

А.В. Москалев¹, Б.Ю. Гумилевский¹,
В.Я. Апчел^{1, 2}, В.Н. Цыган¹

Старый новый коронавирус

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург

Резюме. Представлены основные биологические характеристики вирусов семейства *Coronaviridae*, в том числе вирусов – возбудителей тяжелого острого респираторного синдрома и ближневосточного респираторного синдрома. Проанализированы особенности иммунопатогенеза, связанные с этими инфекциями, и их отличия от инфекции 2019–2020 гг. Считается, что современная заболеваемость верхних дыхательных путей у взрослых, связанная с коронавирусами, составляет от 10 до 30%. Коронавирусы экологически разнообразны, причем наибольшее их разнообразие наблюдается у летучих мышей, что позволяет предположить, что они являются основными резервуарами коронавирусов. Исследования генома нового коронавируса – 2019-nCoV – показали, что он имеет около 80% нуклеотидной идентичности с оригинальными вирусами возбудителями тяжелого острого респираторного синдрома и возможность связываться с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента 2. Это наряду с высокой генетической близостью коронавирусов свидетельствует об их общем происхождении и общем вероятном источнике. Однако рецепторы ангиотензинпревращающего фермента 2 как раз и являются тем самым ключом, который дает доступ 2019-nCoV в клетку даже с низкой инфицирующей активностью. Показано, что основными методами диагностики для повышения специфичности обнаружения нового коронавируса должны быть варианты полимеразной цепной реакции и иммуноблоттинг. Вместе с тем до настоящего времени остается много неизвестного, связанного с жизнедеятельностью вируса 2019-nCoV. Предстоит осуществить четкую идентификацию и сравнение геномов вируса в различных странах; выявить те генетические вставки, которые позволяют вирусу уходить от контроля иммунной системы и превращаться в гипервирулентный штамм; доказать или опровергнуть возможность вируса 2019-nCoV изменять свой генетический и антигенный потенциал в различных видах животных и становиться новым типом вируса.

Ключевые слова: коронавирусы, иммунная система, рецепторы, штамм, геном, синдром, антигены, вирулентность, тяжелый острый респираторный синдром, ближневосточный респираторный синдром.

С декабря 2019 г. длится вспышка коронавирусной инфекции – *Coronavirus disease 2019* (COVID-19), которая с 11 марта 2020 г. признана Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) пандемией. Но чем больше информации о ней накапливается, тем серьезнее и системнее становятся вопросы, связанные с жизнедеятельностью этого вируса или вирусов. Первый и самый главный из них – что же это вообще такое, и насколько оно опасно для человечества и для каждого из нас? Нередки и сомнения в том, что мы имеем дело с искусственно сконструированным штаммом коронавируса методами геномной инженерии. Так, Китай уже на официальном уровне обвинил Соединенные Штаты Америки (США) в создании данного патогенного штамма коронавируса и потребовал предоставления всех данных по этой тематике. Для того чтобы естественные мутации привели к появлению гипервирулентного штамма, нужны десятилетия. Кроме того, индийские биоинформатики обнаружили участки белков нового (novel) коронавируса (2019-nCoV), сходные с участками белков вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Естественное мутационное происхождение этих участков, считают ученые, трудно представить, тем более с таким «сверхъестественным сходством уникальных вставок в белке шипов оболочки нового коронавируса с gp120

ВИЧ-1 и генома Gag». Были обнаружены 4 вставки в белке гликопротеина коронавируса, которые являются уникальными для 2019-nCoV и отсутствуют в других коронавирусах. Более того, аминокислотные остатки во всех 4 вставках имеют идентичность или сходство с остатками в белках gp120 ВИЧ-1 или в гене Gag ВИЧ-1 – ключевых структурных белках ВИЧ. Такое сходство или идентичность вряд ли случайны по своему происхождению. Также установлено, что наибольшее генетическое сходство 2019-nCoV имеет с вирусом атипичной пневмонии (вирусом тяжелого острого респираторного синдрома – Severe Acute Respiratory Syndrome – SARS), в результате чего его назвали – SARS-CoV-2.

Вероятно и то, что человечество столкнулось с разными типами или субтипами коронавирусов. По публикациям в открытой печати становится понятным, что в Китае у заболевших выделялись сразу два разных штамма коронавируса. В Италии возник ещё один массовый очаг инфекции – уже третий и, как утверждается, отличающийся от своих «китайских» предшественников отсутствием в своём геноме последовательности сразу из 382 нуклеотидов. Данный удаленный участок затронул транскрипционно-регуляторную последовательность ORF8. В подавляющем большинстве случаев с SARS-CoV и вирусом ближне-

восточного респираторного синдрома (Middle East Respiratory Syndrome – MERS-CoV) также происходили мутации/делеции на этом фрагменте, причем они были связаны со снижением репликативной активности вируса.

Считаем, что разобраться в биологических особенностях современных коронавирусов поможет анализ, сравнение классических, хорошо известных возбудителей острых респираторных заболеваний (ОРЗ) с полученными новыми данными о современных коронавирусах (2019-nCoV-SARS-CoV-2), вызвавших эпидемии в Китае и Италии.

Возбудителями заболеваний дыхательных путей могут быть различные виды вирусов – возбудители ОРЗ (более 130); для них характерно отсутствие перекрестного иммунитета; отсутствие эффективных вакцин; наипростейший способ заражения (воздушно-капельным путем), обуславливающий быстрое распространение возбудителя, которое при отсутствии иммунитета может стать причиной не только эпидемий, но и пандемий. Этим вирусам в разной степени свойственна антигенная изменчивость. Дрейф (продолжается 1–2 года) приводит к точечным мутациям в гене и сопровождается накоплением и закреплением этих изменений, в том числе и адсорбционных антигенов гликопротеиновой природы. Шифт (продолжается 10–15 лет) приводит к рекомбинации генов, заканчивающейся полной заменой гена и сменой антигенов гликопротеиновой природы [1, 11].

Возбудителями ОРЗ являются следующие вирусы:

1. Вирусы гриппа А, В, С (*Orthomyxoviridae*).
2. Парамиксовирусы (*Paramyxoviridae*) – это семейство включает три рода: *Paramyxovirus* – вирусы парагриппа человека (ВПГЧ) 1-, 2-, 3-, 4-го типов, болезни Ньюкасла, парагриппа птиц и паротита; *Pneumovirus* – респираторно-синцитиальный вирус (RS-вирус); *Morbillivirus* – вирус кори.
3. Респираторные коронавирусы (*Coronaviridae*) – вирусы человека (энтеральные), вирусы животных и птиц (респираторные, высокопатогенные). Выделяют более 4 серогрупп коронавирусов, перекрестного иммунитета они не образуют. Мембраны всех коронавирусов содержат по меньшей мере три вирусных белка. Это так называемый белковый шипик (spike-белок) (SHC014), гликопротеин I типа, образующий пепломеры на поверхности вириона, придающие коронообразную морфологию вирусу, мембранный белок (М-белок) и маленький мембранный белок (Е-белок).
4. Респираторные реовирусы (*Reoviridae*).
5. Пикорнавирусы (*Picornaviridae*). Из этого семейства собственно возбудителями ОРЗ являются риновирусы (*Rhinovirus* – более 100 серовариантов), а также некоторые сероварианты вирусов Коксаки и ЕСНО (*Enterovirus*). Все перечисленные пять семейств относятся к вирусам, нуклеоид которых представлен рибонуклеиновой кислотой (РНК).
6. Респираторные аденовирусы (*Adenoviridae*), их геном представлен дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК).

Возникает вопрос: «Почему столь большое количество разнообразных вирусов может поражать эпителиальные клетки слизистой оболочки дыхательных путей (главным образом верхних) и глаза?» Ответ на этот вопрос может быть только один – мембраны этих клеток имеют множество разнообразных рецепторов, с которыми взаимодействуют адсорбционные белки вирусов. Только после специфической адсорбции на клетке вирус может в нее проникнуть и вызвать заболевание [1, 14].

По частоте, с которой вирусы вызывают ОРЗ, их можно расположить в следующей последовательности в порядке убывания: риновирусы, коронавирусы, RS-вирусы, вирусы парагриппа, аденовирусы, вирусы гриппа. По масштабу вызываемых вспышек и по ущербу, который они наносят здоровью человека и экономике, первое место занимают вирусы гриппа. Грипп и гриппоподобные болезни ответственны за 90% всей инфекционной заболеваемости в мире и в России [3, 4, 15].

Однако 2020 г. по значимости и по тяжести заболеваний на первое место в мире вывел респираторные коронавирусы, относящиеся к семейству *Coronaviridae*. Коронавирусы человека (*human Corona Virus* – HCoV) – это крупные РНК-вирусы с позитивной цепью, которые можно разделить на 4 рода: альфа, бета, дельта и гамма. Известно, что альфа и бета CoV заражают людей. Семь HCoV (HCoV-229E, HCoV-OC43, SARS-CoV, HCoV-NL63, HCoV-NKU1, MERS-CoV и SARS-CoV2) являются эндемичными во всем мире и составляют от 10 до 30% инфекций верхних дыхательных путей у взрослых. Коронавирусы экологически разнообразны, причем наибольшее разнообразие наблюдается у вирусов, выделенных от летучих мышей, что позволяет предположить, что они являются резервуарами для многих коронавирусов. К роду *Coronavirus* (включающему также возбудителей гастроэнтерита у детей) и к роду *Torovirus* относятся вирусы округлой формы диаметром 50–220 нм. Вирионы имеют суперкапсид, над которым выступают шипы (адгезионные рецепторы) длиной 12–24 нм, они состоят из тонкой шейки и массивной головки шаровидной или грушевидной формы и напоминают фигуру солнечной короны, в связи с чем семейство получило название коронавирусов. В сердцевине вириона располагается нуклеокапсид. Из всех РНК-вирусов коронавирусы имеют самый большой геном в виде однонитевой нефрагментированной позитивной РНК из 27000–32000 нуклеотидных последовательностей [1, 7, 17].

Коронавирус SARS-CoV-2 предположительно является рекомбинантным вирусом между коронавирусом летучих мышей и неизвестным по происхождению коронавирусом. Генетическая последовательность SARS-CoV-2 сходна с последовательностью SARS-CoV по меньшей мере на 79%. Входные ворота возбудителя – эпителий верхних дыхательных путей и эпителиоциты желудка и кишечника. Начальным этапом заражения является проникновение SARS-CoV-2 в

клетки-мишени, имеющие рецепторы ангиотензин-превращающего фермента II типа (ACE2). Рецепторы ACE2 представлены на клетках дыхательного тракта, почек, пищевода, мочевого пузыря, подвздошной кишки, сердца, ЦНС. Однако основной и быстро достижимой мишенью являются альвеолярные клетки II типа (AT2) легких, что определяет развитие пневмонии. Также обсуждается роль рецептора CD147 – белка из семейства иммуноглобулинов, который запускает работу металлопротеиназ. Связывание коронавируса с CD147 происходит через так называемые спайковые белки – шиповидные выросты на поверхности вируса. Ранее этот путь был доказан для другого коронавируса SARS-CoV – возбудителя острого респираторного синдрома SARS, известного также как атипичная пневмония, в инвазии клеток SARS-CoV-2 [5, 8, 19].

Вирион содержит 3 группы белков: белок нуклеокапсида (N-белок), связанный с РНК; матриксный белок и гликозилированные белки суперкапсида, наделяющие вирус способностью адсорбироваться на рецепторах клетки и проникать в нее. Коронавирусы, попав в организм, контактируют со специфическими клеточными рецепторами хозяина с помощью своего spike-белка. Это запускает изменения структуры spike, что в свою очередь приводит к слиянию вирусной и клеточной мембран. Spike-белок коронавируса играет существенную роль в проникновении вируса в клетку, заканчивающемся введением нуклеокапсида в клетку хозяина, распространении от клетки к клетке, а также определяет тропизм вируса к ткани. Способность коронавируса реплицироваться в определенных типах клеток зависит только от способности взаимодействовать с рецепторами этого типа клеток. Также было показано, что spike является главной детерминантой патогенности. При проникновении в клетку хозяина начинается активная трансляция гена репликазы на рибосомах в цитоплазме [9, 15, 17, 21]. Получающиеся многочисленные ферменты, как считается, играют роль в метаболизме РНК коронавируса и/или во взаимодействии с процессами, происходящими в клетке хозяина. При инфицировании коронавирусами должна происходить репликация генома вируса и транскрипция РНК. Репликация генома вируса включает синтез полноразмерной отрицательной нити РНК, которая присутствует в низкой концентрации и служит матрицей для полноразмерной геномной РНК. После трансляции всех вирусных белков собирается нуклеокапсид вируса, который одевается оболочкой. Затем вирусные частицы транспортируются на поверхность клетки хозяина, где они покидают клетку [2, 5, 18].

M-белок является основным белком мембраны вириона. Считается, что M-белок, кроме выполняемой им роли в сборке вирусных частиц, влияет на взаимодействие с клеткой хозяина. Белок нуклеокапсида является структурным белком, но также принимает участие в транскрипции. Экспрессия M-белка необходима для эффективного образования вирусных

частиц из копий ДНК. E-белок оболочки является интегральным мембранным белком. Вместе с M-белком он играет важную роль в сборке вирусных частиц. Возможно, из-за активности катионселективного ионного канала он может усиливать интенсивность вирусного морфогенеза и сборку вирусных частиц. Предполагается, что E-белок играет определенную роль во взаимодействии вируса и клетки хозяина, индуцируя апоптоз. Белки-репликазы способны влиять на тропизм и патогенез с помощью определения степени вирусной репликации, возможно, через взаимодействие с некодирующими последовательностями вирусного генома, специфическими факторами клеточных типов или с факторами иммунного ответа. Некоторые ферментативные активности могут быть вовлечены в разрушение многих аспектов метаболизма клетки хозяина. Естественными хозяевами коронавирусов являются человек, домашние и дикие животные, у которых они вызывают широко распространенные заболевания. Респираторные коронавирусы разделяют на 3 серогруппы. Заражение от больного человека происходит воздушно-капельным путем; заболеваемость спорадическая. Эпидемические вспышки коронавирусных инфекций в виде лихорадки, насморка, бронхита и пневмонии отмечаются преимущественно в холодное время года. До появления SARS эти вспышки чаще всего вызывал коронавирус HCoV-229E [4, 7, 10, 13].

В ноябре 2002 г. в Китае произошла вспышка болезни, получившей название SARS, или атипичная пневмония. Она была описана в Гонконге К. Урбани [7]. В качестве возбудителя был идентифицирован бета-HCoV, названный SARS-CoV. Болезнь стала быстро распространяться, и, по данным ВОЗ, на 19 июня 2003 г. в 32 странах было зарегистрировано 8462 случая SARS (больше всего в Китае – 7058). Погибло 804 человека (летальность около 9,5%). В России зарегистрирован 1 случай. Благодаря предпринятым по инициативе ВОЗ энергичным профилактическим мерам (обязательная госпитализация, изоляция, карантинизация, широкое использование ватно-марлевых масок и т. д.) эпидемия SARS к июню 2003 г. была ликвидирована. Однако позднее было выявлено еще несколько случаев заболевания, и опасность повторения эпидемии не исключена. Возбудитель SARS обнаружен в апреле 2003 г. Им оказался коронавирус, не родственник ни одному из известных штаммов этого вируса. Его геномная РНК состоит из 29727–29736 нуклеотидных последовательностей. По нуклеотидным последовательностям вирус SARS отличается на 50–60% от трех известных серогрупп коронавирусов. Природными носителями этого вируса могут быть крысы, другие грызуны, насекомые. В Китае полагают, что его главным промежуточным хозяином является мелкий хищник – виверра азиатская или восточная (*Viverra zibetha*). Ее разводят в вольерах для продажи, так как мясо высоко ценится гурманами. Однако спустя почти 20 лет факторы, связанные с передачей SARS-CoV, начиная от ограниченной передачи от жи-

вотного к человеку до эпидемического распространения, остаются недостаточно изученными [5, 8, 12, 18].

Основная биологическая особенность вируса – высокая контагиозность, которая во много раз превышает таковую других, ранее известных коронавирусов – возбудителей ОРЗ, включая вирусы гриппа. Причина такой высокой контагиозности не установлена. Инкубационный период 4–10 дней. Заболевание начинается с повышения температуры до 38°C и выше, озноба, сухого кашля, слабости, одышки, а затем быстро развивается тяжелая пневмония, вызывающая нарушение дыхания в силу возникновения отека и воспаления альвеол [1, 4, 23].

Другим важным событием коронавирусной инфекции стал в 2012 г. другой высокопатогенный штамм – бета-CoV, который вызвал заболевание, классифицированное как MERS. Вирус MERS-CoV был обнаружен в мокроте саудовского мужчины, который умер от дыхательной недостаточности. В отличие от SARS-CoV, который быстро распространился по всему земному шару и был ликвидирован в относительно короткие сроки, инфекция, связанная с MERS-CoV, характеризовалась спорадической зоонозной передачей и ограниченными вспышками заболевания в человеческой популяции. Чаще всего MERS-CoV вызывал внутрибольничные вспышки, которые, скорее всего, были связаны с гипервирулентными штаммами. По данным ВОЗ на ноябрь 2019 г., MERS-CoV вызвал в общей сложности 2494 случая заболевания и 858 смертей, большинство из которых были в Саудовской Аравии. Предполагается, что естественным резервуаром MERS-CoV также являются летучие мыши, однако выявлены единичные случаи заражения человека от верблюдов [4, 9, 12, 14, 16].

MERS имеет много клинических признаков с острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ), но ключевые различия очевидны. Пациенты, страдающие MERS, имеют выраженные желудочно-кишечные симптомы, острую почечную недостаточность, что, вероятно, объясняется связыванием гликопротеина (S) MERS-CoV с дипептидилпептидазой 4 (DPP4), которая присутствует в нижних дыхательных путях, а также в желудочно-кишечном тракте и почках. MERS требует искусственной вентиляции легких у 50–89% пациентов и имеет показатель летальности до 36%. Хотя MERS не вызвал международной паники, связанной с атипичной пневмонией, появление этого второго высокопатогенного зоонозного HCoV иллюстрирует угрозу, связанную с вирусами семейства *Coronaviridae*. В 2017 г. ВОЗ включила SARS-CoV и MERS-CoV в свой список приоритетных патогенов, надеясь активизировать их изучение и разработать специфические профилактические меры [6, 10, 13, 22].

Что касается «современного» коронавируса 2019–2020 гг., то о нём известно следующее. 31 декабря 2019 г. китайские власти сообщили о нескольких случаях пневмонии в Ухане (провинция Хубэй, Китай). Большинство из заболевших посещали крупный рынок морепродуктов. Подозревалось появление еще

одного патогенного зоонозного HCoV, и к 10 января 2020 г. исследователи из Шанхайского клинического центра общественного здравоохранения и Школы общественного здравоохранения и их сотрудники установили геномную последовательность нового вируса. Предварительные анализы показали, что выявленный вирус имеет некоторую аминокислотную гомологию с SARS-CoV и может связываться с рецепторами ангиотензинпревращающего фермента 2 (Angiotensin-Converting Enzyme 2 – ACE2), которые преимущественно находятся в нижних отделах легких. Эта связь и служит «воротами» для проникновения вируса в клетку и имеет важные последствия для прогнозирования развития пандемического потенциала. Современный зооантропонозный коронавирус (CoV) XXI в. появился в декабре 2019 г. и был связан с кластером пациентов, имевших тесные связи с рынком морепродуктов Huanan South China Seafood Market в Ухане. Подобно SARS-CoV и MERS-CoV, у пациентов выявляли симптомы вирусной пневмонии, включая лихорадку, затрудненное дыхание и двустороннюю инфильтрацию легких в наиболее тяжелых случаях. Китайский центр по контролю и профилактике заболеваний (CDC) подтвердил доклад *The Wall Street Journal* и объявил об идентификации нового коронавируса – CoV 9 января 2020 г. Новый (2019-nCoV-SARS-CoV-2) был выделен от одного пациента и впоследствии верифицирован у 16 других пациентов.

Первая последовательность 2019-nCoV была опубликована в интернете через один день после ее подтверждения от имени доктора Юн-Чжэнь Чжана и ученых из университета Фудань (Шанхай). Последствия пять дополнительных последовательностей 2019-nCoV были внесены в базу данных Глобальной инициативы обмена всеми данными о гриппе (Global initiative an sharing all influenza data – GSAID), что позволило исследователям по всему миру начать анализ нового CoV. К 17 января 2020 г. в Китае было зарегистрировано уже 62 подтвержденных случая заболевания, а в Таиланде (2) и Японии (1) – три случая инфицированных путешественников. В январе 2020 г. было зарегистрировано двадцать шесть летальных исходов, связанных с инфекцией nCoV, многие из этих больных страдали сопутствующими заболеваниями (гипертония, диабет, проблемы с функцией сердца и/или почек, которые, возможно, сделали их более восприимчивыми к 2019-nCoV, все они были старше 50 лет). У выявленных лиц был отмечен ряд сопутствующих симптомов: лихорадка, сухой кашель, одышка и лейкопения. Среди пациентов отмечались как легкие случаи, нуждающиеся в поддерживающем уходе, так и более тяжелые, требующие экстракорпоральной мембранной оксигенации. Однако по сравнению с SARS-CoV (10% смертность) и MERS-CoV (35% смертность) [6-7, 18, 20] 2019-nCoV, по-видимому, является менее вирулентным на данный момент, за исключением пожилых людей и тех, кто имеет тяжелые сопутствующие заболевания. Первоначальный мониторинг тесных контактов пациентов позволил предположить

вероятную передачу инфекции от человека к человеку или текущую передачу инфекта с рынка или из других первичных источников.

Однако источник появления 2019-nCoV пока неизвестен, хотя первые случаи были связаны с рынком морепродуктов Huanan South China Seafood Market. Многие из первых пациентов работали на рынке или посещали его, но ни один из экспортированных случаев не имел контакта с рынком, что свидетельствует о передаче вируса от человека к человеку или с продуктами животного происхождения: морепродукты, змеи, птицы, мелкие грызуны, сурки и летучие мыши. Впоследствии ВОЗ сообщила, что в пробах как морепродуктов, так и других объектов рынка Huanan South China Seafood Market были получены положительные результаты на новый коронавирус – 2019-nCoV, но никаких конкретных ассоциаций с животными выявлено не было. Предполагалось также, что возможным источником нового коронавируса могут быть змеи. Зоонозный резервуар предполагает возникновение SARS-CoV и MERS-CoV, а первый высокопатогенный человеческий CoV с установленной передачей от животных людям появился в 2002 г. Так, вирусная РНК SARS-CoV была обнаружена у пальмовых цветков и у енотовидных собак, продаваемых на рынках. Однако SARS-CoV не был обнаружен у этих животных в дикой природе. Видимо, эти виды животных служили промежуточным резервуаром для их адаптации к заражению людей. Впоследствии были выявлены высокородственные nCoV у летучих мышей, которые могли инфицировать клетки человека без необходимости в промежуточной адаптации. Серологические исследования сывороток человека показывают, что для nCoV летучих мышей характерна и низкоуровневая зоонозная передача атипичных коронавирусов вне вспышек заболевания [4, 12, 17], что может свидетельствовать о наличии менее вирулентных штаммов. MERS-CoV также является зоонозным вирусом, который был выделен от летучих мышей и верблюдов. Поэтому установить первичный источник 2019-nCoV представляется вряд ли возможным.

Для анализа генома 2019-nCoV было осуществлено секвенирование почти 30000 нуклеотидных последовательностей генома nCoV группой Д. Чжана из университета Фудань. На основе анализа нуклеотидных последовательностей было установлено, что новый вирус можно охарактеризовать как группу 2b CoV, отличную от штаммов SARS-CoV. Исследования генома 2019-nCoV показали, что он имеет около 80% нуклеотидной идентичности с оригинальными вирусами эпидемии SARS. Близкую (89%) нуклеотидную последовательность генома 2019-nCoV имеют геномы вирусов двух летучих мышей SARS-подобных CoV (ZC45 и ZXC21). Сравнение с депонированными штаммами nCoV показало 99,5% идентичность их геномов, что демонстрирует отсутствие выраженного разнообразия геномов и свидетельствует об общей линии происхождения и общем вероятном источнике [6, 12].

Вирусы SARS-CoV и 2019-nCoV сумели распространиться в человеческой популяции благодаря тому, что S-белок короны вирусов по своей структуре имитирует ангиотензинпревращающий фермент. Благодаря этому они успешно связываются с рецепторами ACE2 (их много на поверхности клеток легких – альвеолоцитов), после чего впрыскивают свою РНК внутрь клетки.

Сравнение вирусов SARS-CoV и 2019-nCoV показывает, что у последнего аффинность с рецептором ACE2 выше. Основные отличия между вирусами SARS-CoV и 2019-nCoV сосредоточены между 435 и 510 аминокислотными остатками рецептор-связывающего домена (RBD). Это регион рецептор-связывающего мотива (RBM) RBD, определяющего специфичность к клеткам хозяина. Анализ аминокислотных последовательностей RBM двух типов коронавирусов летучих мышей (RaTG13-CoV, Bat-CoV), коронавируса панголинов (GD Pangolin-CoV) и 2019-nCoV показал пять ключевых отличий в аминокислотной последовательности, которые являются общими только для GD Pangolin-CoV и 2019-nCoV. Впоследствии была идентифицирована 92% идентичность последовательностей Bat-CoV, RaTG13 с новым вирусом, что может свидетельствовать о том, что 2019-nCoV – мутационный Bat-CoV [6, 20]. Последующий анализ белков нуклеокапсида (N) показал, что это самый распространенный белок, секретируемый CoV. Как правило, белок N хорошо сохраняется в семействе CoV, включая группу 2B. Протеин N для 2019-nCoV в 90% случаев идентичен белку SARS-CoV N. Эти белки менее консервативны, чем другие CoV группы 2B, такие как HKU3-CoV и SHC014-CoV. Антитела 2019-nCoV к белку N, вероятно, способны распознавать и связывать белок SARS-CoV N. Однако антитела к N не обеспечивают развитие иммунитета к COVID-19, возможно, что перекрестная реактивность с белком SARS-CoV N позволила бы изучить биологические эффекты нового CoV в бессимптомных случаях. Вероятно, что эта информация может дать представление о восприимчивости и потенциальных маршрутах распространения вируса через бессимптомных носителей.

Сравнение гликопротеиновых адгезионных белков вирусов 2019-nCoV и SARS-CoV, ответственных за проникновение вируса в клетку, показало их 75% аминокислотную идентичность. Анализ RBD SARS-CoV (аминокислоты 318–518) и RBD вируса 2019-nCoV показал их 73% идентичность относительно эпидемического RBD. Вирус летучих мышей не может использовать человеческий ACE2 (белок в большом количестве находится не только в легочной ткани, которая поражается активнее всего, но и в системе кровообращения. Таким образом, белок ACE2 как раз и является тем самым ключом, который дает доступ коронавирусу в клетку. Среди установленных четырнадцати аминокислотных остатков, которые непосредственно взаимодействуют с человеческим ACE2, рецептором для SARS-CoV, восемь аминокислот сохраняются и в 2019-nCoV. Некоторые из этих остат-

ков также сохраняются относительно WIV1- и WIV16-CoV, двух штаммов летучих мышей, тесно связанных с SARS-CoV и взаимодействующих с ACE2. Первоначальное структурное моделирование позволило предположить, что 2019-nCoV может взаимодействовать с ACE2, хотя аффинность этого взаимодействия была снижена относительно эпидемических штаммов SARS-CoV. Таким образом, ACE2 является рецептором для 2019-nCoV. На данный момент инфицирующая возможность 2019-nCoV для других видов и типов клеток неизвестна, хотя ранее было показано, что 2019-nCoV не взаимодействует и с ACE2.

Эпидемиологические исследования свидетельствуют, что рынок морепродуктов Хуанань в Ухане был связан в большинстве случаев с заболеваниями, вызванными 2019-nCoV, хотя многие случаи не имели прямой связи с ним. Этот факт предполагает наличие вторичного источника инфекции – либо передачи от человека к человеку, либо, возможно, от инфицированных животных на другом рынке в Ухане. Эти данные указывают на то, что вспышка может быстро и легко распространиться, особенно учитывая возможность передачи вируса от человека к человеку. Еще один важный параметр распространения вируса 2019-nCoV – его интенсивная передача отдельными лицами, что, вероятно, может быть связано с повышенной чувствительностью к 2019-nCoV данной категории лиц. Так, при вспышках ОРВИ, связанных с SARS-CoV и MERS-CoV, были документально подтверждены факты высокой скорости передачи вируса. Это встречается примерно в 10% случаев среди пациентов, страдающих ОРВИ, вызванной SARS-CoV и MERS-CoV, что в итоге и способствует распространению эпидемии в мире. Необходимо также учитывать, что ни мутации в вирусах, ни тяжесть заболевания не связаны с высокой инфицирующей активностью вируса, скорее всего, это может быть также связано с генотипом хозяина. Видимо, такая инфицирующая активность может играть определенную роль в этой продолжающейся вспышке 2019-nCoV.

Рассмотренные далеко не полные биологические характеристики 2019-nCoV свидетельствуют о том, что лабораторное подтверждение этой инфекции на сегодняшний день является весьма существенной проблемой. Для подтверждения клинического диагноза обычно используют обратную транскриптазно-полимеразную цепную реакцию (ОТПЦР) мазков из носоглотки. Однако не было известно, может ли вирус быть обнаружен в материале из других образцов и, следовательно, потенциально передаваться другими механизмами, кроме воздушно-капельного [3, 8, 16]. Так, в настоящее время доказано, что, кроме воздушно-капельного пути передачи SARS-CoV-2, могут быть контактный путь передачи, осуществляющийся во время рукопожатий и при других видах непосредственного контакта с инфицированным человеком, а также бытовой – через пищевые продукты, поверхности и предметы, контаминированные вирусом. Известно, что при комнатной температуре SARS-CoV-2

способен сохранять жизнеспособность на различных объектах окружающей среды в течение 3 суток.

По имеющимся научным данным, возможен и фекально-оральный механизм передачи вируса. РНК SARS-CoV-2 обнаруживалась при исследовании образцов фекалий больных. Нуклеокапсидный белок COVID-19 был обнаружен в цитоплазме эпителиальных клеток слюнных желез, желудка, двенадцатиперстной кишки и прямой кишки, мочевыводящих путей.

У пациентов, перенесших искусственную вентиляцию легких, исследовались образцы крови, мокроты, кала, мочи, мазки из зева и носа, а также бронхоальвеолярный лаваж. Были получены положительные результаты в ПЦР-диагностике 2019-nCoV-SARS-CoV-2 с высоким числом копий из фекальных образцов, которые культивировали, а затем проводили электронную микроскопию, благодаря которой подтверждали наличие вируса в исследуемом материале. Данные по диагностической ценности исследуемого биоматериала расположились следующим образом: бронхоальвеолярный лаваж – 93% положительных результатов, мокрота – 72%, мазки из носа – 63%, мазки из глотки – 32%, кал – 29%, кровь – 1%, моча – 0%.

То, что вирус был обнаружен в кале, свидетельствует о вполне вероятной передаче 2019-nCoV фекально-оральным путем. Все это указывает на то, что для повышения диагностической ценности исследований и снижения ложноотрицательных результатов тестов необходимо одновременно исследовать биосубстраты из различного материала. С учётом выраженного генетического родства коронавирусов основным методом диагностики 2019-nCoV для снижения ложноположительных результатов могут быть варианты ПЦР или иммуноблоттинг, позволяющие выявлять уникальные последовательности генома или антитела к уникальным белкам 2019-nCoV. Каждый из них имеет свои преимущества и недостатки, но, несомненно, что для повышения диагностической чувствительности и специфичности исследований COVID-19 необходимо применять оба метода.

Таким образом, к настоящему времени остается много неизвестного, связанного с жизнедеятельностью вируса 2019-nCoV. Предстоит осуществить четкую идентификацию и сравнение геномов вируса в различных странах; выявить те генетические вставки, которые позволяют вирусу уходить от контроля иммунной системы и превращаться в гипервирулентный штамм; доказать или опровергнуть возможность вируса 2019-nCoV изменять свой генетический и антигенный потенциал в различных видах животных и становиться новым типом вируса. Мировому сообществу микробиологов и эпидемиологов предстоит еще многое узнать о биологических характеристиках новейшего вируса 2019-nCoV, которые позволят создать эффективную вакцину или разработать алгоритмы ведения и лечения таких больных.

Литература

1. Каротьяев, А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология / А.И. Каротьяев, С.А. Бабичев. – СПб.: СпецЛит, 2010. – 715 с.

2. Москалев, А.В. Общая иммунология с основами клинической иммунологии / А.В. Москалев, В.Б. Сбойчаков, А.С. Рудой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 351 с.
3. Сбойчаков, В.Б. Лабораторная диагностика вирусных инфекций / В.Б. Сбойчаков, А.В. Москалев // Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике. – 3-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – Т. 2. – С. 513–568.
4. Assiri, A. Epidemiological, demographic, and clinical characteristics of 47 cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus disease from Saudi Arabia: a descriptive study / A. Assiri [et al.] // Lancet Infect. Dis. – 2013. – Vol. 13. – № 9. – P. 752–761.
5. Assiri, A. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection during pregnancy: a report of 5 cases from Saudi Arabia / A. Assiri [et al.] // Clin Infect Dis. – 2016. – № 63. – P. 951–953
6. Behzadi, M.A. Overview of current therapeutics and novel candidates against influenza, respiratory syncytial virus, and Middle east respiratory syndrome Coronavirus infections / M.A. Behzadi, V.H. Leyva-Grado // Frontiers in microbiology. – 2019. – № 10. – P. 1327.
7. Belouzard, S. Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein / S. Belouzard [et al.] // Viruses. – 2012. – Vol. 4. – P. 1011–1033.
8. Cauchemez, S. Middle East respiratory syndrome coronavirus: quantification of the extent of the epidemic, surveillance biases, and transmissibility / S. Cauchemez [et al.] // Lancet Infect. Dis. – 2014. – Vol. 14, № 1. – P. 50–56.
9. Chang, H. Feline Infectious Peritonitis: insights into feline coronavirus pathobiogenesis and epidemiology based on genetic analysis of the viral 3c gene / H. Chang [et al.] // Journal of General Virology. – 2010. – Vol. 9. – P. 415–420.
10. Chan, K.H. Cross-reactive antibodies in convalescent SARS patients sera against the emerging novel human coronavirus EMC (2012) by both immunofluorescent and neutralizing antibody tests // K.H. Chan [et al.] // J. Infect. – 2013. – Vol. 67. – P. 130–140.
11. Chan, J.F. Is the discovery of the novel human betacoronavirus 2c EMC/2012 (HCoV-EMC) the beginning of another SARS-like pandemic? / J.F. Chan [et al.] // J. Infect. – 2012. – Vol. 65. – P. 477–489.
12. De Groot, R.J. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): announcement of the coronavirus study group / R.J. De Groot [et al.] // J. Virol. – 2013. – Vol. 87. – P. 7790–7792.
13. Decaro, N. Recombinant Canine Coronaviruses in Dogs / N. Decaro [et al.] // Europe. Emerging Infectious Diseases. – 2013. – Vol. 16, № 1. – P. 41–47.
14. De Wilde, A.H. MERS-coronavirus replication induces severe in vitro cytopathology and is strongly inhibited by cyclosporin A or interferon- α treatment / A.H. De Wilde [et al.] // J. Gen. Virol. – 2013. – Vol. 94. – P. 1749–1760.
15. Hashemi-Shahraki, A. Human Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus in Bat, South Africa / A. Hashemi-Shahraki [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2013. – Vol. 19, № 10. – P. 1697–1699.
16. Hijawi, B. Novel corona-virus infections in Jordan, April 2012: epidemiological findings from a retrospective investigation / B. Hijawi [et al.] // East. Mediterr. Health. J. – 2013. – Vol. 19, № 1. – P. 12–20.
17. Kenneth, J. Sherris medical microbiology. – sixth edition / J. Kenneth, George Ray C. – New York, 2014. – 994 p.
18. Mahon, C.R. Diagnostic microbiology, 3rd edh. / C.R. Mahon, C.D. Lehman, G. Manuselis // St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier, 2007. – 1211 p.
19. Meredith, A. Genetics and Pathogenesis of Feline Infectious Peritonitis Virus / A. Meredith [et al.] // Emerging Infectious Diseases. – 2009. – Vol. 15, № 9. – P. 1445–1452.
20. Mo Y. Review of treatment modalities for Middle East Respiratory Syndrome / Y. Mo, D.A. Fisher // The Journal of antimicrobial chemotherapy. – 2016. – № 12. – P. 3340–3350.
21. Scobey, T. Reverse genetics with a full-length infectious cDNA of the Middle East respiratory syndrome coronavirus / T. Scobey [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – Vol. 110. – P. 16157–16162.
22. Rose, N.R. The autoimmune diseases. – fifth edition / N.R. Rose, I.R. Mackay. – Philadelphia, 2018. – 1265 p.
23. Zabriskie, J.B. Essential clinical immunology / J.B. Zabriskie – N. Y., 2009. – 362 p.

A.V. Moskalev, B.Yu. Gumilevskiy, V.Ya. Apchel, V.N. Cygan

Old new coronavirus

Abstract. *The main biological characteristics of Coronaviridae viruses, including viruses, severe acute respiratory syndrome and Middle East respiratory syndrome, are presented. The features of immunopathogenesis associated with these infections and their differences from the infection 2019–2020 are analyzed. It is believed that the modern incidence of upper respiratory tract in adults, associated with coronaviruses, is between 10 and 30%. Coronaviruses are ecologically diverse, with the greatest diversity in bats, suggesting that they are the main reservoirs of coronaviruses. Research into the genome of the new coronavirus – 2019-nCoV has shown that it has about 80% nucleotide identity with original viruses of severe acute respiratory syndrome and the ability to bind to angiotensin-transforming receptors enzyme 2. This, along with the high genetic proximity of coronaviruses, indicates their overall origin and overall probable source. However, the receptors of the angiotensin-transforming enzyme 2 are the key that gives access to the cell even with low infecting activity. It has been shown that the main diagnostic methods to increase the specificity of detection of a new coronavirus should be variants of polymerase chain reaction and immunoblotting. However, there is still a lot of unknown related to the life of the 2019-nCoV virus. There is a clear identification and comparison of the genomes of the virus in different countries. Identify those genetic inserts that allow the virus to escape from the control of the immune system and turn into a hypervirulent strain. Proving or disprove the possibility of the 2019-nCoV virus is altering its genetic and antigenic potential in different animal species and becoming a new type of virus.*

Key words: coronaviruses, immune system, receptors, strain, genome, syndrome, antigens, virulence, severe acute respiratory syndrome, middle east respiratory syndrome.

Контактный телефон: 8-921-989-17-42; e-mail: vmeda-nio@mil.ru