

## НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-63>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

## Особенности патологии дыхательной системы у сирийских хомяков (*Mesocricetus auratus*) при инфекции вирусом SARS-CoV-2 (*Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus*)

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

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** На сегодняшний день в связи с необходимостью проведения доклинических исследований препаратов, предназначенных для профилактики и лечения новой коронавирусной инфекции COVID-19, важной задачей представляется верификация гистологических изменений дыхательной системы на экспериментальных моделях у лабораторных животных, в частности у сирийских (золотистых) хомяков (*Mesocricetus auratus*).

**Цель работы** – исследование патологических изменений лёгких применительно к биологической модели инфекции, вызываемой вирусом SARS-CoV-2 (*Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus; Sarbecovirus*), у сирийских хомяков.

**Материал и методы.** Самцов сирийских хомяков массой 80–100 г заражали путём интраназального введения культуры с содержанием возбудителя  $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл (ТЦД – тканевая цитопатическая доза). Эксперимент проводили на 3, 7 и 14 сут с регистрацией гравиметрических показателей. Содержание вируса в лёгких определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Гистологические препараты ткани правого лёгкого и трахеи окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Маллори.

**Результаты и обсуждение.** У инфицированных SARS-CoV-2 животных через 3 сут после заражения определяли максимальные значения репликативной активности вируса в лёгочной ткани. Спустя 7 сут на фоне снижения количественного содержания инфекционного агента в тканях лёгкого выявляли патологически значимое увеличение гравиметрических показателей органа. В период 3–14 сут после заражения в гистологической картине лёгких наблюдали развитие воспалительного процесса, характеризовавшегося последовательной сменой инфильтративно-пролиферативных, отёчно-макрофагальных и фибробластических изменений. Установлено, что начальные изменения эпителия дыхательных путей могут протекать без паранекротического интерстициального воспаления, тогда как при формировании множественного поражения лёгочной паренхимы повреждения эпителия бронхиол и ацинарных ходов могут иметь вторичный характер. В качестве патоморфологического признака, характерного для инфекции SARS-CoV-2 у данного вида, отмечено появление эпителиоидных крупноклеточных форм метаплазированного эпителия, формирующих псевдоацинарные структуры.

**Заключение.** В результате исследования описаны особенности патологии дыхательной системы у сирийских хомяков на экспериментальной модели инфекции SARS-CoV-2. Полученные данные имеют практическое значение как референтные и могут быть использованы при проведении доклинических исследований по оценке эффективности вакцинных препаратов и лекарственных средств.

**Ключевые слова:** SARS-CoV-2; гистологические изменения; дыхательная система; лёгкие; инфильтрация; макрофаги; метаплазия альвеолоцитов

**Для цитирования:** Чепур С.В., Алексеева И.И., Владимирова О.О., Мясников В.А., Тюнин М.А., Ильинский Н.С., Никишин А.С., Шевченко В.А., Смирнова А.В. Особенности патологии дыхательной системы у сирийских хомяков (*Mesocricetus auratus*) при инфекции вирусом SARS-CoV-2 (*Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus*). *Вопросы вирусологии*. 2021; 66(6): 442-451. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-63>

**Для корреспонденции:** Никишин Александр Сергеевич, научный сотрудник, ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации («ГНИИИ ВМ» МО РФ), 195043, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: [nikishin1664@gmail.com](mailto:nikishin1664@gmail.com)

**Участие авторов:** Чепур С.В. – концепция и дизайн исследования, написание текста статьи, редактирование; Мясников В.А. – концепция и дизайн исследования, написание текста статьи, редактирование; Алексеева И.И. – сбор и обработка материала, написание текста; Владимирова О.О. – сбор и обработка материала, написание текста статьи; Тюнин М.А. – концепция и дизайн исследования, статистическая обработка, написание текста статьи, редактирование; Ильинский Н.С. – сбор и обработка материала, написание текста статьи; Никишин А.С. – сбор и обработка материала, написание текста статьи, редактирование; Шевченко В.А. – сбор и обработка материала; Смирнова А.В. – сбор и обработка материала.

**Благодарности.** Авторы выражают искреннюю признательность Т.Н. Лавриковой за подготовку уникальных гистологических препаратов, и П.С. Баевой, принимавшей непосредственное участие в создании биологических моделей.

**Финансирование.** Исследование выполнено за счёт государственного бюджета.

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

**Этическое утверждение.** Исследования на животных выполнены по программе, одобренной Комиссией по этике и биоэтике ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ. Животных содержали в надлежащих условиях вивария (разрешение Главного государственного ветеринарного инспектора Санкт-Петербурга № 78-1102/19, сертификат ISO 9001:2015 № ST.RU.0001.M0017187, сертификат соответствия стандарту GLP № GLP-0727-1020). Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus author guidelines for animal use» (IAVES, 23 July 2010). Протокол исследования одобрен Комитетом по этике биомедицинских исследований ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ (протокол № 21 от 23.11.2020).

Поступила 01.10.2021  
Принята в печать 14.11.2021  
Опубликована 30.12.2021

ORIGINAL ARTICLE

DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-63>

## Specific features of the pathology of the respiratory system in SARS-CoV-2 (*Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus*) infected Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*)

Sergey V. Chepur, Irina I. Alekseeva, Olga O. Vladimirova, Vadim A. Myasnikov, Mikhail A. Tyunin, Nikita S. Ilinskii, Aleksandr S. Nikishin, Valentin A. Shevchenko, Anna V. Smirnova

FSBI «State Research Testing Institute of Military Medicine» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 195043, Saint Petersburg, Russia

**Introduction.** Verification of histological changes in respiratory system using Syrian (golden) hamsters (*Mesocricetus auratus*) as experimental model is an important task for preclinical studies of drugs intended for prevention and treatment of the novel coronavirus infection COVID-19.

The **aim** of this work was to study pathological changes of pulmonary tissue in SARS-CoV-2 (*Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus; Sarbecovirus*) experimental infection in Syrian hamsters.

**Material and methods.** Male Syrian hamsters weighting 80–100 g were infected by intranasal administration of culture SARS-CoV-2 at dose  $4 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml (TCID is tissue culture infectious dose). Animals were euthanized on 3, 7 and 14 days after infection, with gravimetric registration. The viral load in lungs was measured using the polymerase chain reaction (PCR). Right lung and trachea tissues were stained with hematoxylin-eosin and according to Mallory.

**Results and discussion.** The highest viral replicative activity in lungs was determined 3 days after the infection. After 7 days, on a background of the decrease of the viral load in lungs, a pathologically significant increase of the organ's gravimetric parameters was observed. Within 3 to 14 days post-infection, the lung histologic pattern had been showing the development of inflammation with a succession of infiltrative-proliferative, edematous-macrophagal and fibroblastic changes. It was found that initial changes in respiratory epithelium can proceed without paranecrotic interstitial inflammation, while in the formation of multiple lung parenchyma lesions, damage to the epithelium of bronchioles and acinar ducts can be secondary. The appearance of epithelioid large-cell metaplastic epithelium, forming pseudoacinar structures, was noted as a pathomorphological feature specific to SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters.

**Conclusion.** As a result of the study, the specific features of the pathology of the respiratory system in SARS-CoV-2 infected Syrian hamsters were described. These findings are of practical importance as reference data that can be used for preclinical studies to assess the effectiveness of vaccines and potential drugs.

**Key words:** SARS-CoV-2; histological changes; respiratory system; lungs; infiltration macrophages; alveolocyte metaplasia

**For citation:** Chepur S.V., Alekseeva I.I., Vladimirova O.O., Myasnikov V.A., Tyunin M.A., Ilinskii N.S., Nikishin A.S., Shevchenko V.A., Smirnova A.V. Specific features of the pathology of the respiratory system in SARS-CoV-2 (*Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus*) infected Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2021; 66(6): 442-451 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-63>

**For correspondence:** Aleksandr S. Nikishin, Researcher, FSBI «State Research Testing Institute of Military Medicine» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 195043, Saint Petersburg, Russia. E-mail: [nikishin1664@gmail.com](mailto:nikishin1664@gmail.com)

**Information about the authors:**

Chepur S.V., <https://orcid.org/0000-0002-5324-512X>  
Alekseeva I.I., <https://orcid.org/0000-0002-0924-9158>  
Vladimirova O.O., <https://orcid.org/0000-0002-8703-6799>  
Myasnikov V.A., <https://orcid.org/0000-0001-7232-4678>  
Tyunin M.A., <https://orcid.org/0000-0002-6974-5583>  
Ilinskii N.S., <https://orcid.org/0000-0001-7406-753X>  
Nikishin A.S., <https://orcid.org/0000-0003-1372-369X>  
Shevchenko V.A., <https://orcid.org/0000-0002-6984-2914>  
Smirnova A.V., <https://orcid.org/0000-0003-0483-5032>

**Contribution:** Chepur S.V. – research conception and design of the study, writing of the text, editing of the article; Myasnikov V.A. – research conception and design of the study, writing of the text, editing of the article; Alekseeva I.I. – collecting and processing of the results; Vladimirova O.O. – collecting and processing of the results; Tyunin M.A. – research conception and design of the study, statistical processing of the results, writing of the text, editing of the article; Ilinskii N.S. – collecting and processing of the results, writing of the text, editing of the article; Nikishin A.S. – collecting and processing of the results, writing of the text, editing of the article; Shevchenko V.A. – collecting and processing of the results, writing of the text, editing of the article; Smirnova A.V. – collecting and processing of the results.

**Funding.** The research was funded by the State budget.

**Acknowledgments.** The authors express their gratitude to T.N. Lavrikova for preparing unique histological specimens, and to P.S. Baeva (Innovative Pharmaceutical Company «Silver Pharm», LLC, Saint Petersburg) for taking part in biological model creation.

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

**Ethics approval.** Studies on animals were performed according to the program approved by the Ethics and Bioethics Commission of the FSBI «State Research Testing Institute of Military Medicine» of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Animals were kept in proper vivarium conditions (permission of the St. Petersburg Chief State Veterinary Inspector No. 78-1102/19, ISO 9001:2015 certificate No. ST.RU.0001.M0017187, GLP compliance certificate No. GLP-0727-1020). Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with «Consensus author guidelines for animal use» (IAVES 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee of Biomedical Research of the «State Research Testing Institute of Military Medicine» of the Ministry of Defense of the Russian Federation (Protocol No. 21 dated 23.11.2020).

Received 01 October 2021  
Accepted 14 November 2021  
Published 30 December 2021

## Введение

Вирус SARS-CoV-2 (*Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus*) по аналогии с родственными РНК-вирусами и основному механизму заражения условно относят к респираторным [1]. Именно поражение дыхательной системы формирует основные клинические проявления заболевания, определяет его тяжесть и прогноз. Хотя экспрессию вируса прослеживали в различных органах, вклад их дисфункции в патогенез инфекции COVID-19 требует дальнейшего изучения [2]. Вместе с тем механизм поражения лёгких и дыхательных путей SARS-CoV-2 до настоящего времени установлен не в полной мере, что определяет актуальность гистологических исследований патологических изменений дыхательной системы на экспериментальных моделях лабораторных животных. Подобные исследования позволяют проследить особенности поражения органов дыхания в динамике [3, 4].

Интерстициальное воспаление, диффузное альвеолярное поражение и некротический бронхит/бронхиолит считаются общими гистопатологическими признаками повреждения лёгких при респираторных вирусных инфекциях, вызываемых коронавирусами SARS-CoV-2, MERS-CoV (*Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Merbecovirus*) и SARS-CoV (*Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus*) [5]. Изменения лёгочной ткани при

COVID-19 описываются в виде диффузного альвеолярного повреждения с интерстициальным отёком, капиллярным застоем и лимфоцитарной инфильтрацией межальвеолярных перегородок, вызывающими гипоксию, полиорганную недостаточность и смерть. Даже при бессимптомном течении вирусного процесса во время лобэктомии по поводу сопутствующей онкопатологии органа выявляются отёк ткани, наличие альвеолярного белкового экссудата и очаговая реактивная гиперплазия пневмоцитов с воспалительной клеточной инфильтрацией и многоядерными гигантскими клетками в межальвеолярных перегородках [6].

В клинической практике выделяют 4 этапа изменений лёгких при COVID-19 по данным компьютерной томографии (КТ): ранний, период прогрессии изменений, тяжёлый и диссипативный [7]. Признаками инфекции считаются двусторонние полисегментарные периферические изменения по типу «матового стекла», визуализируемые по данным КТ в виде снижения прозрачности лёгочной паренхимы при сохранении видимости стенок сосудов и бронхов в данном участке, а также консолидированные затемнения в лёгких. В качестве основного морфологического субстрата таких проявлений рассматривается интерстициальное воспаление с частичным или полным заполнением альвеолярного пространства патологическим содержимым (клеточным детритом, трансудатом, экссудатом и др.), формированием ателектазов. КТ-сканирование в клинике в первые 4 сут

заболевания показало наличие описанных рентгенологических симптомов в 75,0% случаев, однако при расширенном амбулаторном обследовании в раннем периоде нормальная картина КТ встречалась в 56,0 % наблюдений [8]. Исследование на этапе прогрессии инфекционного процесса (5–8 сут) выявляло усугубление изменений (53,0% случаев) по типу «бульжной мостовой» (симптом «лоскутного одеяла») [7]. Поражение лёгких достигало пика примерно через 10 сут после появления начальных признаков (3 этап – 9–13 сут), когда при ухудшении клинического состояния в 91,0% случаев определялись увеличение площади поражения полей лёгких, линейные помутнения, консолидации по типу «бульжной мостовой» и «обратного ореола (гало)» (симптом «атолла») [8]. На 4 этапе начиная с 14 сут в 75,0% случаев имело место постепенное разрешение повреждений [9]. Двустороннее поражение лёгких наблюдалось на раннем этапе у 28,0% пациентов, на втором этапе у 76,0% и на третьем – у 88,0% пациентов [8]. У беременных прослеживались более тяжёлые поражения [7]. Преобладающей особенностью данных КТ при обследовании бессимптомных пациентов было наличие непрозрачности по типу «матового стекла» (94,8%) с периферической локализацией (75,9%), односторонним расположением изменений (58,6%) преимущественно в одной или двух долях (65,5%) [11].

Значительную роль в формировании альвеолярно-повреждения могут играть внутрисосудистые микротромбы и тромбозмболии [12]. Вирионы обнаружены в эндотелиоцитах [13], однако персистенция вируса в эндотелии до настоящего времени рассматривается как экзквизитное явление [14]. Иммуногистохимически экспрессия белков SARS-CoV-2 выявляется в эпителиальных клетках, включая слушленные клетки в альвеолярном пространстве, тогда как в кровеносных сосудах или интерстиции продукция вирусного белка выражена минимально [14]. В этой связи первичной патологией лёгочной ткани при COVID-19 всё же считается диффузное альвеолярное повреждение с локализацией вируса в пневмоцитах и эпителии трахеи, тогда как микротромбы наблюдаются в единичных полях зрения, а явления эндотелиита не прослеживаются. Вместе с тем формирующаяся многофакторная эндотелиальная дисфункция приводит к сужению сосудов с последующей ишемией органов, развитию воспаления с отёком тканей и гиперкоагуляцией [15]. Расширение лёгочных сосудов по данным КТ отмечается в местах образования новых лёгочных инфильтратов [16].

Преимущественным субстратом поражения в лёгких умерших от SARS-CoV-2 является альвеолярное экссудативное и интерстициальное воспаление. В альвеолах преобладают макрофаги и моноциты, тогда как лимфоциты (в основном CD4+ Т-клетки), эозинофилы и нейтрофилы встречаются в меньшем количестве. Прослеживаются многоядерные гигантские клетки. В лёгочной паренхиме выявляются очаговые кровоизлияния и организация экссудата в альвеолярных полостях; в мелких сосудах могут

присутствовать единичные гиалиновые тромбы. При массивном выпоте имеют место образование фибриновых нитей в интерстиции межальвеолярных перегородок с последующим фиброзом, а также появление гиалиновых мембран в просвете альвеол. Выпадение фибрина наиболее выражено при остром респираторном дистресс-синдроме (ОРДС) [17]. Выявляются также пролиферация альвеолярного эпителия с преимущественной гиперплазией клеток II типа и очаговая десквамация эпителия в альвеолах и мелких бронхах [14]. В межальвеолярных перегородках обнаруживаются лимфоцитарно-моноцитарные инфильтраты, конгломераты нейтрофильных гранулоцитов и тромбоцитов. В случаях поражения средней степени тяжести присутствуют функционально истощённые тромбоциты и гипореактивные нейтрофилы, тогда как при тяжёлом течении COVID-19 отмечается чрезмерная активация этих клеток по сравнению с таковой в биоматериалах, полученных от здоровых людей из контрольной группы или больных пневмонией, не связанной с COVID-19 [18].

У части пациентов формируется плевральный выпот. Лимфаденопатия средостения оказывается редкой находкой [16]. Вследствие ателектазов могут образовываться препятствия воздухообмену с образованием гигантских эмфизематозных булл, пневмоторакса и пневмомедиастинума [19].

В настоящее время активно ведутся работы по поиску эффективных средств профилактики и терапии COVID-19 с использованием различных видов экспериментальных животных в качестве лабораторных моделей. Среди них особое место занимает биологическая модель новой коронавирусной инфекции у сирийских (золотистых) хомячков (*Mesocricetus auratus*), позволяющая с высокой надёжностью воспроизводить течение инфекционного процесса различной степени тяжести. Основными проявлениями COVID-19 у данного вида являются появление одышки, потеря массы тела, поражение различных отделов респираторного тракта [20]. Так, по данным КТ-сканирования лёгких сирийских хомячков, выполненного в динамике после заражения вирусом SARS-CoV-2, выявлены патологические признаки, соответствующие таковым у человека. К ним относят полисегментарные изменения по типу «матового стекла» с преимущественно центральной перибронхиальной локализацией, определяемые на 2–4 сут заболевания; формирование периферических очагов консолидации лёгочной ткани к 7–8 сут наблюдения; восстановление воздушности с 10 сут болезни [21]. В свою очередь, результаты гистологического исследования поражений лёгких вирусом SARS-CoV-2 демонстрируют развитие интерстициальной пневмонии и альвеолярного отёка, характеризующихся миграцией лейкоцитов и макрофагов в очаг патологического процесса. В период реконвалесценции отмечаются гиперплазия пневмоцитов II типа, расширение межальвеолярных перегородок за счёт фиброза различной степени выраженности [20].

Сведения о поражении дыхательной системы при

COVID-19 представляют особую важность в ходе проведения доклинических исследований новых лекарственных препаратов для профилактики и лечения этого заболевания. С учётом этого целью настоящей работы стало изучение патологических изменений в нижних дыхательных путях и лёгких применительно к биологической модели инфекции вирусом SARS-CoV-2 у сирийских хомячков.

### Материал и методы

Экспериментальное исследование выполнено на 240 самцах сирийских хомячков массой 80–100 г, полученных из питомника АО «НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» (Санкт-Петербург). Животные содержались в стандартных условиях вивария. Культура вируса SARS-CoV-2 выделена в лабораториях ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ из ПЦР-позитивного материала, полученного от больных COVID-19, и накоплена на культуре клеток почки африканской зелёной маргитки (*Chlorocebus sabaues*) Vero B (Биолот, Россия); на этой же клеточной линии определяли среднюю тканевую цитопатическую дозу вируса (ТЦД<sub>50</sub>/мл) по методу Рида и Менча. Заражение предварительно наркотизированных (раствор «Золетил 100» в дозе 40 мг/кг внутривенно) сирийских хомячков осуществляли однократным интраназальным введением 26 мкл культуры вируса, содержащей SARS-CoV-2 в количестве  $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл. Эвтаназию животных проводили передозировкой общего анестетика (растворы «Ксила» 20 мг/мл и «Золетил 100» 50 мг/мл (соотношение 1 : 1) в объёме 1 мл на 1 кг массы тела внутримышечно) с последующим обескровливанием путём пересечения нижней полой вены на 3, 7 и 14 сут после индукции заболевания. Определение динамики формирования отёка лёгких проводили с использованием гравиметрических методов. Для этого рассчитывали коэффициент относительной массы лёгкого и степень влагонасыщения органа посредством формул:

$$\text{коэффициент относительной массы лёгкого} = \frac{\text{масса лёгкого, г}}{\text{масса тела животного, г}} \times 100 (\%) \quad (1);$$

$$\text{степень влагонасыщения ткани лёгкого} = \frac{\text{масса высушенного лёгкого, г}}{\text{масса влажного лёгкого, г}} \times 100 (\%) \quad (2).$$

Высушивание левого лёгкого осуществляли в сушильном шкафу при температуре 60 °С до стабилизации значения его массы. Образцы тканей трахеи и правого лёгкого фиксировали 10% нейтральным формалином по Лилли и жидкостью Карнуа (6 частей абсолютного этилового спирта (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH), 3 части хлороформа (CHCl<sub>3</sub>) и 1 часть ледяной уксусной кислоты (CH<sub>3</sub>COOH)). После стандартной проводки материал помещали в парафин и готовили срезы толщиной 3–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Маллори. Регистрацию изменений структуры тканей осуществляли на цифровом фотомикроскопе Leica DM 2500 (Leica, Германия) при увеличении объектива  $\times 20$ –100. После извлечения ткань левого лёгкого гомогенизировали. Из полученного го-

могената выделяли вирусную РНК с использованием набора RNeasy Plus Universal Mini Kit (Qiagen, Германия) для проведения обратной транскрипции и определения вирусной нагрузки методом количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Статистический анализ экспериментальных данных проводили при помощи пакетов программ Statistica v.10 в операционной среде Windows 7. Результаты подвергали стандартной статистической обработке, алгоритм которой определяли исходя из условий нормальности распределения. Вывод о статистической значимости различий делали при  $p < 0,05$ . Сравнение проводили с характеристиками животных группы виварного контроля с учётом динамики изменений за период проведения эксперимента.

Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с «Consensus Author Guidelines For Animal Use» (IAVES, 23 July 2010). Протокол исследования одобрен Комитетом по этике биомедицинских исследований организации (Протокол № 21 от 23.11.2020).

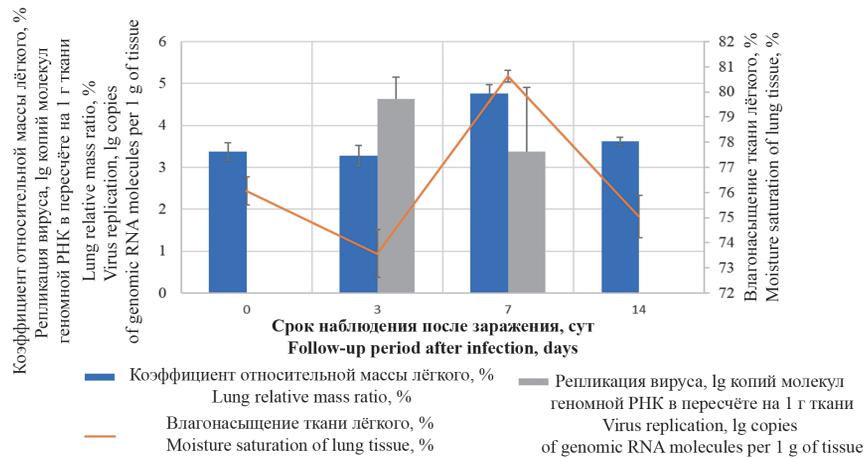
### Результаты и обсуждение

Изменения относительной массы лёгких хомячков и степени их влагонасыщения в соотношении с репликативной активностью вируса представлены на **рис. 1**.

Наиболее показательна динамика влагонасыщения лёгкого со сменой фаз от 3 к 7 сут. Снижение показателя характеризует уплотнение ткани органа при нарастании инфильтрации, возникновении ателектазов и изменении кровенаполнения; возрастание данного показателя отражает формирование интерстициального и альвеолярного отёка.

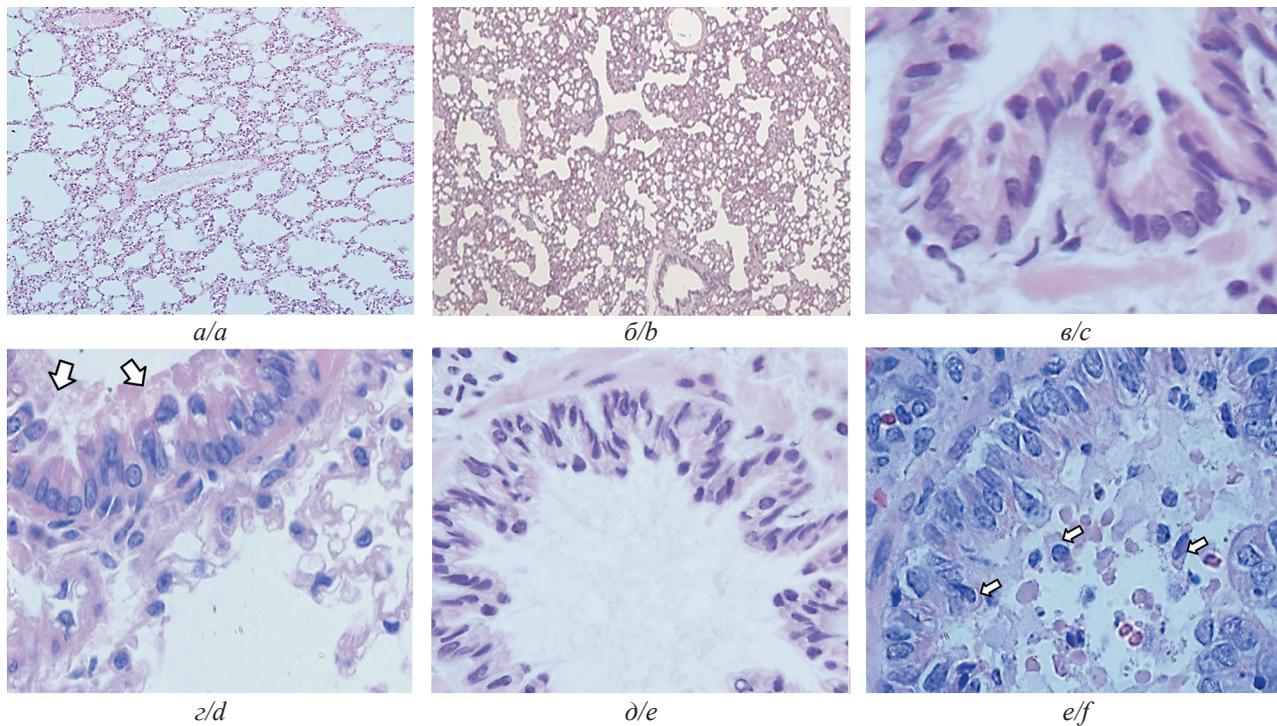
Гистологические исследования образцов ткани органа начиная с 3 сут после заражения животных выявили поражение воздухоносных и респираторных отделов. С этого срока отмечали резкое снижение воздушности лёгочной паренхимы за счёт формирования множественных микроателектазов, наличия умеренно выраженной лимфогистиоцитарной инфильтрации, интерстициального и альвеолярного отёка. В крупных и средних бронхах на всех сроках исследования прослеживали сохранение непрерывности клеточного слоя цилиндрического эпителия на фоне уменьшения количества секрета в бокаловидных клетках, потери многорядности эпителиального пласта, десквамации апикальных частей эпителиоцитов и эозинофилии их поражённой цитоплазмы (**рис. 2**). Десквамация апикальных частей клеток в мелких бронхах приводила к окклюзии просветов части бронхов наряду со значительным количеством слизистого отделяемого, клеток инфильтрата и диапедезных эритроцитов. Капиллярная сеть паренхимы была выражено полнокровной, артериальные сосуды большей частью спазмированы, в венозных наблюдались агрегация эритроцитов и гемолиз.

Далее, на 7 сут на фоне сохранения относительной



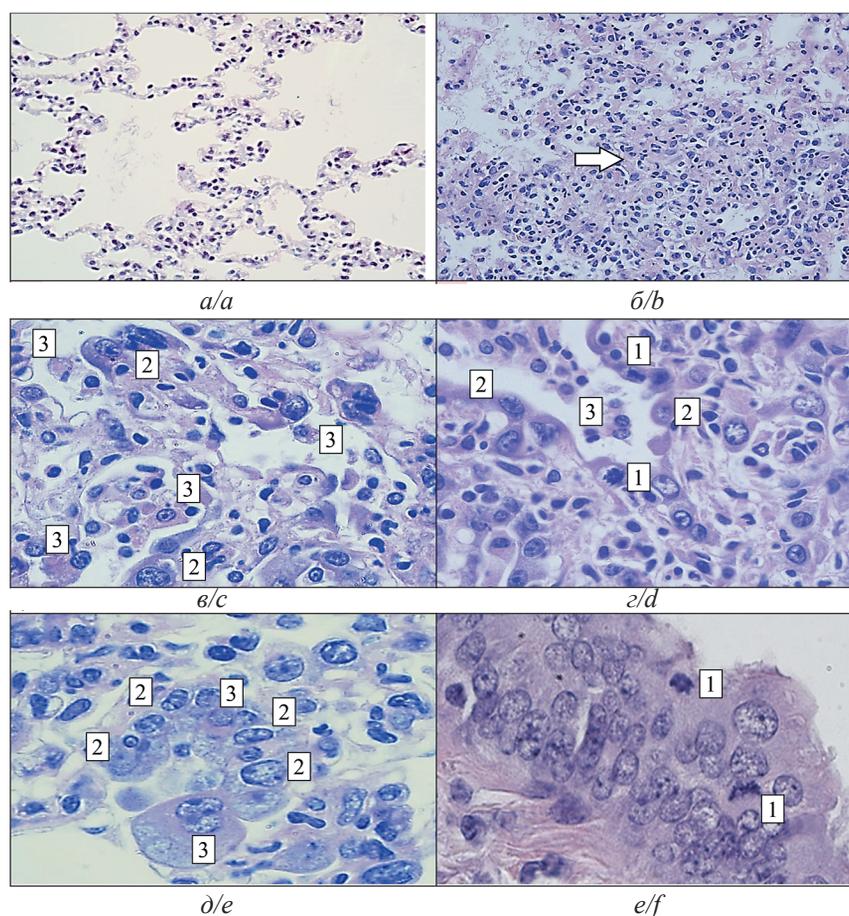
**Рис. 1.** Количественные характеристики патологического процесса в лёгких: изменение относительной массы и степени влагосыщения (значения вынесены на дополнительную ось ординат). Репликация вируса в лёгочной ткани представлена в виде значения десятичного логарифма (lg) копий молекул геномной РНК в пересчёте на 1 г ткани.

**Fig. 1.** Quantitative characteristics of the pathological process in lungs: changes in lung relative mass and degree of its moisture saturation (the values are shown in the additional ordinate axis). Virus replication in the lung tissue is presented as the decimal logarithm (lg) genomic RNA copies per 1 g of the tissue.



**Рис. 2.** Структуры респираторного тракта сирийских хомяков в норме и на 3 сут после заражения SARS-CoV-2 в дозе  $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл (26 мкл/особь интраназально). Равномерно воздушная паренхима лёгких животных интактной группы, свободные просветы воздухоносных путей (а); снижение воздушности лёгких за счёт выраженного утолщения межальвеолярных перегородок (б). Слизистая оболочка мелких бронхов интактных хомяков покрыта однорядным призматическим эпителием (в), рядность которого у инфицированных животных нарушается за счёт отёка и образования клеточного инфильтрата (д), апикальные полюса клеток слущены (показано белыми стрелками). Свободные просветы мелких бронхов интактных животных (е) у инфицированных особей заполняются клеточным детритом вследствие десквамации эпителия, диапедеза эритроцитов и нейтрофильных гранулоцитов (е) с выходом макрофагов в просвет бронхов (показано белыми стрелками). Микрофотографии, окраска гематоксилином и эозином, увеличение объектива  $\times 10$  (а, б),  $\times 40$  (д),  $\times 100$  (в, з, е).

**Fig. 2.** Respiratory tract structures of the Syrian hamsters in health and on day 3 after SARS-CoV-2 infection at dose  $4 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml (26  $\mu$ l/individual intranasally). Evenly air lung parenchyma of intact animals, bright lumens of airways (a); lung airiness decrease from the marked interalveolar septum thickening (b). The small bronchi mucous membrane of intact hamsters is covered with a single-row cylindrical epithelium (c), whose lane in infected animals is disturbed due to edema and cellular infiltration (d), the apical cellular poles are desquamated (white arrows). Small bronchi's bright lumens of intact animals (e) are filled with cell debris in infected animals due to the epithelium desquamation, erythrocyte and neutrophilic granulocyte diapedesis (f), with the release of macrophages into the bronchi lumen (white arrows). Microphotographs, hematoxylin and eosin stain, objective lens magnification  $\times 10$  (a, b),  $\times 40$  (e),  $\times 100$  (c, d, f).



**Рис. 3.** Очаговые воспалительные изменения в лёгких сирийских хомяков на 7 сут после заражения SARS-CoV-2 в дозе  $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл (26 мкл/особь интраназально). В отличие от лёгочной ткани интактных хомяков (а) у инфицированных животных выявлялись очаги инфильтративных изменений межальвеолярных перегородок (белая стрелка) с умеренным интраальвеолярным выпотом (б). Клеточный состав инфильтрата представлен лимфоцитарно-гистиоцитарным компонентом и сегментоядерными лейкоцитами (в). Регенерация слущенного альвеолярного эпителия осуществляется призматическими клетками терминальных бронхиол, в которых выявляли фигуры митозов (д). Крупноклеточные эпителиоидные формы и макрофаги различной степени зрелости формируют псевдоацинарные структуры (е). Очаговая гиперплазия эпителия выстилки крупного бронха с признаками пролиферации эпителиоцитов (е). Микрофотографии, окраска гематоксилином и эозином, увеличение объектива  $\times 20$  (а, б),  $\times 100$  (в-е).

1 – фигуры митозов, 2 – эпителиоидные формы, 3 – активированные макрофаги.

**Fig. 3.** Focal inflammatory changes in lungs of Syrian hamsters on day 7 after SARS-CoV-2 infection at dose  $4 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml (26  $\mu$ l/individual intranasally). Compared to the intact hamsters' lung tissue (a), foci of infiltrative changes were detected in the interalveolar septa (white arrow), with a moderate intraalveolar effusion (b). The infiltrate cell compound is represented by the lymphocytic-histiocytic component and segmental leukocytes (c). The desquamated alveolar epithelium regeneration is implemented by prismatic cells of terminal bronchioles, where mitotic figures were detected (d). Large-cell epithelioid forms and macrophages of various maturity form pseudoacinar structures (e). Focal hyperplasia of the large bronchus' lining epithelium with signs of proliferation of epithelial cells (f). Microphotographs, hematoxylin and eosin stain, objective lens magnification  $\times 20$  (a, b),  $\times 100$  (c-f).

1, mitotic figures; 2, epithelioid forms; 3, activated macrophages.

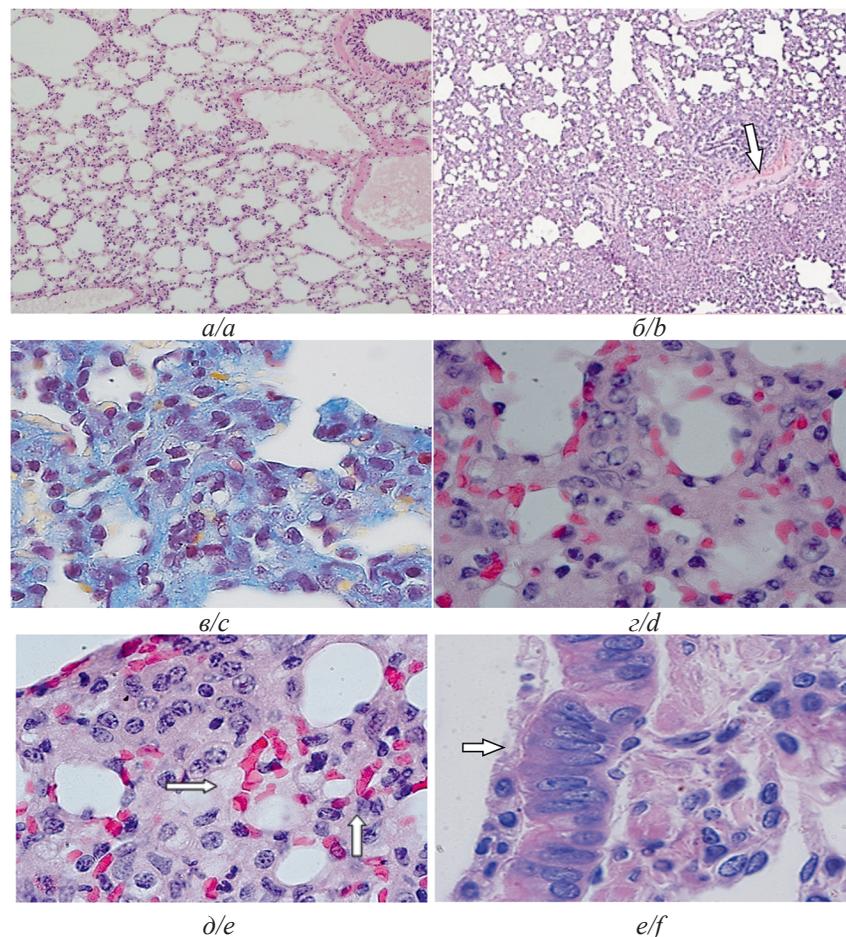
воздушности части лёгочной ткани выявляли плотные очаги воспалительных изменений различного размера, большей частью привязанные к сосудисто-бронхиальным профилям мелкого калибра, по-видимому, эквивалентные рентгенологическим затемнениям по типу «матового стекла». На фоне выраженного к этому сроку экссудативного процесса (тотальному интерстициальному и фокальному альвеолярному отёку) наблюдали значительные инфильтративно-пролиферативные изменения с десквамацией альвеолярного эпителия. В очагах отмечали наличие многочисленных клеток преимущественно лимфо-гистиоцитарного инфильтрата с некоторым количе-

ством сегментоядерных лейкоцитов (рис. 3). В подобных участках не определялись структурные границы альвеол и терминальных бронхиол. Стиранию этих различий способствовала метаплазия эпителиоцитов с потерей их дифференцировки. Клетки приобретали атипичное строение эпителиоидных форм с резко увеличенными в размерах ядрами и ядрышками неправильных очертаний. Визуализировали многочисленные митозы указанных форм и клеток инфильтрата. Десквамация поражённого эпителия позволяла проследить в более воздушных участках перегородки, лишённые клеток альвеолярной выстилки. Нередко в паренхиме, примыкающей к бронхиолам, находили

множественные псевдоацинарные образования, выстланные плотным рядом метаплазированных клеток с гиперхромной цитоплазмой или клетками бронхиального эпителия. В альвеолах наблюдали макрофаги различной формы и степени зрелости, наполненные фагоцитированным детритом и эритроцитами.

Наконец, к 14 сут экспериментального инфекционного процесса у хомяков уменьшались размеры очагов уплотнения и выравнивалась воздушность паренхимы. Однако бо́льшая часть перегородок оставалась утолщённой как вследствие интерстициального отёка, так и за счёт содержания активных форм макрофагального ряда с большими объёмами цитоплазмы. В просветах альвеол также отмечали скопления макрофагов, элиминирующих экссудат. В отдельных

альвеолах по-прежнему визуализировали фрагменты экссудата, в том числе с диапедезными эритроцитами. Снижалась частота встречаемости оголённых альвеолярных перегородок. В бронхах наблюдали фокусы гиперплазии эпителия с конденсацией гетерохроматина на кариолемме крупных ядер нередко эллиптической или бобовидной формы; в отдельных участках около бронхиальной паренхимы увеличилось количество псевдоацинарных образований (рис. 4). К данному сроку крупные сосуды паренхимы лёгкого в большинстве своём имели нормальное кровенаполнение, тогда как сосуды гемомикроциркуляторного русла межальвеолярных перегородок поражённой ткани сохраняли признаки повышенного кровенаполнения и стаза. В утолщённых межальвеолярных перегородках



**Рис. 4.** Изменения структуры лёгких сирийских хомяков на 14 сут после заражения SARS-CoV-2 в дозе  $4 \times 10^4$  ТЦД<sub>50</sub>/мл (26 мкл/ особь интраназально). По сравнению с группой интактных хомяков (а) у инфицированных выявляли воспалительную консолидацию ткани лёгкого (б) (белая стрелка). В очагах консолидации прослеживали активацию фибробластов и формирование коллагенового остова (в). В утолщённых межальвеолярных перегородках прослеживали различные варианты нарушений гемомикроциркуляции (г) с активацией светлоядерных фибробластоподобных клеток (белые стрелки) (д), определяющих формирование коллагенового остова и постинфекционную консолидацию паренхимы. На фоне сохранения интерстициального отёка прослеживали очаговую пролиферацию эпителиоцитов (белая стрелка) и активированные формы макрофагов, резорбирующих экссудат (е). Микрофотографии, окраска гематоксилином и эозином (а, б, г-е) и по Маллори (в), увеличение объектива  $\times 20$  (а-б),  $\times 100$  (в-е).

**Fig. 4.** Changes in lung structure of Syrian hamsters on day 14 after SARS-CoV-2 infection at dose  $4 \times 10^4$  TCID<sub>50</sub>/ml (26  $\mu$ l/individual intranasally). Compared to intact hamsters (a), an inflammatory pulmonary consolidation (b) was detected in the group of infected animals (white arrow). In the foci of consolidation, activation of fibroblasts and formation of a collagenous backbone were visible (c). In the thickened interalveolar septa, various hemomicrocirculatory disorders (d) were observed, with an activation of light-nucleated fibroblast-like cells (white arrows) (e), which determine the collagenous backbone formation and post-infectious parenchyma consolidation. On retention of interstitial edema, focal proliferation of epithelial cells (white arrow) and exudate-resorbing activated macrophages (f) were observed. Microphotographs, hematoxylin and eosin (a, b, d-f), and Mallory (c) stain, objective lens magnification  $\times 20$  (a-b),  $\times 100$  (c-f).

ках прослеживали активированные фибробластоподобные элементы; накопление коллагенового матрикса определяло постинфекционную консолидацию лёгочной паренхимы.

### Заключение

Таким образом, в динамике инфекционного процесса COVID-19 на экспериментальной модели сирийских хомячков прослежены антигензависимые изменения альвеолярного и воздухоносного компонентов лёгочной паренхимы, характеризующиеся последовательной сменой инфильтративно-пролиферативных, отёчно-макрофагальных и фибробластических компонентов тканевой реакции.

Показано, что начальные изменения эпителия крупных дыхательных путей (в ряде случаев с выраженными повреждениями эпителиальной выстилки) могут протекать без паранекротического интерстициального воспаления, тогда как при формировании множественных очаговых повреждений паренхимы поражение эпителия бронхиол и ацинарных ходов с выходом макрофагов в просвет бронхиол и диапедезом эритроцитов в этих локусах может иметь вторичный характер, вовлекаясь в воспалительный процесс альвеол. В ацинарном компоненте лёгочной ткани наибольшие изменения отмечены в межальвеолярных септах, утолщение которых за счёт инфильтрата и отёка интерстиция ограничивало воздухообмен. Характерным для модели инфекции SARS-CoV-2 у сирийских хомячков следует признать образование эпителиоидных крупноклеточных форм метаплазированного эпителия, формирующих псевдоацинарные структуры.

Прослеженные морфологические изменения структуры лёгочной ткани определяют направления фармакологической терапии и позволяют соотнести проявления патологического процесса с данными рентгенологических исследований. По мере формирования интерстициального и альвеолярного отёка с активацией различных популяций фагоцитов количество мишеней для терапии глюкокортикостероидами снижается, тогда как регресс структурных повреждений можно предполагать на фоне применения ингибиторов рецепторов цитокинов. Положительное влияние могут оказывать также ингибиторы синтазы оксида азота (NO).

Полученные данные могут рассматриваться как референтные с возможностью практического использования в ходе проведения доклинических исследований по оценке эффективности вакцин и лекарственных средств, направленных на лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Чепур С.В., Плужников Н.Н., Чубарь О.В., Бакулина Л.С., Литвиненко И.В., Макаров В.А., и др. Респираторные РНК-вирусы: как подготовиться к встрече с новыми пандемическими штаммами. *Успехи соврем. биологии*. 2020; 140(4): 359–77. <https://doi.org/10.31857/S0042132420040043>
2. Bradley B.T., Maioli H., Johnston R., Chaudhry I., Fink S.L., Xu P.H., et al. Histopathology and ultrastructural findings of fatal COVID-19 infections in Washington State: a case series. *Lancet*. 2020; 396(10247): 320–32. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31305-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31305-2)
3. Чучалин А.Г. COVID-19 пневмония: лекция для студентов ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова»; 2020. Available at: <https://youtu.be/hTVZSwa7X5c> (accessed October 14, 2021).
4. Becker R.C. COVID-19-associated vasculitis and vasculopathy. *J. Thromb. Thrombolysis*. 2020; 50(3): 499–511. <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02230-4>
5. Calabrese F., Pezzuto F., Fortarezza F., Hofman P., Kern I., Panizo A., et al. Pulmonary pathology and COVID-19: lessons from autopsy. The experience of European Pulmonary Pathologists. *Virchows Arch*. 2020; 477(3): 359–72. <https://doi.org/10.1007/s00428-020-02886-6>
6. Tian S., Hu W., Niu L., Liu H., Xu H., Xiao S.Y. Pulmonary pathology of early-phase 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer. *J. Thorac. Oncol.* 2020; 15(5): 700–4. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.02.010>
7. Li M., Lei P., Zeng B., Li Z., Yu P., Fan B., et al. Coronavirus Disease (COVID-19): Spectrum of CT findings and temporal progression of the disease. *Acad. Radiol.* 2020; 27(5): 603–8. <https://doi.org/10.1016/j.acra.2020.03.003>
8. Bernheim A., Mei X., Huang M., Yang Y., Fayad Z.A., Zhang N., et al. Chest CT findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to duration of infection. *Radiology*. 2020; 295(3): 685–91. <https://doi.org/10.1148/radiol.20200463>
9. Pan F., Ye T., Sun P., Gui S., Liang B., Li L., et al. Time course of lung changes at chest CT during recovery from Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Radiology*. 2020; 295(3): 715–21. <https://doi.org/10.1148/radiol.20200370>
10. Liu H., Liu F., Li J., Zhang T., Wanga D., Lan W. Clinical and CT imaging features of the COVID-19 pneumonia: Focus on pregnant women and children. *J. Infect.* 2020; 80(5): e7–13. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.007>
11. Meng H., Xiong R., He R., Weichen L., Bo H., Lin Z., et al. CT imaging and clinical course of asymptomatic cases with COVID-19 pneumonia at admission in Wuhan, China. *J. Infect.* 2020; 81(1): e33–9. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.004>
12. Mohanty S.K., Satapathy A., Naidu M.M., Mukhopadhyay S., Sharma S., Barton L.M., et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease 19 (COVID-19) – anatomic pathology perspective on current knowledge. *Diagn. Pathol.* 2020; 15(1): 103. <https://doi.org/10.1186/s13000-020-01017-8>
13. Iba T., Connors J.M., Levy J.H. The coagulopathy, endotheliopathy, and vasculitis of COVID-19. *Inflamm. Res.* 2020; 69(12): 1181–9. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01401-6>
14. Zhang H., Zhou P., Wei Y., Yue H., Wang Y., Hu M., et al. Histopathologic changes and SARS-CoV-2 immunostaining in the lung of a patient with COVID-19. *Ann. Intern. Med.* 2020; 172(9): 629–32. <https://doi.org/10.7326/M20-0533>
15. Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S., et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020; 395(10234): 1417–8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
16. Jain A. COVID-19 and lung pathology. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2020; 63(2): 171–2. [https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM\\_280\\_20](https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM_280_20)
17. Rizzo P., Veceli Dalla Sega F., Fortini F., Marracino L., Rapezzi C., Ferrari R., et al. COVID-19 in the heart and the lungs: could we «Notch» the inflammatory storm? *Basic Res. Cardiol.* 2020; 115(3): 31. <https://doi.org/10.1007/s00395-020-0791-5>
18. Nicolai L., Leunig A., Brambs S., Kaiser R., Weinberger T., Weigand M., et al. Immunothrombotic dysregulation in COVID-19 pneumonia is associated with respiratory failure and coagulopathy. *Circulation*. 2020; 142(12): 1176–89. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048488>
19. Sun R., Liu H., Wang X. Mediastinal emphysema, giant bulla, and pneumothorax developed during the course of COVID-19 pneumonia. *Korean J. Radiol.* 2020; 21(5): 541–4. <https://doi.org/10.3348/kjr.2020.0180>
20. Rosenke K., Meade-White K., Letko M., Clancy C., Hansen F., Liu Y., et al. Defining the Syrian hamster as a highly susceptible pre-clinical model for SARS-CoV-2 infection. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1): 2673–84. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1858177>
21. Imai M., Iwatsuki-Horimoto K., Hatta M., Loeber S., Halfmann P.J., et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-

CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(28): 16587–95. <https://doi.org/10.1073/pnas.2009799117>

## REFERENCES

- Chepur S.V., Pluzhnikov N.N., Chubar' O.V., Bakulina L.S., Litvinenko I.V., Makarov V.A., et al. Respiratory RNA viruses: how to prepare for meeting with new pandemic strains [*Respiratornye RNK-virusy: kak podgotovit'sya k vstreche s novymi pandemicheskimi shtammami*]. *Uspekhi sovremennoy biologii.* 2020; 140(4): 359–77. <https://doi.org/10.31857/S0042132420040043> (in Russian)
- Bradley B.T., Maioli H., Johnston R., Chaudhry I., Fink S.L., Xu P.H., et al. Histopathology and ultrastructural findings of fatal COVID-19 infections in Washington State: a case series. *Lancet.* 2020; 396(10247): 320–32. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31305-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31305-2)
- Chuchalin A.G. COVID-19 pneumonia: lecture for FSAEI HE Pirogov Russian National Research Medical University students; 2020. Available at: <https://youtu.be/hTVZSwa7X5c> (in Russian) (accessed October 14, 2021).
- Becker R.C. COVID-19-associated vasculitis and vasculopathy. *J. Thromb. Thrombolysis.* 2020; 50(3): 499–511. <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02230-4>
- Calabrese F., Pezzuto F., Fortarezza F., Hofman P., Kern I., Panizo A., et al. Pulmonary pathology and COVID-19: lessons from autopsy. The experience of European Pulmonary Pathologists. *Virchows Arch.* 2020; 477(3): 359–72. <https://doi.org/10.1007/s00428-020-02886-6>
- Tian S., Hu W., Niu L., Liu H., Xu H., Xiao S.Y. Pulmonary pathology of early-phase 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia in two patients with lung cancer. *J. Thorac. Oncol.* 2020; 15(5): 700–4. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2020.02.010>
- Li M., Lei P., Zeng B., Li Z., Yu P., Fan B., et al. Coronavirus Disease (COVID-19): Spectrum of CT findings and temporal progression of the disease. *Acad. Radiol.* 2020; 27(5): 603–8. <https://doi.org/10.1016/j.acra.2020.03.003>
- Bernheim A., Mei X., Huang M., Yang Y., Fayad Z.A., Zhang N., et al. Chest CT findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to duration of infection. *Radiology.* 2020; 295(3): 685–91. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200463>
- Pan F., Ye T., Sun P., Gui S., Liang B., Li L., et al. Time course of lung changes at chest CT during recovery from Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Radiology.* 2020; 295(3): 715–21. <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200370>
- Liu H., Liu F., Li J., Zhang T., Wanga D., Lan W. Clinical and CT imaging features of the COVID-19 pneumonia: Focus on pregnant women and children. *J. Infect.* 2020; 80(5): e7–13. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.007>
- Meng H., Xiong R., He R., Weichen L., Bo H., Lin Z., et al. CT imaging and clinical course of asymptomatic cases with COVID-19 pneumonia at admission in Wuhan, China. *J. Infect.* 2020; 81(1): e33–9. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.004>
- Mohanty S.K., Satapathy A., Naidu M.M., Mukhopadhyay S., Sharma S., Barton L.M., et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease 19 (COVID-19) – anatomic pathology perspective on current knowledge. *Diagn. Pathol.* 2020; 15(1): 103. <https://doi.org/10.1186/s13000-020-01017-8>
- Iba T., Connors J.M., Levy J.H. The coagulopathy, endotheliopathy, and vasculitis of COVID-19. *Inflamm. Res.* 2020; 69(12): 1181–9. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01401-6>
- Zhang H., Zhou P., Wei Y., Yue H., Wang Y., Hu M., et al. Histopathologic changes and SARS-CoV-2 immunostaining in the lung of a patient with COVID-19. *Ann. Intern. Med.* 2020; 172(9): 629–32. <https://doi.org/10.7326/M20-0533>
- Varga Z., Flammer A.J., Steiger P., Haberecker M., Andermatt R., Zinkernagel A.S., et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020; 395(10234): 1417–8. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5)
- Jain A. COVID-19 and lung pathology. *Indian J. Pathol. Microbiol.* 2020; 63(2): 171–2. [https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM\\_280\\_20](https://doi.org/10.4103/IJPM.IJPM_280_20)
- Rizzo P., Vieceli Dalla Sega F., Fortini F., Marracino L., Rapezzi C., Ferrari R., et al. COVID-19 in the heart and the lungs: could we «Notch» the inflammatory storm? *Basic Res. Cardiol.* 2020; 115(3): 31. <https://doi.org/10.1007/s00395-020-0791-5>
- Nicolai L., Leunig A., Brambs S., Kaiser R., Weinberger T., Weigand M., et al. Immunothrombotic dysregulation in COVID-19 pneumonia is associated with respiratory failure and coagulopathy. *Circulation.* 2020; 142(12): 1176–89. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.048488>
- Sun R., Liu H., Wang X. Mediastinal emphysema, giant bulla, and pneumothorax developed during the course of COVID-19 pneumonia. *Korean J. Radiol.* 2020; 21(5): 541–4. <https://doi.org/10.3348/kjr.2020.0180>
- Rosenke K., Meade-White K., Letko M., Clancy C., Hansen F., Liu Y., et al. Defining the Syrian hamster as a highly susceptible preclinical model for SARS-CoV-2 infection. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1): 2673–84. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1858177>
- Imai M., Iwatsuki-Horimoto K., Hatta M., Loeber S., Halfmann P.J., et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(28): 16587–95. <https://doi.org/10.1073/pnas.2009799117>