

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-164-169

УДК 616.98:578.834.1

А.В. Шиповалов, Г.А. Кудров, А.А. Томилов, С.А. Боднев, Н.Д. Болдырев, А.С. Овчинникова,
А.В. Зайковская, О.С. Таранов, Е.К. Ивлева, О.В. Пьянков, Р.А. Максютот

Патогенность вызывающих обеспокоенность вариантов вируса SARS-CoV-2 для сирийского хомячка

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация

Целью работы является изучение патогенности различных генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 на модели сирийского хомячка. **Материалы и методы.** В работе использовали штаммы вируса SARS-CoV-2, относящиеся к вызывающим обеспокоенность (VOC) вариантам, циркулирующим на территории РФ. Эксперименты проводили на аутбредных сирийских хомячках, полученных из питомника ГНЦ ВБ «Вектор». Инфекционный титр коронавируса в образцах тканей, полученных от зараженных лабораторных животных, определяли на культуре клеток Vero E6. Дополнительным параметром контроля вирусной нагрузки в пробах считали пороговое значение Ct в ОТ-ПЦР. Тяжесть поражения тканей легких сирийских хомячков при подобном COVID-19 заболевании оценивали по гистологическим препаратам. **Результаты и обсуждение.** Определены 50 % инфицирующие дозы при интраназальном способе заражения, проведен гистологический анализ тканей легкого. Оценена патогенность различных вариантов вируса SARS-CoV-2 для сирийского хомячка, выявлены различия инфицирующих доз и патологических изменений в легких. Вирусы SARS-CoV-2, относящиеся к генетическому варианту бета, характеризуются наибольшей, а к варианту альфа – наименьшей вирулентностью при сравнении по величине ИД₅₀. Варианты дельта и омикрон обладают сравнимой способностью вызывать специфическое поражение тканей дыхательных путей, при этом уступая только варианту бета. Показано, что сирийские хомячки являются адекватной моделью для оценки патогенности вызывающих обеспокоенность вариантов вируса SARS-CoV-2. Таким образом, варианты VOC вируса SARS-CoV-2 при интраназальном заражении показали разную степень патогенности в модели сирийского хомячка.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, вызывающие обеспокоенность варианты (VOC), сирийский хомячок, 50 % инфицирующая доза, интраназальное заражение, модельное животное.

Корреспондирующий автор: Шиповалов Андрей Владимирович, e-mail: shipovalov_av@vector.nsc.ru.

Для цитирования: 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., Максютот Р.А. Патогенность вызывающих обеспокоенность вариантов вируса SARS-CoV-2 для сирийского хомячка. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 3:164–169. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-164-169

Поступила 10.02.2022. Отправлена на доработку 14.02.2022. Принята к публ. 28.06.2022.

A.V. Shipovalov, G.A. Kudrov, A.A. Tomilov, S.A. Bodnev, N.D. Boldyrev, A.S. Ovchinnikova,
A.V. Zaikovskaya, O.S. Taranov, E.K. Ivleva, O.V. P'yankov, R.A. Maksyutov

Pathogenicity of the SARS-CoV-2 Virus Variants of Concern for the Syrian Golden Hamster

State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to study the pathogenicity of newly emerging variants of SARS-CoV-2 on the model of the Syrian golden hamster. **Materials and methods.** We used the strains of SARS-CoV-2 virus related to the VOC circulating in the territory of the Russian Federation. The experiments were carried out on outbred Syrian hamsters obtained from the nursery of the SSC VB "Vector". The infectious titer of coronavirus in tissue samples collected from infected laboratory animals was determined on a Vero E6 cell culture. The Ct in RT-PCR was considered an additional parameter for monitoring the viral load in the samples. The severity of lung tissue damage in Syrian hamsters with COVID-19 was assessed by histological preparations. **Results and discussion.** 50 % infecting doses in case of the intranasal infection have been determined, histological analysis of lung tissues performed. The pathogenicity of various variants of the SARS-CoV-2 virus for the Syrian hamster has been evaluated, differences in infecting doses and pathological changes in the lungs have been revealed. SARS-CoV-2 viruses belonging to Beta genetic variant have the highest virulence, while Alpha variant has the lowest one when comparing the studied strains by the ID₅₀ value. The Delta and Omicron variants have a matched ability to cause specific damage to the tissues of the respiratory tract, while being inferior only to the Beta variant. It has been demonstrated that Syrian hamsters are an adequate model for assessing the pathogenicity of the SARS-CoV-2 virus variants of concern. Variants of SARS-CoV-2 virus during intranasal infection has shown different degree of pathogenicity in the Syrian hamster model.

Key words: SARS-CoV-2, COVID-19, variants of concern (VOC), Syrian golden hamster, 50 % infecting dose, intranasal infection, model animal.

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

Corresponding author: Andrey V. Shipovalov, e-mail: shipovalov_av@vector.nsc.ru.

Citation: 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; 3:164–169. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-164-169

Received 10.02.2022. Revised 14.02.2022. Accepted 28.06.2022.

Shipovalov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1201-8307>
Kudrov G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8251-7040>
Tomilov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5311-9783>
Bodnev S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0599-3817>
Boldyrev N.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8854-0287>
Ovchinnikova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1745-7643>

Zaikovskaya A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0450-5212>
Taranov O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6746-8092>
Ivleva E.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1194-7219>
P'yankov O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3340-8750>
Maksyutov R.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2577-0434>

В конце декабря 2019 г. необычная пневмония возникла у людей в г. Ухань (КНР) и быстро распространилась по всему миру, что вызвало глобальные проблемы общественного здравоохранения. Возбудитель идентифицирован как новый коронавирус [1] и назван коронавирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2 (SARS-CoV-2) на основе филогенетического анализа родственных коронавирусов, проведенного исследовательской группой Международного комитета по таксономии вирусов. Впоследствии заболевание, вызываемое этим вирусом, обозначено ВОЗ как коронавирусная болезнь 2019 г. (COVID-19). Несмотря на значительные усилия, болезнь все еще распространяется [2].

Высокая заболеваемость и смертность, связанные с пандемией COVID-19, сделали разработку вакцин и противовирусных препаратов глобальным приоритетом для органов здравоохранения. Благодаря беспрецедентно быстрой разработке вакцин удалось заметно снизить заболеваемость и смертность от этой инфекции. Однако с появлением новых вызывающих беспокойство вариантов вируса SARS-CoV-2 возникла вероятность уменьшения чувствительности к терапевтическим препаратам, снижения связывающей активности нейтрализующих антител, приобретенных как после заболевания более ранним вариантом SARS-CoV-2, так и после вакцинации [3].

Исследования на животных играют важную роль в характеристике патогенеза вирусных инфекций и оценке противовирусных препаратов и вакцин. Используемые животные модели должны быть восприимчивыми к исследуемому возбудителю и воспроизводить клиническое течение и патологию, наблюдаемые у людей [4].

По мнению ряда авторов, сирийские хомячки лучше подходят для изучения репликации вируса SARS-CoV-2 в тканях верхних и нижних дыхательных путей, для понимания патогенеза и защитных реакций организма, наблюдаемых у людей, а также для тестирования вакцин и противовирусных препаратов [5], являясь более чувствительной лабораторной моделью, чем мыши [6].

Хомячки имеют относительно высокую степень гомологии с людьми в области клеточного рецептора, которым является ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2), при взаимодействии с S-белком вируса SARS-CoV-2. У сирийских хомячков после заражения отмечали потерю веса, эффективную репликацию вируса в слизистой оболочке носа и эпителиальных клетках нижних дыхательных пу-

тей, регистрировали заметные поражения легких в виде отека, воспаления и гибели клеток, что было оценено с использованием гистологических методов [7], в сыворотке крови переболевших хомячков выявляли нейтрализующие антитела. Кроме того, показано, что вирус передается от инфицированных животных при совместном содержании интактным хомячкам либо аэрозольно, либо через контаминированные поверхности, что указывает на их адекватность в качестве модели для изучения трансмиссивности вируса SARS-CoV-2. У контактных животных, инфицированных при совместном содержании, наблюдались аналогичные признаки патологии легких, но они не теряли вес, что позволяет предположить, что интраназально зараженные хомячки имели более тяжелую форму заболевания из-за большего количества вируса, попавшего в легкие [8].

Цель работы – исследование патогенности вызывающих беспокойство вариантов (VOC) вируса SARS-CoV-2 на модели сирийского хомячка с определением величины 50 % инфицирующей дозы (ИД₅₀) и гистологическим анализом повреждений тканей легкого животных после интраназального заражения. Полученные данные могут быть использованы для оценки пандемического потенциала генетических вариантов коронавируса, выделенных на территории РФ.

Материалы и методы

Вирусы. В работе исследовали штаммы вируса SARS-CoV-2, относящиеся к вызывающим беспокойство вариантам, циркулирующим на территории РФ. Данные штаммы получены из Государственной коллекции микроорганизмов ГНЦ ВБ «Вектор». Как референс использовали штамм hCoV-19/Australia/VIC01/2020, полученный из Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory (Мельбурн, Австралия). Полный перечень исследованных штаммов с указанием ID их нуклеотидных последовательностей в базе данных GISAID (<https://www.gisaid.org>) и значимых мутаций в RBD S-белка, ответственных за увеличение патогенности, приведен в табл. 1.

Использованные в работе варианты вируса SARS-CoV-2 выделены 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 10⁶ ЦПД₅₀/мл. В каждом эксперименте использовали новую аликвоту из одного стока.

Перечень используемых штаммов

List of strains used

Штамм Strain	№ штамма в базе данных GISAID GISAID ID	Генетическая линия Genetic lineage	Название варианта, вызывающего обеспокоенность Variant of concern (VOC)	Значимые мутации Significant mutations
hCoV-19/Australia/VIC01/2020	EPI_ISL_406844	B	ухань Wuhan	Референс Reference
hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020	EPI_ISL_6565012	B.1.1.7	альфа Alpha	N501Y D614G
hCoV-19/Russia/MOS-SAB-1502/2021	EPI_ISL_6492245	B.1.351	бета Beta	E484K N501Y D614G
hCoV-19/Russia/MOS-2406/2021	EPI_ISL_7338789	AY.122	дельта Delta	D614G
hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021	EPI_ISL_8920444	BA.1	омикрон Omicron	E484A N501Y D614G

Культуры клеток. Клетки Vero и Vero E6 получены из коллекции культур клеток ГНЦ ВБ «Вектор», выращены в минимальной среде (MEM), содержащей 10 % фетальной сыворотки крупного рогатого скота (Gibco, США), пенициллин (100 МЕ/мл) и стрептомицин (100 мкг/мл; Gibco, США) при температуре 37 °C и 5 % содержании CO₂. После инфицирования клеток использовали аналогичную среду, только с 2 % фетальной сыворотки крупного рогатого скота.

Содержание животных. В эксперименте использовали самцов и самок беспородных сирийских хомячков массой тела 80–100 г. Животные получены из Питомника лабораторных животных ГНЦ ВБ «Вектор». Хомячкам подкожно имплантировали транспондеры (чипы) IPIT-300 (BMDS, США) для бесконтактного измерения температуры и идентификации ID и помещали по два в индивидуально вентилируемые клетки. Животные имели неограниченный доступ к пище и воде. Акклиматизация к условиям эксперимента проведена в течение семи дней до заражения. Во время экспериментов температура в клетках поддерживалась 22–24 °C, а относительная влажность – 40–55 %. Хомячков взвешивали, измеряли температуру и оценивали клинические признаки болезни ежедневно.

Все эксперименты на животных одобрены Биоэтическим комитетом ГНЦ ВБ «Вектор» и проводились в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

Определение вирулентности (ИД₅₀) генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 на сирийских хомячках. Животные разделены на 6 групп по 12 голов из расчета одна группа на одно 10-кратное разведение вируса. Заражение предварительно анестезированных внутримышечным введением Zoletil 100 (Virbac, Франция) животных производили интраназально инокуляцией вируса пипеткой в объеме 50 мкл, в дозах 0,5; 1,5; 2,5 и 3,5 lg ЦПД₅₀. Через 120 часов после заражения (ПЗ) все животные подвергались эвтаназии методом трансервикальной

дислокации. Производили вскрытие, забор тканей носовых ходов и легких. Полученные с помощью шариковой мельницы (Analytical Jena, Германия) 10 % гомогенаты тканей осветляли путем центрифугирования при 10000 об/мин (ротор SW28, Beckman Coulter, High Wycombe, Великобритания). Аликвоты осветленных образцов использовали для определения количества РНК вируса в образцах методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени, через суррогатный показатель Ct и для определения концентрации в ЦПД₅₀/мл инфекционного вируса методом титрования на культуре клеток Vero E6.

Определение РНК вируса SARS-CoV-2 в биологических образцах методом ПЦР. Выделение РНК проводили набором «РИБО-преп» («АмплиСенс», Россия). Синтез кДНК на матрице выделенной РНК проводили с использованием реагентов для реакции обратной транскрипции «Реверта-Л» (ЦНИИЭ, Россия). Для амплификации фрагментов кДНК вируса SARS-CoV-2 использовали тест-систему «Вектор-ПЦРРВ-COVID19-RG» (ГНЦ ВБ «Вектор», Россия). Результаты исследования интерпретировали в соответствии с инструкцией производителя.

Титрование вирусов. Инфекционную активность вирусов в стоках, носовых смывах и тканях легких инфицированных животных определяли с использованием метода анализа 50 % инфекционной дозы для культуры тканей. Клетки Vero E6 высевали за 24 часа до заражения в 96-луночные планшеты с посевной дозой 1,5·10⁴ клетки/лунка. В день эксперимента сделаны последовательные 10-кратные разведения вируса. Шесть лунок 96-луночного планшета заражены каждым разведением вируса. После 72-часовой инкубации в атмосфере 5 % CO₂ при температуре 37 °C клетки фиксировали 4 % раствором параформальдегида с последующим окрашиванием 0,1 % кристаллическим фиолетовым. Специфическое поражение монослоя культуры клеток в лунке учитывали и выражали через 50 % цитопатическое действие (ЦПД₅₀). Значение инфекционной дозы при интраназальном заражении рассчитывали по методу Рида – Менча [9].

Гистологические исследования. Забор органов от инфицированных животных осуществляли через 120 часов ПЗ. Образцы фиксировали в 10 % растворе забуференного формалина для гистологических исследований («БиоВитрум», Россия) в течение 48 часов. Обработку материала проводили по общепринятой методике: последовательное обезживание в спиртах возрастающей концентрации, пропитывание в смеси ксилол – парафин и заливка в парафиновые блоки. Парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм готовили с помощью автоматического ротационного микротомы HM-360 (Thermo Fisher, Германия). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Светооптическое исследование и микрофотосъемку проводили на микроскопе AxioImager Z1 (Zeiss, Германия) с использованием программного пакета к прибору версии AxioVision 4.8.2. Оценку распространенности и степени выраженности патологических проявлений инфекции проводили при анализе сканов серийных срезов, полученных на цифровом сканере микропрепаратов Olympus SlideView VS200 (Olympus, Германия; программный пакет VS200ASW 3.2).

Статистическую обработку результатов проводили программой Statistica v13.0.

Результаты и обсуждение

Через 120 часов после заражения в гомогенатах легких и носовой полости инфицированных жи-

вотных определена вирусная нагрузка с помощью ОТ-ПЦР в режиме реального времени и методом титрования инфекционного вируса на культуре клеток Vero E6 по ЦПД₅₀. В табл. 2 представлены результаты оценки патогенности различных инфицирующих доз для пяти вариантов вируса SARS-CoV-2 после интраназального заражения сирийских хомячков.

Анализ полученных результатов не показал достоверного снижения вирусной нагрузки в тканях хомячков, зараженных вариантом омикрон, в сравнении с предшествующим вариантом дельта. При этом значения Ct и инфекционного титра, полученные для VOC омикрон, позволяют говорить о большей патогенности, чем у варианта ухань и VOC альфа. Кроме того, в отличие от предыдущих вариантов, у варианта омикрон на пятые сутки после интраназального заражения вирусная нагрузка и титр инфекционного вируса значительно выше в носовой полости, чем в легких. Этим может объясняться его повышенная способность к передаче инфекции при контакте.

Для оценки вирулентности вызывающих беспокойство вариантов вируса SARS-CoV-2 мы определили значение инфицирующей дозы ИД₅₀ при интраназальном способе заражения сирийских хомячков для референс-штамма и четырех вариантов VOC: альфа, бета, дельта и омикрон. ИД₅₀ для пяти вариантов вируса SARS-CoV-2, определенная по наличию вируса в тканях носовых ходов и/или легких хомячков, представлена в табл. 3.

Таблица 2 / Table 2

Определение патогенности различных инфицирующих доз для пяти вариантов вируса SARS-CoV-2 при интраназальном заражении сирийских хомячков

Determination of pathogenicity of various infecting doses for five variants of SARS-CoV-2 virus during intranasal infection of Syrian hamster

Генетические варианты Genetic variants		Ухань Wuhan		Альфа Alpha		Бета Beta		Дельта Delta		Омикрон Omicron	
Инф. титр стока штамма (ЦПД ₅₀ /мл) Titer of a virus stock (TCID ₅₀ /ml)		5,55 lg		6,05 lg		6,0 lg		6,0 lg		5,65 lg	
разведение dilution	параметр parameter	носовые ходы nasal passages	легкие lungs								
-7	Ct*	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	32,20±9,16	34,31±6,61	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0
	Тинф** / Tinf	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5
-6	Ct	40,00±0	40,00±0	28,07±14,65	35,29±9,43	16,75±4,01	24,26±11,29	29,34±12,31	29,71±11,91	40,00±0	40,00±0
	Тинф / Tinf	≤0,5	≤0,5	1,5±0,0	≤0,5	3,0±0,0	2,5±0,5	1,5±0,0	1,5±0,0	≤0,5	≤0,5
-5	Ct	40,00±0	40,00±0	18,63±7,42	23,14±10,50	15,41±0,67	17,39±1,82	18,96±1,24	18,61±1,85	40,00±0	40,00±0
	Тинф / Tinf	≤0,5	≤0,5	2,5±0,0	2,5±0,0	≤0,5	≤0,5	2,5±0,0	2,5±0,0	≤0,5	≤0,5
-4	Ct	40,00±0	40,00±0	13,70±2,36	12,56±0,90	12,53±1,26	16,65±1,36	19,97±1,36	21,88±2,51	26,32±13,33	31,32±6,72
	Тинф / Tinf	≤0,5	≤0,5	3,5±0,5	3,5±0,0	3,5±0,0	3,5±0,5	3,0±0,0	3,0±0,0	2,5±0,0	1,5±0,0
-3	Ct	35,74±6,27	36,86±4,53	14,81±1,49	13,88±2,38	13,05±1,12	16,59±3,78	18,79±1,74	20,65±2,14	13,12±1,36	17,21±4,46
	Тинф / Tinf	≤0,5	≤0,5	3,5±0,0	3,5±0,0	3,5±0,0	3,5±0,0	3,0±0,0	3,0±0,0	3,5±0,0	3,5±0,5
-2	Ct	29,67±8,21	31,99±4,87	13,04±1,04	14,77±1,27	13,99±1,34	17,13±6,35	13,54±0,80	12,49±0,84	16,65±2,78	23,24±3,22
	Тинф / Tinf	1,5±0,0	1,5±0,0	3,5±0,0	3,5±0,0	3,5±0,0	3,5±0,5	3,5±0,0	3,5±0,0	3,5±0,0	3,0±0,0

Примечания: *Ct – cycle threshold. Значение Ct=40,00 принимали за отрицательное; **Тинф – инфекционный титр (lg ЦПД₅₀/мл). Значение ≤0,5lg – пороговое значение метода титрования инфекционного вируса по ЦПД.

Notes: *Ct – cycle threshold. Ct value>40.00, was taken as negative **Tinf – infectious titer (lg TCID₅₀/ml). The limit of detection of an infectious virus in samples by titration on Vero E6 cell culture ≤0,5lg TCID₅₀/ml.

Таблица 3 / Table 3

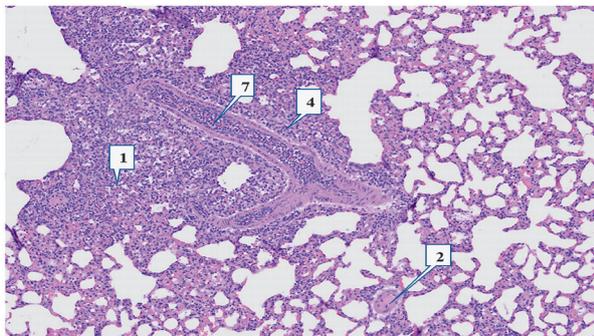
ИД₅₀ пяти вариантов вируса SARS-CoV-2 для интраназально зараженных сирийских хомячков
 50 % infectious dose (ID₅₀) of five variants of the SARS-CoV-2 virus for intranasally infected by Syrian hamsters

Штамм / вариант SARS-CoV-2 Strain / variant of SARS-CoV-2	Ухань Wuhan	Альфа Alpha	Бета Beta	Дельта Delta	Омикрон Omicron
ИД ₅₀ , ЦПД ₅₀ , p=0,05	7,8	13,2	0,6	1,1	1,3
ID ₅₀ , TCID ₅₀ , p=0,05	[2,2÷19,8]	[3,7÷30,1]	[0,1÷1,0]	[0,21÷5,10]	[0,23÷5,81]

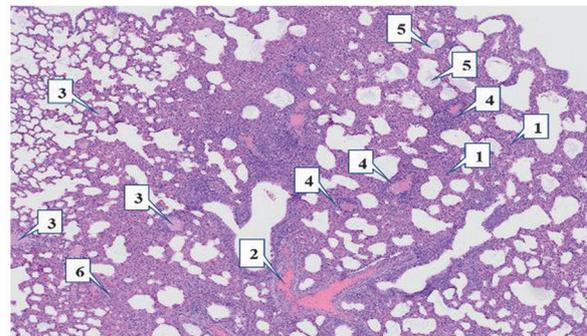
Сравнительный анализ данных по величине ИД₅₀ показывает, что наиболее вирулентен вариант бета вируса SARS-CoV-2 (меньшее количество инфекционного вируса требуется для инфицирования), наименее – вариант альфа, имеющий в ~1,5 раза большее значение 50 % инфицирующей дозы в сравнении с референс-штаммом. Варианты дельта и омикрон обладают сравнимой способностью вызывать специфическое поражение тканей дыхательных путей, при этом уступая только варианту бета.

Для получения более детального представления о поражении легких, вызванного действием коронавируса изучаемых генетических вариантов, проведены гистологические исследования. Сканы срезов ткани легких сирийских хомячков, интраназально инфицированных вариантами вируса SARS-CoV-2, представлены на рисунке.

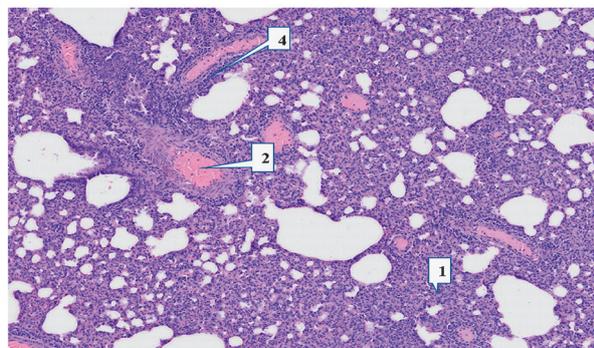
Наибольшее количество патологических изменений и максимальная площадь поражения ткани легких наблюдались в группе инфицированных



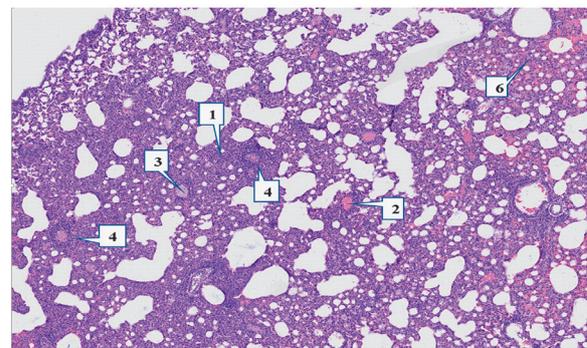
A



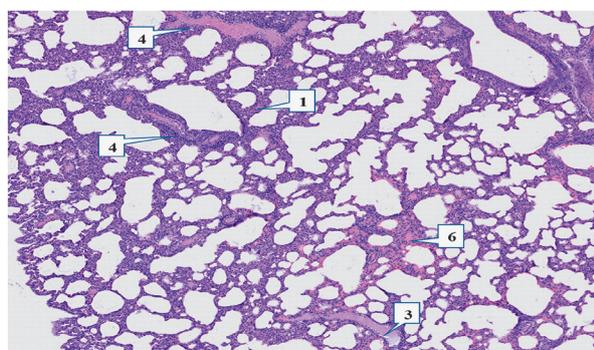
B



C



D



E

Гистологический срез легкого сирийского хомячка, окрашенный гематоксилином и эозином. Заражение интраназально дозой 3,5 lg ЦПД₅₀ штаммом варианта ухань (А), альфа (В), бета (С), дельта (D) и омикрон (E):

1 – консолидация паренхимы легкого, утолщение межальвеолярных перегородок за счет отека и воспалительной инфильтрации; 2 – явления застоя – полнокровие сосудов, в том числе капилляров, сладж эритроцитов; 3 – плазма в просвете сосудов; 4 – периваскулярная воспалительная инфильтрация; 5 – детрит, следы отечной жидкости в полости альвеол; 6 – явления плазморрагии; 7 – скопление лейкоцитов в просвете кровеносного сосуда (лейкостаз)

Histological section of a Syrian hamster lung stained with hematoxylin and eosin. Intranasal infection with a dose of 3.5 lg CPD50 with a strain of the Wuhan variant (A), Alpha (B), Beta (C), Delta (D), and Omicron (E):

1 – consolidation of the lung parenchyma, thickening of the interalveolar septa due to edema and inflammatory infiltration; 2 – stagnation phenomena – vascular fullness, including capillaries, erythrocyte sludge; 3 – plasma in the vascular lumen; 4 – perivascular inflammatory infiltration; 5 – detritus, traces of edematous fluid in the alveolar cavity; 6 – plasmorrhagia phenomena; 7 – accumulation of leukocytes in the lumen of blood vessel (leukostasis)

вариантом бета (рисунок, С). Преобладающим был признак клеточной инфильтрации и отека стенок альвеол. Вариант дельта имел схожую патологическую картину (рисунок, D), при этом отмечено более интенсивное проявление признака плазморрагии. Вариант альфа (рисунок, В) и референс-штамм ухань (рисунок, А) имели признаки очаговой консолидации легочной ткани с суммарно меньшей площадью, чем при заражении другими VOC-вариантами. В легких, пораженных вариантом омикрон, признак консолидации отсутствовал, отмечены инфильтрация стенок альвеол, явления плазморрагии и отека с меньшей степенью выраженности, чем у вариантов дельта и бета.

Результаты гистологических исследований тяжести поражения ткани легких сирийских хомячков, интраназально инфицированных разными вариантами вируса SARS-CoV-2, в некоторой степени коррелируют с значениями ИД₅₀. Например, более вирулентный вариант бета с ИД₅₀, равной всего 0,6 ЦПД₅₀, вызывает более тяжелые повреждения легких сирийских хомячков.

В нашем исследовании VOC-варианты вируса SARS-CoV-2 при интраназальном заражении показали разную степень патогенности в модели сирийского хомячка. Выявленные различия инфицирующих доз и патологических изменений в легких позволяют нам сравнить патогенность различных генетических вариантов VOC с исходным штаммом вируса SARS-CoV-2.

Результаты исследования способствуют накоплению новых данных о патогенезе инфекционного процесса, обусловленного различными вариантами вируса SARS-CoV-2, и позволяют совершенствовать этап доклинической оценки разрабатываемых препаратов для профилактики и терапии COVID-19 на модели сирийского хомячка.

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

Список литературы

1. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* 2020; 4:536–44. DOI: 10.1038/s41564-020-0695-z.
2. WHO – Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Situation Reports. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---25-may-2022> (дата обращения 01.06.2022).
3. Li Q., Nie J., Wu J., Zhang L., Ding R., Wang H., Zhang Y., Li T., Liu S., Zhang M., Zhao C., Liu H., Nie L., Qin H., Wang M., Lu Q., Li X., Liu J., Liang H., Shi Y., Shen Y., Xie L., Zhang L., Qu X., Xu W., Huang W., Wang Y. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell.* 2021; 9:2362–71.e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.
4. 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.
5. Kumar S., Yadav P.K., Srinivasan R., Perumal N. Selection of animal models for COVID-19 research. *Virusdisease.* 2020; 31(4):453–58. DOI: 10.1007/s13337-020-00637-4.

6. 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., Максюттов 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.

7. Chan J.F., Zhang A.J., Yuan S., Poon V.K., Chan C.C., Lee A.C., Chan W.M., Fan Z., Tsoi H.W., Wen L., Liang R., Cao J., Chen Y., Tang K., Luo C., Cai J.P., Kok K.H., Chu H., Chan K.H., Sridhar S., Chen Z., Chen H., To K.K., Yuen K.Y. 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; 9:2428–46. DOI: 10.1093/cid/ciaa325.

8. 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.

9. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938; 3:493–7. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.

References

1. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* 2020; 4:536–44. DOI: 10.1038/s41564-020-0695-z.
2. WHO – Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Situation Reports. (Cited 01.06.2022). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---25-may-2022>.
3. Li Q., Nie J., Wu J., Zhang L., Ding R., Wang H., Zhang Y., Li T., Liu S., Zhang M., Zhao C., Liu H., Nie L., Qin H., Wang M., Lu Q., Li X., Liu J., Liang H., Shi Y., Shen Y., Xie L., Zhang L., Qu X., Xu W., Huang W., Wang Y. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell.* 2021; 9:2362–71.e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.
4. 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.
5. Kumar S., Yadav P.K., Srinivasan R., Perumal N. Selection of animal models for COVID-19 research. *Virusdisease.* 2020; 31(4):453–58. DOI: 10.1007/s13337-020-00637-4.
6. 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.
7. Chan J.F., Zhang A.J., Yuan S., Poon V.K., Chan C.C., Lee A.C., Chan W.M., Fan Z., Tsoi H.W., Wen L., Liang R., Cao J., Chen Y., Tang K., Luo C., Cai J.P., Kok K.H., Chu H., Chan K.H., Sridhar S., Chen Z., Chen H., To K.K., Yuen K.Y. 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; 9:2428–46. DOI: 10.1093/cid/ciaa325.
8. 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.
9. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938; 3:493–7. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.

Authors:

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. 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., Томилов А.А., Боднев С.А., Болдырев Н.Д., Овчинникова А.С., Зайковская А.В., Таранов О.С., Ивлева Е.К., Пьянков О.В., Максюттов Р.А. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п.п. Колыцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.