

УДК 578.72

DOI: <https://doi.org/10.17816/MAJ48959>

COVID-19: ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНЕЗА ЗАБОЛЕВАНИЯ И МИШЕНИ ДЛЯ ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Н.А. Климов, А.С. Симбирцев

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

Для цитирования: Климов Н.А., Симбирцев А.С. COVID-19: особенности патогенеза заболевания и мишени для иммунотерапевтического воздействия // Медицинский академический журнал. — 2020. — Т. 20. — № 3. — С. 75–88. <https://doi.org/10.17816/MAJ48959>

Поступила: 23.07.2020

Одобрена: 28.08.2020

Принята: 07.09.2020

Произведен анализ современной научной литературы в области патогенеза коронавирусной инфекции, ставшего причиной пандемии 2019 г., — COVID-19. Рассмотрены строение, геном, внедрение в клетку и жизненный цикл вируса SARS-CoV-2, вызвавшего пандемию, механизмы защиты вируса от иммунной системы хозяина, особенности клинической картины коронавирусной инфекции, патогенез вирусной пневмонии, в частности нарушение работы ренин-ангиотензиновой системы, цитокиновый шторм, участие системы комплемента в патогенезе COVID-19. Рассмотрены также модели инфекций, вызываемых SARS-CoV и SARS-CoV-2, на лабораторных мышах и перспективы иммунотерапевтического воздействия на инфекции, вызываемые SARS-коронавирусами.

Ключевые слова: коронавирус; COVID-19; патогенез; цитокиновый шторм; комплемент; антителозависимое усиление инфекции; иммунотерапия.

COVID-19: FEATURES OF THE PATHOGENESIS OF THE DISEASE AND TARGETS FOR IMMUNOTHERAPEUTIC EFFECTS

N.A. Klimov, A.S. Simbirtsev

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

For citation: Klimov NA, Simbirtsev AS. COVID-19: features of the pathogenesis of the disease and targets for immunotherapeutic effects. *Medical Academic Journal*. 2020;20(3):75-88. <https://doi.org/10.17816/MAJ48959>

Received: July 23, 2020

Revised: August 28, 2020

Accepted: September 7, 2020

An analysis of current scientific literature on the pathogenesis of the coronavirus infection that caused the 2019 pandemic, COVID-19, was carried out. The structure, genome, introduction into the cell and the life cycle of the SARS-CoV-2 virus that caused the pandemic, the mechanisms of protection of the virus from the host's immune system, features of the clinical picture of coronavirus infection, the pathogenesis of viral pneumonia, in particular, disruption of the renin-angiotensin system, cytokine storm, participation of the complement system in the pathogenesis of COVID-19 are reviewed. The models of infections caused by SARS-CoV and SARS-CoV-2 in laboratory mice are also considered.

Keywords: coronavirus; COVID-19; pathogenesis; cytokine storm; complement; antibody-dependent enhancement; immunotherapy.

Структура вириона и геном COVID-19

Коронавирусы представляют собой сферические частицы диаметром 100–120 нм, в которых геномная РНК(+) длиной 27–42 тыс. пар оснований связана с белками нуклеокапсида, образуя спиральный рибонуклеокапсид, расположенный внутри икосаэдрического ядра, который формируют матриксные (М) белки. Наружная липидная оболочка образуется при выпоноковывании ядра вируса из внутриклеточных мембран. Коронавирусы содержат шипы длиной 20–40 нм с утолщениями на концах,

в результате чего вирусные частицы по форме напоминают корону [3].

Геном SARS-CoV-2 представлен одноцепочечной (+) РНК длиной 29,9 килобаза, он на 79,5 % идентичен геному вируса SARS-CoV, и расположение рамок считывания в геномах данных вирусов идентично. Идентичность генома SARS-CoV-2 геному MERS-CoV составляет примерно 50 % [4]. Известно по крайней мере 10 открытых рамок считывания, из которых две, занимающие $\frac{2}{3}$ всего генома, кодируют два полипротеина, которые распадаются

Список сокращений

ACE2 — ангиотензин-конвертирующий фермент II типа (от англ. angiotensin-converting enzyme 2); IFN — интерферон; IL — интерлейкин; ФНО — фактор некроза опухоли.

на 16 неструктурных белков (nsp), осуществляющих репликацию и транскрипцию [5]. Оставшаяся треть генома кодирует структурные белки: белок вирусной оболочки (E), нуклеокапсидный белок (N), мембранный белок (M), белок шипа вируса (S) и еще несколько белков, функции которых неизвестны [6].

Внедрение в клетку и жизненный цикл вируса

Рецептором вирусов SARS-CoV-2 и SARS-CoV является белок рецептора ангиотензин-превращающего фермента 2-го типа — ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2), экспрессируемый в большинстве органов и тканей, в частности в легких, сердце, почках и кишечнике, а также в клетках эндотелия сосудов [7, 8].

Таким образом, белок-рецептор экспрессируется как в органах, являющихся основными мишенями при вирусной инфекции, так и в органах и тканях, роль которых в патогенезе вирусной инфекции не установлена.

Белок шипа вируса S SARS-CoV-2 связывает ACE2 с высокой аффинностью ($K_d = 1,2 \cdot 10^{-9}$ М), аффинность белка S SARS-CoV в 4 раза ниже ($K_d = 5,0 \cdot 10^{-9}$ М) [9].

Возможно, более высокая аффинность к ACE2 вносит вклад в более высокую контагиозность SARS-CoV-2 по сравнению с SARS-CoV. Далее белок S расщепляется мембранной протеиназой клетки TMPRSS2 на белки S1 и S2, из которых S2 участвует во вхождении вируса в клетку [10], после чего вирусная РНК выходит в цитоплазму, где происходят транскрипция вирусных белков и репликация РНК [11]. Коронавирусы размножаются быстро: в цитоплазме клеток человека Vero E6 при заражении SARS-CoV и SARS-CoV-2 с множественностью заражения 3 уже через 8 ч наблюдаются двухслойные пузырьки, в которых происходит сборка вирусов, далее пузырьки сливаются в более крупные, вирус выходит из пузырьков и затем из клетки. Титры вирусов SARS-CoV, SARS-CoV-2 в среде культивирования начинают возрастать с 6-го часа после заражения и к 14-му часу после заражения составляют от $1 \cdot 10^7$ /мл до $1 \cdot 10^8$ /мл с выходом на плато [12].

Врожденный противовирусный иммунитет при инфицировании SARS-CoV-2

В ответ на инфицирование SARS-CoV-2 развиваются защитные реакции, обусловленные активацией в первую очередь врожденного, а затем и приобретенного иммунитета и направленные против вируса, но иммунопатогенез тяжелых клинических форм COVID-19 связан с формированием несбалансированного

иммунного ответа, в особо тяжелых случаях приводящего к развитию респираторного дистресс-синдрома и нарушению функций легких. Дисбаланс иммунологических реакций в первую очередь зависит от развития начальных этапов врожденного противовирусного иммунного ответа.

После инфицирования клеток происходит «раздевание» вируса и в цитоплазме появляются вирусные нуклеиновые кислоты. Клетки нашего организма способны противостоять инфицированию многими вирусами в результате первичного распознавания рецепторами врожденного иммунитета вирусных патоген-ассоциированных молекулярных структур, или паттернов, главными из которых для коронавируса SARS-CoV-2 являются одноцепочечные молекулы РНК, а также некоторые вирусные белки. Важнейшие цитоплазматические сенсорные молекулы для распознавания вирусных нуклеиновых кислот — члены семейства RLR: RIG-I (retinoic acid-inducible gene 1) и MDA5 (melanoma differentiation factor 5), которые присутствуют в цитоплазме большинства клеток организма и представляют собой РНК-зависимые АТФазы, относящиеся к семейству хеликаз DExD/H-box. Они состоят из отдельных доменов, выполняющих функции распознавания и связывания вирусных РНК. Все RLR осуществляют сигналинг с использованием адаптерной молекулы MAVS (mitochondrial antiviral signaling protein), связанной и зависимой от митохондрий, молекулы TRAF3 (TNF receptor activating factor 3), путем активации комплекса TANK/IKK γ /IKK ϵ /TBK1 с привлечением внутриклеточного фактора TBK1 (TRAF-family binding kinase 1), а затем димеризации и фосфорилирования регуляторных факторов IRF3 (interferon responsive factor 3) и IRF7, которые перемещаются в ядро клетки и взаимодействуют с участком ДНК, называемым ISRE (IFN-stimulated response element), что приводит к последовательной индукции экспрессии генов сначала IFN β , потом IFN α , необходимых для развития противовирусного ответа [13, 14].

Второй путь от адаптерной молекулы MAVS связан с привлечением внутриклеточных сигнальных молекул TRAF-2/6 (tumor necrosis factor receptor-associated factors), действующих на IKK-комплекс, активирующих транскрипционный фактор NF- κ B, способствующих его транслокации в ядро и индуцирующих экспрессию генов провоспалительных цитокинов. Появление чужеродных РНК и ДНК в цитоплазме клеток служит сигналом наличия инфекции, а распознавание компонентов вирусов цитоплазматическими рецепторами врожденного

иммунитета приводит к индукции синтеза не только интерферонов (IFN), но и провоспалительных цитокинов, стимулирующих развитие типичной воспалительной реакции как компонента противовирусных защитных реакций [15].

Интерфероны подавляют вирусные инфекции двумя основными путями. Во-первых, связываясь со специфическими клеточными рецепторами, они индуцируют экспрессию ISG и синтез нескольких десятков противовирусных белков. Функции кодируемых этими генами молекул заключаются в подавлении прохождения вирусами жизненного цикла практически на всех его стадиях, включая проникновение в клетку, трансляцию вирусных белков, репликацию вируса, его сборку и выход в окружающую среду. В результате клетки, на которые подействовал IFN, приобретают так называемый антивирусный статус и не могут быть инфицированы вирусами. Во-вторых, все IFN обладают иммуномодулирующими свойствами, усиливают работу врожденного и приобретенного противовирусного иммунитета, активируя цитотоксичность NK-клеток, презентацию вирусных антигенов Т-лимфоцитам и стимулируя функции ряда других клеток, участвующих в защите от вирусов [16, 17].

Механизмы ускользания вируса от иммунной системы хозяина

По-видимому, блокада системы IFN приобретает особое значение в патогенезе инфекционных заболеваний, вызываемых высокопатогенными вирусами, к которым относятся и коронавирусы. IFN ингибирует репликацию данных вирусов, поэтому подавление синтеза и действия IFN особенно важно для их выживания в организме человека.

Борьба вируса с иммунной системой хозяина начинается сразу же после внедрения в клетку. Белки nsp организуют эндоплазматический ретикулум в пузырьки, окруженные двухслойной мембраной, в которых размножается вирус [18]. Мембрана пузырьков защищает от рецепторов, узнающих ассоциированные с патогеном молекулярные паттерны, которые составляют часть врожденной иммунной системы [19]. К ним относятся Толл-подобные рецепторы (Toll-like receptors, TLRs), RIG-I-подобные рецепторы, NOD-1-подобные рецепторы, рецепторы, подобные С-лектинам, и ряд других [20].

Сразу несколько белков SARS-CoV и MERS-CoV противодействуют врожденному иммунному ответу. Вирусные белки nsp1, макродомен белка nsp3, nsp-деубиквитиназа, ORF3b, ORF6, ORF9 подавляют действие IFN и стимулируют IFN белков. В частности, nsp1 подавляет

действие IFN с помощью трех механизмов: инактивируя трансляцию белков клетки-хозяина, вызывая деградацию мРНК хозяина, ингибируя фосфорилирование STAT1. Nsp3 — протеиназа, нарушающая фосфорилирование IRF3 и сигналинг NF-κB. Помимо вышеперечисленных белков, механизмы действия которых установлены, антагонистами IFN являются белки nsp7 и nsp15 с пока неизвестными механизмами подавления [21–23].

Коронавирус SARS-CoV-2 блокирует систему IFN следующими способами. Во-первых, SARS-CoV-2 обладает вирусными белками, в частности Nsp16, подавляющими распознавание клеточными паттерн-распознающими рецепторами. Во-вторых, SARS-CoV-2 подавляет синтез IFN I и III типов, вмешиваясь в сигналинг от паттерн-распознающих рецепторов. В-третьих, он способен блокировать передачу сигнала от рецепторов IFN [24, 25].

Блокада противовирусного действия IFN чрезвычайно важна для патогенеза COVID-19, так как степень подавления системы IFN при коронавирусной инфекции ассоциирована с тяжестью клинических проявлений заболевания. У умерших пациентов с инфекцией, вызванной MERS-CoV, уровень синтеза эндогенного IFN оказался значительно ниже, чем у выживших [26, 27]. Клинические наблюдения показали, что при COVID-19 решающую роль в дисбалансе реакций врожденного иммунитета играет недостаточный синтез IFN на ранних стадиях инфекции. Это подтверждено в мышинной модели респираторной инфекции, вызванной SARS-CoV: наблюдали несбалансированный синтез IFN и выход лейкоцитов в ткань легких. Суть нарушения баланса заключалась в низком синтезе IFN на начальном этапе инфицирования, который сопровождался отсутствием должного контроля за развитием коронавирусной инфекции. В ответ на интенсивную репликацию вируса происходил запуск синтеза провоспалительных цитокинов, а затем и гиперпродукции самого IFN, но несвоевременный поздний синтез IFN вызывал лишь усиление воспалительной реакции с массивным выходом лейкоцитов в ткань легких [28, 29]. У больных с летальным вариантом развития тяжелого острого респираторного синдрома в плазме периферической крови были повышены уровни не только провоспалительных цитокинов и хемокинов, но и уровни IFNα и IFNγ, а также ряда продуктов ISG [30, 31]. Эти данные позволили предположить, что при инфицировании коронавирусами SARS-CoV или MERS-CoV задержка синтеза IFN нарушает должный контроль за вирусной репликацией и приводит к инфильтрации легких



Имунопатогенез COVID-19 COVID-19 immunopathogenesis

активированными нейтрофилами и моноцитами, интенсивному синтезу провоспалительных цитокинов со всеми вытекающими последствиями в виде острой гиперовоспалительной реакции и развития респираторного дистресс-синдрома. Однако было показано, что время назначения IFN, а именно его применение только в ранней фазе инфекции, может обеспечить защитный лечебный эффект [27].

В клинических исследованиях отмечено, что у тяжелых пациентов с COVID-19 наблюдался не только сниженный, но и отсроченный синтез IFN, и это сопровождалось ранним началом интенсивного синтеза провоспалительных цитокинов и развитием цитокинового шторма [32]. Таким образом, если IFN синтезируется не сразу, а с некоторым запозданием и в небольших количествах, это позволяет коронавирусу активно реплицироваться и индуцировать повышенный синтез провоспалительных цитокинов. Общая схема иммунопатогенеза COVID-19 представлена на рисунке.

Особенности клинической картины коронавирусной инфекции

Примерно 80 % людей, инфицированных коронавирусами SARS, переносят инфекцию бессимптомно либо в виде респираторного заболевания легкой или средней степени тяжести, но примерно у 20 % инфицированных развивается более тяжелое заболевание, требующее госпитализации, а 5 % больных нуждаются в принудительной вентиляции легких и усиленном наблюдении в палате интенсивной терапии.

После заражения COVID-19 скрытый период может продолжаться от 2 до 14 сут. Типичными симптомами являются кашель, лихорадка, затрудненное дыхание, головная боль, недомогание, боль в мышцах [33, 34].

У больных с неблагоприятным течением заболевания развивается тяжелая пневмония с острым респираторным дистресс-синдромом, характеризующимся отеком легких, накоплением в легких воспалительных клеток (нейтрофилов, макрофагов, лимфоцитов) и тяжелой гипоксией [35]. При гистопатологическом исследовании легочных поражений при SARS-инфекциях, помимо отека и инфильтрации воспалительных клеток, выявляют расслоение альвеолярных эпителиальных клеток, расширения и повреждения альвеолярных перегородок. В очагах воспаления наблюдаются некроз тканей и гиперплазия. Повреждение стенок интерстициальных артериол легких указывает на то, что помимо цитопатогенного действия вирусов воспалительный ответ играет важную роль в развитии заболевания [20].

Кроме легких, служащих основным очагом болезни, SARS инфицирует ряд тканей и органов человека, включая селезенку, кишечник, почки, печень, надпочечники, паращитовидную железу, гипофиз, мозг, поджелудочную железу, нейроны центральной нервной системы, эндотелиоциты сосудов многих органов [36]. Наиболее частыми отклонениями в крови пациентов с COVID-19 (с диагнозом, подтвержденным методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией) являются повышение концентрации С-реактивного белка, понижение концентрации альбумина, повышение уровня интерлейкина-6 (IL-6), активности лактатдегидрогеназы.

Цитологические показатели: лимфопения, пониженное содержание лимфоцитов и эозинофилов, повышенная скорость оседания эритроцитов [37–39].

У больных молодого и среднего возраста с инфекцией легкой и средней степени тяжести число копий вирусного генома SARS,

определяемое методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в период со 2-х по 4-е сутки после появления первых симптомов, может составлять от 10^3 до 10^9 копий в мазке из горла и от 10^3 до 10^9 копий в образце мокроты, в последующем (обычно начиная с 7-го дня) данные показатели снижаются, но у части больных даже на 20-й день может определяться от 10^2 до 10^4 копий вирусной РНК в мазках из горла и образцах мокроты. Титры вирусной РНК в крови у разных больных значительно различаются, и данный показатель является кратковременным [39].

Патогенез вирусной пневмонии

1. Нарушение работы ренин-ангиотензиновой системы.

Рецептор SARS коронавирусов — белок ACE2 является важным участником ренин-ангиотензиновой системы (RAS), регулирующей давление и электролитный баланс крови и состоящей из двух противоположно направленных путей сигналинга. В классическом пути (ACE/AngII/AT1R) ренин превращает ангиотензиноген, синтезируемый в печени, в пептид ангиотензин I (Ang 1-10), который ангиотензин-конвертирующий фермент (ACE) гидролизует в клетках эндотелия легочных капилляров с образованием ангиотензина II (Ang 1-8). Ангиотензин II, взаимодействуя с рецепторами AT1R и AT2R, вызывает в конечном счете вазоконстрикцию, повышая давление крови.

Ангиотензин II также активирует (в основном через рецептор AT1R) еще несколько путей сигналинга, которые стимулируют воспаление стенок кровеносных сосудов, фиброз, фибриногенез, гипертрофию миокарда [40].

Противоположно направленный путь сигналинга (ACE2/Ang 1-7/Mas1R) направляется Zn-металлопептидазой ACE2, которая удаляет из молекулы ангиотензина I одну аминокислоту с образованием Ang1-9 и из молекулы ангиотензина II — тоже одну аминокислоту с образованием вазодилатирующего пептида Ang(1-7), осуществляющего сигналинг через рецептор Mas1R. Таким образом, вазодилатирующее действие ACE2 осуществляется двумя путями: вазоконстрикторный пептид ангиотензин II превращается в вазодилатирующий Ang-(1-7), рецептором которого является Mas1R, и ангиотензин I, являющийся субстратом для ACE, превращается в неактивный Ang-(1-9), который не может быть субстратом для ACE. Активация данного пути приводит к подавлению миграции лейкоцитов, экспрессии провоспалительных цитокинов, стимуляции фибриногенеза, а инактивация гена ACE2 у мышей, наоборот,

приводит к усилению провоспалительного действия ангиотензина I [35, 40, 41].

Ангиотензин II в основном продуцируется в легких. Инактивация гена ACE2 у мышей вызывала повышение концентрации ангиотензина II в крови, усиление воспаления в легких, повышение проницаемости сосудов, усиление отека легких, инфильтрацию легких нейтрофилами и в результате ухудшение функций легких. Введение мышам рекомбинантного ACE2, наоборот, уменьшало вышеперечисленные симптомы и улучшало функцию легких на моделях острого повреждения легких [42, 43].

У мышей, инфицированных SARS-CoV, снижалась экспрессия ACE2 в легких. Введение мышам рекомбинантного белка S (SARS), взаимодействующего с ACE2, также уменьшало экспрессию ACE2 в легких [43].

У больных COVID-19 концентрации ангиотензина II в крови были значительно выше, чем у здоровых лиц, и коррелировали с тяжестью заболевания [44]. Таким образом, нарушение ренин-ангиотензиновой системы играет важную роль в патогенезе легочной пневмонии и острого респираторного дистресс-синдрома при COVID и COVID-19.

2. Цитокиновый шторм.

При COVID и COVID-19 в первую очередь поражаются альвеолярные эпителиальные клетки, особенно пневмоциты типа II, продуцирующие альвеолярный сурфактант и являющиеся предшественниками пневмоцитов типа I, а также эпителиальные клетки верхних дыхательных путей. Защита от врожденной иммунной системы позволяет вирусу быстро реплицироваться в данных клетках, что сопровождается значительным цитопатогенным эффектом и апоптотической гибелью части клеток [45]. В легких развивается воспаление, при котором клетки эпителия альвеол синтезируют провоспалительные цитокины и хемокины. Массивная инфильтрация легких моноцитами, макрофагами, активированными по типу M-1, и нейтрофилами, привлеченными данными цитокинами и хемокинами, в свою очередь обеспечивает дополнительную продукцию данными клетками провоспалительных цитокинов. Возникает цитокиновый шторм, при котором высокие уровни провоспалительных цитокинов и хемокинов в крови коррелируют с высоким содержанием нейтрофилов и моноцитов в крови и легких.

В результате в периферической крови больных COVID-19 обнаружены высокие концентрации медиаторов воспаления: IL-2, IL-7, IL-10, GCSF, IP-10, MCP-1, MIP-1A, TNF [46]. При этом высокие концентрации IL-2, IL-6,

IL-7, IP-10, IL-2R, IL-10, TNF, MIP1- α , MCP-1 и GCSF положительно коррелируют с тяжестью заболевания [47].

Интерлейкин-6

Концентрация IL-6 в крови является индикатором тяжести COVID-19 [48]. В начальном периоде заболевания высокие концентрации IL-6 и С-реактивного белка в крови указывают на необходимость помещения больного в палату интенсивной терапии [49].

Интерлейкин-6 продуцируется широким кругом активированных иммунных клеток: макрофагами, дендритными клетками, нейтрофилами, лимфоцитами [50]. Кроме того, обнаружены и уникальные для коронавируса механизмы индукции воспаления: белок типа S вируса SARS-CoV вызывает продукцию IL-6 и TNF макрофагами [51], кроме того, белок N SARS-CoV активирует экспрессию IL-6 эпителиальными клетками альвеол легких путем внутриклеточного переноса транскрипционного фактора NF- κ B [52].

Таким образом, при коронавирусных инфекциях продукция IL-6 начинается уже в инфицированных клетках.

Интерферон- γ

При COVID-19 концентрация IFN γ в крови возрастает вместе с вирусной нагрузкой [53]. По-видимому, IFN γ продуцируется CD4 Т-лимфоцитами-хелперами. Данные клетки также продуцируют GM-CSF, вызывающий дифференцировку моноцитов, что тоже повышает концентрацию IFN γ в крови. Ранее связь высокой концентрации IFN γ с тяжестью воспаления легких была показана для инфекций, вызванных SARS-CoV-1 и MERS-CoV.

Высокая концентрация IFN γ в крови больного COVID-19 служит надежным показателем для направления больного в палату интенсивной терапии [46, 54].

Фактор некроза опухоли

Фактор некроза опухоли (ФНО) также является одним из ключевых провоспалительных цитокинов, играющих важную роль в развитии ряда воспалительных заболеваний и септического шока [50]. Концентрация ФНО в сыворотке крови повышается при SARS-CoV и особенно сильно — при SARS-CoV-2, положительно коррелируя с тяжестью заболевания [54, 55].

Интерлейкин-1

Интерлейкин-1 также представляет важный провоспалительный цитокин, играющий доминантную роль в цитокиновом шторме [41, 50, 55].

Участие системы комплемента в патогенезе COVID-19

Воспаление, характерное для коронавирусных инфекций, распространяется в том числе на клетки эндотелия сосудов, причем электронномикроскопические исследования стенок сосудов умерших больных COVID-19 указывают на прямую инфекцию эндотелиоцитов вирусами SARS-CoV-2; скопления воспалительных клеток и апоптозных тел выявлены и в интиме сосудов [56].

В кровеносных сосудах легких больных COVID-19 обнаружено депонирование терминальных компонентов комплемента C5b-9, C4d и протеиназы, ассоциированной с маннозосвязывающим лектином — MASP2. У двух из пяти обследованных больных наблюдалась колокализация вирусного белка S, C5b-9, C4d в межальвеолярных перегородках и микрососудах [57].

У больных COVID-19 депонирование C5b-9, MASP2, C4d отмечено также в эндотелии микрососудов кожи [58].

Установлено, что белок нуклеокапсида (N) вирусов SARS-CoV, SARS-CoV-2 MERS-CoV активирует MASP2, что указывает на участие лектинового пути активации комплемента в повреждении эндотелия и развитии ангиопатии [59]. Нарсоплимаб — человеческое моноклональное антитело (IgG4), связывающее MASP2 и блокирующее лектиновый путь активации комплемента, использовали в составе комплексной терапии для лечения шести больных COVID-19 с острым респираторным дистресс-синдромом. После назначения нарсоплимаба быстро снижалось число циркулирующих эндотелиальных клеток, а также провоспалительных цитокинов, уменьшалась активность лактатдегидрогеназы и снижался уровень С-реактивного белка в сыворотке крови. В отличие от контрольной группы, все больные выжили и поправились [59].

По данным исследования инфекции SARS-CoV у мышей C3^{-/-}, нокаутных по гену C3 (C3 является основным компонентом системы комплемента и участвует во всех трех путях ее активации), у таких мышей вирусная пневмония протекала менее тяжело, в их легких накапливалось меньше нейтрофилов и моноцитов, а в сыворотке крови наблюдались сниженные, по сравнению с контрольными мышами, концентрации провоспалительных цитокинов [60].

Применение терапевтического антитела экулизумаба (связывает C5, блокирует его расщепление на C5a и C5b и образование терминального комплекса комплемента C5b-9) в составе комплексной терапии пациентов с тяжелой формой COVID-19 показало обнадеживающие

результаты: у части больных наблюдалась полная, у других — частичная ремиссия [58, 61].

Для лечения одного больного COVID-19 средней тяжести был успешно использован AMY-101 — пептидный блокатор С3 [62].

Таким образом, активация комплемента вносит свой вклад в патогенез COVID и COVID-19. Хотя в повреждении эндотелия и микроангиопатии главным образом задействован лектиновый путь активации комплемента, блокада классического или альтернативного пути активации также может применяться в составе комплексной терапии заболевания.

3. Сероконверсия и клеточный иммунный ответ.

Сероконверсия происходит начиная с 5-го дня после появления симптомов, на 7-й день наблюдается у 50 % больных, на 14-й день — у 100 % больных [25, 39]. При этом часть антител относится к вируснейтрализующим антителам. Это антитела к связывающему рецептор домену белка S1 (амк 318-510 белка S) и к домену NP2 (амк 1029-1192 белка S), которые блокируют связывание вируса с рецептором ACE2 и слияние вируса с клеточной мембраной соответственно [63]. Таким образом, нейтрализующие антитела, связываясь с коронавирусами, могут действовать самостоятельно, но *in vivo* они также могут связываться с другими компонентами иммунной системы, например с комплементом, и с фагоцитирующими клетками, в результате чего происходит элиминация вирусов [64, 65]. Титры антител к вирусу, титры нейтрализующих антител, а также их динамика в сыворотке крови у разных больных могут существенно различаться [39].

Клеточный иммунный ответ, определяемый в мононуклеарных клетках периферической крови выздоравливающих больных по числу клеток, продуцирующих IFN γ , при стимуляции белками SARS-CoV-2 (для стимуляции клеток использовали рекомбинантные белки: N, фрагмент S, содержащий рецептор-связывающий участок, и протеазу SARS-CoV-2) характеризовался существенными индивидуальными различиями по данному показателю [65].

Модели инфекций, вызываемых SARS-CoV и SARS-CoV-2 на лабораторных мышах

Потребность в модели коронавирусной инфекции на мелких грызунах, в первую очередь на мышах, чрезвычайно велика. Между тем, хотя SARS-CoV может заражать многих мелких животных, включая грызунов, заболевание, вызванное вирусом, у них протекает бессимптомно либо в легкой форме. Например,

при интраназальной инокуляции вирусом SARS-CoV мышью BALB/c 6–8-недельного возраста репликация вируса в дыхательных путях достигает максимума на 2-й день после заражения, а максимальная продукция вируса наблюдается на 5-й день после заражения. При этом признаки легкой пневмонии можно обнаружить лишь у некоторых животных [66].

У взрослых мышью BALB/c в возрасте 4–6 мес. и старых мышью в возрасте от 12 до 14 мес. на 3–6-е сутки после интраназального инфицирования в дозе 500 TCID $_{50}$ % наблюдаются потеря веса, обезвоживание и взъерошенный мех наряду с признаками интерстициальной пневмонии, обнаруживаемыми в результате гистологического исследования [67].

Для получения моделей инфекции SARS-CoV, максимально соответствующих COVID человека, были предприняты попытки адаптации вируса к размножению в легких мышью и в результате были получены вирусы, вызывающие летальное заболевание в моделях интраназальной инфекции у мышью дикого типа.

1. SARS-CoV v2163.

Штамм Urbani SARS-CoV, который не является летальным для мышью BALB/c, первоначально наработанный в клетках Vero, был серийно пассирован 25 раз в легких мышью BALB/c, в результате был получен высоковирулентный штамм, обозначенный как v2163. Вирус v2163 вызывал признаки заболевания у мышью BALB/c в возрасте от 5 до 6 нед., включая потерю веса до 20 %, взъерошенный мех, летаргию в течение 3–4 дней и смерть (средняя продолжительность жизни составила $5,9 \pm 1,4$ сут при заражении в дозе 103,5 TCID $_{50}$ /мышь). Вирус v2163 увеличивал продукцию IL-1 α , IL-6, MIP-1 α , MCP-1 и RANTES в крови мышью, а высокая экспрессия IL-6 коррелировала со смертностью. Инфекция в значительной степени имитировала болезнь человека, но в патологии легких отсутствовало образование гиалиновой мембраны.

Вирус v2163 обнаруживали в легких и носоглотке у инокулированных мышью на 3-й и 6-й дни после инокуляции, но в сыворотке крови его выявляли очень редко. Вирус не был выделен из почек, мозга, селезенки, кишечника, печени или сердца мышью, инфицированных v2163, в пределах чувствительности метода обнаружения вируса.

В геноме v2163 было найдено девять мутаций, затрагивающих 10 аминокислотных остатков в генах, кодирующих вирусные белки: пять мутаций были расположены в генах белков nsp3, nsp9, nsp13, 3b/m и четыре мутации — в гене белка S [68].

2. SARS-CoV MA15.

SARS-CoV (штамм Urbani) адаптировали к размножению в дыхательных путях мышей BALB/c путем последовательных пассажей. После 15 пассажей получили вирус, названный MA15, который является летальным для мышей после интраназального введения [69].

Средняя продолжительность жизни погибших животных в данной модели больше, чем при заражении v2163, и составляет $13,5 \pm 6,9$ дня. Летальности предшествуют быстрое нарастание титров вируса в легких и вирусемия, сопровождающиеся лимфопенией, нейтрофилией и патологическими изменениями в легких. Вирусные антигены в больших количествах обнаруживают в эпителиальных клетках бронхов и альвеолярных пневмоцитах, а некротический клеточный дебрис присутствует в дыхательных путях и альвеолах, но пневмония носит легкий и очаговый характер. По всей вероятности, мыши, инфицированные MA15, умирают от вирусной инфекции с обширным, опосредованным вирусом, разрушением пневмоцитов и реснитчатых эпителиальных клеток. Помимо дыхательных путей, вирус M-15 выявляли в незначительных титрах в печени, селезенке, головном мозге в течение 1–4 дней после заражения в летальной дозе.

Секвенирование генома SARS-CoV MA15 показало, что данный вирус обладает другим спектром мутаций по сравнению с v2163. Всего было обнаружено шесть мутаций: 2 — в гене *nsp5*, 1 — в *nsp9*, 1 — в *nsp13*, 1 — в *S*, 1 — в *M*, из которых только одна мутация в гене *S* совпадает с аналогичной мутацией в v2163 [68, 69].

3. Трансгенные мыши, экспрессирующие человеческий рецептор ACE2.

В работе [70] были получены трансгенные мыши, экспрессирующие белок ACE2 человека.

Белок ACE2 человека экспрессировался в легких, сердце, почках и кишечнике. На 3-й и 7-й дни после инокуляции SARS-CoV более эффективно реплицировался в легких трансгенных мышей, чем в легких мышей дикого типа. Кроме того, у трансгенных мышей были более тяжелые легочные поражения, включая интерстициальную гиперемию и кровоизлияния, моноцитарную и лимфоцитарную инфильтрацию, экссудацию белка, пролиферацию и десквамацию альвеолярных эпителиальных клеток. Другие патологические изменения, в том числе васкулит, дегенерация и некроз, были обнаружены во внелегочных органах трансгенных мышей, а вирусный антиген был найден в мозге. Таким образом, трансгенные мыши были более восприимчивы к SARS-CoV,

чем мыши дикого типа, и восприимчивость была связана с серьезными патологическими изменениями, которые напоминали человеческую инфекцию SARS.

В работе [71] трансгенных мышей, экспрессирующих белок ACE2 человека, заражали SARS-CoV-2. Наблюдали потерю веса животных и репликацию вируса в легких. Типичной гистопатологией была интерстициальная пневмония с инфильтрацией значительного числа макрофагов и лимфоцитов в альвеолярный интерстиций и накоплением макрофагов в альвеолярных полостях. Вирусные антигены наблюдались в эпителиальных клетках бронхов, макрофагах и альвеолярном эпителии.

Трансгенные мыши, в эпителиальных клетках которых экспрессируется ACE2 человека, были получены в работе [72]. После интраназальной инокуляции SARS-CoV у мышей развивалась летальная инфекция, которая начиналась в эпителии дыхательных путей с последующим вовлечением альвеол и обнаружением вируса в мозге. Отмечались инфильтрации макрофагов и лимфоцитов в легких и активизация провоспалительных цитокинов и хемокинов как в легких, так и в мозге. Трансгенные мыши, экспрессирующие ACE2 человека, были также получены и в более поздних работах [73, 74].

Несомненно, модель с применением трансгенных мышей, экспрессирующих ACE2 человека, в большей степени, чем остальные модели, соответствует клинической картине COVID у человека.

Иммунотерапия коронавирусных инфекций

В настоящее время лекарственные средства для иммунотерапии коронавирусных инфекций находятся на стадии разработки, доклинической или, в лучшем случае, на стадии клинических испытаний. Иммунотерапию можно разделить на активную (вакцинация) и пассивную иммунотерапию. Пассивная иммунотерапия включает переливание плазмы крови выздоровевших пациентов, введение моноклональных антител либо иммуноадгезинов.

1. Интерферон.

К иммунотерапии можно также отнести введение препаратов IFN I или III типов, поскольку SARS-CoV-2 подавляет индукцию IFN α и IFN β в организме больного [75], тем самым угнетая врожденную иммунную систему защиты.

Преимущество IFN перед другими противовирусными препаратами, часто оказывающими противовирусное действие в отношении узкого

круга тех или иных вирусов, связано с тем, что все IFN I и III типов проявляют противовирусную активность в отношении практически всех типов ДНК и РНК вирусов, запуская в клетках программу синтеза антивирусных белков, а также активируют противовирусный иммунитет. В результате IFN обеспечивают вовлечение всех возможных противовирусных механизмов в выработку единой защитной реакции организма против внедрившегося вируса.

Применение генно-инженерных препаратов IFN позволяет превзойти ингибирующее влияние вируса на его синтез и проявить действие IFN в полном объеме и оптимальные сроки для блокады распространения вируса. Препараты IFN для местного интраназального применения могут оказать лечебное действие на начальной стадии заболевания и профилактический эффект во время эпидемии. Основным подходом к терапии COVID-19 препаратами IFN должно быть назначение лечения на ранних стадиях инфекции, до развития полного симптомокомплекса жизнеугрожающих состояний.

Ранее в клинической практике при инфицировании коронавирусами SARS-CoV и MERS-CoV защитное действие препаратов рекомбинантного IFN α установлено только при раннем применении, в начале развития заболевания, до появления симптомов тяжелой легочной патологии. Более позднее назначение IFN не обеспечивало положительную динамику по сравнению с группой плацебо [76, 77]. Видимо, подобные различия в эффективности лечебного действия IFN в зависимости от срока назначения препаратов объяснимы с точки зрения иммунопатогенеза коронавирусной инфекции. На начальной стадии инфекции существует недостаток эндогенного IFN и введение рекомбинантного аналога извне может компенсировать данный дефицит, играющий важную роль в дальнейшем прогрессировании инфекционного процесса. Напротив, на более продвинутых стадиях может развиваться гипервоспалительная реакция с повышенным синтезом провоспалительных цитокинов. Назначение IFN в этот период нецелесообразно, так как может привести к усугублению цитокинового шторма и обострению воспаления в ткани легких [78, 79].

Проведенные в Китае испытания препаратов рекомбинантного IFN α 2b при инфицировании SARS-CoV-2 показали, что они снижают продолжительность высева коронавируса из респираторного тракта и параллельно уменьшают длительность выявления повышенных уровней IL-6 и С-реактивного белка в плазме крови больных COVID-19. На основании опыта

борьбы с эпидемией коронавируса в Китае препараты IFN α включены в национальные рекомендации по лечению больных COVID-19. В настоящее время препараты рекомбинантного IFN включены и в рекомендации МЗ РФ по борьбе с коронавирусом. У взрослых IFN рекомендован для местного ингаляционного применения в дозе $5 \cdot 10^6$ МЕ 2 раза в день [79].

2. Вакцинация.

Несмотря на то что первая коронавирусная эпидемия, вызванная SARS-CoV, произошла в 2002 г., до сих пор еще ни одна коронавирусная вакцина не была утверждена для использования ни в одной стране. Распространяемые средствами массовой информации сведения о производстве и распределении миллионов доз той или иной вакцины следует рассматривать исключительно как ускоренную подготовку к масштабным клиническим испытаниям III фазы, которые потребуют много времени (месяцы и годы наблюдений вакцинированного и невакцинированного контингентов участников испытаний) для оценки результатов. Информацию по данному вопросу можно отслеживать на соответствующем сайте Всемирной организации здравоохранения [80]. В настоящее время разрабатываются и испытываются разнообразные вакцины: инактивированные цельновирионные, живые аттенуированные, вирусоподобные частицы, вакцины на основе нереплицирующихся вирусных векторов, белковые субъединичные вакцины, в том числе в комбинации с адьювантами, РНК- и ДНК-вакцины — всего предложено более 100 различных вакцин [81–84]. Широкомасштабные испытания различных вакцин, проводимые в разных странах, позволяют со временем сравнить эффективность и продолжительность иммунитета при применении разных типов вакцин.

Следует отметить опасность возникновения побочных явлений при вакцинации: цитокинового шторма и антителозависимого усиления инфекции [81, 82].

3. Разработка терапевтических моноклональных антител.

Первоначально считали, что нейтрализующими антителами являются антитела к доменам белка S: к связывающему рецептор домену субъединицы S1 и к доменам HR1 и HR2 субъединицы S2, важным для вхождения вируса в клетку. Было показано, что данные домены содержат большое число иммуногенных эпитопов, что указывает на возможность получения большого числа отличающихся друг от друга нейтрализующих антител [83]. Впоследствии

оказалось, что нейтрализующими свойствами обладают также некоторые антитела к белкам нуклеопротеина (NP) и оболочки (E) вируса. При этом некоторые нейтрализующие антитела обладают перекрестной (SARS-CoV – SARS-CoV2) активностью [84]. Таким образом, существует широкий спектр вируснейтрализующих моноклональных антител, перспективных для гуманизации и последующего внедрения в клиническую практику. В работах [83, 84] содержатся основные сведения, включая механизм действия, около 30 различных моноклональных антител против SARS-CoV-2. На сайте клинических испытаний [85] в настоящее время зарегистрировано 10 клинических испытаний моноклональных антител против SARS-коронавирусов.

4. Разработка иммуноадгезинов.

Иммуноадгезины — гибридные рекомбинантные белки, содержащие экстраклеточный домен специфического рецептора, слитый с константной областью иммуноглобулина.

Константная область иммуноглобулина (Fc) придает иммуноадгезину стабильность *in vivo* и (при необходимости) обеспечивает связывание с комплементом и Fc-рецепторами иммунных клеток. Первым иммуноадгезином, внедренным в практику здравоохранения, стал этанерсепт, состоящий из экстраклеточного фрагмента рецептора ФНО и Fc IgG1 человека. Этанерсепт, известный уже более 20 лет, эффективен в лечении ряда хронических воспалительных заболеваний.

Рекомбинантный белок, содержащий активный экстраклеточный домен белка ACE2, слитый с Fc, был первоначально предложен для нормализации кровяного давления и в настоящее время проходит клинические испытания [86].

Однако, поскольку ACE2 связывается с белком S с высокой аффинностью ($K_d = 1,2 \cdot 10^{-9}$ М для белка S SARS-CoV-2 и $K_d = 5,0 \cdot 10^{-9}$ М для SARS-CoV) [9], такой белок может эффективно связывать коронавирусы SARS, блокируя рецептор-связывающий домен вируса и конкурируя с ACE2, расположенном на поверхности клеток. Действительно, иммуноадгезины ACE2–Fc активно связывают коронавирусы SARS и нейтрализуют их *in vitro*, в частности, был сконструирован вариант ACE2–NN–Fc, в котором пептидазная активность ACE2 была инактивирована путем замены двух аминокислот в активном центре фермента. Данный иммуноадгезин вызывал 50 % нейтрализацию SARS-CoV в концентрации 2 нМ при тестировании на культуре перmissive клеток [87]. Идентичный иммуноадгезин, полученный дру-

гими авторами, показал высокую нейтрализующую активность по отношению к SARS-CoV и SARS-CoV-2 *in vitro*, при этом время полужизни в крови мышей *in vivo* ($T_{1/2}$) составило 5,2 сут, в то время как $T_{1/2}$ экстраклеточного домена ACE2, не связанного с Fc, менее 2 ч [88].

Используя методы генетической инженерии, можно заменять Fc-области как гуманизированных моноклональных антител, так и иммуноадгезинов (например, FcIgG1 заменить на FcIgG2 или FcIgG4) либо отдельные аминокислоты в Fc с помощью направленного мутагенеза с целью уменьшения связывания с комплементом или с определенными Fc-рецепторами иммунных клеток, в том числе с рецепторами FcγRIIa и FcγRIIb, ответственными за антителозависимое усиление инфекции [89]. Такие работы проводятся в настоящее время. Например, в молекуле иммуноадгезина ACE2–Fc с помощью мутагенеза было подавлено связывание со всеми Fcγ-рецепторами, при этом модифицированный иммуноадгезин обладал высокой стабильностью *in vivo*, хорошо проникал в ткани легких и оказывал профилактическое действие при заражении мышей SARS-CoV-2 [90].

5. Переливание плазмы крови выздоровевших больных.

Предполагают, что, поскольку донором плазмы крови является выздоровевший пациент, данная плазма содержит нейтрализующие антитела в достаточно высоких титрах для достижения терапевтического эффекта и в то же время не вызывает антителозависимого усиления инфекции. Кровь для получения сыворотки забирают у выздоравливающих больных через 2–3 нед. после появления первых симптомов заболевания. Одна доза плазмы составляет от 200 до 600 мл. Поскольку определение титра вируснейтрализующих антител требует времени, переливание плазмы крови часто делают «вслепую». Данный вид терапии показал свою эффективность (хотя он неэффективен у терминальных больных), и в настоящее время его широко применяют эмпирически и исследуют в многочисленных клинических испытаниях [92].

6. Использование известных моноклональных антител.

С целью подавления цитокинового шторма возможно использование известных и широко применяемых в лечебной практике моноклональных антител и иммуноадгезинов против важнейших провоспалительных цитокинов, а также антител, блокирующих систему комплемента [58, 59, 61, 84, 91].

Информацию о многочисленных текущих клинических испытаниях таких лекарственных средств для лечения SARS-CoV-2 можно получить на сайте клинических испытаний [85]. В частности, испытываются:

- антитела против ИЛ-6 и его рецептора — тоцилизумаб, сарилумаб, силтуксимаб;
- антитело против ИЛ-17 — секукинумаб;
- антитело против ИЛ-1 бета — канакинумаб, также испытывается растворимый рецептор ИЛ-1 бета — анакинра;
- антитела против ФНО — инфликсимаб, адалимумаб и иммуноадгезин ФНО — этанерцепт;
- антитела, блокирующие активацию комплекса, — нарсоплимаб, экулизумаб, тоцилизумаб, вилобелимаб.

Заключение

Лечение коронавирусных пневмоний вызывает серьезные затруднения, что было продемонстрировано как при лечении больных, так и на животных моделях [93]. В настоящее время в разных странах создаются и испытываются многочисленные противовирусные и противовоспалительные препараты, в том числе рассмотренные выше иммунотерапевтические препараты. Накопленные к настоящему времени данные о строении вируса SARS-CoV-2 и его геноме и о патогенезе COVID-19 позволяют надеяться на разработку и внедрение в практику здравоохранения вакцин, моноклональных антител и иммуноадгезинов, эффективных против коронавирусной инфекции.

Литература

1. WHO. 2004. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003. Available from: https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/.
2. Fehr AR, Channapannavar R, Perlman S. Middle East respiratory syndrome (MERS): Emergence of a pathogenic human Coronavirus. *Annu Rev Med*. 2017;68:387-399. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-051215-031152>.
3. Kuhn JH, Li W, Choe H, et al. Angiotensin-converting enzyme 2: A functional receptor for SARS coronavirus. *Cell Mol Life Sci*. 2004;61(21):2738-2743. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4242-5>.
4. Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: Implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395(10224):565-574. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8).
5. Kim D, Lee JY, Yang JS, et al. The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell*. 2020;181(4):914-921.e10. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011>.
6. Li X, Geng M, Peng Y, et al. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal*. 2020;10(2):102-108. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.03.001>.
7. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426(6965):450-454. <https://doi.org/10.1038/nature02145>.
8. Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004;203(2):631-637. <https://doi.org/10.1002/path.1570>.
9. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, et al. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*. 2020;180(2):281-292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>.
10. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder 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):271-280.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.
11. Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: Update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(6):439-450. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2147>.
12. Ogando NS, Dalebout TJ, Zevenhoven-Dobbe JC, et al. SARS-coronavirus-2 replication in Vero E6 cells: replication kinetics, rapid adaptation and cytopathology. *J Gen Virol*. 2020;101(9):925-940. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001453>.
13. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell*. 2010;140(6):805-820. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022>.
14. Jefferies C. Regulating IRFs in IFN driven disease. *Front Immunol*. 2019;10:325. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00325>.
15. Mitchell S, Mercado E, Adelaja A, et al. An NFkB activity calculator to delineate signaling crosstalk: Type I and II interferons enhance NFkB via distinct mechanisms. *Front Immunol*. 2019;10:1425. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01425>.
16. Ivashkiv L, Donlin L. Regulation of type I interferon responses. *Nature reviews Immunology*. 2014;14(1):36-49. <https://doi.org/10.1038/nri3581>.
17. Schoggins J, Wilson S, Panis M, et al. A diverse range of gene products are effectors of the type I interferon antiviral response. *Nature*. 2011;472(7344):481-485. <https://doi.org/10.1038/nature09907>.
18. Knoops K, Kikkert M, Worm SH, et al. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum. *PLoS Biol*. 2008;6(9):e226. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060226>.
19. Snijder EJ, van der Meer Y, Zevenhoven-Dobbe J, et al. Ultrastructure and origin of membrane vesicles associated with the severe acute respiratory syndrome coronavirus replication complex. *J Virol*. 2006;80(12):5927-5940. <https://doi.org/10.1128/JVI.02501-05>.
20. Li G, Fan Y, Lai Y, et al. Coronavirus infections and immune responses. *J Med Virol*. 2020;92(4):424-432. <https://doi.org/10.1002/jmv.25685>.

21. Totura AL, Baric RS. SARS coronavirus pathogenesis: Host innate immune responses and viral antagonism of interferon. *Curr Opin Virol*. 2012;2(3):264-275. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.04.004>.
22. Kindler E, Thiel V, Weber F. Interaction of SARS and MERS Coronaviruses with the antiviral interferon response. *Adv Virus Res*. 2016;96:219-243. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.08.006>
23. Domingo P, Mur I, Pomar V, et al. The four horsemen of a viral Apocalypse: The pathogenesis of SARS-CoV-2 infection (COVID-19). *EBioMedicine*. 2020;58:102887. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102887>.
24. Blanco-Melo D, Nilsson-Payant B, Liu WC, et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell*. 2020;181(5):1036-1045.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.026>.
25. Lokugamage K, Hage A, Schindewolf C, et al. SARS-CoV-2 is sensitive to type I interferon pretreatment. *bioRxiv*. 2020;2020.03.07.982264. <https://doi.org/10.1101/2020.03.07.982264>.
26. Faure E, Poissy J, Goffard A, et al. Distinct immune response in two MERS-CoV-infected patients: Can we go from bench to bedside? *PLoS One*. 2014;9(2):e88716. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088716>.
27. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: Causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol*. 2017;39(5):529-539. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0629-x>.
28. Channappanavar R, Fehr A, Vijay R, et al. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell Host Microbe*. 2016;19(2):181-193. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.01.007>.
29. Gu J, Gong E, Zhang B, et al. Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *J Exp Med*. 2005;202(3):415-424. <https://doi.org/10.1084/jem.20050828>.
30. Huang K, Su IJ, Theron M, et al. An interferon-gamma-related cytokine storm in SARS patients. *J Med Virol*. 2005;75(2):185-194. <https://doi.org/10.1002/jmv.20255>.
31. Cameron M, Xu L, Danesh A, et al. Interferon-mediated immunopathological events are associated with atypical innate and adaptive immune responses in patients with severe acute respiratory syndrome. *J Virol*. 2007;81(16):8692-8706. <https://doi.org/10.1128/JVI.00527-07>.
32. Hadjadj J, Yatim N, Barnabei L, et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science*. 2020;369(6504):718-724. <https://doi.org/10.1126/science.abc6027>.
33. Paranjpe I, Russak A, De Freitas JK, et al. Clinical characteristics of hospitalized COVID-19 patients in New York City. *medRxiv*. 2020;2020.04.19.20062117. <https://doi.org/10.1101/2020.04.19.20062117>.
34. Zhu J, Zhong Z, Ji P, et al. Clinicopathological characteristics of 8697 patients with COVID-19 in China: A meta-analysis. *Fam Med Commun Health*. 2020;8(2):e000406. <https://doi.org/10.1136/fmch-2020-000406>.
35. Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. Lessons from SARS: Control of acute lung failure by the SARS receptor ACE2. *J Mol Med (Berl)*. 2006;84(10):814-820. <https://doi.org/10.1007/s00109-006-0094-9>.
36. Chen J, Subbarao K. The immunobiology of SARS. *Annu Rev Immunol*. 2007;25(1):443-472. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.25.022106.141706>.
37. Cheung OY, Chan JW, Ng CK, et al. The spectrum of pathological changes in severe acute respiratory syndrome (SARS). *Histopathology*. 2004;45(2):119-124. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2004.01926.x>.
38. Zhang ZL, Hou YL, Li DT, et al. Laboratory findings of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Scand J Lab Invest*. 2020;80(6):441-447. <https://doi.org/10.1080/00365513.2020.1768587>.
39. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;581(7809):465-469. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>.
40. Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: Physiological and pathological effects in the cardiovascular system. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2007;292(1):C82-97. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00287.2006>.
41. Simxes e Silva AC, Silveira KD, Ferreira AJ, et al. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *Br J Pharmacol*. 2013;169(3):477-492. <https://doi.org/10.1111/bph.12159>.
42. Patel VP, Zhong J-C, Grant MB, et al. Role of the ACE2/Angiotensin 1-7 axis of the renin-angiotensin system in heart failure. *Circ Res*. 2016;118(8):1313-1326. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.307708>.
43. Imai Y, Kuba K, Rao S, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature*. 2005;436(7047):112-116. <https://doi.org/10.1038/nature03712>.
44. Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med*. 2005;11(8):875-879. <https://doi.org/10.1038/nm1267>.
45. Liu Y, Yang Y, Zhang C, et al. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci China Life Sci*. 2020;63(3):364-374. <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1643-8>.
46. Fara A, Mitrev Z, Rosalia RA, Cytokine storm and COVID-19: A chronicle of proinflammatory cytokines. *Open Biol*. 2020;10(9):200160. <https://doi.org/10.1098/rsob.200160>.
47. Johnson BS, Laloraya M. A cytokine super cyclone in COVID-19 patients with risk factors: The therapeutic potential of BCG immunization. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2020;54:32-42. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2020.06.014>.
48. Ruan Q, Yang K, Wang W, et al. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med*. 2020;46(5):846-848. <https://doi.org/10.1007/s00134-020-05991-x>.
49. Herold T, Jurinovic V, Arnreich C, et al. Elevated levels of IL-6 and CRP predict the need for mechanical ventilation in COVID-19. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(1):128-136.e4. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.05.008>.
50. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. – СПб.: Фолиант, 2018. – 510 с.

- [Simbirtsev AS. Tsitokiny v patogeneze i lechenii zabolevaniy cheloveka. Saint Petersburg: Foliant; 2018. 510 p. (In Russ.)]
51. Wang W, Ye L, Ye L, et al. Up-regulation of IL-6 and TNF- α induced by SARS-coronavirus spike protein in murine macrophages via NF- κ B pathway. *Virus Res.* 2007;128(1-2):1-8. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2007.02.007>.
 52. Zhang X, Wu K, Wang D, et al. Nucleocapsid protein of SARS-CoV activates interleukin-6 expression through cellular transcription factor NF- κ B. *Virology.* 2007;365(2):324-335. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2007.04.009>.
 53. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5).
 54. Soy M, Keser G, Atagündüz P, et al. Cytokine storm in COVID-19: Pathogenesis and overview of anti-inflammatory agents used in treatment. *Clin Rheumatol.* 2020;39(7):2085-2094. <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05190-5>.
 55. Sarzi-Puttini P, Giorgi V, Sirotti S, et al. COVID-19, cytokines and immunosuppression: What can we learn from severe acute respiratory syndrome? *Clin Exp Rheumatol.* 2020;38(2):337-342.
 56. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020;395(10234):1417-1418. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30937-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5).
 57. Magro C, Mulvey CJ, Berlin D, et al. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: A report of five cases. *Transl Res.* 2020;220:1-13. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2020.04.007>.
 58. Laurence J, Mulvey JJ, Seshadri M, et al. Anti-complement c5 therapy with eculizumab in three cases of critical COVID-19. *Clin Immunol.* 2020;219:108555. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108555>.
 59. Rambaldi A, Gritti G, Micić MC, et al. Endothelial injury and thrombotic microangiopathy in COVID-19: Treatment with the lectin-pathway inhibitor narsoplimab. *Immunobiology.* 2020;9:152001. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2020.152001>.
 60. Gralinski LE, Sheahan TP, Morrison TE, et al. Complement activation contributes to severe acute respiratory syndrome coronavirus pathogenesis. *mBio.* 2018;9(5):e01753-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.01753-18>.
 61. Diurno F, Numis FG, Porta G, et al. Eculizumab treatment in patients with COVID-19: Preliminary results from real life ASL Napoli 2 Nord experience. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020;24(7):4040-4047. https://doi.org/10.26355/eurrev_202004_20875.
 62. Mastaglio S, Ruggeri A, Risitano AM, et al. The first case of COVID-19 treated with the complement C3 inhibitor AMY-101. *Clin Immunol.* 2020;215:108450. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108450>.
 63. Du L, He Y, Zhou Y, et al. The spike protein of SARS-CoV — a target for vaccine and therapeutic development. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7(3):226-236. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2090>.
 64. Yasui F, Kohara M, Kitabatake M, et al. Phagocytic cells contribute to the antibody-mediated elimination of pulmonary-infected SARS coronavirus. *Virology.* 2014;454-455: 157-168. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.02.005>.
 65. Ni L, Ye F, Cheng ML, et al. Detection of SARS-CoV-2-specific humoral and cellular immunity in COVID-19 convalescent individuals. *Immunity.* 2020;52(6):971-977.e3. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.04.023>.
 66. Gong SR, Bao LL. The battle against SARS and MERS coronaviruses: Reservoirs and animal models. *Animal Model Exp Med.* 2018;1(2):125-133. <https://doi.org/10.1002/ame2.12017>.
 67. Roberts A, Paddock C, Vogel L, et al. Aged BALB/c mice as a model for increased severity of severe acute respiratory syndrome in elderly humans. *J Virol.* 2005;79(9):5833-5838. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.9.5833-5838.2005>.
 68. Day CW, Baric R, Cai SX, et al. A new mouse-adapted strain of SARS-CoV as a lethal model for evaluating antiviral agents *in vitro* and *in vivo*. *Virology.* 2009;395(2):210-222. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2009.09.023>.
 69. Roberts A, Deming D, Paddock CD, et al. A mouse-adapted SARS-coronavirus causes disease and mortality in BALB/c mice. *PLoS Pathog.* 2007;3(1):e5. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030005>.
 70. Yang XH, Deng W, Tong Z, et al. Mice transgenic for human angiotensin-converting enzyme 2 provide a model for SARS coronavirus infection. *Comp Med.* 2007;57(5):450-459.
 71. Bao L, Deng W, Huang B, et al. The pathogenicity of SARS-CoV-2 in hACE2 transgenic mice. *Nature.* 2020;583(7818): 830-833. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2312-y>.
 72. McCray PB, Pewe L, Wohlford-Lenane C, et al. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J Virol.* 2007;81(2):813-821. <https://doi.org/10.1128/JVI.02012-06>.
 73. Jiang RD, Liu MQ, Chen Y, et al. Pathogenesis of SARS-CoV-2 in transgenic mice expressing human angiotensin-converting enzyme 2. *Cell.* 2020;182(1):50-58.e8. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.05.027>.
 74. Lutz C, Maher L, Lee C, et al. COVID-19 preclinical models: Human angiotensin-converting enzyme 2 transgenic mice. *Hum Genomics.* 2020;14(1):20. <https://doi.org/10.1186/s40246-020-00272-6>.
 75. Yuen CK, Lam JY, Wong WM, et al. SARS-CoV-2 nsp13, nsp14, nsp15 and orf6 function as potent interferon antagonists. *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):1418-1428. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1780953>.
 76. Omrani A, Saad M, Baig K, et al. Ribavirin and interferon α -2a for severe Middle East respiratory syndrome coronavirus infection: A retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2014;14(11):1090-1095. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70920-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70920-X).
 77. Zumla A, Chan J, Azhar E, et al. Coronaviruses — drug discovery and therapeutic options. *Nat Rev Drug Discov.* 2016;15(5):327-347. <https://doi.org/10.1038/nrd.2015.37>.
 78. Park A, Iwasaki A. Type I and type III interferons — induction, signaling, evasion, and application to combat COVID-19. *Cell Host Microbe.* 2020;27(6):870-878. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.05.008>.
 79. Dong L, Hu S, Gao J. Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Drug Discov Ther.* 2020;14(1):58-60. <https://doi.org/10.5582/ddt.2020.01012>.

80. WHO. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>.
81. Usmani SS, Raghava GP. Potential challenges for coronavirus (SARS-CoV-2) vaccines under trial. *Front Immunol*. 2020;11:561851. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.561851>.
82. Tseng CT, Sbrana E, Iwata-Yoshikawa N, et al. Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus. *PLoS One*. 2012;7(4):e35421. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035421>.
83. Sajna KV, Kamat S. Antibodies at work in the time of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Cytotherapy*. 2020;S1465-3249(20)30846-X. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2020.08.009>.
84. Owji H, Negahdaripour M, Hajighahramani N. Immunotherapeutic approaches to curtail COVID-19. *Int Immunopharmacol*. 2020;88:106924. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106924>.
85. ClinicalTrials.gov. Explore 358,767 research studies in all 50 states and in 219 countries. Available from: www.clinicaltrials.gov.
86. Liu P, Wysocki J, Souma T, et al. Novel ACE2-Fc chimeric fusion provides long-lasting hypertension control and organ protection in mouse models of systemic renin angiotensin system activation. *Kidney Int*. 2018;94(1):114-125. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2018.01.029>.
87. Moore MJ, Dorfman T, Li W, et al. Retroviruses pseudotyped with the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein efficiently infect cells expressing angiotensin-converting enzyme 2. *J Virol*. 2004;78(19):10628-10635. <https://doi.org/10.1128/JVI.78.19.10628-10635.2004>.
88. Li Y, Wang H, Tang X, et al. SARS-CoV-2 and three related coronaviruses utilize multiple ACE2 orthologs and are potently blocked by an improved ACE2-Ig. *J Virol*. 2020;94(22):e01283-20. <https://doi.org/10.1128/JVI.01283-20>.
89. Wang X, Mathieu M, Brezski RJ. IgG Fc engineering to modulate antibody effector functions. *Protein Cell*. 2018;9(1):63-73. <https://doi.org/10.1007/s13238-017-0473-8>.
90. Iwanaga N, Cooper L, Rong L, et al. Novel ACE2-IgG1 fusions with improved activity against SARS-CoV2. *bioRxiv*. 2020;2020.06.15.152157. <https://doi.org/10.1101/2020.06.15.152157>.
91. Hussen J, Kandeel M, Hemida MG, Al-Mubarak AI. Antibody-based immunotherapeutic strategies for COVID-19. *Pathogens*. 2020;9(11):E917. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110917>.
92. Wooding DJ, Bach H. Treatment of COVID-19 with convalescent plasma: Lessons from past coronavirus outbreaks. *Clin Microbiol Infect*. 2020;26(10):1436-1446. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.08.005>.
93. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: Causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol*. 2017;39(5):529-539. <https://doi.org/10.1007/s00281-017-0629-x>.

Сведения об авторах / Information about the authors

Николай Анатольевич Климов — канд. мед. наук, заведующий лабораторией генной инженерии белков, отдел медицинской биотехнологии и иммунофармакологии. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: nklimov@mail.ru.

Андрей Семенович Симбирцев — д-р мед. наук, профессор, член-корр. РАН, заведующий отделом медицинской биотехнологии и иммунофармакологии. ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург. E-mail: simbas@mail.ru.

Nikolay A. Klimov — PhD (Medicine), Head, Laboratory of Protein Gene Engineering, Department of Medical Biotechnology and Immunopharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: nklimov@mail.ru.

Andrey S. Simbirtsev — MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head, Department of Medical Biotechnology and Immunopharmacology. Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia. E-mail: simbas@mail.ru.

✉ Контактное лицо / Corresponding author

Николай Анатольевич Климов / Nikolay A. Klimov
E-mail: nklimov@mail.ru