development of animal models against emerging coronaviruses: From SARS to MERS coronavirus. *Virology*. 2015; 479-480:247-58. DOI: 10.1016/j.virol.2015.02.030.
- Dolskiy A.A., Gudymo A.S., Taranov O.S., Grishchenko I.V., Shitik E.M., Prokopov D.Y., Soldatov V.O., Sobolevskaya E.V., Bodnev S.A., Danilchenko N.V., Moiseeva A.A., Torzhkova P.Y., Bulanovich Y.A., Onhonova G.S., Ivleva E.K., Kubekina M.V., Belykh A.E., Tregubchak T.V., Ryzhikov A.B., Gavrilova E.V., Maksyutov R.A., Deykin A.V., Yudkin D.V. The tissue distribution of SARS-CoV-2 in transgenic mice with inducible ubiquitous expression of hACE2. *Front. Mol. Biosci.* 2022; 8:821506. DOI: 10.3389/fmolb.2021.821506.
- Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Tomilov A.A., Bodnev S.A., Boldyrev N.D., Ovchinnikova A.S., Zaikovskaya A.V., Taranov O.S., P'yankov O.V., Maksyutov R.A. [Susceptibility to SARS-CoV-2 virus variants of concern in mouse models]. *Problemy Osobo*

*Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (1):148–55. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-148-155.

5. Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Tomilov A.A., Bodnev S.A., Boldyrev N.D., Ovchinnikova A.S., Zaikovskaya A.V., Taranov O.S., Ivleva E.K., P'yankov O.V., Maksyutov R.A. [Pathogenicity of the SARS-CoV-2 virus variants of concern for the Syrian golden hamster]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):164–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-164-169.

6. Kumar S., Yadav P.K., Srinivasan R., Perumal N. Selection of animal models for COVID-19 research. *Virusdisease*. 2020; 31(4):453–8. DOI: 10.1007/s13337-020-00637-4.

7. Kim Y.I., Kim S.G., Kim S.M., Kim E.H., Park S.J., Yu K.M., Chang J.H., Kim E.J., Lee S., Casel M.A.B., Um J., Song M.S., Jeong H.W., Lai V.D., Kim Y., Chin B.S., Park J.S., Chung K.H., Foo S.S., Poo H., Mo I.P., Lee O.J., Webby R.J., Jung J.U., Choi Y.K. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe*. 2020; 27(5):704–709.e2. DOI: 10.1016/j.chom.2020.03.023.

8. Ryzhikov A.B., Ryzhikov E.A., Bogryantseva M.P., Danilenko E.D., Imatdinov I.R., Nechaeva E.A., Pyankov O.V., Pyankova O.G., Susloparov I.M., Taranov O.S., Gudymo A.S., Danilchenko N.V., Sleptsova E.S., Bodnev S.A., Onkhonova G.S., Petrov V.N., Moiseeva A.A., Torzhkova P.Yu., Pyankov S.A., Tregubchak T.V., Antonets D.V., Gavrilova E.V., Maksyutov R.A. [Immunogenicity and protectivity of the peptide vaccine against SARS-CoV-2]. *Vestnik Rossijskoj Akademii Meditsinskikh Nauk [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2021; 76(1):5–19. DOI: 10.15690/vramn1528.

9. Casadevall A., Pirofski L. Host-pathogen interactions: the attributes of virulence. *J. Infect. Dis.* 2001; 184(3):337–44. DOI: 10.1086/322044.

10. Yuan L., Tang Q., Cheng T., Xia N. Animal models for emerging coronavirus: progress and new insights. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1):949–61. DOI: 10.1080/22221751.2020.1764871.

11. Borghesi A., Zigliani A., Masciullo R., Golemi S., Maculotti P., Farina D., Maroldi R. Radiographic severity index in COVID-19 pneumonia: relationship to age and sex in 783 Italian patients. *Radiol. Med.* 2020; 125(5):461–4. DOI: 10.1007/s11547-020-01202-1.

12. Naninck T., Kahlaoui N., Lemaitre J., Maisonnasse P., De Mori A., Pascal Q., Contreras V., Marlin R., Relouzat F., Delache B., Hérate C., Aldon Y., van Gils M., Zabaleta N., Ho Tsong Fang R., Bosquet N., Sanders R.W., Vandenberghhe L.H., Chapon C., Le Grand R. Computed tomography and [<sup>18</sup>F]-FDG PET imaging provide additional readouts for COVID-19 pathogenesis and therapies evaluation in non-human primates. *iScience*. 2022; 25(4):104101. DOI: 10.1016/j.isci.2022.104101.

13. Upadhyya S., Rehman J., Malik A.B., Chen S. Mechanisms of lung injury induced by SARS-CoV-2 infection. *Physiology*. 2022; 37(2):88–100. DOI: 10.1152/physiol.00033.2021.

14. Matute-Bello G., Downey G., Moore B.B., Grohong S.D., Matthay M.A., Slutsky A.S., Kuebler W.M. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011; 44(5):725–38. DOI: 10.1165/rcmb.2009-0210ST.

15. Dietert K., Gutbier B., Wienhold S.M., Reppe K., Jiang X., Yao L., Chaput C., Naujoks J., Brack M., Kupke A., Peteranderl C., Becker S., von Lachner C., Baal N., Slevogt H., Hocke A.C., Witznath M., Opitz B., Herold S., Hackstein H., Sander L.E., Suttrop N., Gruber A.D. Spectrum of pathogen- and model-specific histopathologies in mouse models of acute pneumonia. *PLoS One*. 2017; 12(11):e0188251. DOI: 10.1371/journal.pone.0188251.

16. Osterrieder N., Bertzbach L.D., Dietert K., Abdelgawad A., Vladimirova D., Kunec D., Hoffmann D., Beer M., Gruber A.D., Trimpert J. Age-dependent progression of SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters. *Viruses*. 2020; 12(7):779. DOI: 10.3390/v12070779.

17. Gruber A.D., Osterrieder N., Bertzbach L.D., Vladimirova D., Greuel S., Ihlow J., Horst D., Trimpert J., Dietert K. Standardization of reporting criteria for lung pathology in SARS-CoV-2-infected hamsters: what matters? *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2020; 63(6):856–9. DOI: 10.1165/rcmb.2020-0280LE.

18. Sia S.F., Yan L.M., Chin A.W.H., Fung K., Choy K.T., Wong A.Y.L., Kaewpreedee P., Perera R.A.P.M., Poon L.L.M., Nicholls J.M., Peiris M., Yen H.L. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature*. 2020; 583(7818):834–8. DOI: 10.1038/s41586-020-2342-5.

19. Zairat'yants O.V., editor. [Pathological Anatomy of COVID-19. Atlas]. Moscow; 2020. 140 p.

20. Samsonova M.V., Mikhaleva L.M., Zairat'yants O.V., Varyasin V.V., Bykanova A.V., Mishnev O.D., Berezovsky Yu.S., Tishkevich O.A., Gomzikova E.A., Chernyaev A.L., Khovanskaya T.N. [Lung pathology of COVID-19 in Moscow]. *Arkhiv Patologii [Archive of Pathology]*. 2020; 82(4):32–40. DOI: 10.17116/ptol20208204132.

21. Shestopalova L.V., Prokopieva E.A., Korchagina K.V., Maksimova D.A., Zaikovskaya A.V., Shkurupi V.A., Shestopalov A.M. [Ultrastructural changes in lung alveolocytes and macrophages under the influence of highly pathogenic avian influenza virus H5N1]. *Vestnik Novosibirskogo Gosudarstvennogo Universiteta [Bulletin of Novosibirsk State University. Series: Biology and Clinical Medicine]*. 2011; 9(1):58–65.

22. Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C., Liu S., Zhao P., Liu H., Zhu L., Tai Y., Bai C., Gao T., Song J., Xia P., Dong J., Zhao J., Wang F.S. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet. Respir. Med.* 2020; 8(4):420–2. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.

23. Almansa R., Martínez-Orellana P., Rico L., Iglesias V., Ortega A., Vidana B., Martínez J., Expósito A., Montoya M., Bermejo-Martin J.F. Pulmonary transcriptomic responses indicate a dual role of inflammation in pneumonia development and viral clearance during 2009 pandemic influenza infection. *PeerJ*. 2017; 5:e3915. DOI: 10.7717/peerj.3915.

24. To K.K., Hung I.F., Li I.W., Lee K.L., Koo C.K., Yan W.W., Liu R., Ho K.Y., Chu K.H., Watt C.L., Luk W.K., Lai K.Y., Chow F.L., Mok T., Buckley T., Chan J.F., Wong S.S., Zheng B., Chen H., Lau C.C., Tse H., Cheng V.C., Chan K.H., Yuen K.Y. Delayed clearance of viral load and marked cytokine activation in severe cases of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 50(6):850–9. DOI: 10.1086/650581.

#### Authors:

Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Ivleva E.K., Omigov V.V., P'yankov O.V., Taranov O.S. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

#### Об авторах:

Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Ивлева Е.К., Омигов В.В., Пьянков О.В., Таранов О.С. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.