

АРГУМЕНТЫ И ФАКТЫ ПО КОРОНАВИРУСУ (COVID-2019) (КРАТКИЙ ОБЗОР)

Джайнакбаев Н.Т., Шарипов К.О.
КазРосмедуниверситет

Появляется новый кризис общественного здравоохранения, угрожающий миру появлением и распространением нового коронавируса 2019 года (2019-nCoV) или тяжелого острого респираторного синдрома коронавируса 2 (SARS-CoV-2). Вирус возник у летучих мышей и был передан человеку через неизвестных животных-посредников в Ухане, провинция Хубэй, Китай, в декабре 2019 года. Болезнь передается при вдыхании или контакте с инфицированными каплями, и инкубационный период колеблется от 2 до 14 дней. Симптомами обычно являются жар, кашель, боль в горле, одышка, усталость, недомогание и другие. Болезнь, умеренная у большинства людей; у некоторых (обычно пожилых людей и лиц с сопутствующими заболеваниями) он может прогрессировать до пневмонии, острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) и полиорганной дисфункции. Многие люди бессимптомны. По оценкам, смертность от 2 до 3%. Лечение по существу поддерживающее (пока). Профилактика включает в себя изоляцию в домашних условиях, а также строгие меры инфекционного контроля в больницах. Вирус распространяется быстрее, чем его два предка - SARS-CoV и коронавирус ближневосточного респираторного синдрома (MERS-CoV), но имеет более низкую смертность.

Возникает естественный вопрос, что эта за инфекция, которая поразила уже более миллиона людей в разных странах мира? Почему нужно закрывать границы? Почему объявлены карантинные в целых городах, больших регионах и странах? Почему она называется коронавирусом? На самом деле здесь смешалось сразу несколько понятий, о которых нужно рассказать подробнее.

Однако, необходимо четко разделять само заболевание и вирус, который вызывает его. Это разные вещи и называются они по-разному. Например, вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), который вызывает ВИЧ-инфекцию и впоследствии у человека развивается синдром приобретённого иммунного дефицита (СПИД).

Введение.

Первоначально, при первых новостях о распространении вирусного заболевания в Ухане встречалось название «уханьский вирус» и «китайский вирус», а затем прибавили к названию понятие коронавируса - «китайский коронавирус».

Как известно, правилами ВОЗ четко определено, что в названии вирусов не должно быть географического названия, имени людей, видов животных. Поэтому, первоначально использовалось название 2019-nCoV, но впоследствии сменилось на SARS-CoV-2. Наименование нового вируса «SARS-CoV-2» в феврале 2020-го года было принято Международным комитетом по таксономии вирусов - International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Из-за схожести вирус, вызывающий атипичную пневмонию, вспышка которой происходила в 2002—2003 годах, тоже имеет название SARS-CoV. Комитетом было определено и название заболевания - COVID 19, что расшифровывается как: CO - Corona, VI - virus, D - Disease (болезнь, заболевание).

Коронавирус - это название для целого семейства вирусов, поражающих человека и животных. Такое название коронавирусы получили из-за своего строения. Под микроскопом отростки вокруг вируса напоминают солнечную корону (рисунок 1). По своему строению SARS-CoV-2 - один из семейства коронавирусов.

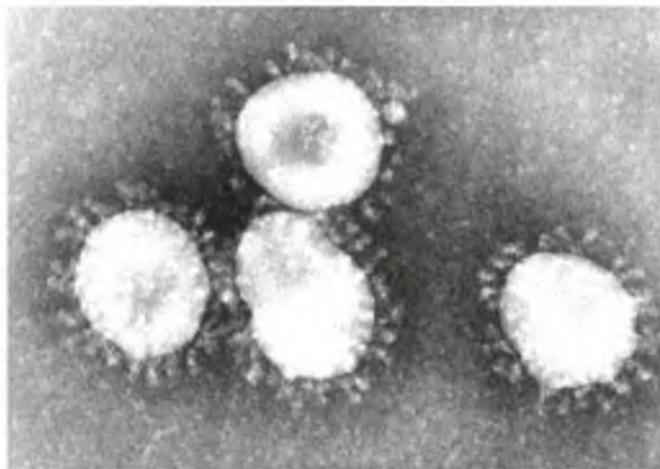


Рисунок 1. Коронавирус. Электронная микроскопия.

Коронавирусы (CoVs) - крупнейшая группа вирусов, относящихся к порядку Nidovirales с 4-мя семействами Coronaviridae, Arteriviridae, Mesoniviridae и Roniviridae. Семейство Coronaviridae состоит из двух подсемейств - Coronavirinae и Torovirinae. Подсемейство Coronavirinae подразделяется на четыре рода: Alphacoronavirus (alphaCoV), Betacoronavirus (betaCoV), Deltacoronavirus (deltaCoV) и Gammacoronavirus (gammaCoV) [1, 2].

Структура, жизнедеятельность и механизм действия

Первоначально вирусы были классифицированы на эти роды на основе серологии, но теперь разделяются на основе филогенетической кластеризации. Многолетний анализ эволюции этих вирусов показал, что летучие мыши и грызуны являются основными генетическими источниками большинства alphaCoVs и betaCoVs, в то время как птицы - типов deltaCoVs и gammaCoVs [4-6].

Все вирусы порядка Nidovirales окружены несегментированными одноцепочечной (+) РНК. Длина РНК-последовательности коронавируса составляет около 30 000 нуклеотидов и содержит ген репликазы, катализирующий репликацию генов структурных и вспомогательных белков, и различия внутри семейств Nidovirus связаны с количеством, типом и размерами структурных белков. Эти различия вызывают значительные изменения в структуре и морфологии нуклеокапсидов и вирионов.

Геном вируса состоит из шести основных рамок открытого считывания (ORF), общих для коронавирусов и ряда других вспомогательных генов (рис. 2). Дальнейший анализ показал, что некоторые из 2019-nCoV генов имеют менее 80% идентичности нуклеотидных последовательностей с SARS-CoV. Кроме того, аминокислотные последовательности семи консервативных доменов репликазы в ORF1ab, которые использовались для классификации видов CoV, были 94,4% идентичны между 2019-nCoV и SARS-CoV, что говорит о том, что эти два вируса принадлежат одному и тому же виду, SARS-CoV [7].

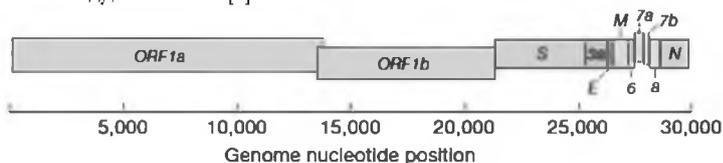


Рисунок 2. Структура генома 2019-nCoV [7].

РНК коронавирусов содержит 5'-концевую структуру и 3'-поли(А)-последовательность, что позволяет способствовать действию вирусной РНК как мРНК для трансляции полипептидов репликазы. Ген репликазы, кодирующий неструктурные белки (nsps), занимает две трети генома, около 20 kb, в отличие от структурных и вспомогательных белков, составляющих лишь около 10 kb вирусного генома. 5'-конец генома имеет лидерную последовательность и нетранслируемую область (UTR), которая содержит множество петлевых структур, необходимых для репликации и транскрипции РНК. Кроме того, в начале каждого структурного или вспомогательного гена находятся транскрипционные регуляторные последовательности (TRS), которые требуются для экспрессии каждого из этих генов. В UTR на 3'-конце имеются структуры, необходимые для репликации и синтеза вирусной РНК. Организация генома коронавируса представляет собой 5'-лидер-UTR-репликацию-S (Spike) -E (Envillar) -M (Member) -N (Nucleocapsid) -3'-UTR-поли(А) с вспомогательными генами, переплетенными внутри структурных генов на 3' конце генома (рис. 3). Вспомогательные белки почти исключительно несут ответственность для репликации в тканевой культуре, но было показано, что некоторые из них играют важную роль в патогенезе вируса [8].

Коронавирусные вирионы, как было установлено криоэлектронной томографией и криоэлектронной микроскопией, являются сферическими структурами с диаметрами приблизительно 125 нм [9, 10]. Одна из важных особенностей коронавируса - клиновидные шипы на поверхности вириона. Эти шипы придают вириону вид солнечной короны, поэтому их называют коронавирусами. Внутри оболочки вириона находится спирально симметричный нуклеокапсид, что является редкостью для positive-sense РНК-вирусов и характерно для negative-sense РНК-вирусов.

Частицы коронавируса содержат четыре основных структурных белка. Это шип (S), мембрана (M), оболочка (E) и нуклеокапсидные (N) белки. Все эти белки кодируются в 3'-конце вирусного генома. S-белок (~150 кДа) использует N-концевую сигнальную последовательность для получения доступа к ER. Тримерный S-гликопротеин представляет собой слитый белок класса I и является посредником при присоединении к рецептору хозяина. В большинстве коронавирусов S расщепляется фуриновой протеазой клетки-хозяина на два отдельных полипептида, отмеченных S1 и S2. S1 составляет большой рецептор-связывающий домен S-белка, в то время как S2 образует стебель молекулы шипа [2, 11].

Белок M небольшой (~25-30 кДа) белок с тремя трансмембранными доменами придает форму вириону. Он имеет небольшой N-концевой гликозилированный эктодомен и гораздо больший C-концевой эндомен, который простирается на 6-8 нм в вирусную частицу. Несмотря на то, что большинство белков M совместно транскрипционно вставлены в мембрану ER, они не содержат сигнальной последовательности. Предполагается, что M-белок существует в качестве димера в вирионе и может принимать две различные конформации, позволяя ему стимулировать кривизну мембраны, а также связываться с нуклеокапсидом [12, 13].

Белок E (~8-12 кДа) обнаружен в небольших количествах внутри вириона. Белки коронавируса E сильно расходятся, но имеют

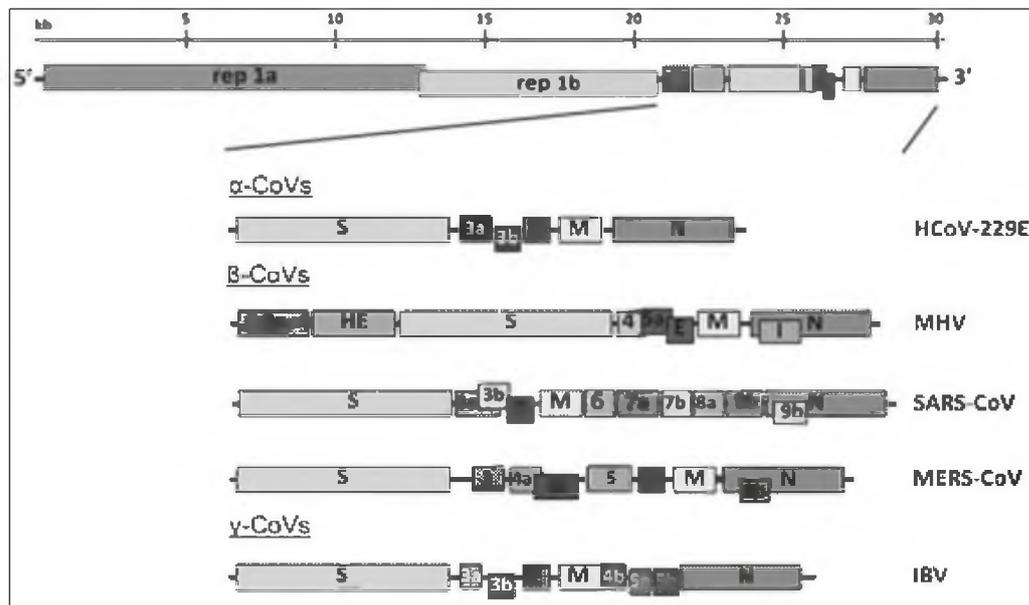


Рисунок 3. Генетическая организация репрезентативных штаммов α , β и γ CoVs. В верхней части изображена иллюстрация генома MHV. Ниже показаны структурные и вспомогательные белки в 3' областях HCoV-229E, MHV, SARS-CoV, MERS-CoV и IBV. HCoV-229E - коронавирус человека, MHV - вирус гепатита мыши, SARS-CoV - коронавирус респираторного синдрома, MERS-CoV - Ближневосточный респираторный коронавирус, IBV - инфекционный вирус бронхита

общую архитектуру. Мембранная топология E-белка не полностью решена, но большинство данных говорит о том, что он является трансмембранным белком. Белок E обладает N-концевым эктодоменом и C-концевым эндоменом и обладает ионной каналной активностью. В отличие от других структурных белков рекомбинантные вирусы, в которых отсутствует E-белок, не всегда являются летальными, хотя это зависит от типа вируса. Белок E облегчает сборку и высвобождение вируса, но имеет и другие функции. Например, у SARS-CoV активность ионных каналов в белке E не требуется для репликации вируса, но требуется для патогенеза [14-16].

N-белок - единственный белок, присутствующий в нуклеокапсиде. Он состоит из двух отдельных доменов, N-концевого домена (NTD) и C-концевого домена (CTD), которые оба способны связывать РНК in vitro. Каждый домен использует различные механизмы для связывания РНК. Было высказано предположение, что оптимальное связывание РНК требует вклада обоих доменов. Белок N также сильно фосфорилируется и было предположено, что фосфорилирование необходимо для иницирования структурных изменений, усиливающих сродство к вирусной и невирусной РНК. N-белок связывает вирусный геном в конформации типа «гранулы на струне». У N-белка идентифицированы два специфических РНК-субстрата, TRS и геномный упаковочный сигнал. Было обнаружено, что геномный упаковочный сигнал специфически связывается со вторым или C-концевым РНК-связывающим доменом. Белок N также связывает nsр3, ключевой компонент комплекса репликазы и белка M. Эти белковые взаимодействия, вероятно, помогают привязать вирусный геном к репликационно-транскрипционному комплексу (RTC), и впоследствии упаковывать инкапсулированный геном в вирусные частицы [17-20].

С начала вспышки болезни в Китае до марта 2020 года исследованиями 103 штаммов генома SARS-CoV-2 было обнаружено не менее 149 изменений. Коронавирус разделили на 2 подтипа: L как наиболее часто встречающийся (70%) и S как менее встречающийся (30%). Подтип чаще встречался на ранних этапах вспышки в Ухане, но к началу января 2020 года его частота встречаемости снизилась. Благодаря «человеческому вмешательству» произошло сильное селективное давление на L подтип, который более агрессивен и распространяется быстрее. Подтип S - эволюционно старше и менее агрессивен, стал распространяться из-за более слабого селективного давления [21].

РНК варианта Wuhan-Hu-SARS-CoV-2 содержит 29 903 нуклеотида с нетранслируемыми участками длиной 281 и 325 нуклеотидов [22]. Предполагаемые кодирующие области распределены по 10 белкам. Полногеномные исследования RNA штаммов, полученных у 5 пациентов на ранней стадии вспышки болезни показали, что они на 79,5% идентичны SARS-CoV и на 96% схожи с геномом коронавируса летучей мыши. Анализ парных белковых последовательностей семи консервативных неструктурных белков показал, что этот вирус принадлежит к роду SARSr-CoV. Исследователями подтверждено, что этот новый CoV использует тот же рецептор входа в клетки, ACE2 и SARS-CoV [7].

Эпидемиология и патогенез.

Все возрасты восприимчивы к коронавирусу. Инфекция передается через крупные капли, образующиеся во время кашля и чихания симптоматическими пациентами, но также может происходить от бессимптомных людей и до появления симптомов [23]. Исследования показали более высокую вирусную нагрузку в полости носа по сравнению с горлом без различий в вирусной нагрузке между людьми с симптомами и без симптомов [24]. Пациенты могут быть заразными до тех пор, пока симптомы сохраняются и даже при клиническом выздоровлении. Эти зараженные капли могут распространяться на 1-2 м и оседать на поверхности. Вирус может оставаться жизнеспособным на поверхности в течение нескольких дней в благоприятных атмосферных условиях, но уничтожается менее чем за минуту обычными дезинфицирующими средствами, такими как гипохлорит натрия, перекись водорода и т. д. [25]. Инфекция приобретается либо при вдыхании этих капель, либо при контакте с загрязненными ими поверхностями, а затем прикасаясь к носу, рту и глазам. Вирус также присутствует в кале и загрязняет водоснабжение, а также предполагается, что последующая передача через аэрозоль / фекально-оральный путь [6]. Согласно имеющейся информации, трансплацентарная передача от беременных женщин их плоду не была описана [26]. Тем не менее, неонатальные заболевания из-за постнатальной передачи описаны [27]. Инкубационный период варьируется от 2 до 14 дней [медиана 5 дней].

Вопросы диагностики и лечения.

В настоящее время в РК разработаны протоколы диагностики и лечения коронавирусной инфекции [28]. В лабораторной диагностике, обращает на себя внимание, взятие биоматериала на ПЦР диагностику вируса, из биохимических исследований крови – общего анализа крови с акцентом на показатели лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов, СРБ, Д-димера, ферритина, иногда тропонина и других показателей. В инструментальной диагностике заболевания – рентгенологические методы, компьютерная диагностика, функциональные методы, в том числе и УЗИ легких. При медикаментозном лечении применяется симптоматическое лечение (в том числе низкомолекулярные гепарины), обращает внимание на себя положительный опыт применения при вирусной инфекции хлорхинина или гидроксихлорихина, азитромицина, препараты плазмы от реконвалесцентов, препараты цинка, актембры, препарата ингибитора интерлейкина 6 для лечения цитокинового шторма при осложнении заболевания, нейтральный опыт лопинавира/ритонавира, рибавирина. Следует сказать, что протоколы лечения коронавирусной инфекции в настоящее время часто дополняются по мере накопления опыта по лечению особо опасной инфекции.

Заключение.

Возникают опасения, что со временем вирус будет накапливать больше вариантов, мутировать и что новый вирулентный штамм сможет проявить более сильную токсичность. Поэтому очень важно отслеживать и характеризовать профили пациентов, географическое положение, симптомы и ответы на лечение. Изучение 48 общедоступных геномов штаммов, полученных у пациентов, ин-

фицированных 2019-vnCoV, позволило установить 80 различных вариантов изменений в геноме SARS-CoV-2 [23].

Таким образом, необходимо развивать биомедицинские научные институты, центры или лаборатории по исследованию вирусных и бактериальных штаммов для немедленной идентификации генома и возможных механизмов проникновения в клетку и поиска оптимальных путей предотвращения распространения инфекции, локализации и разработки вакцины.

Список литературы.

1. Coronaviridae Virus Taxonomy: 2018b Release) <https://talk.ictvonline.org/2018/02/02/> 2 February 2020.
2. Anthony R. Fehr, Stanley Perlman. Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. // In book: Methods in Molecular Biology. – 2015. – Vol. 1282. - P. 1-23.
3. Arabi Y., Balkhy H., Hayden F. et al. Middle East respiratory syndrome. // N Engl J Med. – 2017. – Vol. 376(6). – P. 584–594.
4. Azhar E., Hui D., Memish Z. et al. The Middle East respiratory syndrome (MERS). // Infect Dis Clin North Am. – 2019. – Vol. 33(4). – P. 891–905.
5. Cui J., Li F., Shi Z. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. // Nat Rev Microbiol. – 2019. – Vol. 17(3). – P.181–192/
6. Hui D., Zumla A. Severe acute respiratory syndrome: historical, epidemiologic, and clinical features. // Infect Dis Clin North Am. – 2019. – Vol. 33(4). – P. 869–889.
7. Peng Zhou, Xing-Lou Yang, Xian-Guang Wang, Ben Hu, Lei Zhang et al. Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in humans and its potential bat origin. // Nature. – 2020. – Vol.579. – P.270-289. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.
8. Zhao L., Jha B.K., Wu A. et al. Antagonism of the interferon-induced OAS-RNase L pathway by murine coronavirus ns2 protein is required for virus replication and liver pathology. // Cell Host Microbe. – 2012. – Vol. 11. – P.607–616. doi: 10.1016/j.chom.2012.04.011.
9. Barcena M., Oostergetel G.T., Bartelink W. et al. Cryo-electron tomography of mouse hepatitis virus: insights into the structure of the coronavirus. // Proc Natl Acad Sci USA. – 2009. – Vol. 106. – P.582–587.
10. Neuman B.W., Adair B.D., Yoshioka C. et al. Supramolecular architecture of severe acute respiratory syndrome coronavirus revealed by electron cryomicroscopy. // J. Virol. – 2006. - Vol. 80. – P.7918–7928.
11. Bosch B.J., van der Zee R., de Haan C.A. et al. The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. // J Virol. – 2003. – Vol. 77. – P. 801–8811.
12. Nal B., Chan C., Kien F. et al. Differential maturation and subcellular localization of severe acute respiratory syndrome coronavirus surface proteins S, M and E. // J Gen Virol. -2005. – Vol. 86. – P.1423–1434. doi: 10.1099/vir.0.80671-0
13. Neuman B.W., Kiss G., Kunding A.H. et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. // J Struct Biol. – 2011. – Vol. 174. – P.11–22. doi: 10.1016/j.jsb.2010.11.021
14. Chang C.K., Sue S.C., Yu T.H. et al. Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. // J Biomed Sci. - 2006. – Vol. 13. – P.59–72. doi: 10.1007/s11373-005-9035-9
15. Hurst K.R., Koetzner C.A., Masters P.S. Identification of in vivo-interacting domains of the murine coronavirus nucleocapsid protein. // J Virol. – 2009. – Vol. 83. – P.7221–7234. doi: 10.1128/JVI.00440-09.
16. Stohlman S.A., Baric R.S., Nelson G.N. et al. Specific interaction between coronavirus leader RNA and nucleocapsid protein. // J Virol. – 1988. – Vol. 62. – P.4288–4295.
17. Molenkamp R., Spaan W.J. Identification of a specific interaction between the coronavirus mouse hepatitis virus A59 nucleocapsid protein and packaging signal. // Virology – 1997. – Vol. 239. – P.78–86.
18. Kuo L., Masters P.S. Functional analysis of the murine coronavirus genomic RNA packaging signal. // J Virol. – 2013. – Vol. 87. – P.5182–5192. doi: 10.1128/JVI.00100-13

