



ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-130>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022



Электронно-микроскопическое исследование неокортекса сирийских хомяков (*Mesocricetus auratus*) при инфекции вируса SARS-CoV-2 (Coronaviridae: *Coronavirinae*: *Betacoronavirus*: *Sarbecovirus*)

Парамонова Н.М.^{1,2}, Чепур С.В.¹, Первак М.О.¹, Мясников В.А.¹, Тюнин М.А.¹, Ильинский Н.С.¹, Каневский Б.А.¹, Смирнова А.В.¹

¹ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, Россия;

²ФГБУН «Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова» Российской академии наук, 194223, г. Санкт-Петербург, Россия

Введение. У пациентов, перенёсших COVID-19, выявляют признаки поражения центральной нервной системы, в том числе непосредственно ассоциированные с вирусом SARS-CoV-2. В связи с этим особую актуальность приобретают морфологические исследования изменений, вызываемых SARS-CoV-2, в коре головного мозга для изучения механизмов их формирования и разработки подходов к доклинической оценке эффективности противовирусных лекарственных средств.

Цель работы – изучение динамики ультраструктурных изменений в неокортексе сирийских хомяков после заражения вирусом SARS-CoV-2.

Материалы и методы. Самцов сирийских хомяков массой тела 80–100 г в возрасте 4–6 недель интраназально заражали 26 мкл культуры SARS-CoV-2 с концентрацией вирусных частиц 4×10^4 ТЦД₅₀/мл. Эвтаназию выполняли на 3-и, 7-е или 28-е сутки после заражения, мозг извлекали с иссечением коры. Исследование материала проводили методом трансмиссионной электронной микроскопии.

Результаты и обсуждение. Установлено, что через трое суток после заражения в неокортексе возрастает количество умеренно гиперхромных нейронов, тогда как к 7-м суткам значительно увеличивается количество апоптотических клеток. В эти же сроки нарастают признаки нейрофагии и представительство атипичной глии. На 28-е сутки после заражения животных возрастает количество деструктивно изменённых олигодендроцитов. Показано, что вирусная инвазия уже на 3-и сутки после заражения сопряжена с конформационными изменениями клеток неокортекса – преобразованиями ядра, шероховатого эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи, а также со спазмом микрососудов в сочетании с отёком периваскулярного пространства.

Заключение. В результате электронно-микроскопического исследования описаны ультраструктурные изменения неокортекса на экспериментальной модели инфекции SARS-CoV-2. Полученные данные могут быть применены для изучения патогенеза инфекции и поиска направлений разработки новых лекарственных средств.

Ключевые слова: SARS-CoV-2; неокортекс; нейроны; глиальные клетки; гематоэнцефалический барьер

Для цитирования: Парамонова Н.М., Чепур С.В., Первак М.О., Мясников В.А., Тюнин М.А., Ильинский Н.С., Каневский Б.А., Смирнова А.В. Электронно-микроскопическое исследование неокортекса сирийских хомяков (*Mesocricetus auratus*) при инфекции вируса SARS-CoV-2 (Coronaviridae: *Coronavirinae*: *Betacoronavirus*: *Sarbecovirus*). *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(5): 403-413. DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-130>

Для корреспонденции: Смирнова Анна Владимировна, научный сотрудник ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, Россия. E-mail: gniiivm_7@mail.ru

Участие авторов: Парамонова Н.М. – концепция и дизайн исследования, обработка материала, электронная микроскопия, написание текста статьи; Чепур С.В. – концепция и дизайн исследования, статистическая обработка результатов, написание текста статьи; Первак М.О. – обработка материала, редактирование статьи; Мясников В.А. – концепция и дизайн исследования, редактирование; Тюнин М.А. – концепция и дизайн исследования, редактирование; Ильинский Н.С. – сбор и обработка материала, редактирование статьи; Каневский Б.А. – вирусологическая работа, редактирование статьи, Смирнова А.В. – вирусологическая работа, обработка материала, редактирование статьи.

Благодарности. Авторы выражают искреннюю благодарность А.С. Никишину и П.С. Боевой за участие в создании биологических моделей.

Финансирование. Исследование выполнено за счёт государственного бюджета.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus author guidelines for animal use (IAVES, 23 July 2010). Программа и протокол исследования одобрен Комитетом по этике биомедицинских исследований ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, г. Санкт-Петербург, Россия (протокол № 21 от 23.11.2020 г.).

Поступила 08.07.2022

Принята в печать 04.10.2022

Опубликована 31.10.2022

ORIGINAL ARTICLE

<https://doi.org/10.36233/0507-4088-130>

An electron microscopic study of neocortex of Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*) infected with SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus)

Natalya M. Paramonova^{1,2}, Sergey V. Chepur¹, Maria O. Pervak¹, Vadim A. Myasnikov¹, Mikhail A. Tyunin¹, Boris A. Kanevskiy¹, Nikita S. Ilinskii¹, Anna V. Smirnova¹

¹State Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 195043, Saint Petersburg, Russia;

²Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, 194223, Saint Petersburg, Russia

Introduction. Convalescent COVID-19 patients have various signs of central nervous system damage, including those directly associated with SARS-CoV-2. Hence, studies of SARS-CoV-2 related morphological changes in neocortex are particularly relevant for understanding the mechanisms of their formation and development of approaches to preclinical evaluation of the effectiveness of antiviral drugs.

The **purpose** of the research is a longitudinal study of the ultrastructural alterations in Syrian hamsters' neocortex after experimental SARS-CoV-2 infection.

Materials and methods. Male Syrian hamsters weighing 80–100 g, aged 4 to 6 weeks, were infected with 26 µl SARS-CoV-2 intranasally with 4×10^4 TCD₅₀/ml of viral particles. The animals were euthanized on days 3, 7 or 28 post-infection, the brain was extracted with the cortex excision. The material analysis was performed using transmission electron microscopy.

Results and discussion. On day 3 post-infection, the number of moderately hyperchromic neurons in neocortex increased, while by the day 7 the number of apoptotic cells significantly increased. Simultaneously, an increased signs of neuronophagy and representation of atypical glia were observed. Increased number of altered oligodendrocytes was observed on day 28 post-infection. Viral invasion was accompanied by changes in neocortical cells since day 3 post-infection, such as transformation of their nucleus, the rough endoplasmic reticulum and the Golgi vesicles as well as microvascular spasm with perivascular edema.

Conclusion. As a result of electron microscopic study, the ultrastructural alterations in neocortex were described in an experimental model of SARS-CoV-2 infection. The findings can be used to identify the mechanisms of infection pathogenesis and to search for the new directions in development of medicines.

Keywords: SARS-CoV-2; neocortex; neurons; glial cells; blood-brain barrier

For citation: Paramonova N.M., Chepur S.V., Pervak M.O., Myasnikov V.A., Tyunin M.A., Kanevskij B.A., Ilinskii N.S., Smirnova A.V. An electron microscopic study of neocortex of Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*) infected with SARS-CoV-2 (Coronaviridae: Coronavirinae: Betacoronavirus: Sarbecovirus). *Problems of Virology (Voprosy Virusologii)*. 2022; 67(5): 395-402 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-130>

For correspondence: Anna V. Smirnova, Researcher of State Research Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 195043, Saint Petersburg, Russia. E-mail: gniivm_2@mil.ru.

Information about the authors:

Paramonova N.M., <https://orcid.org/0000-0001-5451-3555>

Chepur S.V., <https://orcid.org/0000-0002-5324-512X>

Pervak M.O., <https://orcid.org/0000-0002-1395-823X>

Myasnikov V.A., <https://orcid.org/0000-0001-7232-4678>

Tyunin M.A., <https://orcid.org/0000-0002-6974-5583>

Kanevskiy B.A., <https://orcid.org/0000-0002-6255-8232>

Ilinskii N.S., <https://orcid.org/0000-0001-7406-753X>

Smirnova A.V., <https://orcid.org/0000-0003-0483-5032>

Contribution: Paramonova N.M. – study concept and design, material working, electron microscopy, paper copywriting; Chepur S.V. – study concept and design, statistical processing of information, paper copywriting; Pervak M.O. – material working, editing; Myasnikov V.A. – study concept and design, editing; Tyunin M.A. – study concept and design, editing; Kanevskiy B.A. – virologic work, editing; Ilinskii N.S. – material collection and working, editing; Smirnova A.V. – virologic work, material working, editing.

Acknowledgment. The authors gratefully acknowledge the contribution of A.S. Nikishin and P.S. Baeva to creation of biological models.

Funding. The research was funded by the state budget.

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

Ethics approval. Authors confirm compliance with institutional and national standards for the use of laboratory animals in accordance with the Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, 23 July 2010). The research protocol was approved by the Ethics Committee on 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 08 July 2022

Accepted 04 October 2022

Published 31 October 2022

Введение

SARS-CoV-2 как возбудитель COVID-19 стал объектом пристального изучения в силу высокой социальной значимости пандемической ситуации [1, 2]. Биология вируса, генетическая изменчивость и многообразие вариантов его белков были детально описаны в отечественной [3–5] и зарубежной [6, 7] научной литературе.

Ранее считали, что влияние вируса SARS-CoV-2 на организм человека ограничено респираторной системой. В связи с возникновением у пациентов аносмии и агевзии научным сообществом было выдвинуто предположение о воздействии вируса на центральную нервную систему (ЦНС) [8], которое позже подтвердилось при анализе симптомов неврологических и психических расстройств [9–11] у пациентов в остром и отдалённом периодах течения COVID-19.

Основными способами защиты от вируса к настоящему времени признаны вакцинопрофилактика и иммунотерапия [12–15], тогда как данные о противовирусной активности средств химиотерапии более скромны [16], а критерии оценки их эффективности в рамках доклинических исследований до настоящего времени не уточнены.

Необходимость проведения электронно-микроскопического исследования (ЭМИ) неокортекса на экспериментальной модели инфекции SARS-CoV-2 определена различной эффективностью антиметаболитов синтеза вирусной рибонуклеиновой кислоты (РНК) и ингибиторов РНК-полимеразы, активность которых в отношении РНК-содержащих вирусов в культуре доказана [17]. Высказано предположение, что различная эффективность препаратов может быть сопряжена в первую очередь с их способностью воздействовать на вирусные частицы за гистогематическими барьерами. Направленная модификация молекул препаратов с учётом гистотопографических особенностей репликации вируса может повысить их эффективность и расширить безопасное применение.

В связи со значимыми поражениями ЦНС при COVID-19 [2] **цель исследования** – изучение ультраструктурных изменений нейронов и глиальных

клеток – представляет фундаментальный и практический интерес для выявления особенностей патогенеза повреждений и разработки подходов к оценке эффективности противовирусных лекарственных средств на доклиническом этапе.

Материал и методы

Экспериментальное исследование проводили на 24 самцах сирийских хомяков [18] в возрасте 4–6 недель массой тела 80–100 г, полученных из питомника ЗАО «НПО «Дом фармации» (Санкт-Петербург). Животных содержали в стандартных условиях вивария.

Культуру вируса SARS-CoV-2 выделяли из ПЦР-положительного (полимеразная цепная реакция) материала, полученного от больных COVID-19, и накапливали на культуре клеток почки африканской зелёной мартышки (*Chlorocebus sabaues*) Vero (B) («БиолоТ», Россия), согласно ранее описанным в литературе методикам [19, 20]. На этой же клеточной линии определяли тканевую цитопатическую дозу вируса (ТЦД₅₀/мл) по методу Рида и Менча [21].

Были сформированы контрольная и опытные группы животных. Массу животных регистрировали до заражения и ежедневно в течение последующих 28 суток. Перед заражением животных наркотизировали раствором «Золетил 100» в дозе 40 мг/кг внутривенно. Далее механическим дозатором интраназально каждому хомяку опытной группы вводили по 26 мкл культуры вируса, содержащей SARS-CoV-2 в количестве 4×10^4 ТЦД₅₀/мл [22]. Эвтаназию животных проводили на 3-и, 7-е или 28-е сутки после заражения 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.

Для ЭМИ извлечённый мозг рассекали на фронтальные срезы толщиной в 1–1,5 мм и префиксировали в охлаждённой до 4 °С смеси 4% параформальдегида и 0,5% глутарового альдегида (на 0,1 М какодилатном буфере (pH 7,2–7,4)). Выделенные кусочки неокортекса сенсомоторного отдела коры через 1,5–2 ч до-

фиксируют в растворе 1% четырёхокси осмия (все реактивы – Sigma-Aldrich, Германия). Обезжировали материал в растворах этилового спирта восходящей концентрации и абсолютного ацетона. В процессе дегидратации контрастировали ткань в кусочках 3,5% уранилацетатом на 70° этаноле. Пропитку и заливку смесью аралдитов (Fluka, Швейцария) с ориентацией кусочков выполняли под лупой. Полимеризацию проводили в термостате при 37 и 60 °С в течение трёх суток [23].

Ультратонкие срезы 50–60 нм готовили на ультратоме LKB-III (LKB, Швеция). Регистрацию изменений структуры тканей и их фотофиксацию осуществляли на электронном микроскопе FEI Tecnai G2 Spirit BioTWIN (FEI Company, Нидерланды) при ускоряющем напряжении 80 кВ, предоставленном Центром коллективного пользования Института эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова РАН. В каждом образце проводили морфометрический анализ клеток и сосудов, а также их подсчёт.

Результаты описательной статистики приведены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха ($[Q_1; Q_3]$). Для множественных сравнений показателей несвязанных групп применяли Н-критерий Краскела–Уоллиса при номинальном уровне статистической значимости различий $p < 0,05$. Сравнение проводили с аналогичными характеристиками животных группы виварного контроля.

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 организации (протокол № 21 от 23.11.2020).

Результаты и обсуждение

Изменения клеток неокортекса

При инфицировании животных SARS-CoV-2 отчётливо прослеживали появление вирусных частиц в нейронах сенсомоторного неокортекса с признаками повышения синтеза белка. Выявляли нейроны с глубоко узурированными контурами ядер, в некоторых из них наблюдали активные крупные ядрышки (рис. 1). В цитоплазме отмечали массу рибосом, как собранных в полисомы, так и адгезированных на мембранах органелл.

Шероховатый эндоплазматический ретикулум (ЭР) был гипертрофирован и неравномерно расширен, на терминальных фрагментах канальцев прослеживали вирусные частицы, их отшнуровывание и миграцию к аппарату Гольджи (АГ). Уже к 3-м суткам эксперимента отмечали выраженные

изменения АГ: мембраны его цистерн набухали, слипались, сливаясь в единый конгломерат, часто с гомогенизированным содержимым внутри. По периферии АГ в цистернах локализовались вирусные частицы, ассоциированные с мембранами, и с элементами цитоскелета. По-видимому, слабоконтрастные вирионы за счёт белкового процессинга в АГ приобретают отчетливую белковую короновидную структуру поверхности, а затем отшнуровываются от терминальных участков цистерн органеллы. На 7-е сутки после заражения SARS-CoV-2 в нейронах сенсомоторного отдела коры количество повреждений АГ значительно возрастало.

Практически каждый нейрон всех слоёв неокортекса содержал множество вирусов различной степени зрелости и локализации. В нейронах вирусные частицы отмечали не только в перикарионах, но и в отростках нейроцитов, в том числе миелинизированных, а также в пресинаптических аксонных терминалях и шипиках дендритов.

Нарастающие в течение инфекционного процесса деструктивные изменения приводили, по-видимому, к формированию мультивезикулярных телец (МВТ). На ранних сроках в нейронах МВТ встречались относительно редко, их количество возрастало со временем. По аналогии с прослеженными ранее изменениями клеток культуры Vero (В) МВТ, как и везикулы промежуточного компартмента (ПК), играющего важную роль в сопряжении ЭР и АГ, можно считать транспортной формой [24], обеспечивающей выход вируса из заражённых нейронов на поздних сроках инфекционного процесса. Таким образом, в отличие от эпителиальных клеток культуры, в цитозоле нейроцитов удалось проследить свободную миграцию вирусов, массовый выход которых возможен при достижении критических параметров и гибели клетки.

Для системной оценки изменений нейронов и глии проводили морфометрический анализ клеточных популяций (табл. 1). Установлено, что через трое суток после заражения в неокортексе возрастает количество умеренно гиперхромных нейронов, тогда как к 7-м суткам значимо увеличивается количество апоптотически изменённых клеток (рис. 1 б), по-видимому, как результат глубокой вирус-ассоциированной перестройки метаболизма, сохранявшейся до окончания периода наблюдения. В эти же сроки прослеживали нарастание представительства атипичной глии и признаков нейрофагии.

Репродукция вируса

Ультраструктурный анализ неокортекса заражённых SARS-CoV-2 животных выявил формирование вирусных «фабрик». Их наличие отмечали преимущественно в нейронах, глиоцитах и эпендимоцитах (рис. 2). Причем в последних формирование вирусных частиц прослеживали с участием шероховатого ЭР, тогда как в нейронах и глиоцитах вирусные «фабрики» сформированы на основе АГ, что подтверждают и другие авторы [25]. Вирусные «фабрики» всегда ассоциированы с митохондриями (Мх), обеспечива-

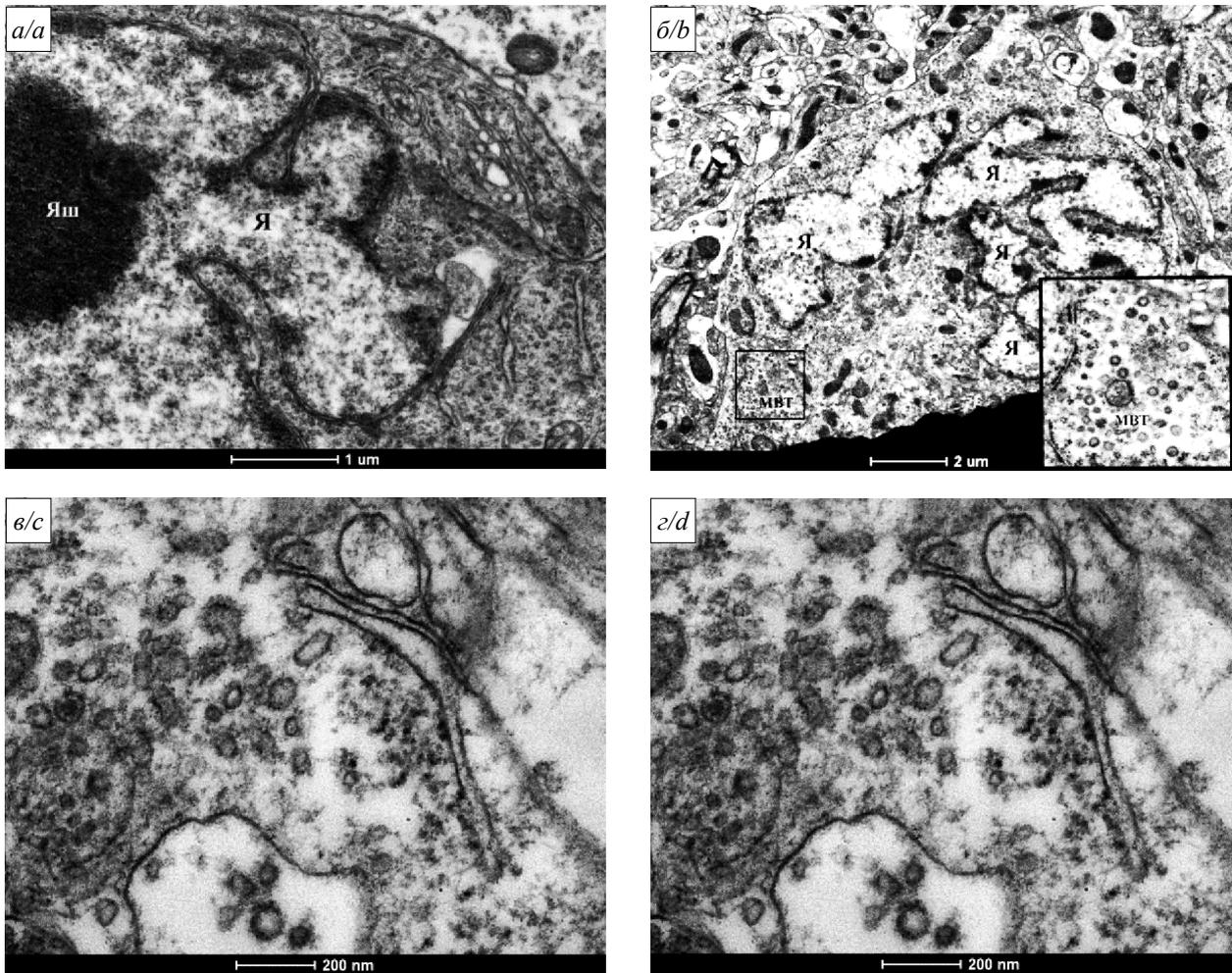


Рис. 1. Ультраструктурные изменения неокортекса сирийских хомяков после заражения SARS-CoV-2 4×10^4 ТЦД₅₀/мл (26 мкл/особь интраназально): *a* – умеренно гиперхромный нейрон с деформированным контуром ядра (+), крупным ядрышком (Яш) и скоплением РНК-позитивного материала в цитоплазме; *b* – апоптоз нейрона на стадии фрагментации ядра, на вклейке – большое скопление вирусов; *c* – вирусные частицы в терминальных участках неравномерно расширенных канальцев эндоплазматического ретикулума; *d* – фрагмент дендрита с мультивезикулярными тельцами (МВТ), содержащий вирионы. Электронограммы. Увеличения: *a* – 16 500; *b* – 6000; вклейка – 17 000; *c*, *d* – 60 000.

Fig. 1. Changes in neocortical cells of Syrian hamsters after SARS-CoV-2 infection at a dose of 4×10^4 TCID₅₀/ml (26 μ l/individual, intranasally): *a* – moderately hyperchromic neuron with a deformed nucleus contour, a large nucleolus and accumulation of RNA-positive material in the cytoplasm; *b* – apoptosis of a neuron at the stage of nuclear fragmentation, on the insert – a large accumulation of viruses; *c* – in the terminal sections of unevenly dilated tubules of the ER there are viral particles; *d* – A fragment of a dendrite with an MBT containing virions. Electronograms. Magnifications: *a* – 16,500x; *b* – 6000x; insert – 17,000x; *c*, *d* – 60,000x.

ющими процесс репродукции вируса энергетически, а также, возможно, триггерными сигналами.

Следует отметить, что персистенция вируса в паренхиме мозга на первых этапах инфекционного процесса не приводит к существенным дистрофическим изменениям нейронов и глиоцитов, а напротив, поддерживает уровень их усиленной пластической и необходимой энергетической активности. Вирусные «фабрики» в нейронах неокортекса прослеживали до 28 суток, когда в ткани лёгких ПЦР-методами вирус уже не определялся [26, 27].

Аутоиммунная агрессия и демиелинизация

Помимо повреждения нейритов и глиоцитов, прослеживали изменения миелиновых волокон. Осевые

цилиндры нередко соответствовали вариантам валлеровского перерождения с тёмной дегенерацией и распадом аксонов погибших нейронов. С большей частотой демиелинизация прослежена без дегенерации нейритов как самостоятельный патологический процесс, опосредованный повреждением олигодендроцитов (рис. 3). Прослеживали расширение узлов перехватов Ранвье и отслоение формирующих междоузлия миелиновых ламелл. Деструкция миелиновых оболочек проявлялась в расслоении и разволокнении ламелл, зернистом и везикулярном распаде миелина. Частота наблюдений дегенерации миелинового аппарата возрастала со временем наблюдения, что коррелировало с увеличением количества гиперхромных вакуолизованных олигодендроцитов к 28-м суткам

Таблица 1. Состав популяций нейронов и глии в неокортексе сирийских хомяков после заражения SARS-CoV-2 4×10⁴ ТЦД₅₀/мл (26 мкл/особь интраназально), Me [Q₁; Q₃], %

Table 1. The neuronal and glial cell composition of the Syrian hamsters neocortex after SARS-CoV-2 infection with 4×10⁴ TCID₅₀/ml (26 μl/individual, intranasally), Me [Q₁; Q₃], %

Популяция клеток Cell population	Характеристика Characteristic	Продолжительность наблюдения (группа) Observation period (group)			
		Контроль Control (n = 9)	3 суток 3 days (n = 5)	7 суток 7 days (n = 5)	28 суток 28 days (n = 5)
Нейроны Neurons	Нормохромные Normochromic	75,5 [70,1; 85,0]	71,3 [57,1; 73,3]	79,0 [78,0; 86,5]	67,8 [63,5; 78,1]
	Умеренно гиперхромные Moderately hyperchromic	13,8 [7,9; 15,7]	17,2* [16,6; 19,1]	12,3 [7,3; 14,9]	12,4 [11,3; 14,2]
	Гиперхромные Hyperchromic	7,6 [4,4; 13,7]	10,1 [8,0; 25,4]	6,8 [6,0; 7,9]	14,1 [12,3; 22,7]
	Апоптотические Apoptotic	0,4 [0,3; 0,8]	0 [0; 7,1]	5,6* [3,1; 5,9]	6,4* [2,7; 7,1]
	Парные Twin	17,4 [15,7; 18,3]	19,1 [14,7; 19,3]	20,9 [16,1; 21,4]	17,0 [10,6; 20,0]
	Прилежащие к базальной мембране Adjacent to basement membrane	1,7 [0,8; 2,1]	3,3* [2,3; 5,5]	2,4 [1,7; 2,6]	1,4 [1,2; 3,1]
	Олигодендроциты Oligodendrocytes	Нормохромные Normochromic	80,9 [74,0; 89,0]	84,2 [82,8; 87,9]	81,3 [35,5; 84,2]
Гиперхромные Hyperchromic		7,7 [1,3; 11,5]	10,3 [9,1; 10,5]	7,9 [0; 21,0]	17,5* [15,0; 18,8]
Апоптотические Apoptotic		10,0 [7,2; 12,3]	5,3 [3,0; 6,9]	18,8 [7,9; 33,3]	12,5 [9,3; 20,0]
Астроциты Astrocytes	Нормохромные Normochromic	95,1 [89,2; 100]	95,6 [94,4; 98,2]	94,7 [94,1; 95,1]	100,0 [97,6; 100]
	Гиперхромные Hyperchromic		Не прослежены Not traced		
	Апоптотические Apoptotic	4,9 [0; 9,8]	2,8 [1,8; 4,4]	5,3 [4,9; 5,9]	0 [0; 2,4]
Атипичные глиоциты Atypical gliocytes	3,6 [1,4; 7,1]	11,3* [7,1; 11,6]	8,6* [7,5; 11,0]	4,7 [1,4; 5,0]	

Примечание. *Различия статистически значимы по сравнению с группой контроля (H-критерий Краскела–Уоллиса, $p < 0,05$).

Note. *The differences are statistically significant compared to control group (Kruskal–Wallis H test, $p < 0.05$).

после заражения, по-видимому, связанным с аутоиммунным повреждением этих клеток. Элиминация заражённых олигодендроцитов к окончанию периода наблюдения, вероятно, также опосредована аутоиммунным конфликтом.

Изменения гематоэнцефалического барьера

Нейроны и глиоциты представляют вариант барьерных популяций клеток, поражение которых подтверждает способность вируса поражать укрытые от прямого иммунного контроля структуры. Для косвенной характеристики функциональной активности формирующих гематоэнцефалический барьер микрососудов неокортекса оценивали профиль базальной мембраны (БМ), степень нарушения её регулярной коллагеновой структуры и состояние периваскулярных отростков астроцитов (табл. 2). Установлено, что вирусная инвазия сопровождается спазмом микрососудов с извилистым профилем БМ и участками периваскулярных отёков уже на 3-и – 7-е сутки после заражения.

По-видимому, эти изменения, наряду с выявленным в некоторых случаях тромбозом (рис. 4), способствуют гипоксии тканей, что подтверждает значимое увеличение к этому времени количества гиперхромных и умеренно гиперхромных нейронов, взаимодействующих с БМ сосудов без глиальных посредников. Компенсаторные изменения сопряжены с активацией «спящих» резервных сосудов, количество которых сокращается начиная с 7-х суток и до окончания наблюдения.

Прослеженные электронно-микроскопические изменения структур неокортекса не позволяют относиться к COVID-19 исключительно как к респираторной инфекции. Подобно вирусу геморрагической лихорадки Эбола, пролиферация которого также происходит в головном мозге [28], применительно к SARS-CoV-2 прослежено значение этой системы в вирусной репродукции и накоплении, что ввиду особенностей проницаемости гематоэнцефалического барьера определяет сложности проведения противовирусной химиотерапии.

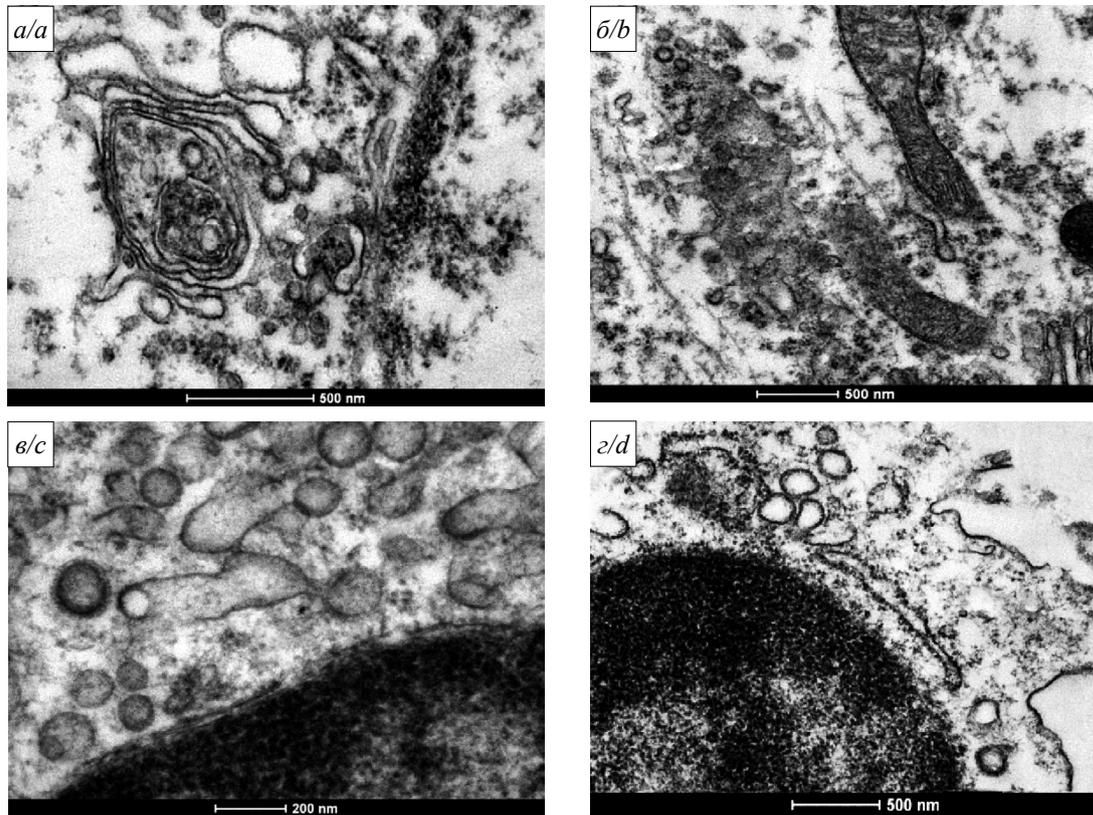


Рис. 2. Варианты вирусных «фабрик» в неокортексе сирийских хомяков после заражения SARS-CoV-2 4×10^4 ТЦД₅₀/мл (26 мкл/особь интраназально): *a* – вирусные «фабрики», сформированные в нейронах комплексом Гольджи; *b* – в дендритах нейронов «фабрики» сформированы аппаратом Гольджи и шероховатым эндоплазматическим ретикуломом уже на 3-и сутки инфицирования; в эпендимоцитах (*в*) и эндотелии пияльных сосудов (*д*) вирусный процессинг в основном задействует структуры эндоплазматического ретикулума. Электронограммы. Увеличения: *a* – 43 000; *b* – 26 500; *в* – 60 000; *д* – 26 500.

Fig. 2. Viral factory variants in the Syrian hamsters neocortex after SARS-CoV-2 infection with 4×10^4 TCID₅₀/ml (26 μ l/individual, intranasally): *a* – viral factories formed by the Golgi complex in neurons; *b* – in neuronal dendrites factory formed by the Golgi complex and the endoplasmic reticulum structures on the day 3 post-infection; in ependymocytes (*c*) and endothelium of pial blood vessels (*d*) viral processing mainly involves the endoplasmic reticulum structures. Electronograms. Magnifications: *a* – 43,000; *b* – 26,500; *c* – 60,000; *d* – 26,500.

Таблица 2. Изменения микрососудов неокортекса сирийских хомяков после заражения SARS-CoV-2 4×10^4 ТЦД₅₀/мл (26 мкл/особь интраназально), Me [Q₁; Q₃], %

Table 2. Microvascular changes in the Syrian hamsters neocortex after SARS-CoV-2 infection with 4×10^4 TCID₅₀/ml (26 μ l/individual, intranasally), Me [Q₁; Q₃], %

Состояние сосуда Condition of the vessel	Периваскулярное пространство Perivascular space	Продолжительность наблюдения (группа)/ Observation period (group)			
		Контроль/Control (n = 9)	3 суток/3 days (n = 5)	7 суток/7 days (n = 5)	28 суток/28 days (n = 5)
Норма Normal	Без отёка /Without edema	40,6 [35,2; 46,1]	31,2 [27,4; 32,8]	15,0* [14,8; 16,8]	18,9* [17,8; 20,5]
	С отёком/With edema	19,6 [16,4; 23,8]	19,4 [15,8; 19,8]	26,7* [26,3; 28,8]	27,3* [26,3; 32,2]
Констрикция Constriction	Без отёка/Without edema	7,5 [6,5; 8,5]	12,9* [10,8; 14,5]	7,5 [6,6; 8,9]	6,8 [4,0; 9,0]
	С отёком/With edema	21,6 [15,8; 25,5]	26,7 [23,2; 29,0]	39,6* [38,8; 42,6]	34,7 [33,1; 40,2]
Дилатация Dilatation	Без отёка/Without edema	Не прослежены/Not traced			
	С отёком/With edema	В единичном количестве на 7-е сутки после заражения/ In a single amount at day 7 post-infection			
«Спящие» Dormant	Без отёка/Without edema	5,1 [3,2; 6,7]	4,8 [4,3; 6,9]	4,0* [3,4; 5,0]	1,5* [1,5; 1,9]
	С отёком/With edema	2,8 [2,2; 4,4]	4,8 [3,1; 5,4]	3,0 [1,6; 6,3]	6,8* [5,0; 11,0]
Итого сосудов с отёком БМ Total vessels with edema of basal membrane		43,9 [37,5; 52,0]	53,8 [49,6; 56,0]	72,5* [70,3; 77,0]	69,7* [67,8; 77,2]

Примечание. *Различия статистически значимы по сравнению с группой контроля (H-критерий Краскела–Уоллиса, $p < 0,05$).

Note. *The differences are statistically significant compared to control group (Kruskal–Wallis H test, $p < 0.05$).

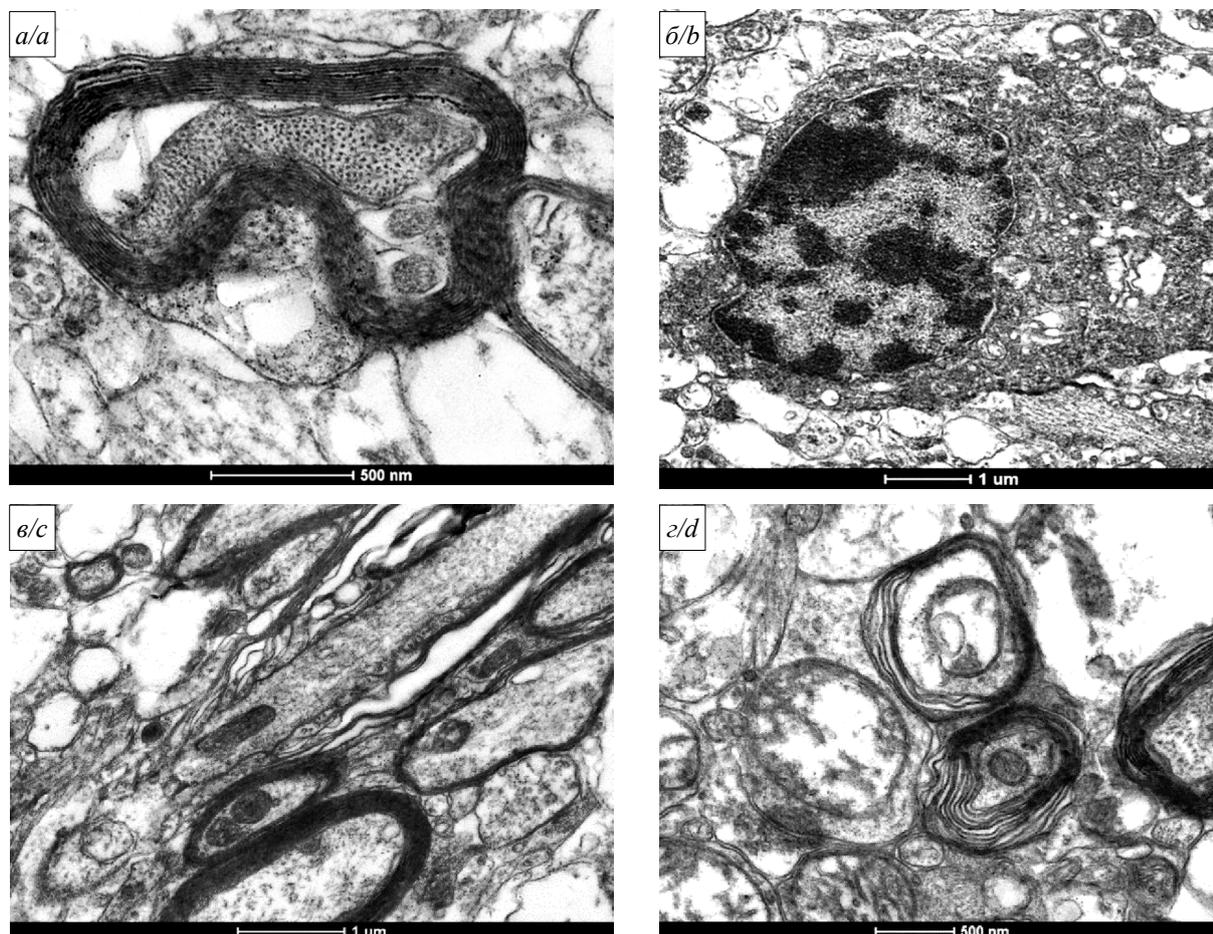


Рис. 3. Повреждение олигодендроцитов и миелинового аппарата в неокортексе сирийских хомяков на 7-е сутки после заражения SARS-CoV-2 4×10^4 ТЦД₅₀/мл (26 мкл/особь интраназально): *a* – проявления валлеровского перерождения с тёмной дегенерацией нейрита; *b* – апоптоз олигодендроцита на стадии фрагментации ДНК; *в* – дезорганизация миелинового аппарата в зоне перехвата Ранвье; *г* – расслоение ламелл миелиновой оболочки. Электронограммы. Увеличения: *a* – 43 000; *b* – 11 500; *в* – 16 500; *г* – 26 500.

Fig. 3. Damage to oligodendrocytes and myelin apparatus in the Syrian hamsters neocortex on the day 7 post-infection with SARS-CoV-2 in 4×10^4 TCID₅₀/ml dosage (26 μ l/individual, intranasally): *a* – Wallerian degeneration manifestations with dark neurite degeneration; *b* – oligodendrocyte apoptosis at the stage of DNA fragmentation; *c* – desorganisation of myelin in the zone of interception of Ranvier; *d* – stratification of the lamellae of the myelin sheath. Electronograms. Magnifications: *a* – 43,000; *b* – 11,500; *c* – 16,500; *d* – 26,500.

Заключение

Проведённое ЭМИ предоставило важную информацию для формирования подходов к терапии новой коронавирусной инфекции. Забарьерное персистирование вируса объяснило формирование когнитивных нарушений и расстройств внимания у реконвалесцентов COVID-19. Формирующиеся демиелинизирующие процессы, сопряжённые, по-видимому, с иммунным контролем и элиминацией контаминированных вирусом глиальных клеток, определяют болевые проявления и мигрирующие нарушения двигательной активности. Принципиально важно, что большинство применяемых антиметаболитов синтеза РНК и блокаторов вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы представляют достаточно гидрофильные соединения, а их способность воздействовать на вирусную продукцию

в нервной ткани весьма ограничена. Это обстоятельство определяет необходимость проведения дальнейшего дизайна молекул лекарств, создания универсальных и безопасных в применении противовирусных средств. Вместе с тем прослеженная роль АГ определяет возможность влияния на гликозилирование как вирусных белков, так и их мишеней на поверхности клеток, что, вероятно, и достигалось посредством применения гидроксихлорохина и его производных [1, 29], показавших свою эффективность в попытках ранней краткосрочной терапии COVID-19 [30].

Таким образом, результаты проведённого морфологического анализа компартиментализации метаболических процессов могут быть применены для выявления механизмов протекания инфекции SARS-CoV-2 и поиска направлений разработки новых лекарственных средств.

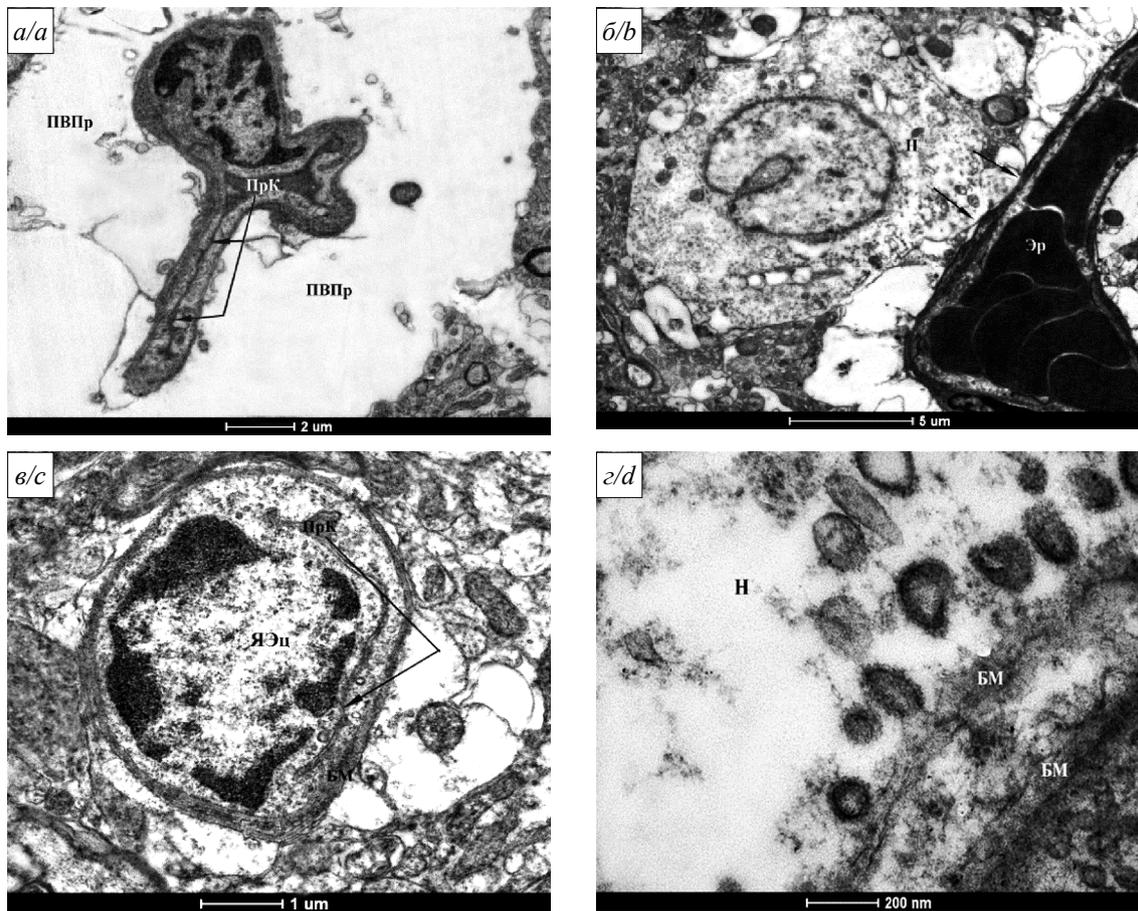


Рис. 4. Структурные изменения гематоэнцефалического барьера в неокортексе сирийских хомяков после заражения SARS-CoV-2 4×10^4 ТЦД₅₀/мл (26 мкл/особь интраназально): *a* – спазмированный капилляр с отёчным периваскулярным пространством (ПВПр); *b* – прямой контакт (стрелки) нейрона (Н) с микрососудом, заполненным эритроцитами (Эр); *в* – спящий резервный капилляр, просвет (ПрК) которого перекрыт ядром эндотелиоцита (ЯЭц); *з* – вирусные тельца проникают в нейрон (Н), преодолевая базальную мембрану (БМ) сосуда. Электронограммы. Увеличения: *a* – 6000; *b* – 4200; *в* – 11 500; *з* – 60 000.

Fig. 4. Structural changes in the blood-brain barrier in the neocortex of Syrian hamsters after infection with SARS-CoV-2 4×10^4 TCID₅₀/ml (26 μ l/individual intranasally): *a* – spasmotic capillary with edematous perivascular space (PVPR); *b* – direct contact (arrows) of a neuron (N) filled with erythrocyte (ER) microvessel; *c* – dormant reserve capillary, the lumen (PRC) of which is blocked by the endotheliocyte nucleus (NEC); *d* – viral bodies penetrate into the neuron (N), overcoming the basement membrane (BM) of the vessel. Electronograms. Magnifications: *a* – 6000; *b* – 4200; *c* – 11,500; *d* – 60,000.

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 современной биологии*. 2020; 140(4): 359–77. <https://doi.org/10.31857/S0042132420040043>
2. Machhi J., Herskovitz J., Senan A.M., Dutta D., Nath B., Oleynikov M.D., et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2020; 15(3): 359–86. <https://doi.org/10.1007/s11481-020-09944-5>
3. Харченко Е.П. Коронавирус SARS-CoV-2: особенности структурных белков, контагиозность и возможные иммунные коллизии. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2020; 19(2): 13–30. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30>
4. Бруякин С.Д., Макаревич Д.А. Структурные белки коронавируса SARS-CoV-2: роль, иммуногенность, суперантигенные свойства и возможности использования для терапевтических целей. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2021; (2): 18–27. [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-2\(78\)-18-27](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-2(78)-18-27)
5. Пашенков М.В., Хайтов М.Р. Иммунный ответ против эпидемических коронавирусов. *Иммунология*. 2020; 41(1): 5–18. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-1-5-18>
6. Pan Y., Li X., Yang G., Fan J., Tang Y., Zhao J., et al. Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *J. Infect.* 2020; 81(1): e28–32. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.051>
7. Rodriguez Y., Novelli L., Rojas M., De Santis M., Acosta-Ampudia Y., Monsalve DM., et al. Autoinflammatory and autoimmune conditions at the crossroad of COVID-19. *J. Autoimmun.* 2020; 114: 102506. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102506>
8. Nalbandian A., Sehgal K., Gupta A., Madhavan M.V., McGroder C., Stevens J.S., et al. (2021). Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat. Med.* 2021; 27(4): 601–15. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z>
9. Mao L., Jin H., Wang M., Hu Y., Chen S., He Q., et al. Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol.* 2020; 77(6): 683–690. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.1127>
10. Pinna P., Grewal P., Hall J.P., Tavarez T., Dafer R.M., Garg R., et al. Neurological manifestations and COVID-19: Experiences from a tertiary care center at the Frontline. *Journal of the neurological sciences*. *J. Neurol. Sci.* 2020; 415: 116969. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116969>
11. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z., et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wu-

- han, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395(10229): 1054–62. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
12. Xiao A.T., Gao C., Zhang S. Profile of specific antibodies to SARS-CoV-2: The first report. *J. Infect.* 2020; 81(1): 147–78. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.012>
 13. Logunov D.Y., Dolzhikova I.V., Shcheblyakov D.V., Tukhvatulin A.I., Zubkova O.V., Dzharrullaeva A.S., et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*. 2021; 397(10275): 671–81. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8)
 14. Jones I., Roy P. Sputnik V COVID-19 vaccine candidate appears safe and effective. *Lancet*. 2021; 397(10275): 642–3. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00191-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00191-4)
 15. Dassarma B., Tripathy S., Matsabisa M. Emergence of ancient convalescent plasma (CP) therapy: to manage COVID-19 pandemic. *Transfus. Clin. Biol.* 2021; 28(1): 123–127. <https://doi.org/10.1016/j.tacl.2020.11.004>
 16. Chakraborty C., Sharma A.R., Sharma G., Bhattacharya M., Lee S.S. SARS-CoV-2 causing pneumonia-associated respiratory disorder (COVID-19): diagnostic and proposed therapeutic options. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2020; 24(7): 4016–26. https://doi.org/10.26355/eurrev_202004_20871
 17. Wu X., Yu K., Wang Y., Xu W., Ma H., Hou Y., et al. Efficacy and safety of Triazavirin therapy for coronavirus disease 2019: a pilot randomized controlled trial. *Engineering (Beijing)*. 2020; 6(10): 1185–91. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.08.011>
 18. Chan J.F.W., Zhang A.J., Yuan S., Poon V.K.M., Chan C.C.S., Lee A.C.Y., et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71(9): 2428–46. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa325>
 19. Taştan C., Yurtsever B., Sir Karakuş G., Dilek Kancağı D., Demir S., Abanuz S., et al. SARS-CoV-2 isolation and propagation from Turkish COVID-19 patients. *Turk. J. Biol.* 2020; 44(3): 192–202. <https://doi.org/10.3906/biy-2004-113>
 20. Yao P., Zhang Y., Sun Y., Gu Y., Xu F., Su B., et al. Isolation and growth characteristics of SARS-CoV-2 in vero cell. *Virol. Sin.* 2020; 35(3): 348–50. <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00241-2>
 21. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hygiene*. 1938; 27: 493–7. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408>
 22. Макаренко И.Е., Авдеева О.И., Ванатиев Г.В., Рыбакова А.В., Ходько С.В., Макарова М.Н. и др. Возможные пути и объемы введения лекарственных средств лабораторным животным. *Международный вестник ветеринарии*. 2013; (3): 72–84.
 23. Гайер Г., ред. *Электронная гистохимия*. Пер. с нем. М.: Мир; 1974.
 24. Saraste J., Prydz K. Assembly and cellular exit of coronaviruses: hijacking an unconventional secretory pathway from the pre-Golgi intermediate compartment via the golgi ribbon to the extracellular space. *Cells*. 2021; 10(3): 503. <https://doi.org/10.3390/cells10030503>
 25. Hackstadt T., Chiramel A.I., Hoyt F.H., Williamson B.N., Dooley C.A., Beare P.A., et al. Disruption of the Golgi apparatus and contribution of the endoplasmic reticulum to the SARS-CoV-2 replication complex. *Viruses*. 2021; 13(9): 1798. <https://doi.org/10.3390/v13091798>
 26. Чепур С.В., Мясников В.А., Тюнин М.А., Ильинский Н.С., Нишкин А.С., Исаева А.А. и др. Модель новой коронавирусной инфекции у золотистых сирийских хомячков: основные патологические изменения. *Биомедицина*. 2021; 17(3): 90–4. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-90-94>
 27. Чепур С.В., Тюнин М.А., Мясников В.А., Алексева И.И., Владимиров О.О., Ильинский Н.С. и др. Поражение органов и тканей SARS-CoV-2: биологическая модель на сирийских хомяках *Mesocricetus auratus* для экспериментальных (доклинических) исследований. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2021; 10(4): 25–34. <https://doi.org/10.31088/CEM2021.10.4.25-34>
 28. Billieux B.J., Smith V., Nath A. Neurological complications of Ebola virus infection. *Neurotherapeutics*. 2016; 13(3): 461–70. <https://doi.org/10.1007/s131311-016-0457-z>
 29. Чепур С.В., Плужников Н.Н., Сайганов С.А., Бакулина Л.С., Чубарь О.В., Юдин М.А. и др. Гипотеза матричного синтеза аперидических полисахаридов. *Успехи современной биологии*. 2019; 139(6): 583–93. <https://doi.org/10.1134/S0042132419060012>
 30. Sinha N., Balayla G. Hydroxychloroquine and COVID-19. *Postgrad. Med. J.* 2020; 96(1139): 550–5. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-137785>

REFERENCES

1. 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. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2020; 140(4): 359–77. <https://doi.org/10.31857/S0042132420040043> (in Russian)
2. Machhi J., Herskovitz J., Senan A.M., Dutta D., Nath B., Oleynikov M.D., et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2020; 15(3): 359–86. <https://doi.org/10.1007/s11481-020-09944-5>
3. Kharchenko E.P. The coronavirus SARS-CoV-2: the characteristics of structural proteins, contagiousness, and possible immune collisions. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*. 2020; 19(2): 13–30. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-2-13-30> (in Russian)
4. Bruyakin S.D., Makarevich D.A. Structural proteins of the SARS-CoV-2 coronavirus: role, immunogenicity, superantigenic properties and potential use for therapeutic purposes. *Vestnik Volgogradskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2021; (2): 18–27. [https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-2\(78\)-18-27](https://doi.org/10.19163/1994-9480-2021-2(78)-18-27) (in Russian)
5. Pashchenkov M.V., Khaitov M.R. Immune response against epidemic coronaviruses. *Immunologiya*. 2020; 41(1): 5–18. <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-1-5-18> (in Russian)
6. Pan Y., Li X., Yang G., Fan J., Tang Y., Zhao J., et al. Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *J. Infect.* 2020; 81(1): e28–32. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.051>
7. Rodriguez Y., Novelli L., Rojas M., De Santis M., Acosta-Ampudia Y., Monsalve DM., et al. Autoinflammatory and autoimmune conditions at the crossroad of COVID-19. *J. Autoimmun.* 2020; 114: 102506. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102506>
8. Nalbandian A., Sehgal K., Gupta A., Madhavan M.V., McGroder C., Stevens J.S., et al. (2021). Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat. Med.* 2021; 27(4): 601–15. <https://doi.org/10.1038/s41591-021-01283-z>
9. Mao L., Jin H., Wang M., Hu Y., Chen S., He Q., et al. Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurol.* 2020; 77(6): 683–690. <https://doi.org/10.1001/jamaneuro.2020.1127>
10. Pinna P., Grewal P., Hall J.P., Tavarez T., Dafer R.M., Garg R., et al. Neurological manifestations and COVID-19: Experiences from a tertiary care center at the Frontline. *Journal of the neurological sciences*. *J. Neurol. Sci.* 2020; 415: 116969. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116969>
11. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., Liu Y., Liu Z., et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395(10229): 1054–62. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)
12. Xiao A.T., Gao C., Zhang S. Profile of specific antibodies to SARS-CoV-2: The first report. *J. Infect.* 2020; 81(1): 147–78. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.012>
13. Logunov D.Y., Dolzhikova I.V., Shcheblyakov D.V., Tukhvatulin A.I., Zubkova O.V., Dzharrullaeva A.S., et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet*. 2021; 397(10275): 671–81. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00234-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00234-8)
14. Jones I., Roy P. Sputnik V COVID-19 vaccine candidate appears safe and effective. *Lancet*. 2021; 397(10275): 642–3. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00191-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00191-4)
15. Dassarma B., Tripathy S., Matsabisa M. Emergence of ancient convalescent plasma (CP) therapy: to manage COVID-19 pandemic. *Transfus. Clin. Biol.* 2021; 28(1): 123–127. <https://doi.org/10.1016/j.tacl.2020.11.004>
16. Chakraborty C., Sharma A.R., Sharma G., Bhattacharya M., Lee S.S. SARS-CoV-2 causing pneumonia-associated respiratory disorder (COVID-19): diagnostic and proposed therapeutic options. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2020; 24(7): 4016–26. https://doi.org/10.26355/eurrev_202004_20871

17. Wu X., Yu K., Wang Y., Xu W., Ma H., Hou Y., et al. Efficacy and safety of Triazavirin therapy for coronavirus disease 2019: a pilot randomized controlled trial. *Engineering (Beijing)*. 2020; 6(10): 1185–91. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2020.08.011>
18. Chan J.F.W., Zhang A.J., Yuan S., Poon V.K.M., Chan C.C.S., Lee A.C.Y., et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71(9): 2428–46. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa325>
19. Taştan C., Yurtsever B., Sir Karakuş G., Dilek Kançağı D., Demir S., Abanuz S., et al. SARS-CoV-2 isolation and propagation from Turkish COVID-19 patients. *Turk. J. Biol.* 2020; 44(3): 192–202. <https://doi.org/10.3906/biy-2004-113>
20. Yao P., Zhang Y., Sun Y., Gu Y., Xu F., Su B., et al. Isolation and growth characteristics of SARS-CoV-2 in vero cell. *Viol. Sin.* 2020; 35(3): 348–50. <https://doi.org/10.1007/s12250-020-00241-2>
21. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hygiene.* 1938; 27: 493–7. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a118408>
22. Makarenko I.E., Avdeeva O.I., Vanatiev G.V., Rybakova A.V., Khod'ko S.V., Makarova M.N., et al. Possible ways of administration and standard drugs in laboratory animals. *Mezhdunarodnyy vestnik veterinarii*. 2013; (3): 72–84. (in Russian)
23. Gayer G., ed. *Ultrahistochemie*. Stuttgart-New York: Fischer Verlag; 1973. (in German)
24. Saraste J., Prydz K. Assembly and cellular exit of coronaviruses: hijacking an unconventional secretory pathway from the pre-Golgi intermediate compartment via the golgi ribbon to the extracellular space. *Cells*. 2021; 10(3): 503. <https://doi.org/10.3390/cells10030503>
25. Hackstadt T., Chiramel A.I., Hoyt F.H., Williamson B.N., Dooley C.A., Beare P.A., et al. Disruption of the Golgi apparatus and contribution of the endoplasmic reticulum to the SARS-CoV-2 replication complex. *Viruses*. 2021; 13(9): 1798. <https://doi.org/10.3390/v13091798>
26. Chepur S.V., Myasnikov V.A., Tyunin M.A., Il'inskiy N.S., Nikishin A.S., Isaeva A.A., et al. A model of a novel coronavirus infection in golden Syrian hamsters: major pathological changes. *Biomeditsina*. 2021; 17(3): 90–4. <https://doi.org/10.33647/2074-5982-17-3-90-94> (in Russian)
27. Chepur S.V., Tyunin M.A., Myasnikov V.A., Alekseeva I.I., Vladimirova O.O., Il'inskiy N.S., et al. Organ and tissue damage related to SARS-CoV-2: the biological model for experimental (preclinical) trials on golden hamsters *Mesocricetus auratus*. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya*. 2021; 10(4): 25–34. <https://doi.org/10.31088/CEM2021.10.4.25-34> (in Russian)
28. Billioux B.J., Smith B., Nath A. Neurological complications of Ebola virus infection. *Neurotherapeutics*. 2016; 13(3): 461–70. <https://doi.org/10.1007/s131311-016-0457-z>
29. Chepur S.V., Pluzhnikov N.N., Sayganov S.A., Bakulina L.S., Chubar' O.V., Yudin M.A., et al. The hypothesis of the aperiodic polysaccharides matrix synthesis. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2019; 139(6): 583–93. <https://doi.org/10.1134/S0042132419060012> (in Russian)
30. Sinha N., Balayla G. Hydroxychloroquine and COVID-19. *Postgrad. Med. J.* 2020; 96(1139): 550–5. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-137785>