



Изучение особенностей распределения модельных коронавирусов в органах и тканях кошачьих в контексте изучения патогенеза COVID-19

В. Н. Афонюшкин^{1,2,3}, О. Е. Сысоева¹, О. С. Козлова¹, Д. В. Шамовская³

¹ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ), г. Новосибирск, Россия

² ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН), р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия

³ ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН), г. Новосибирск, Россия

РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день есть основание считать, что в отличие от классических острых респираторных вирусных инфекций, вызываемых аденовирусами, риновирусами, ортомиксовирусами, COVID-19 ведет себя совершенно по-другому. Во-первых, патологические процессы скорее являются иммунопосредованными, и иммунитет довольно медленно обеспечивает элиминацию вируса из организма. Во-вторых, динамика развития симптомов заболевания, длительность вирусывыделения из кишечника после переболевания дают основание считать, что SARS-CoV-2 находится преимущественно в кишечнике. Возможной причиной этого является то, что в присутствии протеолитических ферментов происходит созревание вирусных частиц, удаление гидрофильных аминокислот с поверхности вириона делает его более гидрофобным и способным прилипнуть к клеткам за счет гидрофобных взаимодействий. Наличие рецептора ACE2 главным образом в энтероцитах подвздошной кишки не исключает накопление коронавируса в лимфоцитах. Учитывая, что лимфоцитов в желудочно-кишечном тракте больше, чем где-либо, этот факт можно рассматривать как еще одно обоснование преимущественного накопления коронавирусов, в т. ч. SARS-CoV-2, в кишечнике. Отличительной чертой коронавирусной инфекции кошек, и в частности инфекционного перитонита кошек, от COVID-19 человека считалось наличие выпотного перитонита в качестве основного осложнения, ведущего к смерти, в то время как для людей более характерна дыхательная и сердечно-сосудистая недостаточность. Тем не менее уже описаны случаи развития серозного перитонита у людей на фоне COVID-19. В контексте анализируемой модели описанный в работе клинический случай допускает принципиальную возможность обострения хронической коронавирусной инфекции при повторном заражении (суперинфекции) с развитием преимущественно локальной инфекции.

Ключевые слова: кошки, коронавирус, COVID-19, FCoV, SARS-CoV-2, патолого-анатомическое исследование, гистологическое исследование

Для цитирования: Афонюшкин В. Н., Сысоева О. Е., Козлова О. С., Шамовская Д. В. Изучение особенностей распределения модельных коронавирусов в органах и тканях кошачьих в контексте изучения патогенеза COVID-19. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 38–44. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-38-44.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Козлова Ольга Сергеевна, старший преподаватель кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы и паразитологии ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, 630039, Россия, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, д. 160, e-mail: loi-2005@yandex.ru.

Features of model coronaviruses distribution in feline organs and tissues in the context of COVID-19 pathogenesis study

V. N. Afonyushkin^{1,2,3}, O. E. Sysoeva¹, O. S. Kozlova¹, D. V. Shamovskaya³

¹ FSSFEI HE "Novosibirsk State Agricultural University" (FSSFEI HE Novosibirsk SAU), Novosibirsk, Russia

² Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSCA RAS), Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia

³ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICBFM SB RAS), Novosibirsk, Russia

SUMMARY

To date, there is reason to believe that, unlike classical acute respiratory virus infections caused by adenoviruses, rhinoviruses, orthomyxoviruses, COVID-19 behaves completely differently. Firstly, the pathological processes are likely to be immune-mediated and the immune system quite slowly ensures the elimination of the virus from the organism. Secondly, the dynamics of the disease symptom development and the duration of intestinal virus shedding after recovery give reason to believe that the SARS-CoV-2 infection is mainly localized in the intestine. A possible reason is that in the presence of proteolytic enzymes, viral particles mature, hydrophilic amino acids are removed from the surface of the virion, making it more hydrophobic and able to adhere to cells due to hydrophobic interactions. The presence of the ACE2 receptor mainly in the enterocytes of the ileum does not exclude the accumulation of coronavirus in lymphocytes, given that there are more lymphocytes in the gastrointestinal tract than anywhere else, this fact can be considered as another justification for the predominant accumulation of coronaviruses, including SARS-CoV-2 in the intestine. A distinctive feature of feline coronavirus infection and, in particular, infectious feline peritonitis, from human COVID-19 infection was considered to be the presence of effusion peritonitis as the main complication leading to death, while respiratory and cardiovascular insufficiency is more characteristic for humans. Nevertheless, cases of serous peritonitis in humans infected with COVID-19 have already been described. In the context of the analyzed

model, the clinical case described in the study allows principal possibility of exacerbation of chronic coronavirus infection in case of re-infection (superinfection) and development of a predominantly local infection.

Keywords: cats, coronavirus, COVID-19, FCoV, SARS-CoV-2, pathoanatomical examination, histological examination

For citation: Afonyushkin V. N., Sysoeva O. E., Kozlova O. S., Shamovskaya D. V. Features of model coronaviruses distribution in feline organs and tissues in the context of COVID-19 pathogenesis study. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 38–44. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-38-44.

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

For correspondence: Olga S. Kozlova, Senior Lecturer, Department of Veterinary and Sanitary Examination and Parasitology, FSSFEI HE Novosibirsk SAU, 630039, Russia, Novosibirsk, ul. Dobrolyubova, 160, e-mail: loi-2005@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Мировая пандемия коронавируса изменила жизнь и повлияла на здоровье не только человека, но и животных. Циркуляция SARS-CoV-2 наиболее часто выявлялась в популяции кошки домашней. Следует отметить, что среди питомцев, у которых лабораторно был подтвержден диагноз, были как животные, имеющие контакты с инфицированными SARS-CoV-2 владельцами, так и животные из приютов (бродячие) [1].

В популяции кошек циркулируют коронавирусы кошек (feline coronavirus, FCoV) двух серотипов: I и II. Каждый серотип существует в виде двух биотипов с различной патогенностью: кишечный коронавирус кошек (feline enteric coronavirus, FECV) и вирус инфекционного перитонита кошек (FIPV) [2]. Ведущей теорией развития инфекционного перитонита (FIP) является предположение о том, что FIPV возникает в результате соматических мутаций в геноме FECV *de novo*, вследствие чего меняется тропность FECV с энтероцитов на моноциты и макрофаги. Более патогенный FIPV реплицируется в макрофагах [3].

Инфекционный перитонит в 100% случаев приводит к смерти животного на фоне дисфункции печени, нередко отека легких и поражения центральной нервной системы [4]. Несмотря на высокую распространенность FCoV в популяции кошек, процент заболеваемости FIP довольно низкий и редко превосходит 5% от зараженных FCoV животных при скученном содержании [5].

Геном FCoV представлен одноцепочечной РНК, кодирующей 4 структурных белка (спайк – S, оболочка – E, мембрана – M и нуклеокапсида – N) и 7 неструктурных белков [6]. Спайк-белок опосредует связывание и проникновение вируса в клетку, детерминируя тропизм и вирулентность FCoV. Предположительно, мутации в кодирующей последовательности S-белка изменяют тропизм FCoV с энтероцитов на моноциты и макрофаги. В результате FCoV попадает в кровоток и провоцирует развитие перитонита [7].

Существуют общие черты между FCoV и SARS-CoV-2:

1. Не все кошки склонны заражаться FCoV, не все инфицированные кошки длительное время остаются носителями FCoV, только малая часть кошек, зараженных FCoV, погибает от инфекционного перитонита.

2. Тяжелые повреждения респираторной системы у человека при COVID-19, как и полиорганная недостаточность у кошек при FIP, связаны с реакцией иммунной системы, когда иммунокомпетентные клетки повреждают органы и ткани [8].

Научная группа из Китая опубликовала данные о том, что иммунная система кошек может формировать иммунный ответ к SARS-CoV-2 [9]. Более того, возможна передача SARS-CoV-2 от кошки к кошке [10]. Вопрос о том, влечет ли это за собой развитие инфекционного процесса у кошки или ведет к изменению течения уже существующей коронавирусной инфекции, остается открытым. Кроме того, неясно, вносят ли кошки вклад в распространение SARS-CoV-2 среди людей, возможно ли развитие иммунологического ответа у человека в ответ на FCoV и, если возможно, то влияет ли это на течение COVID-19-ассоциированной инфекции?

Сухая форма инфекционного перитонита кошек представляется наиболее близким аналогом острой формы COVID-19 у людей [11]. К сходным чертам следует отнести васкулит, иммуноопосредованный характер поражения органов и тканей (включая антителозависимое усиление инфекции, АЗУИ), диссеминацию возбудителя из желудочно-кишечного тракта [12].

Цель исследования – изучение особенностей распределения модельных коронавирусов в органах и тканях кошачьих в контексте изучения патогенеза COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были рассмотрены особенности разработки концепции патогенеза сочетанной коронавирусной суперинфекции у человека на примере изучения патогенетических механизмов сочетанной инфекции SARS-CoV-2 и FCoV у кошки.

Исследования проводились в виварии СФНЦА РАН. Объектом исследования служили кошки, погибшие от разных форм инфекционного перитонита после контакта с зараженными владельцами, а также ПЦР-позитивные на наличие геномной РНК FCoV и SARS-CoV-2. Предоставленная кДНК и образцы фиксированного в формалине биоматериала от кошек и человека исследовали методами полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и иммунофлюоресцентной микроскопии.

Изучение распределения вируса FCoV в организме животных с FIP проводилось с использованием метода ОТ-ПЦР в режиме реального времени. РНК выделяли из внутренних органов фенол-хлороформной экстракцией, в качестве контроля использовали клонированный фрагмент целевого гена. Квантификацию контрольной ДНК проводили методом цифровой ПЦР, специфичной для FCoV. Для контроля выделения РНК

и нормализации тестировали РНК бактериофага MS2 (внешний контрольный образец, который добавляли в каждую реакцию) и mRNA генов «домашнего хозяйства» кошки (GAPDH).

Образцы патологического материала фиксировали в 10%-м забуференном формалине. После гистологической проводки парафиновые срезы депарафинировали в ксилоле, после отмывали ксилол этиловым спиртом и погружали в 100 мМ раствор трис-НСl. Демаскировали антигены прогреванием в микроволновой печи в растворе цитратного буфера с pH 6,0.

Ядра клеток докрашивали Hoechst 33258 (Invitrogen, США), фрагмент S-белка выявляли использованием поликлональных кроличьих антител SARS Coronavirus Spike Protein Antibody Cat. No. PA1-41375 (Invitrogen, США). Реакцию проводили в 0,05 М фосфатно-солевом буферном растворе (pH 7,2) с добавлением 0,02% Твин-20 (PBS-T) и 0,3% бычьего сывороточного альбумина. В качестве конъюгата использовали Donkey Anti-Rabbit IgG (H+L), Mouse/Rat/Human SP ads-AF555, Cat. No. 6440-32 (SouthernBiotech, США) в этом же буферном растворе. Реакцию проводили при комнатной температуре в течение часа. Отмывали несвязавшиеся антитела PBS-T (pH 7,2) дистиллированной водой, заключали в глицерин и микроскопировали с использованием люминесцентного микроскопа Imager D1 (Zeiss, Германия) и программного обеспечения AxioVision. Люминесценцию выявляли с использованием систем светофильтров FS 49, FS 10, FS 20. Для контроля неспецифического связывания конъюгата использовали аналогичные гистологические препараты без первичных антител.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение распределения FCoV в органах и тканях котенка с сухой формой FIP (клинический случай).

Анамнез: все котята из одного помета в возрасте 2 месяцев заболели с признаками ринореи, поноса и угнетения. Один котенок начал худеть в возрасте 5 месяцев и был усыплен с диагнозом «сухая форма вирусного перитонита». Основанием для диагноза являлось обнаружение геномной РНК FCoV в транссудате из плевральной полости. Также на момент постановки диагноза у животного концентрация мочевины в крови была понижена до 3,5 ммоль/л, уровень триглицеридов повышен до 95 г/л, глобулинов – до 70 г/л, соотношение альбумины/глобулины было равно 0,4. Остальные биохимические показатели (глюкоза, креатинин, альбумин, аланинаминотрансфераза, щелочная фосфатаза) находились в пределах нормы. В мазке из плевральной полости обнаружены нейтрофилы, единичные макрофаги и лимфоциты. Гематокрит был понижен до 21,6%, гемоглобин был ниже нормы на 9%, уровень эозинофилов – на 90%, количество тромбоцитов – на 2% (171 клеток/мкл). Остальные гематологические показатели были в пределах нормативных значений. По результатам томографии обнаружили наличие в грудной полости большого количества жидкости, участки инфильтрации повышенной плотности, краниальные доли легких были повышенной рентген-плотности с участками консолидации. Затемнения интестинального типа наблюдались преимущественно в области краниальной доли левого легкого, также отмечалось наличие бронхоэктазов.

Труп животного подвергли аутопсии сразу после усыпления. Для исследований были отобраны: голов-

ной мозг (гипофиз, лобная доля коры головного мозга, мозолистое тело, обонятельная луковица, теменная область головного мозга, мозжечок, твердая мозговая оболочка), лимфатические узлы (мезентериальные, заглочные, средостенные, подмышечные, подчелюстные), образцы крови (из воротной вены, левого и правого желудочков сердца), легкое, хоаны, гортань, трахея, транссудат из грудной полости, органы желудочно-кишечного тракта (двенадцатиперстная кишка, ободочная кишка, печень), тимус, селезенка, околушная слюнная железа.

Анализ патофизиологических и патолого-анатомических механизмов поражения систем органов у кошек с FIP в сочетании с заражением SARS-CoV-2.

При патолого-анатомическом вскрытии наблюдали отек легких, воспалительные изменения в тимусе, гиперплазию средостенных лимфатических узлов, скопление жидкости в грудной полости. Обращает на себя внимание миогенная дилатация и наличие кровоизлияний в миокарде правого желудочка сердца (рис. 1, 2). Трахея и бронхи характеризовались отсутствием изменений, однако хоаны были в состоянии гиперемии.

При вскрытии органов брюшной полости наблюдались изменения воспалительного характера, преимущественно в мезентериальных лимфатических узлах (рис. 3). Воспалительных изменений слизистой желудочно-кишечного тракта, признаков пиогранулематозного полисерозита не обнаружено. Жидкость в брюшной полости отсутствовала. Также селезенка характеризовалась наличием неравномерной окраски, имелись признаки спленита.

Оценка распределения FCoV в организме котенка.

Картирование распределения FCoV в организме позволило обнаружить вирусную РНК в ободочной кишке, крови правого и левого желудочков сердца, лимфатическом узле средостения, воротной вене, транссудате грудной полости, тимусе и легком.

Вирус не выявили в других отделах желудочно-кишечного тракта и лимфатических узлах, хоанах, головном мозге, печени и почках, либо его концентрация была ниже порога детектирования.

Наибольшее количество FCoV обнаружено в ободочной кишке, в легком вируса было в 3,02 раза меньше, а в тимусе концентрация возбудителя была в 1,46 раза меньше, чем в легком. В крови левого желудочка сердца вирусной РНК было больше, чем правого, в 2,8 раза, в воротной вене – в 5,7 раза меньше, чем в крови правого желудочка (рис. 4).

Сопоставление распределения антигена SARS-CoV-2 в легких человека и внутренних органах кошки при сочетанной инфекции COVID-19 + FIP.

Как показали результаты исследований некоторых авторов, из гистологической картины, наблюдаемой при поражении легких человека вирусом SARS-CoV-2, следует, что вирусный антиген (фрагмент S-белка между сайтами протеолитического расщепления фурином и TMPRSS2), помимо пораженных клеток респираторного эпителия и макрофагов, выявляется на эритроцитах [13]. Фрагмент спайкового белка коронавируса вовсе не обязательно ассоциирован с вирусными частицами. Тем не менее, в контексте иммуноопосредованного поражения легких, наличие данного антигена может иметь патогенетическое значение.

Представляет интерес тот факт, что не все эритроциты в составе легочной ткани окрашиваются антителами



Рис. 1. Воспалительные изменения в тимусе, отек легких, гидроторакс
Fig. 1. Lesions in the thymus, pulmonary edema, hydrothorax

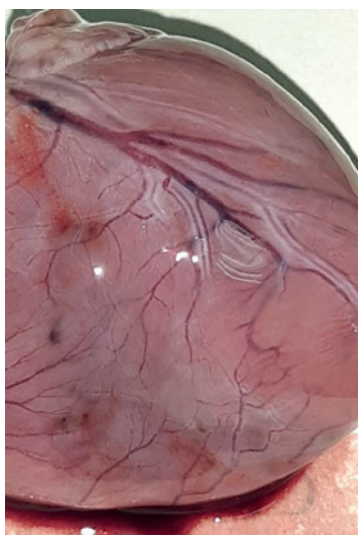


Рис. 2. Правосторонний миокардит, миогенная дилатация и кровоизлияния с участками очаговой гиперемии и ишемии
Fig. 2. Right-sided myocarditis, myogenic dilatation and hemorrhages with areas of focal hyperemia and ischemia



Рис. 3. Воспаление мезентериальных лимфатических узлов
Fig. 3. Inflammation of mesenteric lymph nodes

к SARS-CoV-2 (при люминесцентной микроскопии они интенсивно-черные) [14]. Также реакция иммунного окрашивания отсутствовала в препаратах без первичных антител, что снижает вероятность артефакта (но не исключает окончательно).

У кошки, ПЦР-положительной на наличие геномной РНК SARS-CoV-2, в легких также визуализируется наличие антигена S-белка SARS-CoV-2 (рис. 5), однако преимущественно на апикальной поверхности клеток респираторного эпителия, но не в составе интерстиция или кровеносных сосудов. Утолщение межальвеолярных перегородок и признаки кариолизиса, в т. ч. и при отсутствии локализации данного антигена, не позволяют предположить топологической взаимосвязи между локализацией антигена и патологического процесса (см. также результаты ОТ-ПЦР на FCoV, отраженные на рисунке 4).

Несмотря на то что FCoV в кишечнике, согласно данным ПЦР, представлен в достаточно большом количестве, родственный ему вирус SARS-CoV-2 в кишечнике обнаружен не был ни методом ПЦР, ни методом иммунофлуоресцентного анализа (рис. 6). Отсутствие сигнала позволяет исключить и неспецифическое связывание флуоресцентно-меченных антител с эритроцитами.

В селезенке наблюдается наибольшее количество S-антигена SARS-CoV-2, но преимущественно в составе эритроцитов в просветах кровеносных сосудов, красной пульпе и макрофагах. В лимфоидных узелках селезенки антиген не выявлялся (рис. 7).

Наибольший интерес представляют данные иммунофлуоресцентного анализа печени. Антиген S-белка SARS-CoV-2 распределен в капиллярах, располагающихся преимущественно перилобулярно (рис. 8). Также он обнаруживается в просветах печеночных артерий, но не ветвях воротной вены. Эти данные согласуются с результатами по выявлению анализируемого белка вируса в легких, а не кишечника. Неравномерность микроциркуляции крови из печеночной артерии и воротной вены позволяет предполагать формирование

центрлобулярной гипоксии за счет иммуноопосредованной агрегации эритроцитов (попавших в печень из легких) или вазоконстрикции, вызванной взаимодействием S-белка с ACE2 рецепторами кровеносных сосудов.

Анализ распределения вирусной РНК в кровеносных сосудах позволяет рассуждать о возможности как гематогенного, так и лимфогенного транспорта коронавируса из кишечника в малый круг кровообращения легких (рис. 4). Неравное количество вирусной РНК в воротной вене, печени и правом желудочке сердца создает только две возможности резкого увеличения концентрации вируса в правом желудочке: 1) в печени может образовываться много вирусных частиц (несмотря на то что методом ОТ-ПЦР не обнаружили вирусную РНК), 2) значительная часть вирусных частиц попадает лимфогенными путями или из кишечника, или из мезентериальных лимфатических узлов (методом ПЦР

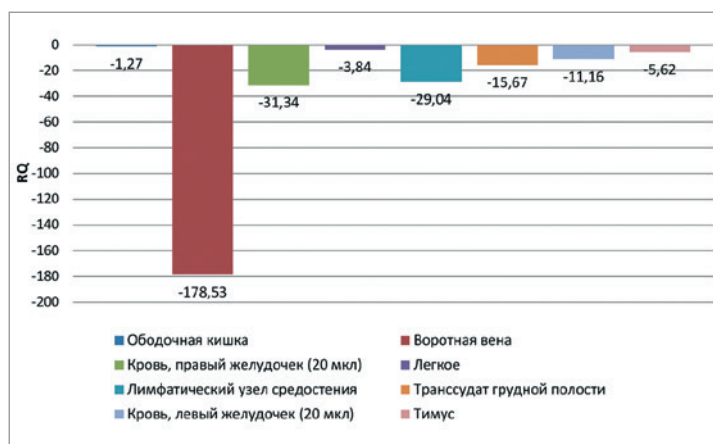


Рис. 4. Относительное количество геномной РНК FCoV (ddCt) в различных органах котенка

Fig. 4. Relative quantity of FCoV genomic RNA (ddCt) in different organs of a kitten

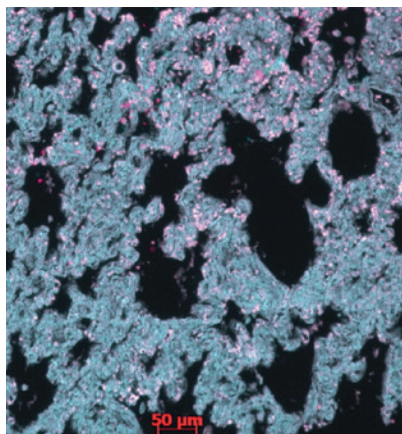


Рис. 5. Распределение антигена SARS-CoV-2 в ткани легких кошки (иммунофлуоресценция, окраска Hoechst 33258 антитела к S-белку SARS-CoV-2 и конъюгат с меткой AlexaFluor 555, увеличение 150x)

Fig. 5. SARS-CoV-2 antigen distribution in feline lung tissue (immunofluorescence, Hoechst 33258 staining of anti-SARS-CoV-2 S protein antibody and AlexaFluor 555-labeled conjugate, 150x magnification)

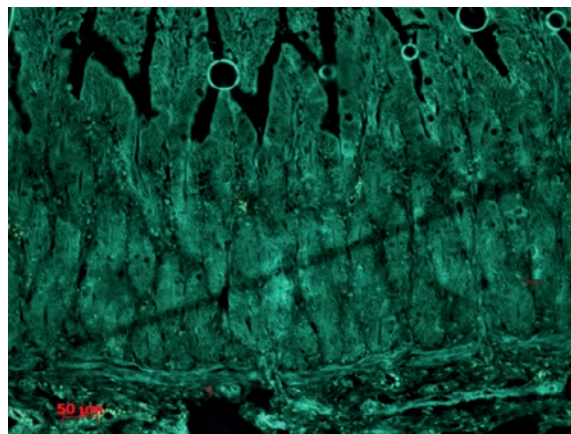


Рис. 6. Распределение антигена SARS-CoV-2 в ткани тощей кишки кошки (иммунофлуоресценция, окраска Hoechst 33258 антитела к S-белку SARS-CoV-2 и конъюгат с меткой AlexaFluor 555, увеличение 150x)

Fig. 6. Distribution of SARS-CoV-2 antigen in feline jejunal tissue (immunofluorescence, Hoechst 33258 staining of anti-SARS-CoV-2 S protein antibody and AlexaFluor 555-labeled conjugate, 150x magnification)

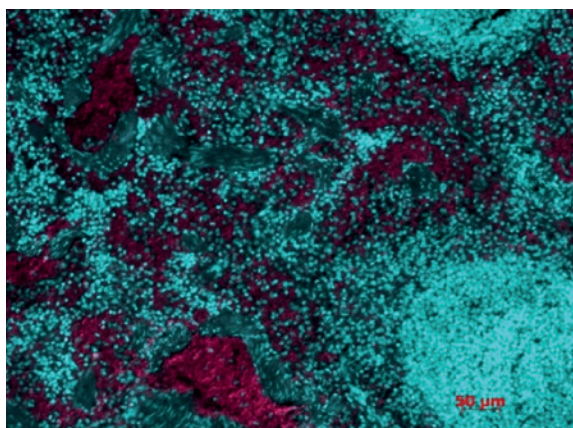


Рис. 7. Распределение антигена SARS-CoV-2 в селезенке (иммунофлуоресценция, окраска Hoechst 33258 антитела к S-белку SARS-CoV-2 и конъюгат с меткой AlexaFluor 555, увеличение 150x)

Fig. 7. Distribution of SARS-CoV-2 antigen in feline spleen (immunofluorescence, Hoechst 33258 staining of anti-SARS-CoV-2 S protein antibody and AlexaFluor 555-labeled conjugate, 150x magnification)

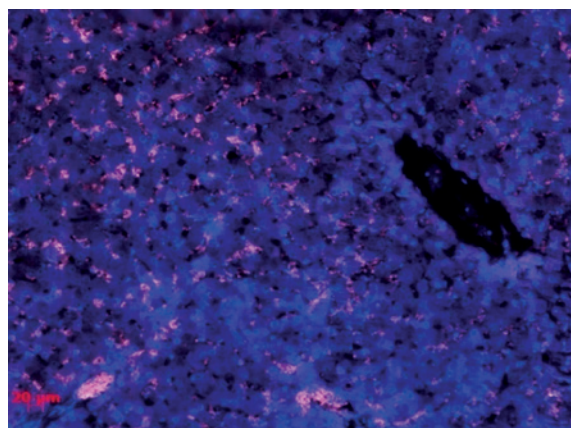


Рис. 8. Распределение антигена SARS-CoV-2 в печени (иммунофлуоресценция, окраска Hoechst 33258 антитела к S-белку SARS-CoV-2 и конъюгат с меткой AlexaFluor 555, увеличение 150x)

Fig. 8. Distribution of SARS-CoV-2 antigen in liver (immunofluorescence, Hoechst 33258 staining of anti-SARS-CoV-2 S protein antibody and AlexaFluor 555-labeled conjugate, 150x magnification)

тем не менее вирусная РНК обнаружена не была). Следует отметить неравномерный характер воспалительных процессов в мезентериальных лимфатических узлах.

Ассиметричное распространение повреждений миокарда (правосторонний миокардит и миогенная дилатация, рис. 2) позволяет предполагать более долгосрочный характер попадания вирусного агента из большого круга кровообращения в легкие, а не из верхних дыхательных путей, где вирус не обнаружен. Несмотря на повреждения коронавирусом легких до состояния, несовместимого с жизнью, ОТ-ПЦР оказался недостаточно чувствительным методом для выявления вируса в носу. Этот факт позволяет усомниться в высокой эффективности ПЦР-диагностики коронавирусных пневмоний, в т. ч. и у людей, при попытке детекции вируса в носовых ходах или ротовой полости.

На основе вышеизложенных предположений вытекают различные прогнозы. Вирус должен длительное время выделяться из кишечника (и этот прогноз реализовался), в т. ч. у людей, имеющих антитела. Инкубационный период при таком типе размножения и распределения вирусов может быть достаточно длительным и/или сопровождаться бессимптомным носительством (было бы сложно представить длительное бессимптомное носительство вируса в бронхах и трахее).

Такая гипотеза объясняет и то, что признаки поражения кишечника являются одним из наиболее ранних при COVID-19. Резкий всплеск концентрации возбудителя в легких возможен при распознавании вируса в кишечнике клетками иммунной системы, развитии воспаления кишечника, возросшей перфузии кишечника кровью и, соответственно, массивном попа-

дании вирусов и активированных Т-клеток, нейтрофилов из каудальной полой вены в правое предсердие и желудочек (что должно приводить преимущественно к правостороннему поражению сердца).

Чтобы РНК SARS-CoV-2 упаковалась в капсид другого вируса, она должна специфически связаться с белком нуклеокапсида N. Видимо, в этом процессе может участвовать белок M [15]. То есть со всеми видами коронавирусов этот процесс пройти не может. Однако представляется возможным сравнить вторичные структуры РНК разных коронавирусов и аминокислотные последовательности N (лучше третичные) и спрогнозировать риски межвидового перехода методами биоинформатики. Если учесть сходство FCoV и SARS-CoV-2, то формирование комплекса вирусной РНК представителей рода *Betacoronavirus* с белком нуклеокапсида генома вируса инфекционного бронхита (IBV) маловероятно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе работы, позволили уточнить ряд эпизоотологических особенностей болезни, подтвердить и дополнить имеющиеся данные о клинической картине у животных, инфицированных FCoV и SARS-CoV-2, а также изучить патолого-анатомическую картину и гистологические изменения при этой патологии.

В исследовании были доказаны механизмы распределения коронавирусов и их передача из органов, в которых происходит наибольшая репликация вируса (тимус и кишечник), в легкие, где идет накопление попавших гематогенным путем вирусных частиц уже в меньшем объеме относительно других органов-мишеней. Признаки поражения кишечника являются одним из наиболее ранних при COVID-19 [16]. Резкий всплеск концентрации вируса в легких возможен при распознавании вируса в кишечнике клетками иммунной системы, развитии воспаления кишечника, возросшей перфузии кишечника кровью и, соответственно, массивном попадании вирусов, активированных Т-клеток и нейтрофилов из каудальной полой вены в правое предсердие и желудочек (что должно приводить преимущественно к правостороннему поражению сердца).

В контексте анализируемой модели описанный клинический случай допускает принципиальную возможность обострения хронической коронавирусной инфекции при повторном заражении (суперинфекции) с развитием преимущественно локальной инфекции. Также в новом свете представляются эритроциты. Неравномерность популяции эритроцитов в отношении наличия антигена S-белка дает основание рассматривать их в качестве ложных мишеней при взаимодействии с вирусом или в качестве носителей адсорбированных антигенов вируса. Выявленные факты требуют дополнительных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куприянов И. И. Циркуляция SARS-CoV-2 и проявление COVID-19 у кошки домашней (*Felis catus*). *Животноводство и ветеринарная медицина*. 2022; 2 (45): 59–65. eLIBRARY ID: 49056737.
2. Jaimes J. A., Millet J. K., Stout A. E., André N. M., Whittaker G. R. A tale of two viruses: the distinct spike glycoproteins of feline coronaviruses. *Viruses*. 2020; 12 (1):83. DOI: 10.3390/v12010083.
3. Куликов Е. В., Ватников Ю. А., Сахно Н. В., Попова И. А., Гнездилова Л. А., Кузнецов В. И., Стрижаков А. А. Патологоанатомическая харак-

теристика вирусного перитонита кошек. *RJOAS*. 2017; 4 (64): 270–280. DOI: 10.18551/rjoas.2017-04.34.

4. Chang H. W., Egberink H. F., Halpin R., Spiro D. J., Rottier P. J. Spike protein fusion peptide and feline coronavirus virulence. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18 (7): 1089–1095. DOI: 10.3201/eid1807.120143.

5. Jaimes J. A., Whittaker G. R. Feline coronavirus: Insights into viral pathogenesis based on the spike protein structure and function. *Virology*. 2018; 517: 108–121. DOI: 10.1016/j.virol.2017.12.027.

6. Хайтович А. Б. Коронавирусы (структура генома, репликация). *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020; 10 (4): 78–95. DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-4-78-95.

7. Myrrha L. W., Silva F. M., Peternelli E. F., Junior A. S., Resende M., de Almeida M. R. The paradox of feline coronavirus pathogenesis: a review. *Adv. Virol.* 2011; 2011:109849. DOI: 10.1155/2011/109849.

8. Giordano A., Spagnolo V., Colombo A., Paltrinieri S. Changes in some acute phase protein and immunoglobulin concentrations in cats affected by feline infectious peritonitis or exposed to feline coronavirus infection. *Vet. J.* 2004; 167 (1): 38–44. DOI: 10.1016/s1090-0233(03)00055-8.

9. Zhang Q., Zhang H., Huang K., Yang Y., Hui X., Gao J., et al. SARS-CoV-2 neutralizing serum antibodies in cats: a serological investigation. *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.01.021196.

10. Halfmann P. J., Hatta M., Chiba S., Maemura T., Fan S., Takeda M., et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383 (6): 592–594. DOI: 10.1056/NEJMc2013400.

11. Барсегян Л. С., Сухарев О. И., Куликов Е. В. Инфекционный вирусный перитонит кошек (обзор литературы). *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2015; 1 (25): 16–23. eLIBRARY ID: 23118810.

12. Терехова Ю. О., Цибезов В. В., Рахманина Н. А., Верховский О. А. Метод иммуноблоттинга для выявления антител к коронавирусу при диагностике инфекционного перитонита кошек. *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные*. 2012; 4: 26–28. eLIBRARY ID: 17863566.

13. Massoth L. R., Desai N., Szabolcs A., Harris C. K., Neyaz A., Crotty R., et al. Comparison of RNA *in situ* hybridization and immunohistochemistry techniques for the detection and localization of SARS-CoV-2 in human tissues. *Am. J. Surg. Pathol.* 2021; 45 (1): 14–24. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001563.

14. Бурячковская Л. И., Мелькумянц А. М., Ломакин Н. В., Антонова О. А., Ермишкин В. В. Повреждение сосудистого эндотелия и эритроцитов у больных COVID-19. *Consilium Medicum*. 2021; 23 (6): 469–476. DOI: 10.26442/20751753.2021.6.200939.

15. Jackwood M. W., Hall D., Handel A. Molecular evolution and emergence of avian gammacoronaviruses. *Infect. Genet. Evol.* 2012; 12 (6): 1305–1311. DOI: 10.1016/j.meegid.2012.05.003.

16. Сарсенбаева А. С., Лазебник Л. Б. Особенности поражения кишечника при COVID-19. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2020; 184 (12): 16–22. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-184-12-16-22.

REFERENCES

1. Kupriyanov I. I. Circulation of SARS-CoV-2 and manifestation of COVID-19 in house cat (*Felis catus*). *Animal Agriculture and Veterinary Medicine*. 2022; 2 (45): 59–65. eLIBRARY ID: 49056737. (in Russ.)
2. Jaimes J. A., Millet J. K., Stout A. E., André N. M., Whittaker G. R. A tale of two viruses: the distinct spike glycoproteins of feline coronaviruses. *Viruses*. 2020; 12 (1):83. DOI: 10.3390/v12010083.
3. Kulikov E. V., Vatinikov Y. A., Sakhno N. V., Popova I. A., Gnezdilova L. A., Kuznetsov V. I., Strizhakov A. A. Pathologicoanatomical characteristics of feline infectious peritonitis. *RJOAS*. 2017; 4 (64): 270–280. DOI: 10.18551/rjoas.2017-04.34. (in Russ.)
4. Chang H. W., Egberink H. F., Halpin R., Spiro D. J., Rottier P. J. Spike protein fusion peptide and feline coronavirus virulence. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18 (7): 1089–1095. DOI: 10.3201/eid1807.120143.
5. Jaimes J. A., Whittaker G. R. Feline coronavirus: Insights into viral pathogenesis based on the spike protein structure and function. *Virology*. 2018; 517: 108–121. DOI: 10.1016/j.virol.2017.12.027.
6. Khaitovich A. B. Coronavirus (genome structure, replication). *Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2020; 4 (10): 78–95. DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-4-78-95. (in Russ.)
7. Myrrha L. W., Silva F. M., Peternelli E. F., Junior A. S., Resende M., de Almeida M. R. The paradox of feline coronavirus pathogenesis: a review. *Adv. Virol.* 2011; 2011:109849. DOI: 10.1155/2011/109849.
8. Giordano A., Spagnolo V., Colombo A., Paltrinieri S. Changes in some acute phase protein and immunoglobulin concentrations in cats affected by feline infectious peritonitis or exposed to feline coronavirus infection. *Vet. J.* 2004; 167 (1): 38–44. DOI: 10.1016/s1090-0233(03)00055-8.
9. Zhang Q., Zhang H., Huang K., Yang Y., Hui X., Gao J., et al. SARS-CoV-2 neutralizing serum antibodies in cats: a serological investigation. *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.01.021196.

10. Halfmann P. J., Hatta M., Chiba S., Maemura T., Fan S., Takeda M., et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383 (6): 592–594. DOI: 10.1056/NEJMc2013400.

11. Barsegyan L. S., Sukharev O. I., Kulikov Ye. V. Feline infectious peritonitis virus infection (literature review). *Actual Questions of Veterinary Biology.* 2015; 1 (25): 16–23. eLIBRARY ID: 23118810. (in Russ.)

12. Terekhova Yu. O., Tsibezov V. V., Rakhmanina N. A., Verkhovsky O. A. Immunoblotting assay for detection of coronaviruses antibodies for feline infectious peritonitis (FIP) diagnosis. *Russian Veterinary Journal. Small Pets and Wild Animals.* 2012; 4: 26–28. eLIBRARY ID: 17863566. (in Russ.)

13. Massoth L. R., Desai N., Szabolcs A., Harris C. K., Neyaz A., Crotty R., et al. Comparison of RNA *in situ* hybridization and immunohistochemistry techniques for the detection and localization of SARS-CoV-2 in human tissues. *Am. J. Surg. Pathol.* 2021; 45 (1): 14–24. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001563.

14. Buryachkovskaya L. I., Melkumyants A. M., Lomakin N. V., Antonova O. A., Ermishkin V. V. Injury of vascular endothelium and erythrocytes in COVID-19 patients. *Consilium Medicum.* 2021; 23 (6): 469–476. DOI: 10.26442/20751753.2021.6.200939. (in Russ.)

15. Jackwood M. W., Hall D., Handel A. Molecular evolution and emergence of avian gammacoronaviruses. *Infect. Genet. Evol.* 2012; 12 (6): 1305–1311. DOI: 10.1016/j.meegid.2012.05.003.

16. Sarsenbaeva A. S., Lazebnik L. B. Features of intestinal damage in COVID-19. *Experimental and clinical gastroenterology.* 2020; 184 (12): 16–22. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-184-12-16-22. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 08.01.2023

Поступила после рецензирования / Revised 20.01.2023

Принята к публикации / Accepted 26.01.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Афонюшкин Василий Николаевич, кандидат биологических наук, заведующий сектором ФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия; сотрудник ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск, Россия; доцент кафедры эпизоотологии и микробиологии ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5177-4733>, e-mail: lisocim@mail.ru.

Сысоева Ольга Евгеньевна, студентка 4-го курса бакалавриата ветеринарно-санитарной экспертизы факультета ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6361-7214>, e-mail: olya.sysoeva@internet.ru.

Козлова Ольга Сергеевна, старший преподаватель кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы и паразитологии ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3191-7597>, e-mail: loi-2005@yandex.ru.

Шамовская Дарья Вадимовна, младший научный сотрудник ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2934-5451>, e-mail: shamovskaya@gmail.ru.

Vasily N. Afonyushkin, Candidate of Science (Biology), Head of Sector, SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia; Researcher of the ICBFM SB RAS, Novosibirsk, Russia; Associate Professor of the Department of Epizootology and Microbiology, FSSFEI HE Novosibirsk SAU, Novosibirsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5177-4733>, e-mail: lisocim@mail.ru.

Olga E. Sysoeva, 4th year Undergraduate Student of Veterinary and Sanitary Expert, Faculty of Veterinary Medicine, FSSFEI HE Novosibirsk SAU, Novosibirsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6361-7214>, e-mail: olya.sysoeva@internet.ru.

Olga S. Kozlova, Senior Lecturer, Department of Veterinary and Sanitary Examination and Parasitology, FSSFEI HE Novosibirsk SAU, Novosibirsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3191-7597>, e-mail: loi-2005@yandex.ru.

Daria V. Shamovskaya, Junior Researcher, ICBFM SB RAS, Novosibirsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2934-5451>, e-mail: shamovskaya@gmail.ru.