

ОБЗОРЫ

© Коллектив авторов, 2020



SARS, снова SARS и MERS. Обзор животных моделей респираторных синдромов человека, вызываемых коронавирусными инфекциями

Нагорных А.М.[✉], Тюменцев А.И., Тюменцева М.А., Акимкин В.Г.

ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора,
111123, Москва, Россия

Крупные вспышки респираторных синдромов человека, вызываемых коронавирусными инфекциями, с начала XXI в. стали причиной гибели более миллиона человек на планете. Несмотря на то что первая волна коронавирусной инфекции случилась еще в 2002 г., до сегодняшнего дня не существует ни одной адекватной животной модели, одновременно удовлетворяющей потребности научного сообщества в воспроизведении патогенеза, клинических проявлений, иммуногенности, разработке и испытании средств специфической профилактики и терапии тяжелого острого респираторного синдрома, ближневосточного респираторного синдрома и коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19).

Цель работы — представить актуальную информацию по известным животным моделям респираторных синдромов человека, вызываемых коронавирусными инфекциями, и акцентировать внимание читателя на их адекватности, заключающейся в максимально точной имитации клинических признаков и патоморфологических изменений.

Ключевые слова: *коронавирус; SARS-CoV; MERS-CoV; SARS-CoV-2; животные модели; обзор.*

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Нагорных А.М., Тюменцев А.И., Тюменцева М.А., Акимкин В.Г. SARS, снова SARS и MERS. Обзор животных моделей респираторных синдромов человека, вызываемых коронавирусными инфекциями. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97(5): 431–444.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-6>

Поступила 16.07.2020
Принята в печать 28.08.2020

SARS, SARS again, and MERS. Review of animal models of human respiratory syndromes caused by coronavirus infections

Aleksey M. Nagornykh[✉], Alexander I. Tyumentsev, Marina A. Tyumentseva, Vasily G. Akimkin

Central Research Institute of Epidemiology, 111123, Moscow, Russia

Since the beginning of the 21st century, major outbreaks of human respiratory syndromes caused by coronavirus infections have caused more than million deaths on the planet. Despite the fact that the first wave of the coronavirus infection took place back in 2002, even now there is not any adequate animal model that would meet the needs of the scientific community for reproducing the pathogenesis, clinical manifestations, immunogenicity, development and testing of preventive and therapeutic compounds specific to Severe Acute Respiratory Syndrome, Middle East Respiratory Syndrome, and Coronavirus Disease 2019 (COVID-19).

The purpose of the study is to provide relevant information on known animal models of human respiratory syndromes caused by coronavirus infections and to focus the reader's attention on their adequacy, which consists in the most accurate imitation of clinical signs and pathomorphological changes.

Keywords: *coronavirus; SARS-CoV; MERS-CoV; SARS-CoV-2; animal models, review.*

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Nagornykh A.M., Tyumentsev A.I., Tyumentseva M.A., Akimkin V.G. SARS, SARS again, and MERS. Review of animal models of human respiratory syndromes caused by coronavirus infections. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology = Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii*. 2020; 97(5): 431–444. (In Russ.).
 DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-6>

Received 16 July 2020
 Accepted 28 August 2020

Введение

Всемирную печальную известность коронавирусы получили вследствие регистрации вспышки заболевания, случившейся в южных провинциях КНР в 2002 г. Тогда уровень инфицированности человеческой популяции, по мнению некоторых политических деятелей, не принял угрожающих масштабов в связи с низким уровнем информирования властями КНР компетентных подразделений Всемирной организации здравоохранения. За 2002–2003 гг. вспышка тяжелого острого респираторного синдрома (severe acute respiratory syndrome, SARS) унесла жизни 774 человек, что составило 9,6% от общего числа заболевших (8096 лабораторно подтвержденных диагнозов) [1]. Причиной вспышки заболевания посчитали гастрономические предпочтения населения: в южных регионах КНР является традиционным употребление в пищу мяса гималайских цивет (*Paguma larvata*), енотовидных собак (*Nyctereutes procyonoides*), домашних кошек (*Felis catus*), обыкновенных лисиц (*Vulpes vulpes*), китайских барсуков (*Melogale moschata*) и других аборигенных представителей фауны. В населенных пунктах КНР существуют рынки, на которых осуществляется продажа указанных видов животных — как свободно живущих, так и размножающихся на специальных фермах. Именно у персонала, работающего на этих рынках, а также у посетителей данных торговых точек были зафиксированы первые случаи заболевания, получившего известность как «атипичная пневмония».

Следующим очагом коронавирусной инфекции с острым респираторным синдромом оказался Ближний Восток. В 2012 г. коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (Middle East respiratory syndrome, MERS-CoV) был выделен у жителя Саудовской Аравии, а позже были зарегистрированы случаи еще в 20 государствах мира. За 2012–2013 гг. были выявлены более 1900 случаев заражения MERS-CoV, 36% которых окончились летальным исходом [2]. При этом точный путь передачи вируса окончательно не ясен, а патологоанатомические данные умерших от MERS отсутствуют. На сегодняшний день рабочей версией передачи MERS-CoV считается контакт человека с верблюдом. Верблюды же, в свою очередь, заражаются от летучих мышей родов *Pipistrellus* и *Nycteris*, хотя

путь передачи вируса от рукокрылых, являющихся насекомоядными животными, верблюдам также остается не выясненным.

В третий раз коронавирус проявил себя опять же в южных провинциях КНР в ноябре 2019 г. Возбудитель имел сходные с SARS-CoV признаки, поэтому получил название SARS-CoV-2. С момента регистрации первых случаев заражения до сегодняшнего времени в мире зафиксировано почти 40 млн случаев, около 1,1 млн из которых окончились летальным исходом¹.

Коронавирусы широко распространены среди представителей животного мира. Они приспособились к тому, чтобы поражать множество видов животных, включая птиц, представителей семейств кошачьих и псовых, копытных, мышей, китообразных, приматов, хорьков и верблюдов. Описаны сотни коронавирусов, которые подразделяются на четыре генетически разных рода: альфа и бета поражают в основном млекопитающих, в то время как гамма и дельта инфицируют преимущественно птиц [3]. У домашних животных среди возбудителей коронавирусной инфекции можно выделить альфа-, бета- и дельта-коронавирусы [4].

Альфа-коронавирусы поражают собак (кишечная форма), кошек, свиней (трансмиссивный гастроэнтерит), норок и хорьков (кишечная и системная формы). Бета-коронавирусы инициируют заболевание у крупного рогатого скота (BCoV), собак (респираторная форма), лошадей и свиней (гемагглютинирующий энцефаломиелит), а дельта-коронавирус поражает свиней. Следует сказать, что разработаны и активно применяются вакцины лишь против нескольких заболеваний — альфа-коронавирусов собак и кошек, а также бета-коронавирусов крупного рогатого скота и свиней. Данные вакцины частично повышают устойчивость хозяина к спайковому (от англ. *spike* — шип) гликопротеинам коронавирусов. Однако даже внутри одного рода коронавирусов сами шипы различаются, в первую очередь рецепторсвязывающим доменом, который специфически распознает ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2) своего хозяина [5]. Так,

¹ WHO. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Available at: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>

коронавирус крупного рогатого скота и возбудители острых респираторных синдромов принадлежат к одному роду, однако BCoV отнесен к линии 2A бета-коронавирусов, вирусы SARS-CoV — к линии 2B бета-коронавирусов, а MERS-CoV вообще является единственным известным патогенным коронавирусом человека линии С [6]. Эти линии коронавирусов настолько отличаются друг от друга генетически, что стимулируют выработку совершенно разных антител, которые не вступают в перекрестную реакцию.

Несмотря на такое кажущееся широкое многообразие животных — кандидатов на роль моделей для имитации патогенеза коронавирусных инфекций человека, количество адекватных животных моделей сильно ограничено. Проблема заключается в узости круга животных, восприимчивых к спайковым гликопротеинам коронавирусов человека.

Животные модели SARS

Специфической мишенью для SARS-CoV является ангиотензинпревращающий фермент 2 [7]. Попав в организм хозяина, вирус в случае активной репликации вызывает поражения легочной ткани и иногда эпителия кишечника, выражающиеся интерстициальной пневмонией с лихорадкой и диареей.

Естественно, что основами для первых животных моделей стали лабораторные грызуны, в частности мыши. Опубликованные данные свидетельствуют о неоднозначности результатов использования мышей в качестве моделей для SARS. Так, D. Wentworth и его коллеги использовали 4-недельных самок мышей линии BALB/c, инокулируя им интраназально и перорально 2×10^5 TCID₅₀/мл SARS-CoV штамм Urbani. Клинические признаки заболевания проявлялись в потере до 6% массы тела и взъерошенности шерсти у животных из экспериментальной группы. Вируснейтрализующие антитела обнаруживались с 7-го по 28-й день после заражения, причем максимальный их титр достигался на 28-й день. Данные серологического исследования, а также обнаружение субгеномной РНК в легких и кишечнике мышей, по мнению членов исследовательской группы, служили доказательством, что SARS-CoV реплицируется в этих тканях. Результаты исследования продемонстрировали раннее достижение пиковых значений концентрации вируса в легочной ткани и кишечнике (на 3–5-й день после заражения) и следующий за этим клиренс, завершающийся к 10-му дню после инокуляции возбудителя [8].

Согласно статистическим данным, SARS наиболее тяжело протекает у пожилых людей, что натолкнуло исследователей на возможность применения в качестве моделей возрастных мышей дикого типа. Так, группа под руководством A. Roberts проводила интраназальное заражение мышей ли-

нии BALB/c 12–14-месячного возраста 10^5 TCID₅₀ SARS-CoV штамм Urbani. Сходные с SARS клинические признаки, за исключением лихорадки, которая так и не была диагностирована, проявились спустя 3 дня после инокуляции вируса. Однако клиренс наступал уже к 7-му дню, а летальных случаев вовсе не отмечалось [9].

Отсутствие высокого уровня специфической летальности, а также позднее наступление пика сероконверсии у животных дикого типа послужило причиной создания трансгенных мышей, способных экспрессировать ангиотензинпревращающий фермент 2 человека (hACE2). В 2007 г. две группы ученых независимо друг от друга опубликовали результаты инокуляции SARS-CoV hACE2-трансгенным мышам [10, 11]. В обоих случаях осуществлялось интраназальное заражение созданных моделей штаммом Urbani. В ходе исследования у инфицированных трансгенных мышей регистрировались уменьшение массы тела, снижение активности и затрудненное дыхание на 3–5-й день после инокуляции возбудителя. На 7–8-й день после заражения все мыши из экспериментальных групп погибли, причем более ранняя гибель наблюдалась у животных, имеющих наибольшее количество копий hACE2-трансгена (гибель начали регистрировать с 4-го дня) [10]. Гистологическое исследование показало инфильтрацию легких макрофагами и лимфоцитами, а также повышенную экспрессию провоспалительных цитокинов и хемокинов в легких и головном мозге, что сходно с картиной SARS у человека [11]. Кроме того, для демонстрации умеренной адекватности полученных моделей авторы провели исследование эффективности упреждающей терапии инфицированных животных моноклональными антителами человека, специфичными к SARS-CoV. Выявлено, что предварительное внутривенное введение моноклональных антител в дозе 25 мг/кг массы тела за 1 сут перед инокуляцией патогена полностью предотвращало гибель мышей [10].

Даже эту модель нельзя назвать полностью адекватной, хотя она и позволила сделать большой шаг в понимании патогенеза SARS: несмотря на снижение титра вводимого вируса в десятки раз [10], летальность у трансгенных мышей наступала гораздо раньше, чем это наблюдалось у людей.

Другая группа ученых проводила интраназальное заражение рекомбинантными штаммами SARS-CoV с делециями области ORF7ab в количестве 10^3 TCID₅₀/мл иммунодефицитных сирийских хомячков, иммуносупрессия у которых была вызвана циклофосфамидом, причем увеличение дозы и кратности введения циклофосфамида прямо пропорционально увеличивало потерю массы тела и летальность. С другой стороны, осталось не ясным, чем было обусловлено увеличение этих показателей: повышенной или продолжительной реплика-

цией вируса или увеличением повреждения тканей, вызванным цитокинами. При этом гистологическая оценка органов зараженных иммунодефицитных хомяков выявила наличие хронической интерстициальной бронхопневмонии на 19-й день после инокуляции вируса. Изменения, обнаруженные в сердце, почках и носовой полости, были единичны, с небольшой степенью поражения. Сомнительно, что эта модель была бы полезна при исследовании вакцин, но она может быть адекватной при оценке эффективности противовирусных соединений или методов терапии [12].

Домашние кошки и хорьки, имеющие свои коронавирусные патогены, оказались подвержены и носительству SARS-CoV. Для подтверждения этой теории кошкам и хорькам интратрахеально было инокулировано по 10^6 TCID₅₀ четырехкратно пассированного *in vitro* на клеточной культуре Vero-118 изолята, полученного от пациента 5568, умершего от SARS. Во время наблюдения кошки не проявляли клинических признаков развивающейся инфекции, в то время как у 3 хорьков наступило состояние летаргии на 2–4-й день после инфицирования, 1 из них погиб на 4-й день после инокуляции патогена. Начиная со 2-х суток после заражения и у кошек, и у хорьков при исследовании глоточных смывов методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией обнаруживался SARS-CoV. Вирусовыделение продолжалось до 10-го дня у кошек и до 14-го дня у хорьков, причем поголовное выделение вируса регистрировалось только до 8-го дня. Что касается исследования носовых и ректальных мазков, то лишь у 2 кошек было подтверждено выделение вируса на 4-й и 6-й дни после заражения. Количественное определение в гомогенатах легких продемонстрировало у кошек низкие титры вируса ($1 \times 10^3 \pm 0,51$ TCID₅₀/мл), в то время как у хорьков титры были более высокими ($1 \times 10^6 \pm 0,70$ TCID₅₀/мл). Титры вируснейтрализующих антител у всех животных достигли уровня 40–320 к 28-му дню. При этом кошки из контрольной группы, не инфицированные SARS-CoV, содержащиеся совместно с животными из экспериментальной группы, к тому же времени продемонстрировали более низкий уровень сероконверсии (титры вируснейтрализующих антител были 40 и 160), без проявления клинических признаков заболевания. У неинфицированных хорьков развились вялость и конъюнктивиты, а гибель наступила на 16-й и 21-й дни, при этом подтверждения того, что животные погибли от SARS-CoV-ассоциированной пневмонии, не оказалось, несмотря на посмертное выделение вируса из образцов легких у одного из павших хорьков [13]. Несомненно, что результаты этого эксперимента оказались полезны для понимания возможностей передачи вируса от животного человеку, однако быстрый клиренс вируса и отсутствие явных клинических признаков,

характерных для заболевшего SARS человека, не позволили сделать эти модели адекватными для оценки терапевтических протоколов.

На хорьках проводилось тестирование синтезированного моноклонального антитела IgG1 CR3014, при этом для заражения использовался штамм HKU-39849, хозяевами которого могут быть человек, хорек и макак-резус. Предварительное, за 1 сут до заражения, введение моноклональных антител существенно снизило репликацию вируса в тканях легких, а выделение SARS-CoV с отделяемым глотки у 75% подвергнувшихся терапии животных было полностью исключено. Однако оставшиеся 25% животных выделяли вирус с той же интенсивностью, что и хорьки, не подвергшиеся лечению [14].

Что же касается экспериментального заражения физиологически и анатомически наиболее близких человеку и доступных лабораторных животных — нечеловекообразных приматов (НЧП), то наибольшее количество данных получено при исследованиях на макаках-резусах (*Macaca mulatta*), африканских зеленых мартышках (*Chlorocebus sabaeus*) и макаках-крабоедах (*Macaca fascicularis*). В обширном исследовании [15] использовались все три упомянутых выше вида приматов. Заражение происходило двумя способами — интраназально и интратрахеально — штаммом Urbani по 1 мл 10^6 TCID₅₀/мл. Мониторинг состояния животных показал, что вирус способен реплицироваться в легочной ткани НЧП, при этом уровень сывороточных вируснейтрализующих антител прямо пропорционально коррелирует с уровнем репликации вируса в респираторном тракте. Как сообщалось, ни у одной из обезьян не отмечалось признаков респираторного заболевания, сопровождающегося лихорадкой. Интересно, что уровень репликации вируса в верхнем и нижнем отделах респираторного тракта был максимальным у африканских зеленых мартышек (среднее значение 10^3 TCID₅₀/мл), а минимальным — у макак-резусов. Среднее значение титров вируснейтрализующих антител у макак-резусов составляло 1 : 27, у макак-крабоедов — 1 : 31, а у африканских зеленых мартышек — 1 : 57 [15].

Другая группа исследователей ограничила свой выбор модели только макаками-крабоедами. Заражение происходило штаммом Urbani, однако было выбрано несколько способов инокуляции возбудителя в организм моделей. Животные первой группы были заражены интраназально и интрабронхиально, второй — интраназально и конъюнктивально, третья группа получила внутривенную инъекцию вируса. Как отмечается, животные первых двух групп имели клинические признаки заболевания легкой и средней тяжести, демонстрировали выработку антител, у них даже рентгенографически была зафиксирована пневмония, однако, как и в предыдущем исследовании, у приматов от-

существовал главный симптом SARS — лихорадка. Титр вируса к 28-му дню после заражения у подавляющего большинства макак-крабоедов был равен нулю [16]. Дополнительные исследования показали отсутствие возможности повторного заражения SARS-CoV африканских зеленых мартышек и макак-крабоедов, по крайней мере, в краткосрочной перспективе.

В связи с изложенным выше полезность моделей НЧП, безусловно, высокая, но демонстрируемые клинические признаки накладывают ограничения на применение приматов для изучения патогенных или иммуногенных свойств SARS-CoV.

Животные модели MERS

Абсолютно понятно, что проведение заражения штаммом вируса MERS таких естественно восприимчивых животных, как верблюды, является очень дорогостоящим исследованием, тем более что верблюды не смогут отразить всю полноту патогенеза инфекции. К тому же экспериментальное заражение культур клеток дыхательных путей животных, применяемых для имитации респираторных заболеваний человека (мыши дикого типа, хомяка, хорька), с целью определения возможных кандидатов на роль животной модели показало неспособность MERS-CoV реплицироваться в этих клетках [17]. Это связано с различиями аминокислотного состава во внеклеточном домене дипептидилпептидазы 4 (DPP4), которая является специфическим рецептором для S-гликопротеина MERS-CoV. Филогенетический анализ вируссвязывающей области DPP4 позволил сгруппировать DPP4 человека (hDPP4), макаки, лошади, кролика с DPP4 крупного рогатого скота, свиньи и летучей мыши, несмотря на то что они сильно различаются по результатам филогенетического анализа полного DPP4 [18]. Поэтому попытки воспроизвести MERS на иммунодефицитных линиях мышей также не увенчались успехом [19].

С другой стороны, предварительная, за 5 дней до заражения MERS-CoV, трансдукция молодым и пожилым мышам штаммов C57BL/6 и BALB/c аденовирусного вектора, несущего DPP4 человека (Ad5-hDPP4), позволила достигнуть уровня репликации вируса 7×10^7 бляшкообразующих единиц (БОЕ) на 1 г в легочной ткани ко 2–3-му дню после заражения. При этом к 7-му дню после инокуляции вируса у животных регистрировалась интерстициальная пневмония, в течение 10 дней после заражения молодые мыши BALB/c не набирали массу, а пожилые животные обоих штаммов ее теряли, но ни одного летального исхода не зафиксировано. Молодые мыши достигали клиренса вируса к 6–8-му дню после заражения, а пожилые — к 10–14-му дню [20].

Соответственно, дальнейшие исследования MERS-CoV могли продолжаться по трем основным

направлениям: поиск подходящих видов животных, модификация традиционных животных и адаптация вируса к невосприимчивым животным.

Исследования на клеточных культурах показали, что введение 2 аминокислот, соответствующих в человеческой последовательности позициям 288 и 330 в рецепторе mDPP4, поддерживает прикрепление, проникновение и репликацию MERS-CoV [21]. Поэтому в одной серии экспериментов редактирование генома мышей C57BL/6J дикого типа проводилось с применением технологии CRISPR/Cas9, а для придания патогенных свойств возбудитель пассировался на мышах 15 раз. Особенностью данной модели считается отсутствие проявлений неврологических признаков [22]. В другом исследовании адаптация штамма вируса проводилась посредством 30 последовательных пассажей на мышах, несущих замененный человеческим локус гена *DPP4*. В результате полученный вирус отличался от исходного оригинала EMC-2012 в 3 локусах, один из которых характеризовал шип вириона (T1015N) [2].

С одной стороны, неоспоримая полезность этих исследований заключается в создании летальной мышинной модели, адаптированной для заражения MERS-CoV, но с другой стороны, и штамм вируса был изменен. В итоге получена генетически измененная мышь, при заражении которой генетически модифицированным вирусом летальность достигает 80%. Даже если отбросить постулаты Коха, найдется немало критиков подобного подхода к изучению патогенеза заболевания, смертельно опасного для некоторых категорий людей. Однако для изучения столь угрожающих здоровью населения инфекций любые данные, позволяющие понять механизм заболевания, будут полезны.

В 2015 г. были опубликованы результаты успешного создания летальной мышинной модели MERS посредством инокуляции трансгена, содержащего кДНК hDPP4, в зиготы мышей штаммов B6C3F1/J × C57BL/6J или C57BL/6J. После заражения MERS-CoV у полученных Tg⁺-мышей развивалась прогрессирующая пневмония, характеризующаяся обширной воспалительной инфильтрацией, в то время как поражения мозга были незначительны [23]. У полученных трансгенных мышей отмечался дозозависимый летальный исход со 100% смертностью: при интраназальном введении штамма EMC-2012 MERS-CoV в дозе 10^6 TCID₅₀ мыши погибали в течение 4–6 дней после инокуляции, в то время как при введении дозы 10^2 TCID₅₀ гибель 100% животных происходила в течение 6–12 дней [24].

В настоящее время hDPP4-трансгенная мышь является единственной доступной летальной моделью тяжелой инфекции MERS-CoV на мелких животных. Хотя эти мыши экспрессируют hDPP4 глобально во всех типах клеток, в отличие от нормальной экспрессии DPP4 у людей, тем не менее

эта модель может быть использована в целях скрининга эффективности противовирусных препаратов и вакцин для смягчения или предотвращения MERS-CoV-индуцированного респираторного заболевания.

Учитывая, что хорьки продемонстрировали относительную восприимчивость к SARS-CoV, а также к некоторым другим респираторным инфекциям [25, 26], на них были осуществлены и попытки воспроизведения патогенеза MERS-CoV. Однако интраназальное и интратрахеальное заражение хорьков MERS-CoV в дозе 10^6 TCID₅₀ не вызвало сероконверсии, а сам инфекционный вирус у животных не обнаружен [18].

Поскольку область связывания вируса и DPP4 кролика имеет много общего с аналогичной областью у человека [18], исследовали возможность заражения кроликов MERS-CoV. Полученная модель имеет ограниченную ценность, поскольку кролики выделяли вирус из верхних дыхательных путей, но у них не проявлялись симптомы заражения, поэтому изучение заболевания в контексте развития и нарастания клинических признаков оказалось невозможным. Как правило, вирус обнаруживался в мазках из носовой полости в течение 7 дней после заражения [6].

Хотя обозначенные выше модели, бесспорно, внесли огромный вклад в изучение патогенеза MERS-CoV и дали основу для скрининговых исследований противовирусных терапевтических препаратов и эффективности вакцин, следует напомнить, что первой животной моделью, на которой были выполнены постулаты Коха для MERS-CoV, стали макаки-резусы. Животных в возрасте 6–12 лет заражали вирусом в дозе 7×10^6 TCID₅₀ комбинированным способом, используя интраназальную, интратрахеальную, конъюнктивальную и оральную инокуляцию возбудителя [27, 28]. Клинические признаки, проявляющиеся снижением аппетита, лихорадкой, учащением дыхания, кашлем и сторбленной позой, развились в течение 24 ч у всех животных и длились 4 дня. Грубые поражения, представляющие собой плотные отечные светло- или темно-красные очаги, развивались только в легких. Также из легких был выделен инфекционный вирус, а РНК MERS-CoV была обнаружена в некоторых тканях верхних и нижних дыхательных путей. РНК MERS-CoV была также идентифицирована в мазках из носовой полости, образцах бронхоальвеолярного лаважа и нескольких мазках из ротоглотки. Несмотря на наличие вирусной РНК и свидетельство выделения вируса из верхних дыхательных путей, поражения и репликация вируса наблюдались только в тканях нижних дыхательных путей, при этом репликация вируса происходила в пневмоцитах I и II типов. Как было показано с помощью иммуногистохимического исследования, вирусный антиген в легких присут-

ствовал исключительно в зонах пневмонии. Вирусную РНК в крови, как и в любых органах брюшной полости, обнаружить не удалось [6].

В свою очередь, группа китайских исследователей показала, что выработка специфических антител против MERS-CoV у макак-резусов начинается с 7-го дня после инфицирования и с течением времени титр антител увеличивается. Кроме того, вырабатываемые вируснейтрализующие антитела обеспечивали защиту, предотвращая развитие инфекции при повторном заражении макак-резусов [29].

Основываясь на отсутствии различий между 14 аминокислотными остатками DPP4 человека и обыкновенной игрунки (*Callithrix jacchus*) в областях взаимодействия рецепторсвязывающего домена спайкового гликопротеина, группа исследователей под руководством D. Falzarano предположила возможность связывания S-гликопротеина MERS-CoV с DPP4 обыкновенной игрунки. Начиная с 1-го дня после инокуляции штамма EMC-2012 комбинированным способом, аналогичным описанному ранее для макак-резусов, у животных наблюдалось возникновение и прогрессирование клинических признаков инфекции: учащенное и затрудненное дыхание, снижение аппетита и активности. Пиковые значения данных клинических показателей наблюдались между 4-м и 6-м днями после заражения, причем на 13-й день показатели вернулись к исходному уровню. С 3-го дня после заражения у животных наблюдалось снижение температуры тела, которая нормализовалась к 9-му дню после инокуляции возбудителя. Клинически значимых изменений химического состава и цитологических показателей крови не отмечалось ни у одного из животных, по сравнению с моделью макак-резусов [30].

В отличие от макак-резусов основными сайтами репликации вируса были пневмоциты I типа и альвеолярные макрофаги, а иммуногистохимическое исследование показало, что эти типы клеток экспрессируют DPP4. В легких были обнаружены высокие уровни вирусной РНК, в то время как более низкие уровни РНК присутствовали в тканях верхних дыхательных путей и мазках, полученных из носовой полости и ротоглотки, а также в крови и некоторых внутренних органах, включая почку. Инфекционный вирус выделяли из тканей как верхних, так и нижних дыхательных путей. Выявление вирусной РНК в системах нескольких органов показало, что MERS-CoV широко распространяется по всему организму игрунок, однако поражения присутствовали только в дыхательных путях [6].

Животные модели COVID-19

На момент распространения инфекции, вызванной SARS-CoV-2, научное сообщество уже имело представление о возможных животных моделях для исследования этого нового заболевания. Хо-

тя вспышки SARS-CoV происходили более 15 лет назад, исследования продолжались и после их окончания. Поэтому первоначально, исходя из того, что идентичность нуклеотидных последовательностей SARS-CoV-2 и SARS-CoV составляет 79–82% [31, 32], были задействованы модели, эффективные при исследовании SARS-CoV, а учитывая динамику роста количества заболевших и умерших от COVID-19 людей, даже авторитетные печатные издания пошли на риск опубликовать нерцензированные доклады.

В одном из докладов сообщается об интраназальном инфицировании hACE2-трансгенных мышей штаммом HB-01 SARS-CoV-2 в дозе 10^5 TCID₅₀/мышь. Спустя 5 дней после заражения у этих мышей отмечались взъерошенная шерсть и потеря массы тела на 8%, однако других признаков, указывающих на развитие инфекции, не наблюдалось. Вирусная РНК обнаруживалась в легких и кишечнике спустя 1 день после заражения. Гистологическое исследование также показало наличие очагов интерстициальной пневмонии у зараженных животных, в то время как в других органах, включая головной мозг, повреждений не выявлено [33]. Как и в подавляющем большинстве исследований, примеры которых приводились в этом обзоре ранее, данная модель не летальная. К тому же начиная с 7-го дня после инфицирования очаги пневмонии начали организовываться, что относит эту модель в категорию подходящих для изучения патогенеза SARS-CoV-2, но оставляет немало вопросов о ее пригодности для исследования поствакцинального иммунитета.

Тестирование восприимчивости путем комбинированной инокуляции (интраназально и внутривенно) штамма USA-WA1/2020 SARS-CoV-2 в дозе 10^5 фокусобразующих единиц иммунокомпрометированным штаммам лабораторных мышей (BALB/c, DBA/2J, Stat1^{-/-} C57BL/6, AG129, Rag1^{-/-} C57BL/6) показало отсутствие потери массы тела у всех животных на протяжении 1-й недели исследования, а в собранных спустя 10 дней после заражения легких количество вирусной РНК было очень мало [34].

В продолжение данного исследования ту же дозу штамма USA-WA1/2020 SARS-CoV-2 инокулировали мышам BALB/c интраназальным и внутривенным способами спустя 5 дней после внедрения аденовируса, кодирующего hACE2 (AdV-hACE2). В течение 1-й недели у животных отмечалась потеря 10–25% массы тела. На 4-й день после заражения в легочной ткани были обнаружены высокие уровни SARS-CoV-2 и вирусной РНК, тогда как более низкие уровни присутствовали в сердце, селезенке и мозге при почти полном отсутствии в тканях почек, желудочно-кишечного тракта и в сыворотке крови. Поскольку трансдукция AdV-hACE2 инициирует лишь временную сенсibilизацию hACE2 у мышей, то к 8–10-му дням после заражения уровни вирус-

ной РНК снизились в 1000 раз, хотя все еще легко детектировались. И конечно, недостатком данной модели является само применение аденовирусного вектора, т.к. он может быть самостоятельным инициатором или протагонистом повреждений, возникающих в легких [34].

Другой способ доставки hACE2 в дыхательные пути мышей линии C57BL/6J (B6J) — посредством аденоассоциированного вируса. Инфицирование производилось интраназально штаммом USA-WA1/2020 в дозе 10^6 БОЕ/мышь. На протяжении 14 дней у мышей не отмечалось снижения массы тела или гибели. Авторы заявляют, что у зараженных мышей сохранялся продуктивный инфекционный процесс, однако представленные иллюстрации демонстрируют снижение количества вирусной РНК начиная со 2-го дня после инокуляции возбудителя, причем практически с тем же уровнем прогрессии, что и у животных, не инфицированных SARS-CoV-2. Гистопатологические изменения в легких характеризовались наличием незначительных диффузных перибронхиальных инфильтратов [35].

На сегодняшний день венцом в создании гуманизированных мышинных моделей коронавирусных заболеваний человека, экспрессирующих hACE2, можно считать направленное редактирование генома посредством технологии CRISPR/Cas9. С помощью данной технологии последовательность кДНК, кодирующая hACE2, была интегрирована в экзон 2, являющийся первым кодирующим экзоном гена мышинного ACE2 (*mACE2*), модифицируя и таким образом прекращая его экспрессию. Направляющая РНК, мРНК, кодирующая Cas9, и донорная последовательность, кодирующая hACE2, были инъецированы в зиготы мышей линии C57BL/6. Успешная инсерция была подтверждена у почти 22% полученных детенышей. Затем основателей подвергли обратному скрещиванию с мышами C57BL/6, и полученное потомство F1⁺ было подвергнуто скринингу. Дополнительные исследования показали отсутствие случайных вставок у всех полученных мышей, при этом ген *mACE2* полностью отсутствовал у гомозиготных особей, но в легких, тонком отделе кишечника, селезенке и почках в достаточном количестве стабильно экспрессировался ген *hACE2*. Полученные мыши были названы hACE2-KI/NIFDC (hACE2-мышь) [31].

Для подтверждения восприимчивости гуманизированных мышей было осуществлено их интраназальное инфицирование SARS-CoV-2 в дозе 4×10^5 БОЕ. Следует отметить, что заражению подверглись не только молодые животные в возрасте 4,5 нед, но и пожилые особи в возрасте 30 нед, что очень важно, т.к. в группе риска находятся именно пожилые люди и лица, страдающие хроническими заболеваниями. Начиная с 3-го дня после инокуляции патогена у пожилых мышей регистрировалась

потеря до 10% массы тела, однако затем наступало выздоровление, при этом явных клинических признаков прогрессирования инфекции SARS-CoV-2 ни у одного из животных не наблюдалось. Устойчивая репликация вирусной РНК была обнаружена в легких, трахее и тканях головного мозга hACE2-мышей, независимо от возраста, однако вирусная РНК не выявлялась в селезенке, почке, печени, сыворотке крови и кишечнике, несмотря на то что в кале пожилых мышей был обнаружен высокий уровень вирусных РНК ($2,9 \times 10^5$ копий/г). Обнаружение РНК в кале совпадало с данными о пациентах, имевших желудочно-кишечные симптомы после инфицирования SARS-CoV-2 [36, 37]. Пероральное введение вируса hACE2-мышам также привело к его репликации в трахее и легких у 40% животных в количестве, сопоставимом с таковым у животных, зараженных интраназальным путем. Хотя клинических признаков развивающегося заболевания у животных по-прежнему не наблюдалось [31].

Гистологическое исследование показало наличие независимой от возраста интерстициальной пневмонии, характеризующейся инфильтрацией воспалительных клеток, утолщением альвеолярной перегородки и характерным повреждением сосудистой системы. Кроме того, у пожилых мышей отмечалась обширность поражений альвеолярных эпителиальных клеток и очаговых кровоизлияний, а также повышенная инфильтрация тканей нейтрофилами и макрофагами, а непосредственное инфицирование макрофагов в легких приводило к значительному апоптозу [31], что повторяет клинические признаки у большинства пациентов, пораженных COVID-19. К сожалению, авторы публикации не указывают, была ли разработанная модель летальной, ведь животных выводили из эксперимента на 6-й день после заражения. В связи с этим можно говорить о безусловной ценности полученной модели, но адекватность ее под сомнением, и, возможно, в скором времени мы увидим опровержение этих сомнений.

Исходя из аналогии с SARS-CoV, в качестве моделей для COVID-19 используются золотистые сирийские хомяки. Большинство исследований на них проводятся для демонстрации патогенеза и возможных путей передачи используемого штамма или клинического изолята от инфицированного животного наивным хомякам [38–40]. Эффективными оказались как интраназальное введение вируса [41], так и его комбинация с конъюнктивальным способом [40], причем более эффективным признан комбинированный способ. Во всех опубликованных результатах проявление клинических признаков COVID-19 достаточно условное, заболевание протекает зачастую с незначительной потерей массы тела — на 10–15%, в основном пожилыми животными. Постепенное восстановление массы тела

происходит в течение 7 дней. Инфекционная вирусная нагрузка в верхних дыхательных путях достигала своего пика на 2–3-й день после заражения, затем происходило ее быстрое снижение [38], а клиренс вируса достигался к 7-му дню. Вирусный антиген возбудителя COVID-19 обнаруживался в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки на 2-й день после заражения при отсутствии признаков воспаления. Кроме того, вирусная РНК выявлялась в свежих пробах фекалий, собранных со 2-го по 7-й день после инокуляции патогена [38].

Гистологические исследования показали наличие в легочной ткани инфицированных животных воспалительных инфильтратов, характерных для легкой формы течения COVID-19 [39].

Хотя у первично инфицированных хомяков вирусная РНК выделялась из носовой полости на протяжении 10–14 дней, способность заражать здоровых животных контактным и аэрозольным путями у них сохранялась только в течение первых 3 дней после инокуляции возбудителя [38].

Исследование дозозависимого эффекта продемонстрировало возникновение обширных повреждений нижних отделов дыхательной системы на более ранних сроках у животных, получавших повышенное количество вирусных частиц, хотя к 6-му дню после заражения объемы повреждений сравнялись с таковыми у животных, получавших умеренную дозу [41].

Повторное заражение хомяков SARS-CoV-2, по крайней мере, в краткосрочной перспективе оказалось невозможным ввиду образования вируснейтрализующих антител [42]. Они были выделены у хомяков-реконвалесцентов спустя 14 дней после заражения, и их средний титр составил не менее 1 : 427. Использование полученных таким образом сывороток значительно снизило вирусную нагрузку на легкие хомяков, но не смогло предотвратить развитие в них патологии [39].

На сегодняшний день опубликовано немного сообщений об имитации COVID-19 у хорьков [43, 44]. Большую адекватность продемонстрировала модель, созданная Y.I. Kim [44], хотя она также не является летальной. Она отличается от предыдущих животных моделей COVID-19 проявлением лихорадки с периодическим кашлем, устойчивым снижением массы тела и пониженной активностью на протяжении 4–6 дней после интраназальной инокуляции возбудителя. Зараженные SARS-CoV-2 хорьки выделяли вирус с носовым отделяемым, слюной, мочой и калом в течение 8 дней после инокуляции возбудителя, а наибольшая его репликация достигалась в носовых раковинах, трахее, легких, почках и кишечнике [44].

Более того, удалось показать возможность заражения наивных хорьков при прямом контакте с животными, демонстрирующими клинические

признаки заболевания, хотя зараженные наивные хорьки демонстрировали только повышенную температуру тела и сниженную активность без потери массы тела. У наивных животных, имевших косвенный контакт с инфицированными хорьками, не развивалось клинических признаков, однако у нескольких животных обнаруживалась вирусная РНК, что свидетельствует о возможности воздушного пути передачи.

Созданная модель уже продемонстрировала свою практическую значимость — на ней производилось тестирование противовирусной эффективности одобренных Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Министерства здравоохранения и социальных служб США препаратов против COVID-19: лопинавира-ритонавира, гидроксихлорохинсульфата и эмтрицитабина-тенофовира [45].

Сравнительный анализ вариаций рецептора ACE2 у различных видов приматов показал, что все обезьяны Старого Света (катаррины) с большой долей вероятности будут очень восприимчивы к SARS-CoV-2, в отличие от обезьян Нового Света (платиррины). Особенность заключается в 3 различиях в аминокислотных остатках, в 2 из которых, N41Y и E42Q, различия существенны [46].

Выбор НЧП для имитации инфицирования COVID-19 обычно ограничивается их стандартными видами: макаком-крабоедом, макаком-резусом, обитающими в Старом Свете, и обыкновенной игрункой, эндемиком Нового Света. Хотя существуют сообщения об исследованиях SARS-CoV-2 на павианах и бабуинах [47].

Пол и возраст не влияли на развитие и клинические проявления COVID-19 у НЧП [48, 49], что подтверждает версию о том, что не преклонный возраст, а наличие сопутствующих заболеваний является причиной высокой летальности среди пожилых людей. После инфицирования у катарринов отмечалось повышение температуры тела, например у макак-резусов она поднималась до 40,9°C, в то время как у трети макак-крабоедов и игрунок температура тела поднималась незначительно. Заболевание сопровождается снижением массы тела: у макак-резусов на 6–29%, а у макак-крабоедов — на 2–11% [49], при этом повторное заражение макак-резусов не вызывало рецидива COVID-19 [50]. Начиная с 10-го дня после инокуляции вируса при исследованиях методами лучевой диагностики у катарринов фиксируется патология легких. В образцах смывов уже на 2-й день после инокуляции вируса наблюдается высокий уровень вирусной РНК, а пика он достигает на 6–8-й день после инфицирования и может обнаруживаться до 14-го дня после инокуляции. По сравнению с анальными и назальными смывами, меньшее количество вирусной РНК наблюдается в смывах из гортани, несмотря на то

что выделение вируса с фекалиями происходит не у всех приматов Старого Света. В периферической крови вирусная РНК появляется на 2–6-й день после заражения и исчезает к 10-му дню, сохраняясь в селезенке [49]. В отличие от катарринов, у приматов Нового Света на протяжении 2 нед после инфицирования в смывах обнаруживаются низкие уровни вирусной РНК.

Гистопатологические изменения у катарринов варьируют от обширных кровоизлияний в легочной ткани [49] до мультифокальной интерстициальной пневмонии [47]. Отек бронхолегочных и средостенных лимфатических узлов, экссудативный перикардит и воспаление брыжеечных лимфоузлов дополняют патогистологическую картину. В отличие от приматов Старого Света, у платирринов наблюдалась легкая инфильтрация разрушенных альвеолярных перегородок клетками воспаления. Незначительные геморрагии присутствуют в паренхиме селезенки, зародышевый центр которой находился в состоянии активной пролиферации [49].

Несмотря на относительно успешную имитацию на макаках инфицирования COVID-19, послужившую основанием для исследования на них предполагаемой противовирусной эффективности, например, гидроксихлорохина [51], существует мнение, что бабуины являются более предпочтительной моделью, т.к. развивающаяся у них патология обширнее и сопровождается более распространенными и тяжелыми воспалительными поражениями по сравнению с макаками-резусами [47]. В то же время использование приматов Нового Света, например обыкновенных игрунок, по меньшей мере, нерационально, т.к. количество допустимых с ними контрольных процедур ограничено, клинические признаки заболевания не выражены, а в образцах тканей, полученных при некропсии, вирусная РНК не обнаруживается [49].

Заключение

Как и для подавляющего большинства заболеваний человека, для коронавирусных инфекций, сопровождающихся острым респираторным синдромом, нет однозначной адекватной животной модели. В этой статье мы сделали попытку осветить животные модели, адекватно воспроизводящие клинические (табл. 1), патоморфологические (табл. 2) и другие признаки респираторных синдромов человека, вызываемых коронавирусными инфекциями.

Возможно, изучение естественных резервуаров возбудителей позволило бы пролить свет на этиологию возникновения у них таких опасных для человечества мутаций. К сожалению, основные подопреваемые в качестве источника заражения животные ведут скрытый образ жизни и недостаточно изучены. К тому же для их гуманного изучения достаточно сложно обеспечить подходящее содер-

жание в условиях научно-исследовательских вивариев. Поэтому пока нам остается довольствоваться моделями на основе стандартных видов лабораторных животных, изучая патогенез и симптоматику на одних, а специфическую терапию и иммунопро-

филактику — на других. Так, модель трансгенных мышей, экспрессирующих hACE2, предложенная Р.В. McCray [10], оказалась наиболее адекватной среди моделей мелких лабораторных животных для SARS в связи с демонстрацией схожих с человеком

Таблица 1. Характеристика животных моделей респираторных синдромов человека, вызываемых коронавирусными инфекциями, с позиции адекватности воспроизведения клинических признаков

Table 1. Characteristics of animal models of human respiratory syndromes caused by coronavirus infections from the point of view of their adequacy and capability to simulate clinical features

Животное Animal		Наблюдаемые адекватные клинические признаки Observed adequate clinical features		
		SARS	MERS	COVID-19
Мыши Mice	BALB/c, молодые BALB/c, young	Потеря веса [8] Weight loss [8]	Признаки респираторного дистресса [20] Respiratory distress symptoms [20]	Потеря веса [34] Weight loss [34]
	BALB/c, пожилые BALB/c, aged	Потеря веса [9] Weight loss [9]	Признаки респираторного дистресса [20] Respiratory distress symptoms [20]	—
	C57BL/6	—	Признаки респираторного дистресса [20], летальный исход [2, 22] Respiratory distress symptoms [21], lethal outcome [2, 22]	—
	Трансгенные Transgenic	Летальный исход [10] Lethal outcome [10]	Потеря веса [23], летальный исход [24] Weight loss [23], lethal outcome [24]	Потеря веса [33] Weight loss [33]
Золотистые сирийские хомяки Golden Syrian hamsters		Летальный исход [12] Lethal outcome [12]	—	Потеря веса [38], признаки респираторного дистресса [39, 41] Weight loss [38], respiratory distress symptoms [39, 41]
Кролики Rabbits		—	—	—
Хорьки Ferrets		Летальный исход [13] Lethal outcome [13]	—	Признаки респираторного дистресса [44] Respiratory distress symptoms [44]
Кошки Cats		—	—	—
НЧП Non-human primates	Макаки-резусы Rhesus monkeys	—	Взьерошенность шерсти [28], потеря веса [27–29] Ruffled hair [28], weight loss [27–29]	Признаки респираторного дистресса [47, 49] Respiratory distress symptoms [47, 49]
	Африканские зеленые мартышки African Green monkeys	—	—	—
	Макаки-крабоеды Cynomolgus	Признаки респираторного дистресса [16] Respiratory distress symptoms [16]	—	Признаки респираторного дистресса [47, 49] Respiratory distress symptoms [47, 49]
	Обыкновенные игрунки Common marmosets	—	Взьерошенность шерсти, потеря веса, признаки респираторного дистресса [30] Ruffled hair, weight loss, respiratory distress symptoms [30]	—

Таблица 2. Характеристика животных моделей респираторных синдромов человека, вызываемых коронавирусными инфекциями, с позиции адекватности воспроизведения патоморфологических изменений

Table 2. Characteristics of animal models of human respiratory syndromes caused by coronavirus infections from the point of view of their adequacy and capability to simulate pathomorphological changes

Животное Animal		Обнаруженные адекватные патоморфологические изменения Detected adequate pathomorphological changes		
		SARS	MERS	COVID-19
Мыши Mice	BALB/c, молодые BALB/c, young	–	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [20] Damage to the organs of the lower respiratory system [20]	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [34] Damage to the organs of the lower respiratory system [34]
	BALB/c, пожилые BALB/c, aged	Поражение органов верхнего и нижнего отделов дыхательной системы [9] Damage to the organs of the upper and lower respiratory system [9]	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [20] Damage to the organs of the lower respiratory system [20]	–
	C57BL/6	–	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [2, 20, 22] Damage to the organs of the lower respiratory system [2, 20, 22]	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [35] Damage to the organs of the lower respiratory system [35]
	Трансгенные Transgenic	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы [10] Damage to the organs of the lower respiratory system, gastrointestinal tract and central nervous system [10]	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [23, 24], желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы [24] Damage to the organs of the lower respiratory system [23, 24], gastrointestinal tract and central nervous system [24]	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [31, 33] Damage to the organs of the lower respiratory system [31, 33]
Золотистые сирийские хомяки Golden Syrian hamsters	Поражение органов верхнего и нижнего отделов дыхательной системы [12] Damage to the organs of the upper and lower respiratory system [12]	–	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [38, 39, 41] и органов желудочно-кишечного тракта [39] Damage to the organs of the lower respiratory system [38, 39, 41] and gastrointestinal tract [39]	
Кролики Rabbits	–	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [6] Damage to the organs of the lower respiratory system [6]	–	
Хорьки Ferrets	Поражение органов верхнего и нижнего отделов дыхательной системы [13] Damage to the organs of the upper and lower respiratory system [13]	–	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [44] Damage to the organs of the lower respiratory system [44]	
Кошки Cats	Поражение органов верхнего и нижнего отделов дыхательной системы [13] Damage to the organs of the upper and lower respiratory system [13]	–	Поражение органов верхнего и нижнего отделов дыхательной системы [43] Damage to the organs of the upper and lower respiratory system [43]	
НЧП Non-human primates	Макаки-резусы Rhesus monkeys	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [15] Damage to the organs of the lower respiratory system [15]	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [27–29] Damage to the organs of the lower respiratory system [27–29]	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [47, 49] Damage to the organs of the lower respiratory system [47, 49]

См. окончание табл. 2
See the end of Table 2

Окончание табл. 2.
 End of Table 2

Животное Animal	Обнаруженные адекватные патоморфологические изменения Detected adequate pathomorphological changes		
	SARS	MERS	COVID-19
Африканские зеленые мартышки African Green monkeys	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [15] Damage to the organs of the lower respiratory system [15]	–	–
Макаки-крабоеды Cynomolgus	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [15] Damage to the organs of the lower respiratory system [15]	–	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [47, 49] Damage to the organs of the lower respiratory system [47, 49]
Обыкновенные игрунки Common marmosets	–	Поражение органов нижнего отдела дыхательной системы [30] Damage to the organs of the lower respiratory system [30]	–

клинических признаков и летальностью. Подобными качествами при исследовании MERS обладали hDPP4-трансгенные мыши [24], хотя и макаки-резусы демонстрировали сходную с заболевшими людьми клиническую картину [27, 28], а вырабатываемые ими вируснейтрализующие антитела обеспечивали протективный иммунитет, предотвращая развитие инфекции при повторном заражении [29]. Что касается COVID-19, то можно выделить модели НЧП, особенно макак-резусов и бабуинов [47], продемонстрировавших высокий уровень аналогии клинических проявлений и патогистологической картины с таковыми у заболевших людей.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Cherry J.D. The chronology of the 2002–2003 SARS mini pandemic. *Paediatr. Respir. Rev.* 2004; 5(4): 262–9. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2004.07.009>
- Li K., Wohlford-Lenane C.L., Channappanavar R., Park J.E., Earnest J.T., Bair T.B., et al. Mouse-adapted MERS coronavirus causes lethal lung disease in human DPP4 knockin mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114(15): E3119–28. <https://doi.org/10.1073/pnas.1619109114>
- Ye Z.W., Yuan S., Yuen K.S., Fung S.Y., Chan C.P., Jin D.Y. Zoonotic origins of human coronaviruses. *Int. J. Biol. Sci.* 2020; 16(10): 1686–97. <https://doi.org/10.7150/ijbs.45472>
- Decaro N., Martella V., Saif L.J., Buonavoglia C. COVID-19 from veterinary medicine and one health perspectives: What animal coronaviruses have taught us. *Res. Vet. Sci.* 2020; 131: 21–3. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.009>
- Wan Y., Shang J., Graham R., Baric R.S., Li F. Receptor recognition by the novel coronavirus from Wuhan: an analysis based on decade-long structural studies of SARS coronavirus. *J. Virology.* 2020; 94(7): e00127-20. <https://doi.org/10.1128/jvi.00127-20>
- Baseler L., de Wit E., Feldmann H. A comparative review of animal models of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Vet. Pathol.* 2016; 53(3): 521–31. <https://doi.org/10.1177/0300985815620845>
- Li W., Zhang C., Sui J., Kuhn J.H., Moore M.J., Luo S., et al. Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2. *EMBO J.* 2005; 24(8): 1634–43. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600640>
- Wentworth D.E., Gillim-Ross L., Espina N., Bernard K.A. Mice susceptible to SARS coronavirus. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(7): 1293–6. <https://doi.org/10.3201/eid1007.031119>
- Roberts A., Paddock C., Vogel L., Butler E., Zaki S., Subbarao K. Aged BALB/c mice as a model for increased severity of severe acute respiratory syndrome in elderly humans. *J. Virol.* 2005; 79(9): 5833–8. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.9.5833-5838.2005>
- McCray P., Pewe L., Wohlford-Lenane C., Hickey M., Manzel L., Shi L., et al. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Virol.* 2006; 81(2): 813–21. <https://doi.org/10.1128/JVI.02012-06>
- Tseng C., Huang C., Newman P., Wang N., Narayanan K., Watts D., et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of mice transgenic for the human angiotensin-converting enzyme 2 virus receptor. *J. Virol.* 2006; 81(3): 1162–73. <https://doi.org/10.1128/JVI.01702-06>
- Schaefer S.R., Stabenow J., Oberle C., Schriewer J., Bulter R.M., Sagartz J.E., et al. An immunosuppressed Syrian golden hamster model for SARS-CoV infection. *Virology.* 2008; 380(2): 312–21. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2008.07.026>
- Martina B.E., Haagmans B.L., Kuiken T., Fouchier R.A., Rimmelzwaan G.F., van Amerongen G., et al. SARS virus infection of cats and ferrets. *Nature.* 2003; 425(6961): 915. <https://doi.org/10.1038/425915a>
- ter Meulen J., Bakker A.B., van den Brink E.N., Weverling G.J., Martina B.E., Haagmans B.L., et al. Human monoclonal antibody as prophylaxis for SARS coronavirus infection in ferrets. *Lancet.* 2004; 363(9427): 2139–41. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16506-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16506-9)
- McAuliffe J., Vogel L., Roberts A., Fahle G., Fischer S., Shieh W.J., et al. Replication of SARS coronavirus administered into the respiratory tract of African Green, rhesus and cynomolgus monkeys. *Virology.* 2004; 330(1): 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.09.030>

16. Lawler JV, Endy T.P., Hensley L.E., Garrison A., Fritz E.A., Lesar M., et al. Cynomolgus macaque as an animal model for severe acute respiratory syndrome. *PLoS Med.* 2006; 3(5): e149. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030149>
17. van Doremalen N., Miazgowiec K., Milne-Price S., Bushmaker T., Robertson S., Scott D., et al. Host species restriction of middle east respiratory syndrome coronavirus through its receptor, dipeptidyl peptidase 4. *J. Virol.* 2014; 88(16): 9220–32. <https://doi.org/10.1128/JVI.00676-14>
18. Raj V.S., Smits S.L., Provacia L.B., van den Brand J.M., Wiersma L., Ouwendijk W.J., et al. Adenosine deaminase acts as a natural antagonist for dipeptidyl peptidase 4-mediated entry of the middle east respiratory syndrome coronavirus. *J. Virol.* 2013; 88(3): 1834–8. <https://doi.org/10.1128/JVI.02935-13>
19. Coleman C.M., Matthews K.L., Goicochea L., Frieman M.B. Wild-type and innate immune-deficient mice are not susceptible to the Middle East respiratory syndrome coronavirus. *J. Gen. Virol.* 2014; 95(Pt. 2): 408–12. <https://doi.org/10.1099/vir.0.060640-0>
20. Zhao J., Li K., Wohlford-Lenane C., Agnihothram S.S., Fett C., Zhao J., et al. Rapid generation of a mouse model for Middle East respiratory syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2014; 111(13): 4970–5. <https://doi.org/10.1073/pnas.1323279111>
21. Cockrell A.S., Peck K.M., Yount B.L., Agnihothram S.S., Scobey T., Curnes N.R., et al. Mouse dipeptidyl peptidase 4 is not a functional receptor for Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *J. Virol.* 2014; 88(9): 5195–9. <https://doi.org/10.1128/JVI.03764-13>
22. Cockrell A.S., Yount B., Scobey T., Jensen K., Douglas M., Beall A., et al. A mouse model for MERS coronavirus-induced acute respiratory distress syndrome. *Nat. Microbiol.* 2016; 2(2): 16226. <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.226>
23. Agrawal A.S., Garron T., Tao X., Peng B.H., Wakamiya M., Chan T.S., et al. Generation of a transgenic mouse model of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection and disease. *J. Virol.* 2015; 89(7): 3659–70. <https://doi.org/10.1128/JVI.03427-14>
24. Tao X., Garron T., Agrawal A.S., Algaissi A., Peng B.H., Wakamiya M., et al. Characterization and demonstration of the value of a lethal mouse model of Middle East respiratory syndrome coronavirus infection and disease. *J. Virol.* 2015; 90(1): 57–67. <https://doi.org/10.1128/JVI.02009-15>
25. Enkirch T., von Messling V. Ferret models of viral pathogenesis. *Virology.* 2015; 479-480: 259–70. <https://doi.org/10.1016/j.viro.2015.03.017>
26. Wong J., Layton D., Wheatley A.K., Kent S.J. Improving immunological insights into the ferret model of human viral infectious disease. *Influenza Other Respir. Viruses.* 2019; 13(6): 535–46. <https://doi.org/10.1111/irv.12687>
27. Munster V.J., de Wit E., Feldmann H. Pneumonia from human coronavirus in a macaque model. *N. Engl. J. Med.* 2013; 368(16): 1560–2. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1215691>
28. de Wit E., Rasmussen A.L., Falzarano D., Bushmaker T., Feldmann F., Brining D.L., et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) causes transient lower respiratory tract infection in rhesus macaques. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013; 110(41): 16598–603. <https://doi.org/10.1073/pnas.1310744110>
29. Yao Y., Bao L., Deng W., Xu L., Li F., Lv Q., et al. An animal model of MERS produced by infection of rhesus macaques with MERS coronavirus. *J. Infect. Dis.* 2013; 209(2): 236–42. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit590>
30. Falzarano D., de Wit E., Feldmann F., Rasmussen A.L., Okumura A., Peng X., et al. Infection with MERS-CoV causes lethal pneumonia in the common marmoset. *PLoS Pathogens.* 2014; 10(8): e1004250. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004250>
31. Sun SH, Chen Q., Gu H.J., Yang G., Wang Y.X., Huang X.Y., et al. A mouse model of SARS-CoV-2 infection and pathogenesis. *Cell Host Microbe.* 2020; 28(1): 124–133.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.05.020>
32. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020; 395(10224): 565–74. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)
33. Bao L., Deng W., Huang B., Gao H., Liu J., Ren L., et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. *Nature.* 2020; 583(7818): 830–3. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2312-y>
34. Hassan AO, Case J.B., Winkler E.S., Thackray L.B., Kafai N.M., Bailey A.L., et al. A SARS-CoV-2 infection model in mice demonstrates protection by neutralizing antibodies. *Cell.* 2020; 182(3): 744–53.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.06.011>
35. Israelow B., Song E., Mao T., Lu P., Meir A., Liu F., et al. Mouse model of SARS-CoV-2 reveals inflammatory role of type I interferon signaling. *J. Exp. Med.* 2020; 217(12): e20201241. <https://doi.org/10.1101/2020.05.27.118893>
36. Ng S.C., Tilg H. COVID-19 and the gastrointestinal tract: more than meets the eye. *Gut.* 2020; 69(6): 973–4. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-321195>
37. Xu Y., Li X., Zhu B., Liang H., Fang C., Gong Y., et al. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nat. Med.* 2020; 26(4): 502–5. <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0817-4>
38. Sia S.F., Yan L.M., Chin A.W.H., Fung K., Choy K.T., Wong A.Y.L., et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature.* 2020; 583(7818): 834–8. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2342-5>
39. Chan J.F., Zhang A.J., Yuan S., Poon V.K., Chan C.C., Lee A.C., et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility. *Clin. Infect. Dis.* 2020; ciaa325. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa325>
40. Lau S.Y., Wang P., Mok B.W., Zhang A.J., Chu H., Lee A.C., et al. Attenuated SARS-CoV-2 variants with deletions at the S1/S2 junction. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1): 837–42. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1756700>
41. Imai M., Iwatsuki-Horimoto K., Hatta M., Loeber S., Halfmann P.J., Nakajima N., 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>
42. Rogers T.F., Zhao F., Huang D., Beutler N., Burns A., He W.T., et al. Isolation of potent SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and protection from disease in a small animal model. *Science.* 2020; 369(6506): 956–63. <https://doi.org/10.1126/science.abc7520>
43. Shi J., Wen Z., Zhong G., Yang H., Wang C., Huang B., et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. *Science.* 2020; 368(6494): 1016–20. <https://doi.org/10.1126/science.abb7015>
44. Kim Y.I., Kim S.G., Kim S.M., Kim E.H., Park S.J., Yu K.M., et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe.* 2020; 27(5): 704–9.e2. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.023>
45. Park S.J., Yu K.M., Kim Y.I., Kim S.M., Kim E.H., Kim S.G., et al. Antiviral efficacies of FDA-approved drugs against SARS-CoV-2 infection in ferrets. *mBio.* 2020; 11(3): e01114-20. <https://doi.org/10.1128/mBio.01114-20>
46. Melin A.D., Janiak M.C., Marrone F., Arora P.S., Higham J.P. Comparative ACE2 variation and primate COVID-19 risk. *bioRxiv.* 2020; 2020.04.09.034967. Preprint. <https://doi.org/10.1101/2020.04.09.034967>
47. Singh D.K., Ganatra S.R., Singh B., Cole J., Alfson K.J., Clemmons E., et al. SARS-CoV-2 infection leads to acute infection

- with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species. *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.06.05.136481>
48. Rockx B., Kuiken T., Herfst S., Bestebroer T., Lamers M.M., Oude Munnink B., et al. Comparative pathogenesis of COVID-19, MERS, and SARS in a nonhuman primate model. *Science*. 2020; 368(6494): 1012–5. <https://doi.org/10.1126/science.abb7314>
49. Lu S., Zhao Y., Yu W., Yang Y., Gao J., Wang J., et al. Comparison of SARS-CoV-2 infections among 3 species of non-human primates. *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.04.08.031807>
50. Bao L., Deng W., Gao H., Xiao C., Liu J., Xue J., et al. Lack of reinfection in rhesus macaques infected with SARS-CoV-2. *bioRxiv*. 2020. <https://doi.org/10.1101/2020.03.13.990226>
51. Maisonnasse P., Guedj J., Contreras V., Behillil S., Solas C., Marlin R., et al. Hydroxychloroquine in the treatment and prophylaxis of SARS-CoV-2 infection in non-human primates. *Nature*. 2020; 585(7826): 584–7. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-27223/v1>

Информация об авторах

Нагорных Алексей Михайлович[✉] — к.вет.н., н.с. научной группы разработки экспериментальных моделей лаб. экспериментальной фармакологии отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 111123, Москва, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8320-2999>.
E-mail: nagornih@cmd.su

Тюменцев Александр Игоревич — к.б.н., зав. лаб. экспериментальной фармакологии отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 111123, Москва, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0537-2586>.
E-mail: tymencev@cmd.su

Тюменцева Марина Алексеевна — к.б.н., зав. лаб. геномного редактирования отдела молекулярной диагностики и эпидемиологии ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 111123, Москва, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3145-3702>.
E-mail: tyumentseva@cmd.su

Акимкин Василий Геннадиевич — д.м.н., проф., академик РАН, директор ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, 111123, Москва, Россия.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>.

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors

Aleksey M. Nagornykh[✉] — Cand. Sci. (Vet.), researcher, Scientific group of experimental models' development, Laboratory of experimental pharmacology, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, 111123, Moscow, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-8320-2999>.
E-mail: nagornih@cmd.su

Aleksander I. Tyumentsev — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of experimental pharmacology, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, 111123, Moscow, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0537-2586>.
E-mail: tymencev@cmd.su

Marina A. Tyumentseva — Cand. Sci. (Biol.), Head, Laboratory of genome editing, Department of molecular diagnostics and epidemiology, Central Research Institute of Epidemiology, 111123, Moscow, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3145-3702>.
E-mail: tyumentseva@cmd.su

Vasily G. Akimkin — D. Sci. (Med.), Professor, Full Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Central Research Institute of Epidemiology, 111123, Moscow, Russia.
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4228-9044>.

Contribution: the authors contributed equally to this article.