

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ АМИНОКИСЛОТНО-ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА ПРИ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ ЗОЛОТИСТЫМ ХОМЯКАМ, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ЗАРАЖЕННЫМ SARS-COV-2

Д. С. Лаптев¹✉, Г. А. Протасова¹, С. Г. Петунов¹, А. С. Радиллов¹, С. В. Чепур², А. С. Гоголевский², В. А. Мясников², М. А. Тюнин², А. В. Смирнова²¹ Научно-исследовательский институт гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства, Ленинградская область, Россия² Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины Министерства обороны, Санкт-Петербург, Россия

Распространение коронавирусной инфекции до масштабов мировой пандемии и отсутствие эффективных средств патогенетической терапии COVID-19 являются вызовом для всей фармакологической отрасли. Целью данной работы было оценить эффективность лечебно-профилактического применения аминокислотно-пептидного комплекса (АПК) на самцах сирийских хомяков, подвергнутых заражению SARS-CoV-2 интраназальным введением 26 мкл культуры вируса титром 4×10^4 ТЦД₅₀/мл. Лечебно-профилактическое применение АПК позволяет снизить поражение легких при моделировании COVID-19. Меньший, по сравнению с группой положительного контроля, на 15,2% (тенденция) весовой коэффициент легких свидетельствует о менее выраженном их отеке. Результаты микроскопического исследования показали отсутствие альвеолярного отека, атипичных гипертрофированных форм альвеолоцитов II типа, фибринизации легочной паренхимы. Отмечено усиление макрофагальной реакции, которое, вероятно, является отражением активации АПК регенераторных процессов в тканях легких. В селезенке животных, получавших АПК в лечебно-профилактических целях, выявлена меньшая степень гиперемии с участками кровоизлияний. Отсутствие статистически значимой ($p < 0,05$) отрицательной динамики массы тела при лечебно-профилактическом применении АПК отражает снижение общей тяжести течения заболевания COVID-19. Использование АПК по лечебной схеме после заражения SARS-CoV-2 оказалось неэффективным. Таким образом, применение препарата на основе АПК в качестве лечебно-профилактического средства вызывает снижение отека легких и уменьшение морфологических признаков повреждения легочной ткани у самцов сирийских хомяков, подвергнутых заражению SARS-CoV-2.

Ключевые слова: COVID-19, отек легких, атипичные пневмоциты, сирийские хомяки**Вклад авторов:** Д. С. Лаптев, Г. А. Протасова, В. А. Мясников, М. А. Тюнин, А. В. Смирнова — экспериментальная часть, сбор информации, обработка данных; С. Г. Петунов — обработка и интерпретация данных; А. С. Радиллов — научный замысел, консультирование; С. В. Чепур — организация экспериментальной части работы, разработка *in vivo* модели COVID-19; А. С. Гоголевский — организация экспериментальной части работы. Все авторы участвовали в подготовке и редактировании рукописи статьи.**Соблюдение этических стандартов:** исследование выполняли с соблюдением правил биоэтики, утвержденных Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей.✉ **Для корреспонденции:** Денис Сергеевич Лаптев
ст. Капитолово, корп. 93, г. п. Кузьмолловский, Всеволожский район, 188663; lapden@mail.ru**Статья получена:** 21.05.2021 **Статья принята к печати:** 06.06.2021 **Опубликована онлайн:** 16.06.2021**DOI:** 10.47183/mes.2021.011

EVALUATION OF EFFICACY OF THE AMINO ACID-PEPTIDE COMPLEX ADMINISTERED INTRAGASTRICALLY TO GOLDEN HAMSTERS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH SARS-COV-2

Laptev DS¹✉, Protasova GA¹, Petunov SG¹, Radilov AS¹, Chepur SV², Gogolevskiy AS², Myasnikov VA², Tyunin MA², Smirnova AV²¹ Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology under FMBA, Leningrad region, Russia² State Research and Testing Military Medicine Institute under the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

The development of coronavirus infection outbreak into a pandemic, coupled with the lack of effective COVID-19 therapies, is a challenge for the entire pharmaceutical industry. This study aimed to assess the treatment and preventive efficacy of the amino acid-peptide complex (APC) in male Syrian hamsters infected with SARS-CoV-2 (intranasal administration of 26 μ l of the virus culture, titer of 4×10^4 TCD₅₀/ml). In a modeled COVID-19 case, APC administered for treatment and preventive purposes reduced lung damage. Compared to the positive control group, test group had the lung weight factor 15.2% smaller (trend), which indicates a less pronounced edema. Microscopic examination revealed no alveolar edema, atypical hypertrophied forms of type II alveolocytes, pulmonary parenchyma fibrinization. The macrophage reaction intensified, which is probably a result of the APC-induced activation of regenerative processes in the lung tissues. Spleens of the animals that received APC for therapeutic and preventive purposes were less engorged and had fewer hemorrhages. The decrease of body weight of the test animals that received APC for treatment and prevention was insignificant ($p < 0.05$), which indicates a less severe course of COVID-19. Administered following a purely therapeutic protocol, APC proved ineffective against SARS-CoV-2 post-infection. Thus, APC-based drug used as a therapeutic and preventive agent reduces pulmonary edema and makes morphological signs of lung tissue damage less pronounced in male Syrian hamsters infected with SARS-CoV-2.

Keywords: COVID-19, pulmonary edema, atypical pneumocytes, Syrian hamsters**Author contribution:** Laptev DS, Protasova GA, Myasnikov VA, Tyunin MA, Smirnova AV — experiment, information collection, data processing; Petunov SG — data processing and interpretation; Radilov AS — scientific concept, consulting; Chepur SV — experiment organization, COVID-19 *in vivo* model development; Gogolevskiy AS — experiment organization. All authors participated in the manuscript authoring and editing.**Compliance with ethical standards:** the study was conducted in conformity to the provisions of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes.✉ **Correspondence should be addressed:** Denis S. Laptev
Kapitolovo, str. 93, r.p. Kuzmolovskiy, Vsevolozhskiy r., 188663; lapden@mail.ru**Received:** 21.05.2021 **Accepted:** 06.06.2021 **Published online:** 16.06.2021**DOI:** 10.47183/mes.2021.011

На рубеже 2019–2020 гг. коронавирус SARS-CoV-2, приводящий к развитию COVID-19, несмотря на все принимаемые карантинные меры, быстро распространился сначала в китайских провинциях, а затем и по всему миру. Уже к марту 2020 г. по данным Всемирной организации здравоохранения, коронавирусная инфекция достигла пандемических масштабов.

Согласно литературным данным, «входными воротами» инфекции, вызываемой SARS-CoV-2, являются клетки, экспрессирующие рецепторы ангиотензинпревращающего фермента 2 (АПФ2): эпителий респираторных путей, альвеолоциты, сосудистый эндотелий, эпителий желудочно-кишечного тракта, миокард и некоторые отделы ЦНС [1]. Вирус размножается в альвеолоцитах II типа, высвобождая большое количество вирусных частиц. Клетки подвергаются апоптозу, что в свою очередь нарушает процессы легочной вентиляции и перфузии, способствует накоплению жидкости в альвеолах и определяет развитие диффузного альвеолярного повреждения [2].

Результатом совместных исследований ученых многих стран стала успешная разработка вакцин от SARS-CoV-2 [3], что при проведении масштабной кампании по вакцинации населения позволит значительно снизить количество случаев тяжелого течения заболевания и летальных исходов. Однако на сегодняшний день остается острым вопрос разработки эффективных и безопасных фармакологических средств предотвращения развития угрожающих жизни человека клинических проявлений COVID-19 [4]. Идет активная разработка инновационных и экономически эффективных терапевтических средств, снижающих риск развития осложнений COVID-19 на основе моноклональных антител [5, 6], а также новых подходов к подавлению «цитокинового шторма» с применением опиоидных пептидов, ингибирующих экспрессию провоспалительных цитокинов иммунными клетками, через подавление транслокации активного димера ядерного фактора каппа В (NF-κB) [7].

Наиболее подходящей и доступной экспериментальной моделью доклинической оценки эффективности фармакологических препаратов в отношении респираторной дисфункции, развивающейся при COVID-19, являются сирийские хомяки [8]. Клинические особенности, вирусная кинетика, гистопатологические изменения и иммунные реакции у этих животных, инфицированных SARS-CoV-2, очень близки к описанным у пациентов с коронавирусной инфекцией [9]. Так, выраженные клинические признаки COVID-19 у животных наблюдали в течение первой недели после заражения вирусом. Учащенное дыхание и потерю массы тела сопровождали гистопатологические изменения от начальной экссудативной фазы диффузного повреждения альвеол с обширным апоптозом до более поздней пролиферативной фазы репарации тканей. Отмечена также атрофия селезенки, вероятно, связанная с выраженной активацией цитокинов [10].

Поскольку основными причинами летальных исходов при COVID-19 являются отек легких, пневмония и дыхательная недостаточность вследствие поражения вирусом альвеолярных клеток в респираторных отделах легкого, представляется целесообразным доклиническое изучение препарата на основе аминокислотно-пептидного комплекса (АПК), для которого в пилотном исследовании на модели изолированных легких крысы (*ex vivo*) показано противоотечное действие. Протекторный эффект выражался в меньшей (в 1,5 раза) скорости нарастания

массы изолированного органокомплекса легкие-сердце в опытной группе по сравнению с контролем ($p < 0,05$) в течение перфузии (90 мин), что отражает скорость и степень развития отека легких [11].

Таким образом, целью данной работы является проведение оценки эффективности лечебного и лечебно-профилактического применения экспериментального АПК в модели COVID-19, реализованной на самцах сирийских хомяков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение вируса SARS-CoV-2 проводили из клинического образца, полученного от больного пациента. Орофарингеальный мазок отбирали в 15-миллиметровую пробирку со средой DMEM (Lonza; Швейцария) без сыворотки и транспортировали в лабораторию. В тот же день образец фильтровали через шприцевой фильтр с диаметром пор 0,2 мкм. Выделение и накопление вируса производили на культуре клеток Vero (B) (БиолоТ; Россия) в среде EMEM с L-глутамином (БиолоТ; Россия) с 2%-м содержанием фетальной бычьей сыворотки (БиолоТ; Россия) и 1%-м содержанием антибиотика-антимикотика (Gibco; США). После каждого пассажа с помощью метода обратной транскрипции, совмещенной с полимеразной цепной реакцией в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ), определяли наличие искомого вируса и увеличение его титра по отношению к исходной пробе с использованием коммерческого набора «Detection Kit for 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) RNA (PCR-Fluorescence Probing)» (Университет Сун Ят-сен; Китай). В результате оценки нуклеотидной последовательности используемого вируса установлена его принадлежность к подклайду GR. Инфекционную активность SARS-CoV-2 определяли на культуре клеток Vero (B) в 96-луночных планшетах, тканевую цитопатическую дозу (ТЦД) вычисляли по методу Рида и Менча [12]. Для заражения животных использовали пятый пассаж вирусной культуры с титром 4×10^4 ТЦД₅₀/мл. Введение вируса осуществляли интраназально механическим дозатором типа эпэндорф по 13 мкл в каждую ноздрю с контролем вдоха.

Исследования проводили на аутбредных самцах золотистых сирийских хомяков *Mesocricetus auratus* в возрасте 4–6 недель (масса тела 80–100 г), полученных из питомника ЗАО «НПО «Дом фармации» (Санкт-Петербург). Животных содержали в условиях, согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. об охране животных, используемых в научных целях [13]. В помещениях контролировали параметры микроклимата (температуру, влажность, кратность воздухообмена), а также качество кормов и подстилочного материала. Животные получали стандартную диету, представленную в виде гранулированного корма. Режим освещения — 12 ч день / 12 ч ночь.

После рандомизации по массе тела животных распределили на четыре подопытные группы по 10 самцов в каждой.

Группа № 1: ежедневное внутривенное (в/ж) введение АПК в дозе 75 мг/кг в течение 7 дней — отрицательный контроль.

Группа № 2: однократное заражение животных SARS-CoV-2 — положительный контроль.

Группа № 3: введение в/ж АПК в дозе 75 мг/кг в течение 14 дней. На восьмой день эксперимента —

заражение животных культурой SARS-CoV-2 — *лечебно-профилактическая схема*.

Группа № 4: однократное заражение хомяков SARS-CoV-2 с последующим введением АПК курсом в течение 7 дней — *лечебная схема*.

После введения SARS-CoV-2 животных наблюдали два раза в день на наличие признаков заболевания COVID-19 (взъерошенный мех, сгорбленная поза, затрудненное дыхание, анорексия, вялость) [14]. Массу тела регистрировали один раз в день в течение периода исследования.

На восьмой день после заражения SARS-CoV-2 всех животных подвергали эвтаназии путем передозировки общего анестетика (раствор «Ксила» 20,0 мг/мл и раствор «Золетил 100» 50,0 мг/мл, в соотношении 1 : 1, в объеме 1,0 мл на 1,0 кг массы тела, внутримышечно), после чего был осуществлен забор внутренних органов (легкие, сердце, селезенка) для оценки их массовых коэффициентов (отношение массы органа (мг) к общей массе (г)) и последующего патоморфологического анализа.

Внутренние органы фиксировали в формалине (10%), проводку органов осуществляли в гистологическом процессоре замкнутого цикла Tissue-Tek VIP (Sakura; Япония), заливку внутренних органов в парафин проводили на станции парафиновой заливки Tissue-Tek TEC (Sakura; Япония). Фиксированные срезы толщиной 5 мкм были изготовлены на ротационном микротоме Accu-Cut SRM 200 (Sakura; Япония). Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином на соединительную ткань по Ван Гизону, на фибрин по Вейгерту, а также использовали гистохимический метод выявления нуклеиновых кислот (метиловым зеленым — пиронином) по методу Браше. Приготовленные гистологические срезы анализировали с помощью микроскопа Axioskop 40 (Carl Zeiss; Германия) с цветной цифровой фотокамерой ProgRes CFscan (Carl Zeiss; Германия), оснащенной программным обеспечением для видеодокументирования полученных результатов.

Статистическую обработку проводили в программе «GraphPad Prism 5.04» (GraphPad Software; США). Для сравнения результатов при нормальном распределении данных использовали *t*-критерий Стьюдента для связанных выборок. При распределении данных, отличных

от нормального, применяли критерий Уилкоксона для связанных выборок. Для оценки межгрупповых различий применяли *U*-критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате проведенного исследования установлено, что животные, подвергнутые заражению SARS-CoV-2, статистически значимо теряют массу тела в экспериментальных группах № 2 и № 4 по сравнению с контрольной (табл. 1). При этом в группе животных № 3, получавших АПК по лечебно-профилактической схеме, статистически значимой потери массы тела не выявлено.

Во всех экспериментальных группах животных показано статистически значимое увеличение массового коэффициента легких по сравнению с отрицательным контролем (АПК), однако в группе № 3 (лечебно-профилактическая схема) это увеличение было наименее выраженным (табл. 2). Кроме того, в группе животных № 3 отмечено статистически значимое снижение массового коэффициента селезенки.

При патоморфологическом анализе легких у животных группы № 1 (у трех из пяти животных) выявлены немногочисленные участки альвеолярных кровоизлияний и ателектазов. Помимо этого, были отмечены периваскулярные инфильтраты преимущественно лимфоцитарного состава. Выявленные изменения расценивали как спонтанную патологию, вызванную проведением эвтаназии.

При микроскопическом исследовании паренхимы легких у всех подопытных животных группы № 2 наблюдали диффузное альвеолярное поражение, проявляющееся интраальвеолярным отеком с примесью эритроцитов, макрофагов, слущенных поврежденных альвеоцитов, лимфоцитов (рис. 1А) и альвеолярными кровоизлияниями. Сосудистые повреждения характеризовались тромбозами, периваскулярными отеками и полиморфноклеточными инфильтратами, плазматизацией межальвеолярных перегородок и стенок мелких сосудов (рис. 1Б). Выявлены также гиперплазия и гипертрофия альвеоцитов II типа, пневмоциты имели атипичную неправильную форму с увеличенными ядрами и ядрышками (рис. 2А). Для более четкой визуализации атипичных форм альвеоцитов

Таблица 1. Масса тела сирийских хомяков, подвергнутых заражению SARS-CoV-2; представлены абсолютные и относительные данные в виде $M \pm SE$ ($n = 10$)

№ группы животных	Схема эксперимента	Фон, г	На 7-е сутки после заражения, г	Соотношение массы и фона на 7-е сутки после заражения, %
1	АПК	105,1 ± 3,5	101,3 ± 3,9	96,3 ± 1,0
2	SARS-CoV-2	105,4 ± 2,6	95,0 ± 2,7 [#]	90,1 ± 1,1 [*]
3	SARS-CoV-2 + АПК по лечебно-профилактической схеме	106,1 ± 2,9	98,6 ± 2,6	93,0 ± 1,4
4	SARS-CoV-2 + АПК по лечебной схеме	107,6 ± 4,6	96,6 ± 3,4	90,0 ± 1,3 [*]

Примечание: [#] — статистически значимое отличие от фона; ^{*} — статистически значимое отличие от группы животных № 1.

Таблица 2. Массовые коэффициенты внутренних органов сирийских хомяков, подвергнутых заражению SARS-CoV-2 ($M \pm SE$; $n = 10$)

№ группы животных	Схема эксперимента	Массовый коэффициент легких	Массовый коэффициент селезенки
1	АПК	6,6 ± 0,1	1,6 ± 0,1
2	SARS-CoV-2	10,5 ± 0,6 [*]	1,7 ± 0,1
3	SARS-CoV-2 + АПК по лечебно-профилактической схеме	8,9 ± 0,6 [*]	1,4 ± 0,1 [#]
4	SARS-CoV-2 + АПК по лечебной схеме	9,5 ± 0,5 [*]	1,5 ± 0,2

Примечание: ^{*} — статистически значимое отличие от группы животных № 1; [#] — статистически значимое отличие от группы животных № 2.

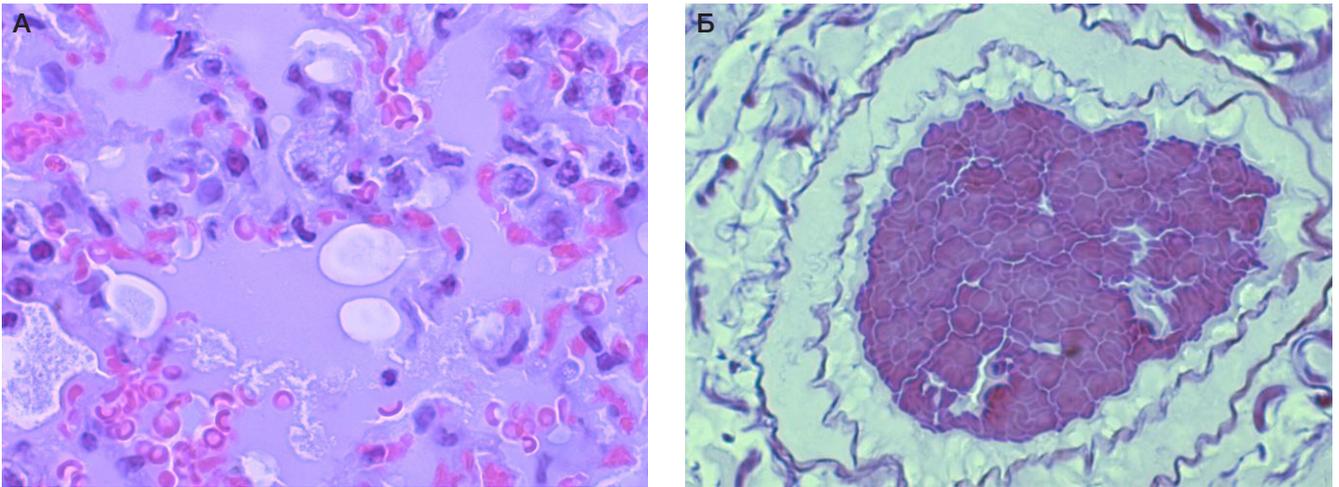


Рис. 1. Легкое. Группа № 2. **А.** Альвеолярный отек (окрашивание гематоксилином и эозином; ув. $\times 1000$). **Б.** Тромбоз (окрашивание на фибрин по Вейгерту; ув. $\times 650$)

проведено гистохимическое окрашивание нуклеиновых кислот по методу Браше (рис. 2Б).

У двух подопытных животных второй группы в легких были отмечены очаги пролиферации фибробластов с разрастанием грануляционной ткани. Отложение фибрина в паренхиме легких, выявленного с использованием окраски на фибрин по Вейгерту, носило диффузный характер (рис. 3А–В).

Для патоморфологической картины легких в группе № 3 (лечебно-профилактическая схема) было характерно отсутствие у четырех из пяти животных альвеолярного отека легких. При микроскопии легких выявлены перибронхиальные и периваскулярные инфильтраты, участки микрокровоизлияний в паренхиме легких (у трех из пяти животных), кроме того, отмечены гиперплазия альвеолоцитов II типа и усиление макрофагальной реакции (рис. 4А, Б). Гипертрофию и атипию альвеолоцитов наблюдали лишь у одного из пяти животных. Анализ окрашенных гистологических препаратов легких на фибрин по методу Вейгерта у данной группы не выявил фибринизации паренхимы (рис. 3Г).

Патоморфологические изменения в легких у животных подопытной группы № 4 имели схожий характер с деструктивными изменениями паренхимы легких животных группы № 2.

При анализе гистологических препаратов сердца не было обнаружено каких-либо морфологических различий

между подопытными группами, за исключением двух животных — одного из группы № 1 (контрольной), у которого был выявлен перикардит, и животного из группы № 4, у которого были выявлены перикардит, миокардит, зона некроза и кровоизлияния.

При микроскопическом исследовании селезенки установлено, что фолликулярные структуры белой пульпы и реактивные центры не изменены, уровень митозов в пределах контроля. В красной пульпе селезенки было отмечено скопление клеток плазмоцитарного ряда, различной степени зрелости в той или иной степени выраженности в каждой из обследованных групп (у двух из пяти животных в группах № 1, 2 и 3, у трех из пяти животных в группе № 4). Плазматические клетки выявляли с помощью гистохимического окрашивания метиловым зеленым — пиронином по методу Браше. Помимо этого, наблюдали гиперемию с участками кровоизлияний у животных всех изучаемых групп, наиболее выраженные изменения отмечены в группах № 2 и 4.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Лечебно-профилактическое применение препарата на основе АПК в экспериментальной модели COVID-19, реализованной на сирийских хомяках, позволяет уменьшить тяжесть течения заболевания, что выражается в меньшем снижении массы тела животных, как

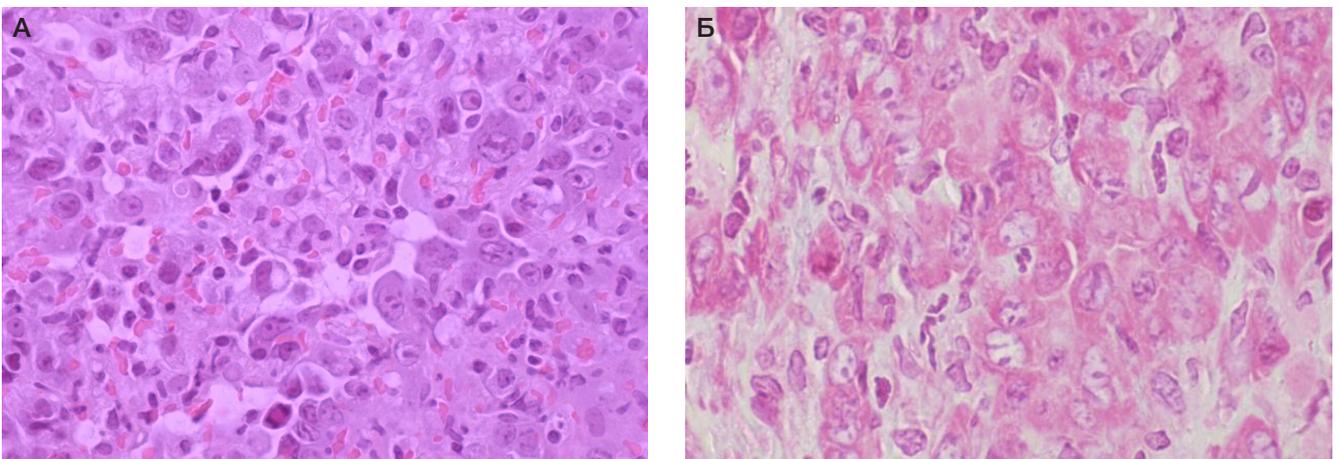


Рис. 2. Легкое. Группа № 2. **А.** Диффузное альвеолярное повреждение, гипертрофированные атипичные альвеолоциты II типа (окрашивание гематоксилином и эозином; ув. $\times 650$). **Б.** РНК цитоплазмы атипичных альвеолоцитов II типа окрашены в розово-красный цвет, гистохимический метод по Браше (окрашивание пиронином — метиловым зеленым; ув. $\times 1000$)

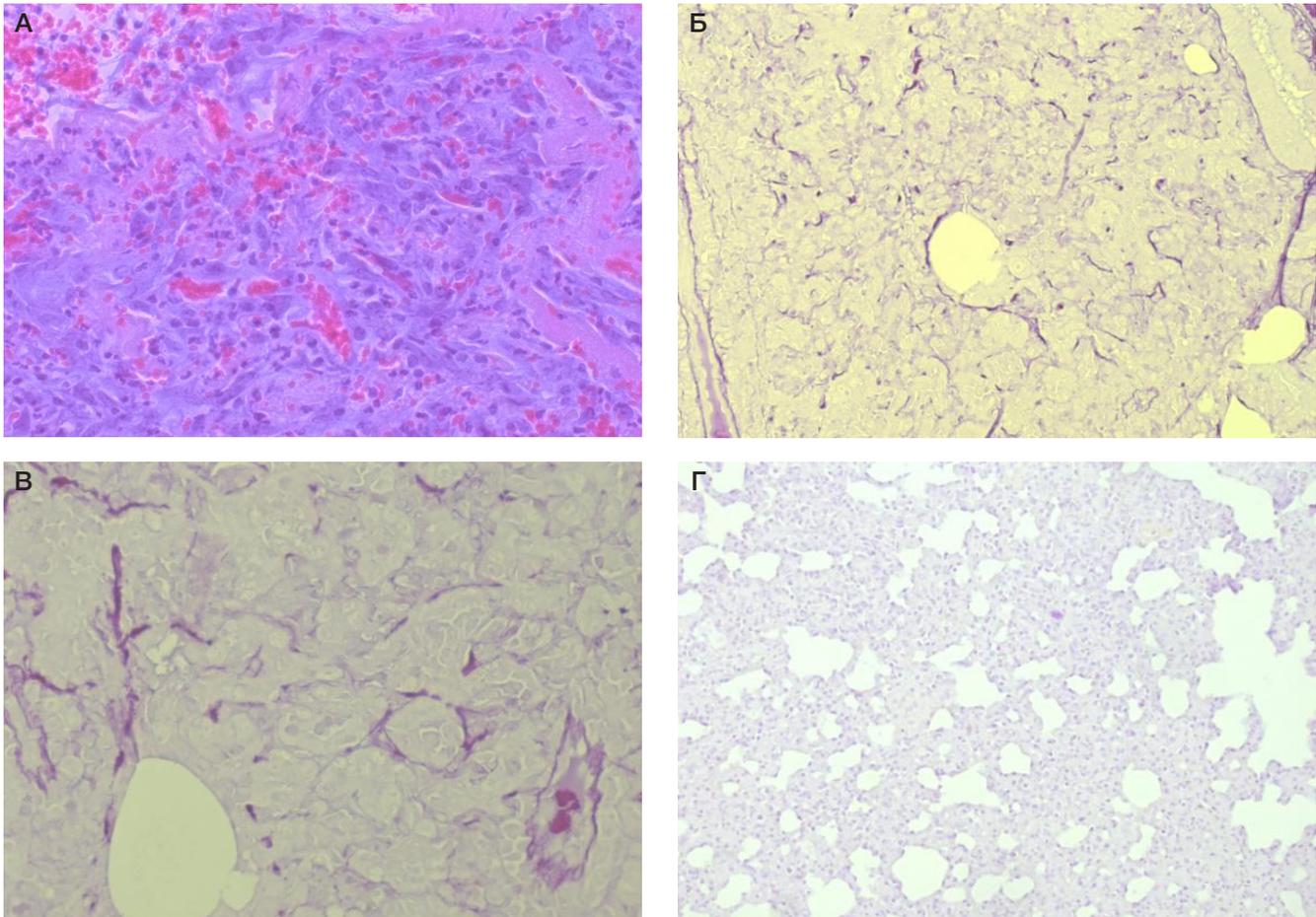


Рис. 3. Легкое. Группа № 2. **А.** Проплиферация фибробластов, очаговый фиброз, кровоизлияние (окрашивание гематоксилином и эозином; ув. $\times 400$). **Б.** Диффузное отложение фибрина в паренхиме (ув. $\times 200$). **В.** Отложения фибрина в паренхиме легких (ув. $\times 400$). **Г.** Группа № 3, отсутствие фибрина (окрашивание на фибрин по Вейгерту; ув. $\times 200$)

интегрального показателя, характеризующего общее состояние организма, подвергнутого заражению SARS-CoV-2. Тенденция к снижению массы тела хомяков в контрольной группе, получавших АПК, вероятно, связана с его стимулирующим влиянием на энергетический метаболизм и активацией катаболических процессов [15].

Снижение массового коэффициента легких свидетельствует об уменьшении выраженности отека и подтверждает ранее сделанное предположение о наличии у исследуемого препарата противоотечного действия, выявленного на модели изолированных легких [11]. Данный эффект АПК может быть опосредован ограничением проницаемости аэрогематического барьера в результате поддержания активными компонентами препарата энергетического метаболизма клеток, регуляции усвоения глюкозы путем непосредственной транслокации транспортеров семейства GLUT на плазматическую мембрану, что обуславливает перспективность его применения при митохондриальной дисфункции [15].

Патоморфологическое исследование легких показало, что однократное интраназальное введение подопытным животным раствора с SARS-CoV-2 в объеме 26 мкл (титр вируса 4×10^4 ТЦД₅₀/мл) приводило к заболеванию сирийских хомяков COVID-19 и проявлялось диффузным альвеолярным повреждением легких с поражением сосудов, соответствующим ранней экссудативной стадии заболевания [16].

В результате патоморфологического анализа определены основные критерии оценки гистологических препаратов

легких: наличие альвеолярного отека, внутриальвеолярных кровоизлияний, гиперплазии, гипертрофии и атипичии альвеолоцитов II типа, пролиферации фибробластов, сосудистых повреждений паренхимы легких (периваскулярные отеки, инфильтраты, тромбы и т. п.).

Проведенная сравнительная патоморфологическая оценка легких у животных, подвергнутых заражению SARS-CoV-2 и получавших АПК по лечебно-профилактической схеме (группа № 3), и подопытных животных группы № 2 (положительный контроль) выявила определенные различия в гистопатологических изменениях. Так, у животных группы № 3, получавших АПК в качестве лечебно-профилактического средства, не обнаружены альвеолярный отек, атипичные и гипертрофированные формы альвеолоцитов II типа, а также показано отсутствие фибринизации паренхимы легких. У всех животных данной группы было отмечено усиление макрофагальной реакции, что, скорее всего, можно расценить как активацию регенераторных процессов в легких.

При патоморфологическом анализе гистологических препаратов легких, сердца и селезенки подопытных животных, получавших АПК по лечебной схеме (группа животных № 4), отмечены отек легких, кровоизлияния, гипертрофия и атипичия альвеолоцитов, сосудистые повреждения. Характер выявленных деструктивных изменений в целом соответствовал таковому у животных группы № 2.

Использование АПК по лечебной схеме не оказало значимого влияния на течение инфекционного процесса.

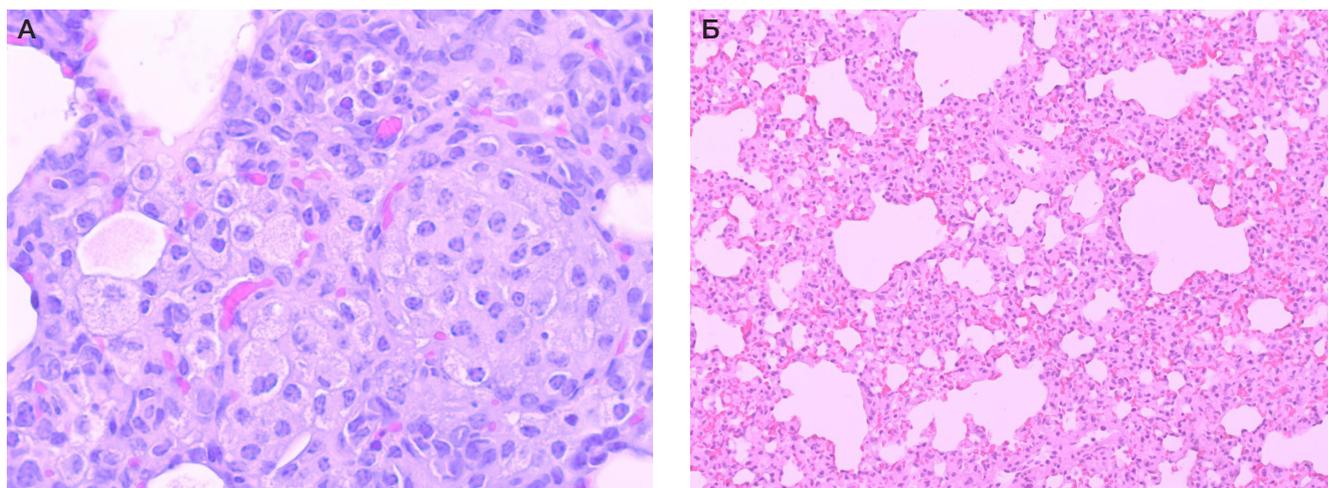


Рис. 4. Легкое. Группа № 3. **А.** Полиморфноклеточная инфильтрация, усиление макрофагальной реакции (ув. $\times 650$). **Б.** Отсутствие диффузного альвеолярного повреждения легких (окрашивание гематоксилином и эозином; ув. $\times 200$)

Установленный факт соответствует данным литературы о большей эффективности при COVID-19 профилактического применения некоторых фармакологических средств в сравнении с лечебным, что может быть связано с вирулентностью SARS-CoV-2, высокой скоростью репликации и быстрым развитием клинических проявлений заболевания [17, 18].

ВЫВОДЫ

Применение препарата на основе АПК в качестве лечебно-профилактического средства вызывает снижение выраженности отека легких и уменьшение морфологических признаков повреждений легочной ткани у самцов сирийских хомячков, подвергнутых заражению SARS-CoV-2.

Литература

- Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579: 270–73.
- Коган Е. А., Березовский Ю. С., Проценко Д. Д., Багдасарян Т. Р., Грецов Е. М., Демура С. А. и др. Патологическая анатомия инфекции, вызванной SARS-COV-2. *Судебная медицина*. 2020; 2: 8–30.
- Heinz FX, Stiasny K. Profiles of current COVID-19 vaccines. *Wien Klin Wochenschr*. 2021; 1–13. DOI: 10.1007/s00508-021-01835-w.
- DeFrancesco L. COVID-19 antibodies on trial. *Nat Biotechnol*. 2020; 38: 1242–52. DOI: 10.1038/s41587-021-00813-x.
- Brouwer JM, Caniels TG, Straten K, Snitselaar JL, Aldon Y, Bangaru S, et al. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science*. 2020; 369: 643–50.
- Tortorici A, Beltramo M, Lempp FA, Pinto D, Dang HV, Rosen LE. Ultrapotent human antibodies protect against SARS-CoV-2 challenge via multiple mechanisms. *Science*. 2020; 370: 950–7. DOI: 10.1126/science.abe3354.
- Каркищенко В. Н., Помыткин И. А., Скворцова В. И. Опиоидэргическая система иммунных клеток: новая фармакологическая мишень в терапии «цитокинового шторма». *Биомедицина*. 2020; 16 (4): 14–23.
- Sia SF, Yan LM, Chin AH, Fung K, Choy KT, Wong AL, et al. Pathogenesis and transmission of SARSCoV-2 in golden hamsters. *Nature*. 2020; 583 (7818): 834–8. DOI: 10.1038/s41586-020-2342-5.
- Imaia M, Iwatsuki-Horimoto K, Hattab M, Loeber S, Halfmann PJ. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *PNAS*. 2020; 117 (28): 16587–95. DOI: 10.1073/pnas.2009799117.
- Chan JF, Zhang AJ, Yuan S, Poon VK, Chan CC, Lee AC, et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clin Infect Dis*. 2020; 71 (9): 2428–46. DOI: 10.1093/cid/ciaa325.
- Лаптев Д. С., Петунов С. Г., Нечайкина О. В., Бобков Д. В., Радилов А. С. Использование экспериментальных моделей *ex vivo* для разработки средств патогенетической терапии и профилактики осложнений COVID-19. *Медицина экстремальных ситуаций*. 2020; 22 (4): 6–13. DOI: 10.47183/mes.2020.020.
- Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am J Hygiene*. 1938; 27: 493–7.
- Рыбакова А. В., Макарова М. Н. Санитарный контроль экспериментальных клиник (вивариев) в соответствии с локальными и международными требованиями. *Международный вестник ветеринарии*. 2015; 4: 81–89.
- Nambulli S, Xiang Y, Tilston-Lunel NL, Rennick LJ, Sang Z, Klimstra WB, et al. Inhalable Nanobody (PiN-21) prevents and treats SARS-CoV-2 infections in Syrian hamsters at ultra-low doses. *Sci Adv*. 2021; 7 (22): eabh0319. DOI: 10.1126/sciadv. abh0319.
- Barnes K, Ingram JC, Porras OH, Barros LF, Hudson ER, Fryer LG, et al. Activation of GLUT1 by metabolic and osmotic stress: potential involvement of AMP activated protein kinase. *J Cell Sci*. 2002; 115: 2433–42.
- Забозлаев Ф. Г., Кравченко Э. В., Галлямова А. Р., Летуновский Н. Н. Патологическая анатомия легких при новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Предварительный анализ аутопсийных исследований. *Клиническая практика*. 2020; 11 (2): 60–76.
- Baum BA, Ajithdoss D, Copin R, Zhou A, Lanza K, Negron N, et al. REGN-CoV2 antibodies prevent and treat SARS-CoV-2 infection in rhesus macaques and hamsters. *Science*. 2020; 370: 1110–5.
- Hartman AL, Nambulli S, McMillen CM, White AG, Tilston-Lunel NL, Albe JR, et al. SARS-CoV-2 infection of African green monkeys results in mild respiratory disease discernible by PET/CT imaging and shedding of infectious virus from both respiratory and gastrointestinal tracts. *PLoS Pathog*. 2020; 16 (9): e1008903. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008903.

References

- Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579: 270–73.
- Kogan EA, Berezovskij YuS, Procenko DD, Bagdasarjan TR, Grecov EM, Demura SA, i dr. Patologičeskaja anatomija infekcii, vyzvannoj SARS-COV-2. *Cudebnaja medicina*. 2020; 2: 8–30. Russian.
- Heinz FX, Stiasny K. Profiles of current COVID-19 vaccines. *Wien Klin Wochenschr*. 2021; 1–13. DOI: 10.1007/s00508-021-01835-w.
- DeFrancesco L. COVID-19 antibodies on trial. *Nat Biotechnol*. 2020; 38: 1242–52. DOI: 10.1038/s41587-021-00813-x.
- Brouwer JM, Caniels TG, Straten K, Snitselaar JL, Aldon Y, Bangaru S, et al. Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability. *Science*. 2020; 369: 643–50.
- Tortorici A, Beltramello M, Lempp FA, Pinto D, Dang HV, Rosen LE. Ultrapotent human antibodies protect against SARS-CoV-2 challenge via multiple mechanisms. *Science*. 2020; 370: 950–7. DOI: 10.1126/science.abe3354.
- Karkischenko VN, Pomytkin IA, Skvortsova VI. The Opioidergic System of Immune Cells: A New Pharmacological Target in the Therapy of "Cytokine Storm". *Journal Biomed*. 2020; 16 (4): 14–23. Russian.
- Sia SF, Yan LM, Chin AH, Fung K, Choy KT, Wong AL, et al. Pathogenesis and transmission of SARSCoV-2 in golden hamsters. *Nature*. 2020; 583 (7818): 834–8. DOI: 10.1038/s41586-020-2342-5.
- Imaia M, Iwatsuki-Horimoto K, Hattab M, Loeberc S, Halfmann PJ. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *PNAS*. 2020; 117 (28): 16587–95. DOI: 10.1073/pnas.2009799117.
- Chan JF, Zhang AJ, Yuan S, Poon VK, Chan CC, Lee AC, et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clin Infect Dis*. 2020; 71 (9): 2428–46. DOI: 10.1093/cid/ciaa325.
- Laptev DS, Petunov SG, Nechaykina OV, Bobkov DV, Radilov AS. Using experimental ex vivo models to develop COVID-19 pathogenetic therapy and complications prevention agents. *Extreme Medicine*. 2020; (4): 6–12. DOI: 10.47183/mes.2020.020. Russian.
- Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am J Hygiene*. 1938; 27: 493–7.
- Rybakova AV, Makarova MN. Sanitarnyj kontrol' jeksperimental'nyh klinik (vivariev) v sootvetstvii s lokal'nymi i mezhdunarodnymi trebovanijami. *Mezhdunarodnyj vestnik veterinarii*. 2015; 4: 81–89. Russian.
- Nambulli S, Xiang Y, Tilston-Lunel NL, Rennick LJ, Sang Z, Klimstra WB, et al. Inhalable Nanobody (PiN-21) prevents and treats SARS-CoV-2 infections in Syrian hamsters at ultra-low doses. *Sci Adv*. 2021; 7 (22): eabh0319. DOI: 10.1126/sciadv.abh0319.
- Barnes K, Ingram JC, Porras OH, Barros LF, Hudson ER, Fryer LG, et al. Activation of GLUT1 by metabolic and osmotic stress: potential involvement of AMP activated protein kinase. *J Cell Sci*. 2002; 115: 2433–42.
- Zabozlaev FG, Kravchenko YeV, Galljamova AR, Letunovskij NN. Patologičeskaja anatomija legkih pri novej koronavirusnoj infekcii (SOVID-19). *Predvaritel'nyj analiz autopsijnyh issledovanij. Kliničeskaja praktika*. 2020; 11 (2): 60–76. Russian.
- Baum BA, Ajithdoss D, Copin R, Zhou A, Lanza K, Negron N, et al. REGN-CoV2 antibodies prevent and treat SARS-CoV-2 infection in rhesus macaques and hamsters. *Science*. 2020; 370: 1110–5.
- Hartman AL, Nambulli S, McMillen CM, White AG, Tilston-Lunel NL, Albe JR, et al. SARS-CoV-2 infection of African green monkeys results in mild respiratory disease discernible by PET/CT imaging and shedding of infectious virus from both respiratory and gastrointestinal tracts. *PLoS Pathog*. 2020; 16 (9): e1008903. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008903.