

© Коллектив авторов, 2023

УДК 616-092.9: 616.9-092.9

Остапенко О.В., Макалиш Т.П., Оберемок В.В., Зяблицкая Е.Ю., Кубышкин А.В., Фомочкина И.И., Юрченко К.А., Челкак Е.В., Галышевская А.А., Серебрякова А.В.

Изменение структуры органов пищеварения при инфицировании SARS-Cov-2 (экспериментальное исследование)

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»,
295051, Республика Крым, Симферополь, бульвар Ленина, д. 5/7

Введение. Наличие ангиотензинпревращающего фермента 2 и трансмембранной сериновой протеазы 2 на поверхности клеток многих органов дает основание предположить их повреждение при поражении вирусом SARS-Cov-2.

Цель исследования – изучение структуры крупных пищеварительных желез и кишечника после перенесенного заболевания в экспериментальной модели и проверка протективных свойств разработанной нами ДНК-вакцины на основе антисмысловых олигонуклеотидов (АСОН).

Методика. В модели заболевания использовали инфицированных гуманизированных мышей линии B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2, которым интраназально и внутримышечно вводили ДНК-вакцину, после чего исследовали органы пищеварительной системы.

Результаты. Показано, что среди органов пищеварительной системы наиболее чувствительной к вирусу является печень, демонстрирующая патологические изменения с первых дней эксперимента и до 30 сут наблюдения, наименьшим изменениям подвергся кишечник. Основные патологические изменения косались сосудистого русла, что привело к нарушению трофики органов и ухудшению их функциональной активности.

Заключение. Применение вакцины несколько снижало степень повреждения органов пищеварительной системы. Наиболее эффективным оказалось ее интраназальное введение.

Ключевые слова: SARS-Cov-2; вакцина; печень; поджелудочная железа; кишечник; морфология

Для цитирования: Остапенко О.В., Макалиш Т.П., Оберемок В.В., Зяблицкая Е.Ю., Кубышкин А.В., Фомочкина И.И., Юрченко К.А., Челкак Е.В., Галышевская А.А., Серебрякова А.В. Изменение структуры органов пищеварения при инфицировании SARS-Cov-2 (экспериментальное исследование). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2023; 67(4): 56-65.

DOI:10.25557/0031-2991.2023.04.56-65

Участие авторов: концепция и дизайн исследования — Оберемок В.В., Кубышкин А.В.; сбор материала – Юрченко К.А., Серебрякова А.В., Макалиш Т.П.; подготовка иллюстративного материала – Макалиш Т.П.; морфометрия и статистическая обработка – Челкак Е.В., Галышевская А.А.; написание текста статьи – Остапенко О.В., Макалиш Т.П., Оберемок В.В.; редактирование текста – Фомочкина И.И., Зяблицкая Е.Ю. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.

Для корреспонденции: Макалиш Татьяна Павловна, e-mail: gemini_m@list.ru

Финансирование. Исследование проводилось при финансовой поддержке Минобрнауки России: государственного задания № FZEG-2020-0060 «Алгоритмы молекулярно-генетической диагностики злокачественных новообразований и подходы к их таргетной терапии с применением клеточных и генетических технологий», а также частично – программы «Приоритет-2030» № 075-15-2021-1323.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 21.12.2022

Принята к печати 19.10.2023

Опубликована 27.12.2023

Ostapenko O.V., Makalish T.P., Oberemok V.V., Zyablitskaya E.Yu., Kubyshkin A.V., Fomochkina I.I., Yurchenko K.A., Chelkak E.V., Galyshevskaya A.A., Serebryakova A.V.

Changes in the structure of the digestive organs during SARS-Cov-2 infection (experimental study)

Vernadsky Crimean State University,
295051, Lenina 5/7, Ave, Simferopol, Crimean Republic, Russian Federation

The presence of angiotensin-converting enzyme 2 and transmembrane serine protease 2 on the surface of cells in many organs suggests their damage after SARS-Cov-2 infection. The **aim** of the study was to investigate the structures of large digestive glands and intestines after a disease in an experimental model. And also to check the protective properties of the DNA vaccine based on antisense oligonucleotides.

Methods. Humanized B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2 mice were used in the disease model. They were intranasally and intramuscularly injected with a DNA vaccine, after that the organs of the digestive system were examined.

As a **result** the liver is the most sensitive to the virus. It demonstrates pathological changes from the first days of the experiment to 30 days of observation. The least affected is intestines. The main pathological changes were observed in the vessels.

Conclusion. The use of the vaccine promote a slightly protective from the damage to the organs of the digestive system. The most effective was its intranasal administration

Keywords: SARS-Cov-2, vaccine, liver, pancreas, intestines, morphology

For citation: Ostapenko O.V., Makalish T.P., Oberemok V.V., Zyablitskaya E.Yu., Kubyshkin A.V., Fomochkina I.I., Yurchenko K.A., Chelkak E.V., Galyshevskaya A.A., Serebryakova A.V. Changes in the structure of the digestive organs during SARS-Cov-2 infection (experimental study). *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(4): 56-65. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.04.56-65

Author's contribution: the concept and design of the study – Oberemok V.V., Kubyshkin A.V., collection of material – Yurchenko K.A., Serebryakova A.V., Makalish T.P., preparation of illustrative material – Makalish T.P., morphometry and statistical processing – Chelkak E.V., Galyshevskaya A.A., writing the text of the article – Ostapenko O.V., Makalish T.P., Oberemok V.V., text editing – Fomochkina I.I., Zyablitskaya E.Yu. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors.

For correspondence: Tatyana P. Makalish, PhD, Leading Researcher of the Central Research Laboratory of the Institute «Medical Academy named after S.I. Georgievsky» V.I. Vernadsky CFU, e-mail: gemini_m@list.ru

Information about the authors:

Ostapenko O.V., <https://orcid.org/0000-0002-2935-1985>

Makalish T.P., <https://orcid.org/0000-0003-1884-2620>

Oberemok V.V., <https://orcid.org/0000-0001-7472-2389>

Zyablitskaya E.Yu., <https://orcid.org/0000-0001-8216-4196>

Kubyshkin A.V., <https://orcid.org/0000-0002-1309-4005>

Fomochkina I.I., <https://orcid.org/0000-0003-3065-5748>

Yurchenko K.A., <https://orcid.org/0000-0002-0284-7059>

Chelkak E.V., <https://orcid.org/0000-0002-2118-3884>

Galyshevskaya A.A., <https://orcid.org/0000-0003-4406-3540>

Serebryakova A.V., <https://orcid.org/0000-0003-4506-4465>

Financing. The study was financially supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation: state task No. FZEG-2020-0060 «Algorithms for molecular genetic diagnosis of malignant neoplasms and approaches to their targeted therapy using cellular and genetic technologies», and also partially – the program «Priority-2030» No. 075-15-2021-1323.

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

Received 21.12.2022

Accepted 19.10.2023

Published 27.12.2023

Введение

Основным механизмом проникновения в ткани вируса SARS-Cov-2 считается его связывание с ангиотензинпревращающим ферментом 2 (ACE2) и трансмембранной сериновой протеазы 2 (TMPRSS2), которые являются рецепторами для S-белка суперкапсида вириона [1, 2]. Данные рецепторы присутствуют

не только на эпителии органов дыхательной системы, но также в большинстве органов желудочно-кишечного тракта, что объясняет такие нетипичные для респираторного заболевания проявления, как диарея, нарушение желчеобразования, диспепсия, изменение биохимических показателей крови [3, 4]. Данные про-

явления встречаются примерно у 15-20% заболевших, в том числе и у детей, для которых вирус SARS-Cov-2 считается менее патогенным [5].

На сегодняшний день в разработке находится большое количество вакцин против новой корона-вирусной инфекции, вызывающей тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС), однако лишь немногие из них доказали свою эффективность и безопасность и допущены к производству и применению. В зависимости от применяемой технологии производства вакцины против COVID-19 (SAR-CoV-2) можно разделить на четыре платформы: РНК-вакцины, аденовирусные векторные вакцины, субъединичные (белковые) вакцины и инактивированные вирусные вакцины [6]. Все разрешенные РНК-вакцины построены схожим образом. Внутри липидных наночастиц находятся мРНК, кодирующие S-белок либо его часть. Попадая в клетки, мРНК транслирует синтез данного полипептида, на который и вырабатывается иммунный ответ [7, 8]. Схожим образом действуют и ДНК-вакцины [9] с той лишь разницей, что вместо мРНК они содержат кольцевые участки ДНК – плазмиды, которые трансформируются в мРНК уже внутри ядра клетки-хозяина. Однако большинство вакцин быстро устаревает вследствие частых мутаций вируса. Одной из перспективных стратегий является создание вакцин на основе консервативных последовательностей вирусных геномов с использованием олигонуклеотидов. Мы предлагаем аэрозольную вакцину против SARS-CoV-2, основанную на лассо-подобной конструкции фосфоротиоатных олигонуклеотидов, содержащих CpG-мотивы, и антигенпрезентирующей уникальной последовательности генома вируса [10]

Цель исследования – изучение изменений в органах пищеварительной системы, таких как кишечник, печень и поджелудочная железа, в экспериментальной модели ТОРС и при различных методах коррекции.

Методика

Данное исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского» (01.10.2021 протокол № 25/21) При проведении экспериментальных исследований соблюдали принципы и положения Руководства по уходу и использованию лабораторных животных (USNIH, № 85-23), международных правил «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals» (2009 г.) с учетом Конвенции Совета Европы о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.)

Олигонуклеотидная последовательность, включающая CpG-мотив как активирующий иммунную систему компонент и последовательность, кодирующую вирусный белок как антигенпрезентирующую часть, использована как вакцина, которую в дозировке 30 мкл в концентрации 1000 нг/мл вводили интраназально или внутримышечно животным экспериментальных групп за 2 недели до моделирования ТОРС.

В качестве модельных животных использовали гуманизированных мышей линии B6.Cg-Tg(K18-ACE2)2 (The Jackson Laboratory, США) обоих полов раннего зрелого возраста массой от 25 грамм в количестве 60 штук. Животные были разделены на 4 группы: 1-я – интактные животные ($n=6$), 2-я животные с моделью ТОРС ($n=18$), 3-я – интраназально вакцинированные животные с последующим моделированием ТОРС ($n=18$); 4-я – внутримышечно вакцинированные животные с последующим моделированием ТОРС ($n=18$). На 5-е сут после интраназального заражения вирусными частицами штамма Омикрон наблюдали выраженные признаки инфекции, проявлявшиеся в виде гипертермии, синюшности ушей, сниженной активности, расстройстве пищеварения. Животных выводили из эксперимента под наркозом (хлорлгидрат, 200 мг/кг подкожно), на 5-, 10- и 30-е сут после заражения.

Для морфометрического исследования брали участки поджелудочной железы (ПЖ), печени, двенадцатиперстной (ДК) и толстой кишки (ободочную кишку, ОК). Фиксировали в 10% забуференном формалине в течение 24 ч, проводили дегидратацию и пропитку парафином по стандартному протоколу. Из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 4 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином, просматривали под микроскопом DM2000 с камерой DFC295 (Leica, Германия) и сканировали (сканер Aperio CS2, Leica, США).

Морфометрию проводили с использованием ПО Aperio ImageScore v. 12.4.6. Во всех органах методом точек определяли относительные площади, занимаемые паренхимой и стромально-сосудистым компонентом. В пищеварительных железах рассчитывали ядерно-цитоплазматическое соотношение (ЯЦС) функциональных клеток. В ПЖ определяли размеры островков Лангерганса, в кишечнике – размеры ворсин.

Статистическую обработку данных проводили с использованием ПО STATISTICA 10.0. Нормальность распределения признака определяли методом Шапиро-Уилка. При нормальном распределении высчитывали среднее значение признака и среднеквадратическое отклонение. При распределении признака, отличном от нормального, определяли медиану, верхний и ниж-

ний квартили. Различия между группами определяли методом сравнения множественных выборок методом Краскела-Уоллиса при вероятности ошибки $p \leq 0,05$.

Исследование проводилось с использованием приборов центра коллективного пользования оборудованием «Молекулярная биология» центральной научно-исследовательской лаборатории института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».

Результаты

При моделировании ТОРС отмечаются нарушения структурно-функциональной организации больших пищеварительных желез. В печени деструктурированы печеночные дольки, нарушен характерный ход печеночных балок. Паренхима представлена гепатоцитами, размеры которых сильно варьируют от мелких до крупных, гипертрофированных (табл. 1). Среди 1-2 ядерных клеток преобладают ядра с эухроматином, в цитоплазме отмечаются признаки жировой дистрофии (рис. 1). Присутствуют клетки с некротически измененными ядрами. К концу эксперимента (30-е сут) снижается количество двуядерных клеток, что свидетельствует о слабом регенераторном потенциале. В расширенных сосудах визу-

лизируется сладж эритроцитов, стаз, отмечается периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация.

При использовании вакцины на начальных этапах (5-е сут) эксперимента со стороны пищеварительных желез существенных изменений не наблюдалось. Стромальный компонент практически не отличался от такового контрольной группы. Система выводных протоков без изменений. Просвет протоков не спазмирован, содержит слабозозинофильный секрет. Сосудистое русло сохраняет свою целостность. Можно заметить единичное фрагментарное сужение капилляров. С течением эксперимента (10-е сут) появляются более явные признаки повреждения органа в виде нарушения хода балок, признаков апоптоза, изменение размеров гепатоцитов, жировой дистрофии и как следствие уменьшение ядерно-цитоплазматического соотношения. Наименее выраженными эти явления были в группе с интраназальным введением вакцины.

В эндокринной части ПЖ с течением эксперимента наблюдали уменьшение размеров островков Лангерганса (табл. 2), а также размеров экзокриноцитов, сопровождавшееся ростом ядерно-цитоплазматического соотношения, что свидетельствует о снижении функциональной активности клеток. Морфологически это проявлялось в нарушении зональности цитоплаз-

Таблица 1/ Table 1

Морфометрические характеристики печени мышей контрольной и экспериментальных групп (M±Sd)

Morphometric characteristics of the liver of mice in the control and experimental groups (M±Sd)

Группа Group	Срок выведения из эксперимента, сутки Period of withdrawal from the experiment, days	Площадь гепатоцита, мкм ² hepatocyte area, μm^2	Площадь ядра гепатоцита, мкм ² Hepatocyte nucleus area, μm^2	Ядерно-цитоплаз- матическое соотношение Nuclear-cytoplasmic ratio
1-я Интактная Intact	30	255,47±50,79	47,98±10,26	0,24±0,07
2-я Модель ТОРС/SARS Model	5	282,66±60,84	46,11±11,09	0,20±0,04
	10	294,32±48,98	38,65±9,66	0,15±0,03*
	30	381,21±71,71**	55,31±12,82	0,17±0,03
3-я Внутримышечное введение вакцины Intramuscular vaccine	5	267,67±43,34	60,80±13,67°	0,30±0,08
	10	303,87±93,32	54,23±15,50°	0,23±0,08°
	30	260,19±49,72°	47,79±11,17	0,23±0,06°
4-я Интраназальное введение вакцины Intranasal vaccine	5	278,15±71,59	40,33±8,19	0,18±0,06
	10	458,88±96,71*°	43,67±10,94	0,11±0,03**
	30	392,94±73,79**	41,70±7,88°	0,12±0,03*°

Примечание. * – отличия от интактной группы, ° – отличия от модели (2-я группа) в соответствующие сроки, ◆ отличия в разные сроки внутри своей группы.

Notes. * differences from the intact group, ° differences from the model in the relevant time frame, ◆ differences in different terms within their group.

мы экзокриноцитов. На поздних сроках эксперимента встречались клетки с признаками некроза или апоптоза (гиперхромные или неправильной формы вакуолизованные ядра, вакуолеобразные просветления в цитоплазме). В группах вакцинированных животных данные явления были менее выражены, особенно при интраназальном введении. Статистической значимости, выявленные отличия не имели (рис. 2).

В кишечнике наиболее яркими проявлениями повреждения стали отек собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы, в результате чего заметно изменились размеры ворсин в сторону уменьшения их высоты и утолщения с параллельным увеличением высоты эпителия, что особенно заметно в модели ТОРС (табл. 3, рис. 3). Основа ворсин сильно разволокнена, сосуды расширены, преобладают лимфоидные элементы. Все свидетельствует о нарушении микроциркуляторного русла. Эпители-

альная пластика ДК частично разрушена. Встречаются некротические и апоптозные клетки, часть которых слущивается. Энтероциты с признаками дистрофии, в околоядерной зоне имеются просветления. Щеточная каемка истончается, но не исчезает. Бокаловидных клеток очень мало. Также отмечается небольшое количество клеток Панета, количество гранул в которых также снижено. Аналогичная картина отмечается и в ОК. Качественный и количественный состав секрета бокаловидных клеток существенно варьирует. Окраска бокаловидных клеток неоднородна: от неокрашенных, слабоацидофильных, до синих базофильных. К концу наблюдений в кишечнике нарастают признаки воспалительного процесса: наличие активных макрофагов, расширенные лимфатические капилляры, увеличение клеток Панета. Применение вакцины оказало такой же эффект, как и в пищеварительных железах, а именно значитель-

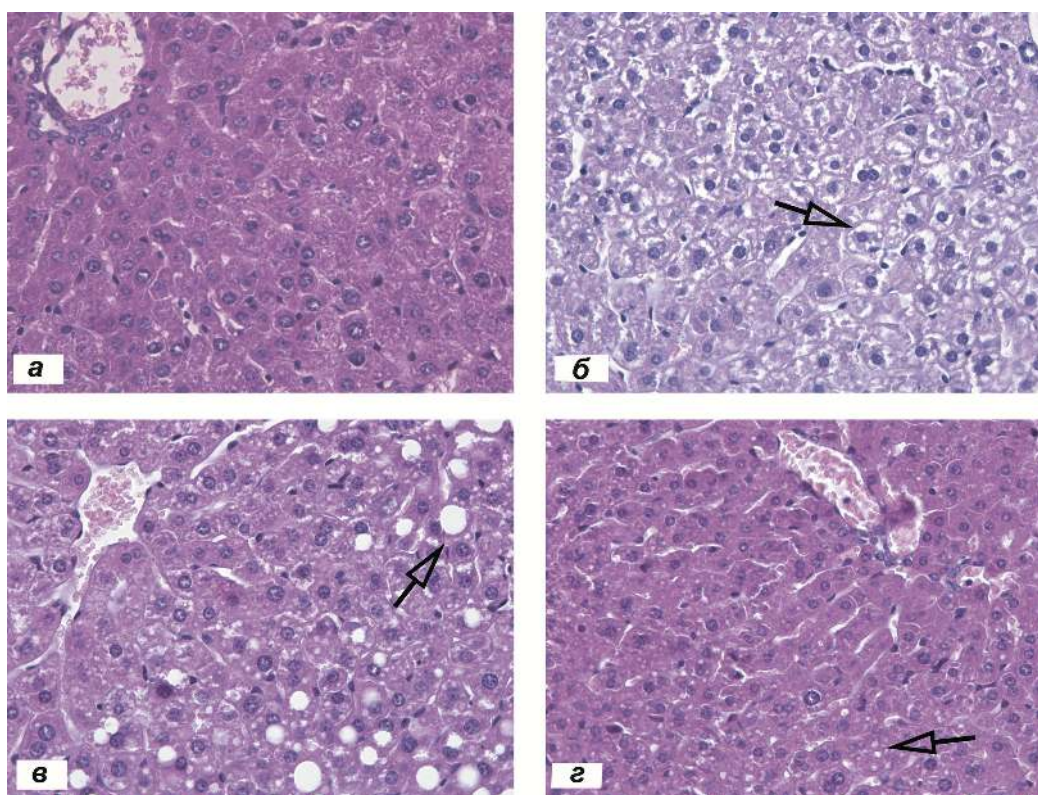


Рис. 1. Морфология печени экспериментальных животных.

Гематоксилин-эозин. Ув. 400х. а – интактная группа, б – группа с моделью ТОРС, в – группа внутримышечно вакцинированных мышей, г – группа интраназально вакцинированных мышей. Стрелками обозначены места гидропической и жировой дистрофии.

Fig. 1. Morphology of the liver of experimental animals.

Hematoxylin-eosin. Magnification 400x. a/a – intact group, б/б – SARS model group, в/в – a group of intramuscularly vaccinated mice, д/д – a group of intranasally vaccinated mice. The arrows indicate the places of hydropic and fatty degeneration.

ное нивелирование описанных нарушений в строении ДК и ОК.

Обсуждение

По данным литературы у пациентов, перенесших ТОРС, наблюдали нарушение белково-синтетической функции, поражение гепатоцитов [11]. Гистологически основными проявлениями повреждения печени являлись нарушение микроциркуляции, стаз эритроцитов, тромбоз сосудов печени, а также очаги некроза паренхимы [12]. Также среди особенностей морфологии поврежденной вирусом печени является баллонная дистрофия гепатоцитов, наблюдаемая нами в подавляющем числе препаратов в большей или меньшей степени выраженности, а также увеличение числа двуядерных клеток как компенсаторная реакция на повреждение [13]. Наблюдаемая нами картина поражения печени в модели ТОРС вполне согласуется с данными этих исследований.

Повреждение ПЖ, как экзокринной, так и эндокринной ее частей, является многофакторным: 1) прямое опосредованное вирусом повреждение экзокринной части поджелудочной железы через рецепторы ACE2 и TMPRSS2; 2) повреждение провоспалительной средой из-за высоких уровней цитокинов и нарушения иммунной регуляции; 3) вирус-индуцированная липотоксичность из-за нарушения работы Na⁺/

H⁺ каналов, вызывающих гиперлипидемию; 4) медикаментозное повреждение поджелудочной железы (из-за нестероидных противовоспалительных препаратов и кортикостероидов) [14], что в случае нашего эксперимента исключается. По данным исследований [15] вирус SARS-Cov может проникать в клетки островков Лангерганса используя ACE2 в качестве своего рецептора. Это вызывает нарушение обмена углеводов у больного, что, однако, может носить временный характер. ACE2 в поджелудочной железе экспрессируется главным образом в перипанкреатических микрососудах и в меньшей степени на поверхности островков Лангерганса, включая β-клетки [16], что вызывает более раннее прямое повреждение экзокриноцитов [17], наблюдаемое нами в эксперименте. Данных по патологоанатомическим исследованиям поджелудочной железы недостаточно [14]. Одни исследователи отмечают дистрофические и некротические изменения в островковых клетках на фоне сохранной экзокринной части [18], другие встречали признаки очагового панкреатита и геморрагические некротические изменения [19], что вполне соотносится с данными наших экспериментальных исследований. В модели ТОРС без коррекции нарушение функционирования поджелудочной железы заметно уже на 5-е сут. При этом экзокринная и эндокринная части реагируют на повреждение с разной скоро-

Таблица 2/Table 2

Морфометрические характеристики поджелудочной железы мышей контрольной и экспериментальных групп (M±Sd)

Morphometric characteristics of the pancreas of mice in the control and experimental groups (M±Sd)

Группа Group	Срок выведения из эксперимента, сут. Period of withdrawal from the experiment, days	Площадь островка Лангерганса, мкм ² Area of the islet of Langerhans, μm ²	Диаметр островка Лангерганса, мкм Diameter of an islet of Langerhans, μm	Площадь экзокриноцита, мкм ² Exocrinocyte area, μm ²	Площадь ядра экзокриноцита, мкм ² Exocrinocyte nucleus area, μm ²	Ядерно-цитоплазматическое соотношение Nuclear-cytoplasmic ratio
1-я Интактная Intact	30	14013,18±10247,35	163,22±78,80	459,22±106,48	38,54±12,29	0,10±0,04
2-я Модель ТОРС SARS Model	5	15632,73±6945,00	180,95±48,29	476,97±81,06	39,88±24,54	0,10±0,09
	10	12052,57±8288,31	137,78±50,47	312,87±109,46	35,29±12,55	0,14±0,07
	30	13759,75±7657,40	193,21±80,89	269,62±137,81	33,35±14,05	0,16±0,06
3-я Внутримышечное введение вакцины Intramuscular vaccine	5	13475,78±16501,11	138,02±100,30	389,54±75,37	26,88±6,42	0,08±0,03
	10	9074,91±3802,26	126,72±27,26	465,47±184,19	36,86±4,35	0,10±0,04
	30	10214,19±5648,21	129,61±25,34	271,64±97,99	21,26±9,95	0,10±0,05
4-я Интраназальное введение вакцины Intranasal vaccine	5	15522,63±3302,36	170,37±41,60	334,36±182,12	26,40±12,67	0,09±0,02
	10	14063,67±1492,18	169,23±21,56	319,07±115,85	29,74±0,43	0,11±0,07
	30	14165,51±4151,04	161,26±38,35	386,84±49,58	28,97±8,94	0,10±0,03

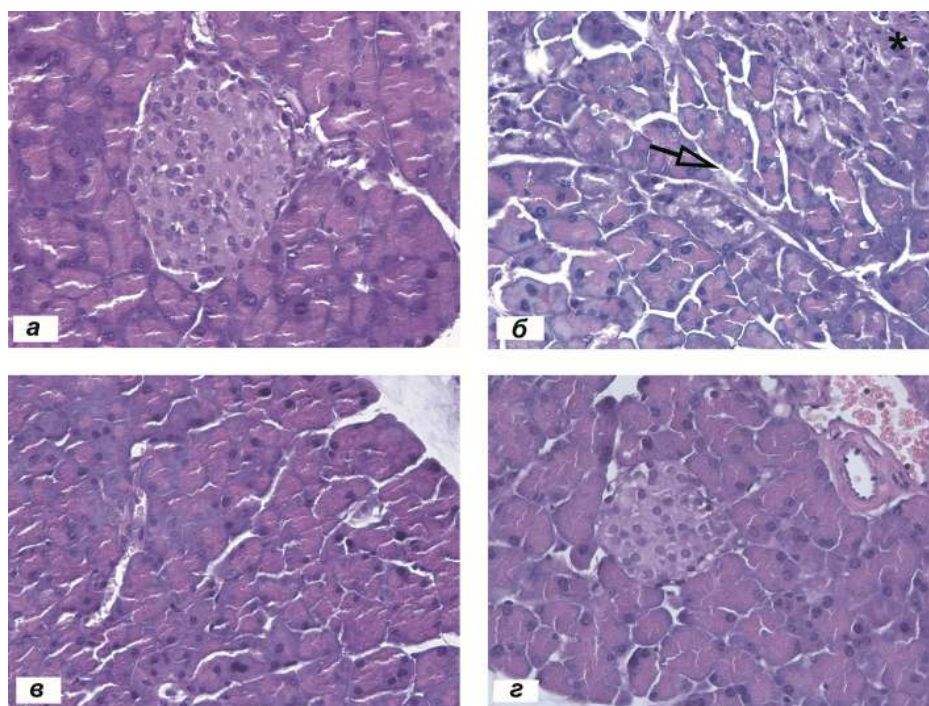


Рис. 2. Морфология поджелудочной железы экспериментальных животных. Гематоксилин-эозин. Ув. 400х. а – интактная группа, б – группа с моделью ТОРС, в – группа внутримышечно вакцинированных мышей, г – группа интраназально вакцинированных мышей. Стрелкой обозначен отек стромы железы, * - группа клеток с признаками апоптоза.

Fig. 2. Morphology of the pancreas of experimental animals. Hematoxylin-eosin. Magnification 400x. a/a – intact group, b/b – SARS model group, c/c – a group of intramuscularly vaccinated mice, d/g – a group of intranasally vaccinated mice. The arrow indicates the edema of the gland stroma, * – a group of cells with signs of apoptosis.

Таблица 3/ Table 3

Морфометрические характеристики слизистой оболочки тонкой кишки мышей контрольной и экспериментальных групп (M±Sd)

Morphometric characteristics of the mucous membrane of the small intestine of mice of the control and experimental groups (M±Sd)

Группа / Group	Срок выведения из эксперимента, дней Period of withdrawal from the experiment, days	Высота ворсин, мкм Villus height, μm	Ширина ворсин, мкм Width of villi, microns	Высота эпителия, мкм Epithelium height, μm
Интактная Intact	30	387,81±62,57	63,25±10,78	20,12±4,49
Модель ТОРС SARS Model	5	338,41±126,59	73,73±13,93	22,65±3,34
	10	327,95±128,27	88,33±13,15	24,58±5,35
	30	303,61±76,67	100,55±28,30	39,44±4,78**
Внутримышечное введение вакцины Intramuscular vaccine	5	375,64±45,74	62,76±9,46	23,53±3,62
	10	386,30±56,94	65,05±8,37	22,62±3,98
	30	385,34±47,24	64,26±7,28°	23,53±3,62°
Интраназальное введение вакцины Intranasal vaccine	5	382,34±41,51	64,54±5,01	22,19±3,03
	10	370,82±66,26	73,65±8,78	34,25±8,12**
	30	380,91±62,45	63,18±6,04°	23,64±4,66°

Примечание. * – отличия от интактной группы, ° – отличия от модели в соответствующие сроки, ◆ – отличия в разные сроки внутри своей группы.

Notes. * – differences from the intact group, ° – differences from the model in the relevant time frame, ◆ – differences in different terms within their group.

стью. Экзокриноциты демонстрируют признаки повреждения уже на ранних стадиях наблюдения, к 10-м суткам начиная компенсаторное восстановление и проявляя заметный потенциал к регенерации. Эндокринная же часть подвергается повреждению несколько позже, а к 30-м сут ее состояние становится еще хуже. В группе животных, получавших внутримышечную вакцину, наиболее заметными были изменения микроциркуляторного русла, что не могло не сказаться на состоянии паренхимы железы. Данные изменения прогрессировали с течением болезни. Наиболее благоприятным оказалось состояние железы у животных, получавших интраназально вакцину. Изменения в клетках были наименее значительными и развились лишь на 10-е сут, прогрессируя с течением эксперимента.

При SARS-CoV присутствие вируса было обнаружено в эпителиальных клетках тонкой и толстой кишки, в которых он также проявлял особенности репликации [20]. В исследованном авторами аутопсийном

и биопсийном материале ободочной и подвздошной кишок каких-либо патологических изменений обнаружено не было, помимо гистиоцитарной инфильтрации собственной пластинки слизистой. Отмечались случаи нарушения гемодинамики в органах ЖКТ в виде микротромбов, отеков и гиперемии [21]. Наиболее частыми проявлениями поражения различных отделов пищеварительной трубки являлась лимфоплазматическая инфильтрация наряду с интерстициальным отеком собственной пластинки желудка, двенадцатиперстной кишки и прямой кишки [23–25]. Данные, полученные в результате нашего исследования, оказались во многом сопоставимы с данными литературы. Во всех экспериментальных группах в большей или меньшей степени наблюдались отек и разволокнение собственной пластинки слизистой, а также подслизистой основы, в результате чего изменялись толщина и высота ворсин ДК. Однако статистически значимой разницы по сравнению со здоровой слизистой они не носили. Также встречались признаки воспали-

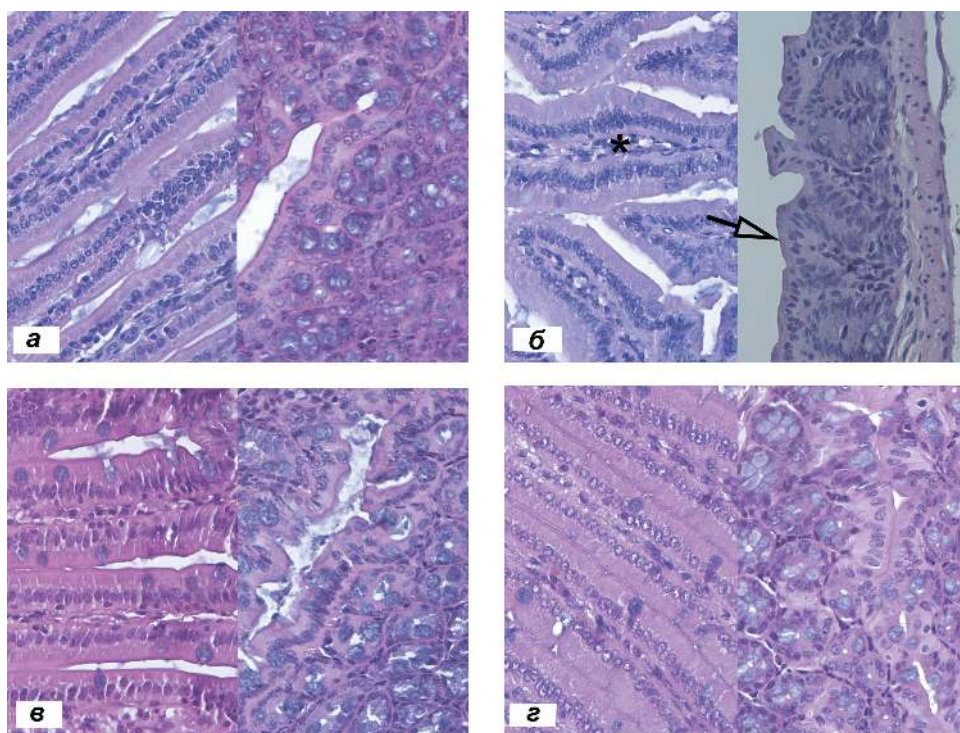


Рис. 3. Морфология двенадцатиперстной (слева) и ободочной (справа) кишки экспериментальных животных. Гематоксилин-эозин. Ув. 400. а – интактная группа, б – группа с моделью ТОРС, в – группа внутримышечно вакцинированных мышей, г – группа интраназально вакцинированных мышей. Стрелкой обозначено снижение высоты эпителия и уменьшение числа железистых клеток, * - отек стромы и утолщение ворсинки тонкой кишки.

Fig. 3. Morphology of the duodenum (left) and colon (right) of experimental animals. Hematoxylin-eosin. Magnification 400. a/a – intact group, b/b – SARS model group, c /в – a group of intramuscularly vaccinated mice, d/l/r – a group of intranasally vaccinated mice. The arrow indicates a decrease in the height of the epithelium and a decrease in the number of glandular cells, * - edema of the stroma and thickening of the villi of the small intestine.

ния в виде повышения числа лимфоцитов и макрофагов в толще ворсин, более выраженные в группе модели ТОРС без коррекции и в группе с внутримышечной вакциной. В этих же группах обратило на себя внимание уменьшение числа бокаловидных клеток особенно в ОК, а также изменение химического состава секретируемой ими слизи. По данным исследователей [26] отмечается перераспределение нейтральных и кислых мукополисахаридов при развитии патологических процессов. Данные изменения, однако, могут быть обусловлены особенностями животной модели и экстраполировать их на человека следует с особой осторожностью.

Заключение

Наличие ACE2 и TMPRSS2 на поверхности клеток органов желудочно-кишечного тракта делает их уязвимыми для вируса SARS-CoV-2. Наиболее подвержена повреждениям печень ввиду своей фильтрующей и детоксикационной функции, а также влиянию лекарственных препаратов, используемых при лечении новой коронавирусной инфекции. Второй по степени подверженности повреждениям является поджелудочная железа. Наиболее чувствительной, но и быстрее восстанавливающейся от повреждений является ее экзокринная часть. Наименее подвержен влиянию вирусных частиц оказался кишечник. Несмотря на множественные проявления в виде диареи, тошноты и рвоты, гистологические исследования выявили лишь нарушения гемодинамики и лимфоидную инфильтрацию.

При моделировании CAPS нами наблюдались характерные для исследуемых органов изменения, описанные в литературе. Применение вакцины на основе АСОН в некоторой степени нивелировало эти проявления. Наиболее эффективным оказалось интраназальное введение вакцины, так как патологические проявления в этой группе были минимальными, за исключением печени. Аналогичный результат был получен нами ранее и при исследовании легкого.

Таким образом, можно заключить, что использование вакцины на основе АСОН перспективно в плане снижения патологических изменений в органах пищеварительной системы при новой коронавирусной инфекции.

Литература

(п.п. 1-10; 12-25 см. References)

- Ильченко Л.Ю., Никитин И.Г., Федоров И.Г. COVID-19 и поражение печени. *Архивъ внутренней медицины*. 2020; 10(3): 188-97. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-3-188-197.

- Бахтин А.А. Особенности гистохимических показателей в тонкой кишке при воздействии неблагоприятных экологических факторов. *Современные проблемы науки и образования*. 2012; 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=5345>

References

- Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S. et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020; 181(2): 271–80. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052
- Gupta A., Madhavan M.V., Sehgal K., Nair N., Mahajan S., Sehrawat T.S., et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nature Medicine*. 2020. doi: 10.1038/s41591-020-0968-3
- Wang F., Wang H., Fan J., Zhang Y., Wang H. Qiu Z. Pancreatic injury patterns in patients with COVID-19 pneumonia. *Gastroenterology*. 2020; 159(1):367-370. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.03.055>
- Hamming I., Timens W., Bulthuis M.L., Lely A.T., Navis G., van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *The Journal of Pathology*. 2004; 203(2): 631-7.
- Mao R., Qiu Y., He J.S., Tan J.Y., Li X.H., Liang J., et al. Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Gastroenterology and Hepatology*. 2020; 5(7): 667-78. doi: 10.1016/S2468-1253(20)30126-6
- Alagheband Bahrami A., Azargoonjahromi A., Sadraei S., Aarabi A., Payandeh Z., Rajabibazl M. An overview of current drugs and prophylactic vaccines for coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Cellular and Molecular Biology Letters*. 2022; 27(1): 38. doi: 10.1186/s11658-022-00339-3
- Rosenblum H.G., Hadler S.C., Moulia D., Shimabukuro T.T., Su J.R., Tepper N.K., et al. Use of COVID-19 Vaccines After Reports of Adverse Events Among Adult Recipients of Janssen (Johnson & Johnson) and mRNA COVID-19 Vaccines (Pfizer-BioNTech and Moderna): Update from the Advisory Committee on Immunization Practices – United States, July 2021. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2021; 70(32): 1094-9. doi: 10.15585/mmwr.mm7032e4. PMID: 34383735
- Dolgin E. CureVac COVID vaccine let-down spotlights mRNA design challenges. *Nature*. 2021;594(7864):483. doi: 10.1038/d41586-021-01661-0
- Mallapaty S. India's DNA COVID vaccine is a world first—more are coming. *Nature*. 2021; 597(7875): 161–2. doi: 10.1038/d41586-021-02385-x
- Oberemok V.V., Laikova K.V., Yurchenko K.A. Marochkin N.A. Fomochkina I.I., Kubyshevskiy A.V. SARS-CoV-2 will constantly sweep its tracks: a vaccine containing CpG motifs in 'lasso' for the multifaceted virus. *Inflammation Research*. 2020; 69: 801–12. <https://doi.org/10.1007/s00011-020-01377-3>
- Il'chenko L.Yu., Nikitin I.G., Fedorov I.G. COVID-19 and liver damage. *Архивъ внутренней медицины*. 2020; 10(3): 188-97. doi: 10.20514/2226-6704-2020-10-3-188-197. (in Russian)
- Hanley B., Lucas S.B., Youd E., Swift B., Osborn M. Autopsy in suspected COVID-19 cases. *Journal of Clinical Pathology*. 2020; 73(5): 239-42. doi: 10.1136/jclinpath-2020-206522
- Chau T.N., Lee K.C., Yao H., Tsang T.Y., Chow T.C. Yeung Y.C., et al. SARS-associated viral hepatitis caused by a novel coronavirus: report of three cases. *Hepatology*. 2004; 39: 302-10. <https://doi.org/10.1002/hep.20111>

14. Samanta J., Gupta R., Singh M.P., Patnaik I., Kumar A., Kochhar R. Coronavirus disease 2019 and the pancreas. *Pancreatology*. 2020; 20(8): 1567–75. doi: 10.1016/j.pan.2020.10.035
15. Yang J.K., Lin S.S., Ji X.J., Guo L.M. Binding of SARS coronavirus to its receptor damages islets and causes acute diabetes. *Acta Diabetologica*. 2010; 47: 193–9. doi: 10.1007/s00592-009-0109-4
16. Fignani D., Licata G., Brusco N., Nigi L., Grieco G.E., Marselli L. et al. SARS-CoV-2 Receptor Angiotensin I-Converting Enzyme Type 2 (ACE2) Is Expressed in Human Pancreatic β -Cells and in the Human Pancreas Microvasculature. *Frontiers of Endocrinology*. 2020; 11: 596898. doi: 10.3389/fendo.2020.596898
17. Janis A. Müller J.A., Groß R., Conzelmann C., Krüger C., Merle U., et al. SARS-CoV-2 infects and replicates in cells of the human endocrine and exocrine pancreas. *Nature Metabolism*. 2021; 3(2): 149–165. doi: 10.1038/s42255-021-00347-1
18. Yao X., Li T., He Z., Ping Y., Liu H., Yu S., et al. A pathological report of three COVID-19 cases by minimally invasive autopsies. *Chin Journal of Pathology*. 2020; 49: 411–7.
19. Hanley B., Naresh K.N., Roufosse C., Nicholson A.G., Weir J., Cooke G.S., et al. Histopathological findings and viral tropism in UK patients with severe fatal COVID-19: a post-mortem study. *The Lancet. Microbe*. 2020. doi: 10.1016/S2666-5247(20)30115-4
20. Leung W.K., To K., Chan P.K., Chan H.L., Wu A.K., Lee N., et al. Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection. *Gastroenterology*. 2003; 125: 1011–7. doi: 10.1016/j.gastro.2003.08.001
21. Peiris S., Mesa H., Aysola A., Manivel J., Toledo J., Borges-Sa M. et al. Pathological findings in organs and tissues of patients with COVID-19: A systematic review. *PLoS One*. 2021; 16(4): e0250708. doi: 10.1371/journal.pone.0250708
22. Xiao F., Tang M., Zheng X., Liu Y., Li X., Shan H. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology*. 2020; 158(6). doi: 10.1053/j.gastro.2020.02.055. 1831–1833.e3
23. Carvalho A., Alqusairi R., Adams A., Paul M., Kothary N., Peters S. SARS-CoV-2 gastrointestinal infection causing hemorrhagic colitis: implications for detection and transmission of COVID-19 disease. *The Armenian Journal of Gastroenterology*. 2020; 115(6): 942–6. doi: 10.14309/ajg.0000000000000667
24. Singh A., Zaheer S., Kumar N., Singla T., Ranga S. Covid19, beyond just the lungs: A review of multisystemic involvement by Covid19. *Pathology – Research and Practice*. 2021; 224: 153384. doi: 10.1016/j.prp.2021.153384
25. Livanos A.E., Jha D., Cossarini F., Gonzalez-Reiche A.S., Tokuyama M., Aydillo Tet al. Intestinal Host Response to SARS-CoV-2 Infection and COVID-19 Outcomes in Patients With Gastrointestinal Symptoms. *Gastroenterology*. 2021; 160(7): 2435–2450.e34. doi: 10.1053/j.gastro.2021.02.056
26. Bakhtin A.A. Features of histochemical parameters in the small intestine under the influence of adverse environmental factors. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2012; 1. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=5345> (in Russian)

Сведения об авторах:

Остапенко Ольга Валерьевна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. отдела биомедицинских технологий инженерингового центра «Генетические и клеточные биотехнологии» ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»;

Макаши Татьяна Павловна, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. ЦНИЛ Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»;

Оберемок Владимир Владимирович, доктор биол. наук, доцент, зав. каф. молекулярной генетики и биотехнологий Института биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»;

Зяблицкая Евгения Юрьевна, доктор мед. наук, доцент, вед. науч. сотр. ЦНИЛ Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»;

Кубышкин Анатолий Владимирович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. общей и клинической патофизиологии Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»;

Фомочкина Ирина Ивановна, доктор мед. наук, проф., каф. общей и клинической патофизиологии Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»;

Юрченко Ксения Андреевна, аспирант каф. молекулярной генетики и биотехнологий Института биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского»

Челкак Екатерина Вячеславовна, лаборант ЦНИЛ Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»;

Гальшевская Анна Александровна, студент, Институт «Медицинская академия имени С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»;

Серебрякова Анна Валерьевна, ординатор каф. патологической анатомии Института «Медицинская академия им. С.И. Георгиевского» ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского».