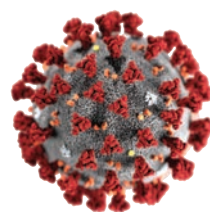


COVID-19 –



задача с много неизвестни

Драгомира Николова

Колкото и странно да е за информационния XXI век, причинителят на COVID-19 си остава загадка, въпреки огромния интерес и планините от всевъзможни „новини“, които се трупат около него. Информационната машина е бърза, но повърхностна, а често безотговорна и дори лъжовна, когато има любопитство за задоволяване. Науката пък се нуждае от време, задълбочен труд и от щателна проверка на всеки факт и всяко твърдение. В пропастта между двете се оформи и „загадката COVID-19“. Ето какво все пак е известно на науката досега.

Коронавирусите са РНК (рибонуклеинови) вируси с белтъчна обвивка от

Той е малък и невидим – не само с просто око, но и с обикновен микроскоп – а разтърси живота на Земята. Обикновено с подобните нему същества се занимават само тесни специалисти, но точно този нахлу във всички информационни канали. За борбата с него има щаб, който дава ежедневни съобщения като от истинска война – с пробииви, отстъпления и жертви. Става дума за вируса **SARS-CoV-2** и **болестта COVID-19**. Дори и ако сегашната пандемия отмине бързо, те няма да бъдат забравени скоро. А последиците от разходката им по Земята ще се чувстват дълго.

сем. *Coronaviridae* и от подсемейство *Coronavirinae*. Имат специфичен изглед, като зрелите вирусни частици имат шипчета, видимо подобни на корона под електронен микроскоп. При заразяване на животни засягат

респираторната и гастроинтестиналната системи, както и черния дроб, а понякога причиняват и неврологични симптоми.

При заразяване на човек причиняват дихателни инфекции (простуди), ринит, кашлица, зачервено гърло и треска. Понякога могат да засегнат и долните дихателни пътища и да причинят пневмония, което става предимно при имунокомпроментирани лица. Много рядко

причиняват тежко заболяване като SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome).

В края на декември, 2019 китайските власти съобщиха за няколко случая на остър респираторен синдром в гр. Ухан, провинция Хубей, Китай. На 9 януари 2020 те изолират причинителя – нов тип коронавирус. Болестта е известна като COVID-19 (от Coronavirus Disease 2019), а самият вирус носи обозначението SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2). Това е нов щам на коронавируса, който до момента не е бил идентифициран при хора. На 10 януари 2020 геномната секвенция на вируса е оповестена и е съхранена в GenBank под номер MN908947. Предварителният анализ показва, че SARS-CoV-2 клъстерира (разделя се в една група) с останалите SARS – свързани вируси и се разграничава от коровия геном на известните прилепови ковируси. Според официалната страница на Европейския център за превенция и контрол на заболяванията животинският източник и резервоарът на инфекцията е все още неизвестен. В началото на годината като най-вероятни резервоари на вируса бяха **дискутирани люспениците (известни и като панголини, *Pholidota*) и прилепите.**

Китайски изследователи от Университета в Гуанджоу предположиха, че люспениците са животинският източник на вируса

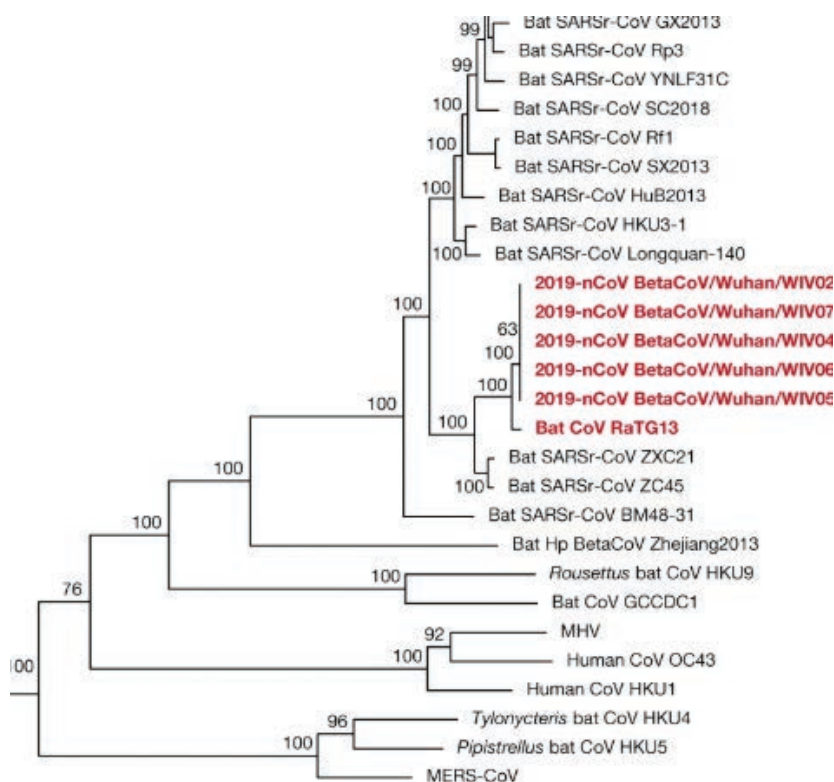
и го съобщиха на 7.02.2020. В Китай те са обект на браконьерски лов заради месото и люспите, които се използват в традиционната китайска медицина. Продажбата на люспеници по принцип е забранена, но могат да се купят от някои животински пазари. В началото на пресконференцията е било съобщено, че геномът на коронавируса при люспениците оказва 99% съвпадение с генома на човешкия коронавирус.



Голям подковонос прилеп (*Rhinolophus ferrumequinum*), близък до *Rhinolophus sinicus* от Китай, който е източник на SARS вируса



Китайски люспест панголин – люспеник



*Част от филогенетично дърво, базирано на нуклеотидните секвенции на пълните геноми на коронавируса. Коронавирусите, изолирани от човешки проби, се разпределят близо до секвенция BatCoV RaTG13 на коронавирус от прилеп *Rhinolophus affinis* от провинция Ухан*

Това твърдение се оказва неточно. Съвпадението не се отнася за целия геном на люспеника, а само за т.нар. рецептор-свързващ домен (RBD), става ясно от публикация на 20.02.2020. Цялостните геноми на коронавируса по люспениците и хората си съвпадат едва по 90.3% от секвенциите. А 99% съвпадение на RBD на двата вируса не се смята за достатъчно доказателство, че те са свързани.

Второ изследване върху коронавируси, изолирани от люспеници и от замразе-

ни човешки проби показва между 85.5% и 92.4% сходство в геномите. Трето изследване докладва между 90.23% и 91.02%. Според изследователите, за да се счита люспеникът за първоначален източник на вируса, това съвпадение не е достатъчно. При по-ранния вирус SARS-CoV е имало съвпадение с генома на вируса по цвятка в 99.8% от секвенциите, поради което и тя се смята за негов животински източник.

Първото изследване на хора от областта на животинския пазар в Ухан започва,

като се предполага, че става въпрос за вирус от семейството на коронавируси, което се потвърждава. Но този вирус е различен от SARS-CoV-1 и затова го наричат „нов коронавирус“ или **2019-nCoV**. На базата на генетичното съвпадение на двата вируса става ясно, че те принадлежат към един и същ вид на SARS-CoV. Но рецептор-свързващият спайк (spike), кодиран от S гена, е много различен от този на другите коронавируси (по-малко от 75% нуклеотидно съвпадение и 93.1% идентичност с този от прилеп RaTG13). S гените на 2019-nCoV и RaTG13 са по-близки от тези на останалите SARS-CoV. С други думи, досега най-близко съвпадение на SARS-CoV-2 е установено при коронавирус от прилеп - 96% съвпадение на генетичния материал.

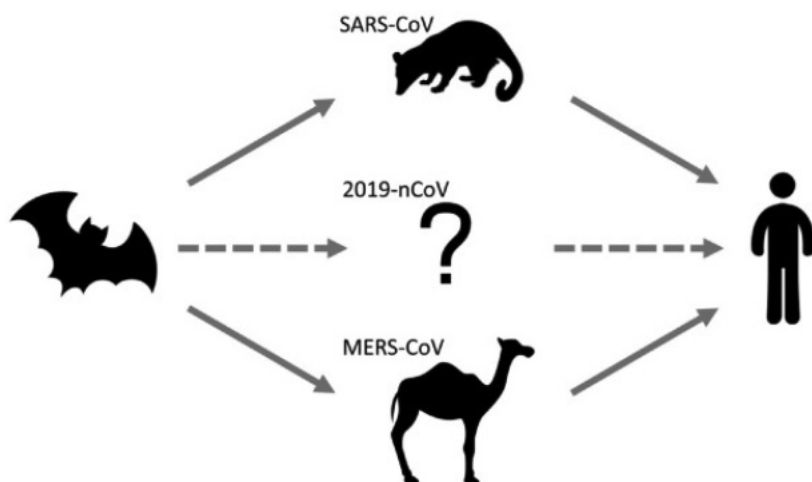
Прилепите наистина биха могли да предават вируса на хората, но проблемът е, че има ключови разлики в RBD районите на двата вируса. Това означа-

ва, че прилеповият вирус не би могъл да премине директно върху хората. Изказва се хипотеза, че той вероятно е придобил това качество, като е преминал през друг междинен гостоприемник.

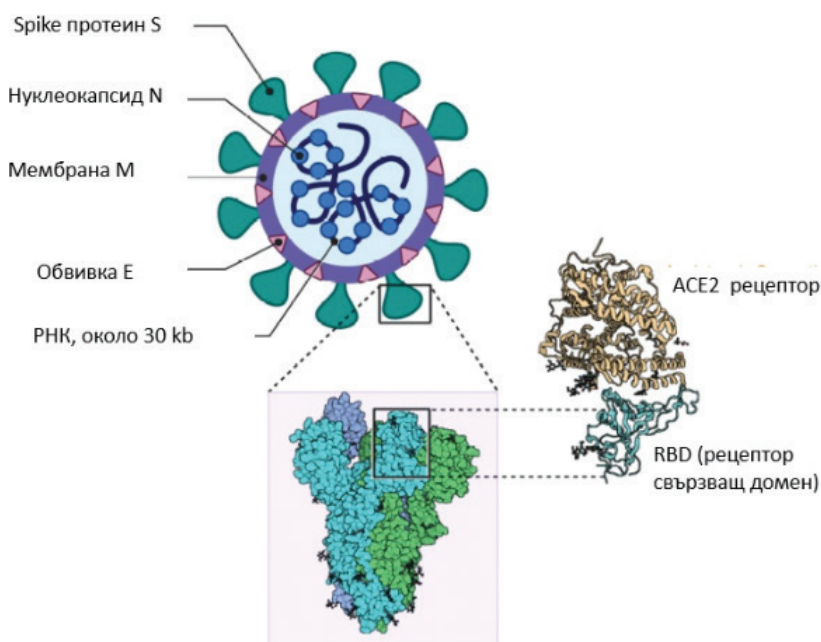
Прилепите са „обичайни заподозрени“ при прехода на коронавируса към хора. По-ранните MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus) (бета коронавирус, 2012 г.) и SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-1) (бета коронавирус, 2002 г.) произлизат от прилепи, като преминават през различни междинни гостоприемници. MERS-CoV е пренесен на хора от камили, а SARS-CoV- от циветки.

Въпросите, които са все още без отговор, са:

1. Какъв е молекулярният механизъм за междувидова трансмисия на SARS-CoV-2?
2. Каква е ролята на точковите мутации и рекомбинациите в еволюцията на вируса?



Пътища на трансмисия на SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2. Въпросителният знак показва неизвестен междинен гостоприемник и подозиран тип на трансмисия (Хи Yetal, April, 2020)



Структура на SARS-CoV-2

3. Какво е разпространението на вируса в естествения му гостоприемник и може ли да инфектира други животни?

Известно е, че прилеповете корона-вируси могат да прескачат междугивовата бариера и да заразяват прасета, в които се генерират генетично нови вируси. Потенциалното заразяване на домашни животни със SARS-CoV-2 би било опасно за селското стопанство и общественото здраве.

Изследвания за разкриване на междинния гостоприемник досега са правени на осем гръбначни животни – змии (*Bungarus multicinctus* и *Najaatra*), таралежи (*Erinaceus europaeus*), мармоти (*Marmota*), люспеници (*Manis javanica*), прилепи (*Rhinolop hussinicus*), пилета (*Gallus gallus*) и хора (*Homo sapiens*). При това проучване змиите са показали най-малка разлика в геномните секвен-

ции с тези на SARS-CoV-2 и затова са предложени като вероятни междинни гостоприемници на вируса. По-късно тази хипотеза бива опровергана категорично.

Изследователите отново се връщат на близостта в геномните секвенции на spike (S) протеина между SARS-CoV-2 при хората и люспениците, защото той е основен за разпознаването на клетъчния рецептор и навлизането в клетката. Разликата в тези две секвенции е само 5 аминокиселинни остатъка, докато между коронавирусите от хората и прилепите са 19. Тези данни със сигурност показват еволюционната зависимост между коронавирусите при прилепите, люспениците и хората, което прави люспеника най-вероятният междинен гостоприемник на SARS-CoV-2. Това обаче не изключва възможността

и други животни да изпълняват тази роля.

Една статия в *сп.Nature* от 3.02.2020 година установява как вирусът навлиза в клетката на човека – през клетъчния рецептор за ангиотензин конвертиращия ензим II (ACE2). Същият начин за навлизане в клетката се използва и от останалите SARS корона바이러스. Досега е известно, че 2019-nCoV (вече означен като SARS-CoV-2) не използва други коронавирусни рецептори, като аминопептидаза N(APN) и дипептидил пептидаза (DPP4).

S-глицопротеинът на повърхността на коронавируса се присъединява към ACE2 рецептора на повърхността на човешките клетки. Той има две части – S1 и S2. S1 съдържа ключовия функционален домен RBD, докато S2 медутира сливането с клетъчната мембрана. След мембранната фузия (сливане), вирусната нуклеинова киселина се освобождава в цитоплазмата на клетката. Поради това свързването на spike (S) протеина и ACE2 рецептора е ключово за навлизането на вируса и се изследва широко. Определянето на клетъчния рецептор и механизма на навлизане на вируса е стъпка напред, тъй като дава надежда за изработване на лекарство за блокиране на рецептора или за мимикриране (наподобяване) на рецептора и свързване с вируса.

За изработването на успешна терапия срещу вируса е важна мутационната му изменчивост. Затова се проучва доколко той натрупва мутации след инфектирането с цел избягване на механизмите на имунната система. Тези мутации може да променят неговата вирулентност, трансмисията и способността за инфектиране. Наличието на мутации в пробите от пациенти може да се дължи или на *ин vivo* мутацион-

ната изменчивост на самия вирус след инфектирането, или на натрупване на няколко SARS-CoV-2 щамове (многократно заразяване в рамките на една инфекция). По принцип РНК вирусите имат висока мутационна честота.

На 3.03.2020 излезе публикация, в която се казва, че вирусът SARS-CoV-2 има два подтипа S и L, които се различават по две мутации. Поради това, че 70% от разчетените геноми принадлежат на L, авторите смятат, че този тип е по-вирулентен и по-агресивен. Но според Ангрю Рамбаут от Единбургския университет това, че L е по-чест, не означава автоматично, че е по-агресивен или по-вирулентен. Може би просто значи, че този тип се е разпространил случайно повече. А и това, че при клъстерирането има два клона, също не значи, че има два щамове. Поради възраженията и на други изследователи от университета в Глазгоу, статията е изтеглена от списанието.

Последователността от събитията при прескачане на междувидовата бариера от вируса е все още неясна. В условия на пандемия приоритет сега е изясняването на механизма на протичане на болестта COVID-19. Опасността от тежко развитие на инфекцията всъщност е в прекалено силния имунен отговор към коронавируса. Когато вирусната РНК навлезе в клетката, тя се разпознава от специфични рецептори, от групата на TLR (toll-like receptors) – TLR 3, TLR7, TLR8 и TLR9. Чрез система от вторични сигнални протеини и каскадни молекули се активира транскрипционния фактор NF-κB и интерферон регулаторния фактор 3 (IRF3), което активира производството на интерферони тип I (IFN-α/β) и проинфламаторни (провъзпалителни) цитокини (малки молекули, които играят роля

на междуклетъчни сигнализатори). Тук трябва да се подчертае, че вроденият имунитет се нуждае от прецизна регулация за елиминиране на вируса, в противен случай възниква имунна патология. При COVID-19 пациенти са налице много цитокини в големи количества (IL-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, GCSF, MCSF, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , HGF, IFN- γ и TNF- α). Този твърде силен имунен отговор причинява силно възпаление в долните дихателни пътища и белодробна увреда (вкл. и на алвеолите, където протича газовия обмен). Познаването на точните синтезирани молекули дава възможност да се опита приложението на лекарства, които потискат тяхната продукция. Такъв препарат, напр. е хлороквинът. Той е познато антималярийно средство, чийто механизъм да потиска някои вирусни инфекции е все още неясен. Смята се, че потиска някои рН-зависими етапи на вирусната репликация. Той има и имуномодулаторни ефекти, намалявайки продукцията на цитокините TNF- α и IL-6. Има и свойства на инхибитор на автофагията (елиминиране на собствени клетки), което може да ограничи вирусната инфекция. Подозира се още, че той пречи на гликозилирането на клетъчните рецептори и така пречи на навлизането на вируса в клетката.

Вирусите по принцип влияят върху имунната система на гостоприемника. Нормално те предизвикват нейното активиране, синтез на имунни клетки и последователно елиминиране на нашественика, както и изработване на имунен отговор при повторна среща с него. Проблем при SARS-CoV-2 е, че той сякаш предизвиква свръхактивация на имунната система, която води до т. нар. „цитокинова буря“, а тя е трудна за овладяване и може да завърши с фа-

тален край. Ето защо напоследък се лансира идеята, че могат да се използват някои супресори на имунната система в крайните фази на развитие на инфекцията, с цел намаляване и потискане на цитокиновата буря.

Последните сведения за вируса са противоречиви. През април 2020 се установява, че SARS-CoV-2 може да атакува Т клетките на имунната система (подобно на HIV вируса) чрез сливане на S-протеина с клетъчната мембрана. Т-клетките обаче експресират ниски нива на ACE2 рецептора, което предполага, че може би има друг неизвестен рецептор, с който вирусът може да взаимодейства в тези клетки. Репликацията (т.е. размножаването) на вируса е непродуктивно, т.е. вероятно вирусът индуцира апоптоза (смърт) на Т-клетките (за разлика от HIV, който се реплицира продължително в тях).

Вирусна еволюция, сезонност и оцеляване във външна среда. Засега няма данни мутациите, които са настъпили в генома на SARS-CoV-2, да влияят върху характеристиките на болестта. Мутациите, натрупани с рецептор-свързващия домен на spike протеина (отговорен за свързване с рецептора и навлизане в клетката) са особено важни, тъй като те биха засегнали гостоприемниковата специфичност. По-рядко гетектирани са мутациите в местата, които се използват за свързване на праймерите при PCR гетекционните тестове (като е добре, тъй като води до повишена специфичност на теста).

Известните засега коронавируси, които причиняват простудни заболявания в човешката популация (hCoV 229E, NL63, OC43 и HKU1), имат сезонно разпространение с пик между декември и април и почти не се откриват през летните месеци. По принцип коронавируси-

те са стабилни при влажност на средата между 20 и 50%, като предаването на вируса се влияе от температурата и влажността на въздуха. SARS-CoV-2, обаче, се разпространява както в сухи и студени райони, така и при повишена влажност, като Сингапур. Така че все още е неизвестна реакцията на вируса спрямо промени в средата и неговата сезонност.

След всичко казано....Коронавирусите са опасни зоонозни патогени - през последните 20 години три коронавируса са пресекли междувидовата бариера и са причинили сериозни човешки епидемии – SARS-CoVom 2003, MERS-CoV от 2012 и SARS-CoV-2 от 2019 година. Има теория, че RBM на S протеина най-вероятно е възникнал чрез рекомбинация с прилеповия коронавирус BatCoV RaTG13. Може би двата вируса имат общ предшественик, кодирал RBM на коронавируса по хората и по люспениците. Не е ясно дали този предшественик все още съществува и кои животни засяга.

Каквато и да е била последователността на събитията, сега е важно да се определят зони в генома на вируса, които са по-консервативни от други, по-податливи на мутации. В практически аспект, това ще покаже кои протеини или протеинови райони са подхо-

дящи за таргети за развитие на анти-вирусни лекарства и терапии.

Всеки ден за произхода на вируса се публикуват десетки статии. До момента има много неизвестни, но и много добри проучвания върху структурата на вируса, близостта му с други вируси и вероятния природен резервоар, върху механизма на навлизането в клетката. Непрекъснато се търсят и начини за лечение и възможни ефективни лекарствени средства. Разбира се, в общественото мнение не липсват и конспиративни теории за произхода на вируса. Някои обвиненията към Китай се базират на това, че там се налага предварителна проверка на научните публикации относно произхода на SARS-CoV-2. Това най-малко забавя някои важни публикации. Има и открити обвинения към Китай за укриване на информация в началните етапи на пандемията и липса на адекватни действия от страна на властите. САЩ официално е завел иск за 1.2 трилиона долара към Китай и твърди, че той потенциално носи вината, „за нанесените щети на населението и икономиката на останалите държави“. Разбира се, пандемията носи огромни икономически загуби, но преди всичко – тя носи загуба на човешки животи. А те всеки ден растат.... ■

