

COVID-19

Этиология и патогенез

Доцент кафедры инфекционных болезней
и эпидемиологии Тверского ГМУ Минздрава РФ
Гришкина Наталья Анатольевна

В конце 2019 года в Китайской Народной Республике (КНР) произошла вспышка новой коронавирусной инфекции с эпицентром в городе Ухань (провинция Хубэй), возбудителю которой было дано временное название 2019-nCoV.

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) 11 февраля 2020 г. Присвоила официальное название инфекции, вызванной новым коронавирусом – COVID-19 («Coronavirus disease 2019»).

Определение

- ▣ Коронавирусная инфекция – острое вирусное заболевание с преимущественным поражением нижних дыхательных путей, вызываемое РНК-содержащим вирусом рода Betacoronavirus семейства Coronaviridae

Таксономическое положение

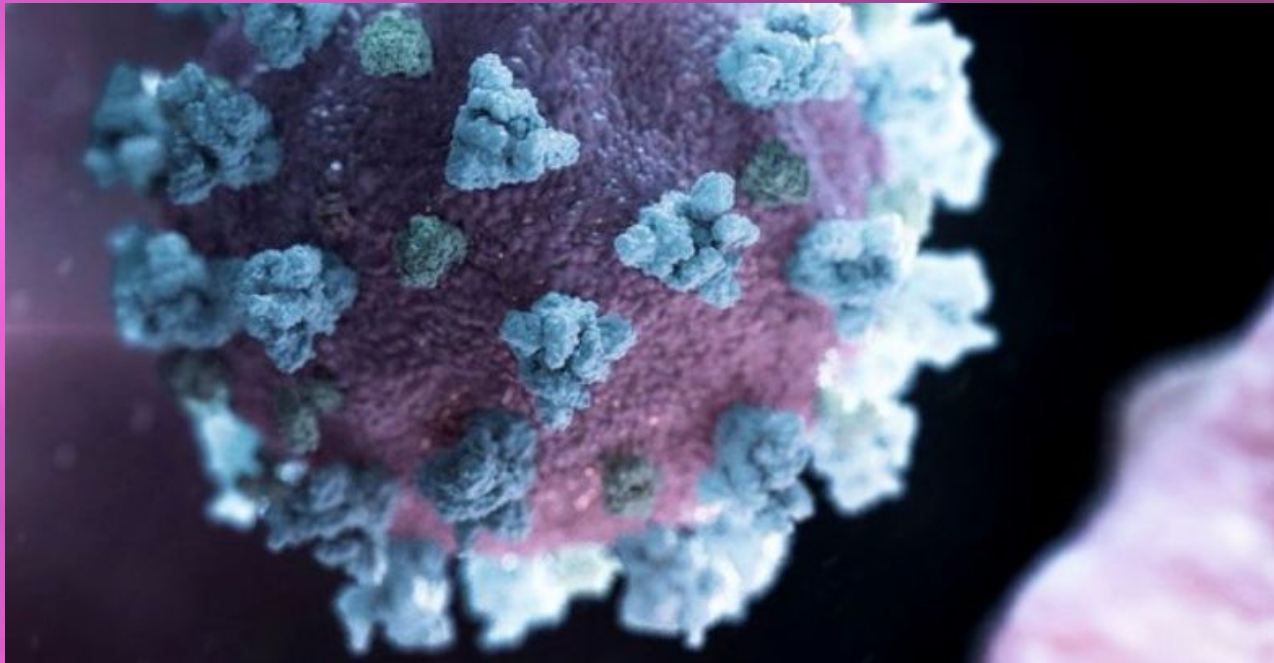
- Коронавирусы (Coronaviridae) – семейство, включающее на январь 2020 года 40 видов РНК-геномных сложноорганизованных вирусов, имеющих суперкапсид. Объединены в два подсемейства, которые поражают человека и животных. Название связано со строением вируса: из суперкапсида выдаются большие шиповидные отростки в виде булавы, которые напоминают корону.

В настоящее время известно о циркуляции среди населения четырёх коронавирусов (HCoV-229E, -OC43, -NL63 и -HKU1), которые круглогодично присутствуют в структуре ОРВИ, и, как правило вызывают поражение верхних дыхательных путей лёгкой и средней степени тяжести.

До 2002 г. коронавирусы рассматривались в качестве агентов, вызывающих нетяжёлые заболевания верхних дыхательных путей (с крайне редкими летальными исходами).

В конце 2002 г. появился коронавирус (SARS-CoV), возбудитель атипичной пневмонии, который вызывал ТОРС у людей. Данный вирус относится к роду Betacoronavirus. Природным резервуаром SARS-CoV служат летучие мыши, промежуточные хозяева – верблюды и гималайские циветты. Всего за период эпидемии в 37 странах по миру было зарегистрировано более 8000 случаев, из них 774 со смертельным исходом. С 2004 г. новых случаев атипичной пневмонии, вызванной SARS-CoV, не зарегистрировано.

В 2012 г. зарегистрирован новый коронавирус MERS (MERS-CoV), возбудитель ближневосточного респираторного синдрома, также принадлежащий к роду Betacoronavirus. Основной природный резервуар – дромадеры. С 2012 г. по 31.01.2020 зарегистрировано 2519 случаев, из которых 866 закончились летально. 82% всех случаев зарегистрированы в Саудовской Аравии. В настоящий момент MERS-CoV продолжает циркулировать и вызывать новые случаи заболевания.



Международный комитет по таксономии вирусов 11 февраля 2020 г. присвоил официальное название возбудителю инфекции – SARS-CoV-2. Вирус отнесён ко II группе патогенности, как и некоторые другие представители этого семейства (SARS-CoV, MERS-CoV)

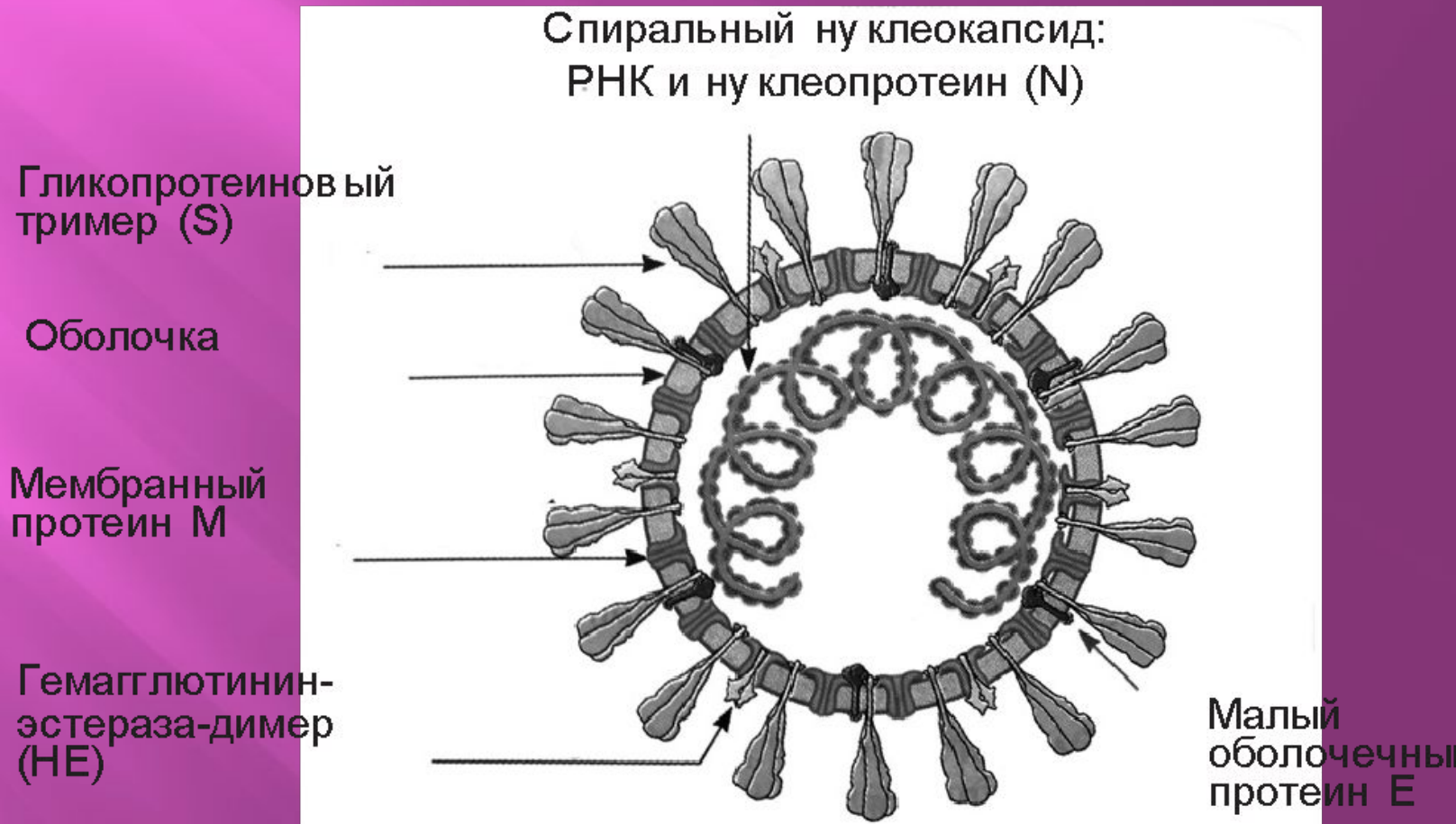
Таксономическое положение

- отряд Nidovirales
- семейство Coronaviridae
- подсемейство Letovirinae:
 - род – Letovirus (содержит 1 вирус)
- подсемейство Orthocoronaviridae:
 - род Alphacoronavirus (17 вирусов),
 - род Betacoronavirus (14 вирусов),
 - род Deltacoronavirus (7 вирусов)
 - род Gammacoronavirus (2 вируса)

Морфология

- ▣ Размер вириона 80-220 нм.
- ▣ Тип симметрии – спиральный: нуклеокапсид представляет собой гибкую спираль, состоящую из РНК и молекул нуклеопротеина N.
- ▣ Геном – РНК «плюс» нитевой.
- ▣ Самый большой геном среди РНК-геномных вирусов.
- ▣ Имеет суперкапсид, в который встроены гликопротеиновые тримерные шипы (гликопротеин S), мембранный протеин М, малый оболочесный протеин Е, гемагглютинин=эстераза (HE).

Строение коронавируса



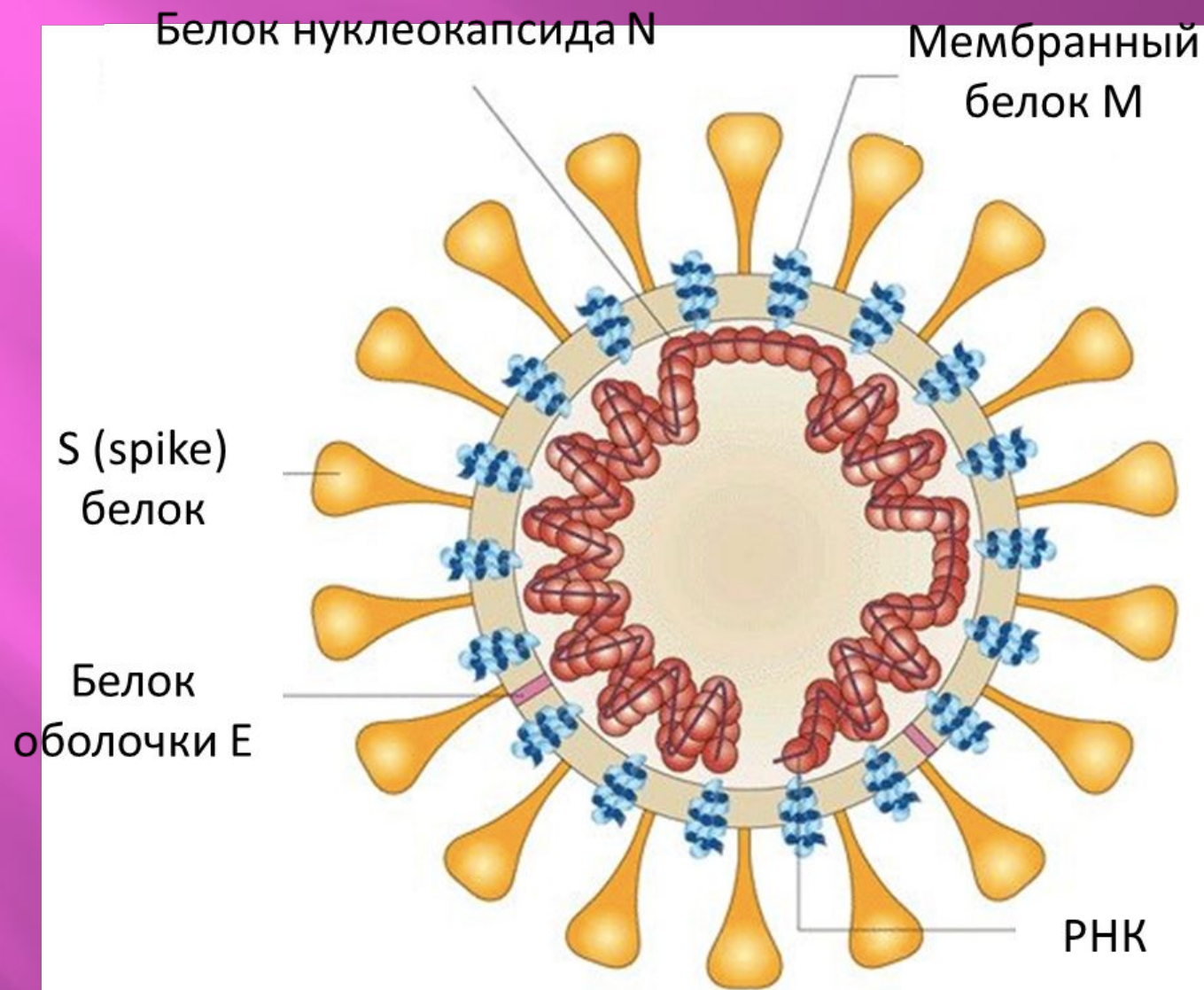
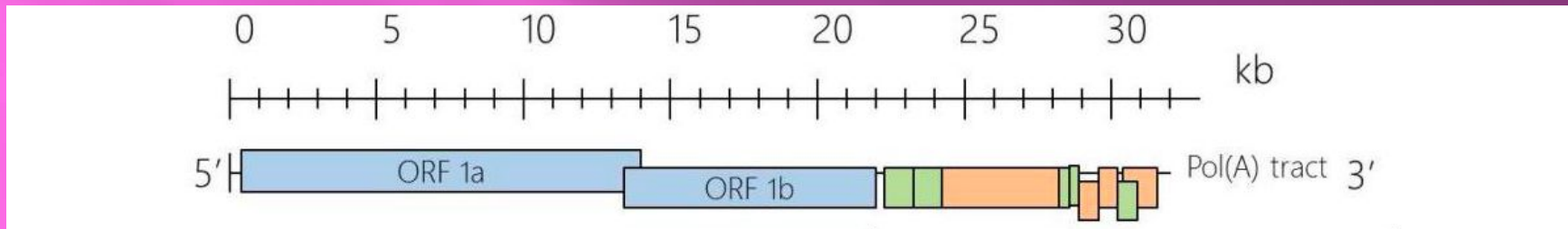


Схема строения вириона

- Сферические частицы диаметром 120 нм;
- Оболочка вириона содержит булавовидные отростки (S, spike);
- Белок оболочки E;
- Мембранный белок M;
- Нуклеокапсидный белок N;
- Геном +РНК длиной примерно 30000 нт;
- +РНК содержит кэп структуру и полиА последовательность.

Структура генома



- Геномная РНК содержит 2 основные, длинные рамки считывания, занимающие около 70% генома ORF1a и ORF1b, кодирующие полипротеины;
- После процессинга полипротеина образуется около 12 неструктурных белков, которые образуют репликативный комплекс;
- Остальная часть кодирует структурные белки вируса S, E, M и N.

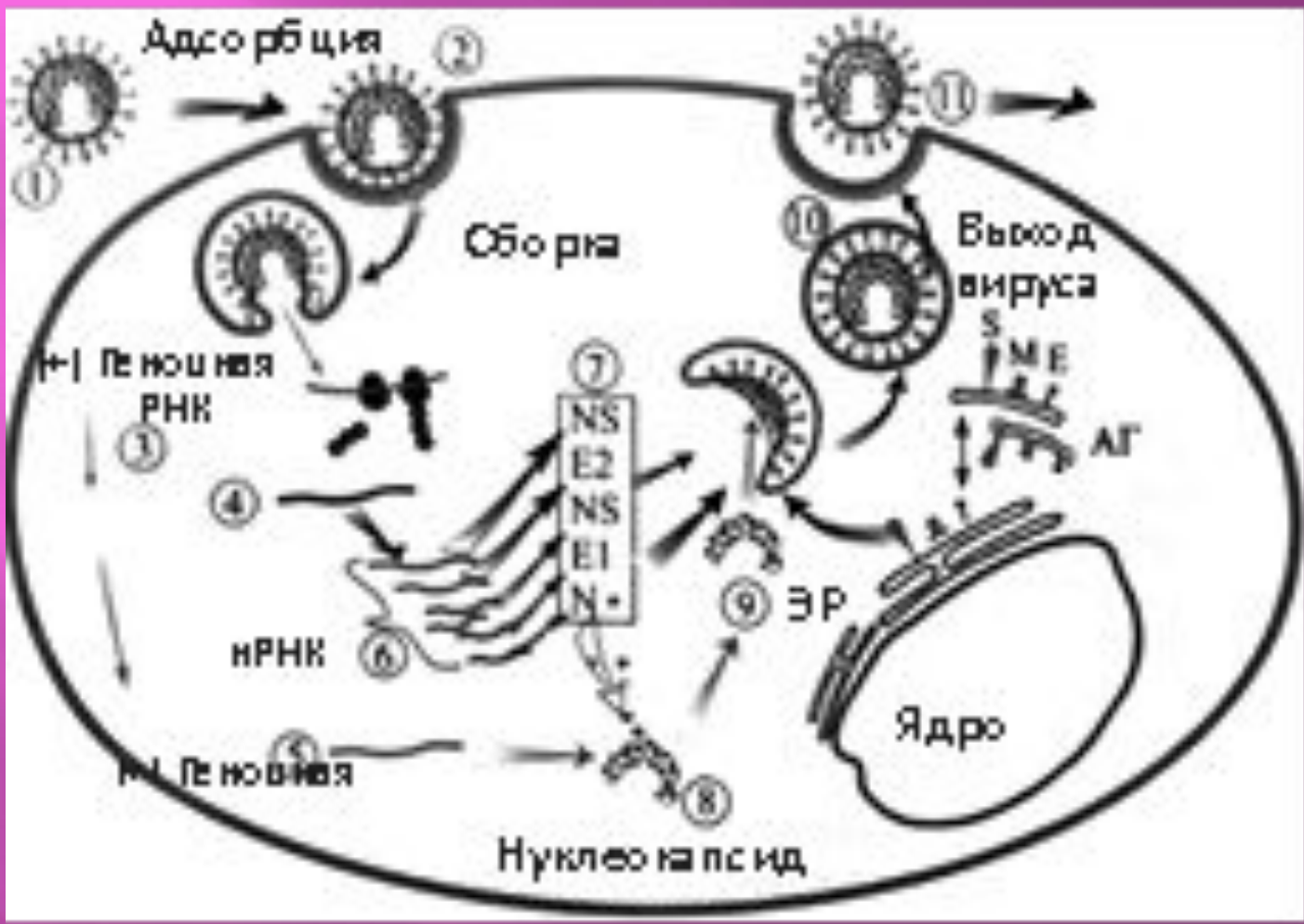
Геном

РНК плюс нить.

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%.

Репликация коронавируса



Жизненный цикл коронавирусов

- Проникновение вируса в клетку с помощью S белка (рецептор для 2019-nCoV – ангиотензинсвязывающий белок);
- Трансляция полипротеинов и процессинг репликативного комплекса;
- Репликация и транскрипция вируса;
- Синтез структурных белков;
- Сборка и отпочковывание вирусных частиц от ЭПР и комплекса Гольджи;
- Выход вируса посредством экзоцитоза.

Репродукция

Коронавирусы адсорбируются на клетке (1) при помощи гликопротеина S, проникают в клетку при слиянии оболочки вируса с ЦПМ клетки или посредством рецепторного эндоцитоза (2). Геномная РНК связывается с рибосомами и служит в качестве иРНК при синтезе РНК-зависимой РНК-полимеразы (3), которая затем считывает геномную РНК, синтезируя минус-нить полной длины (4). При считывании минус-нити РНК синтезируется новая геномная плюс-нить РНК (5) и набор из 5-7 субгеномных иРНК (6).

При трансляции каждой субгеномной иРНК образуется один белок (7). Белок N связывается в цитоплазме с геномной РНК, в результате чего синтезируется спиральный нуклеокапсид (8). Гликопротеины S и М, или Е1, Е2, переносятся (9,10) в эндоплазматическую сеть (ЭР) и аппарат Гольджи (АГ). Нуклеокапсид почкуется через мембраны внутрь шероховатой эндоплазматической сети, содержащей гликопротеины S и М. Вирионы транспортируются в везикулах к мембране клетки (10). Вирионы выходят из клетки путём экзоцитоза (11).

Жизненный цикл

Первым этапом жизненного цикла вируса является адсорбция вируса на поверхности клетки-мишени в результате специфического связывания первой субъединицы спайкового белка S, с клеточным рецептором. Для SARS-CoV-2 таковым является ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2 – angiotensin-converting enzyme 2). Этот же рецептор используют SARS-CoV, BtRsCoV, HCoV-NL63.

Жизненный цикл

ACE2 не является универсальным рецептором для всех коронавирусов: MERS-CoV использует в качестве рецептора дипептилпептидазу4 (DPP4 – dipeptidyl peptidase 4), которая известна как клеточный маркер CD26; AlphaCoV-1, HCoV-229E – аланинаминопептидазу (APN – aminopeptidase N) или CD13 и тд

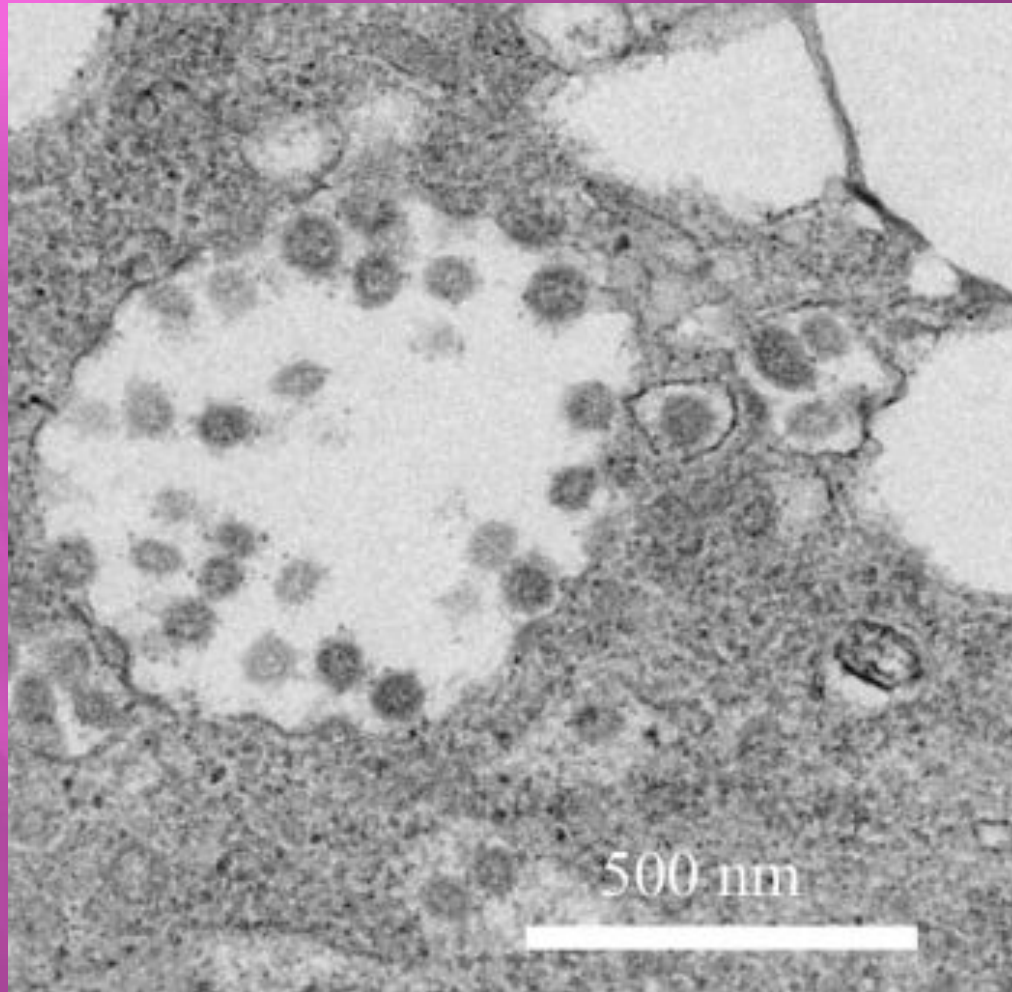
Рецепторный эндоцитоз завершается проникновением вируса в цитоплазму клетки-хозяина, где вирионная РНК выступает в качестве мРНК для синтеза двух протяжённых полипротеинов pp1a и pp1ab длиной порядка 2000 и 7000 аминокислотных остатков, соответственно. pp1ab включает в себя pp1a и образуется в результате игнорирования рибосомой в 20-30% случаев стоп-сигнала из-за шпильки, смещающей рамку считывания. pp1a и pp1ab на 16 существуют в клетке как единые молекулы и котрансляционно нарезаются протеазами на 16 неструктурных белков, регулирующих дальнейшую репликацию и преобразующих складки эндоплазматического ретикулума в своеобразные «фабрики» для поздних стадий репликации вируса.

Важнейшим неструктурным белком является РНК-зависимая РНК-полимераза (RdRp – RNA-dependent RNA-polymerase), которая синтезирует комплементарную вирионной нить РНК негативной полярности, которая является матрицей для синтеза геномных РНК для дочерних вирионов. RdRp синтезирует на матрице геномной РНК серию субгеномных РНК негативной полярности (сгРНК) с разрывом цепи и переносом её к 3'-концу матрицы. Все сгРНК этой серии имеют одинаковые 5'- и 3'-фланги и центральные части различной степени вложенности друг в друга. Эта особенность синтетического аппарата общая для всех представителей отряда *Nidovirales*, из-за которой он и получил своё название от лат. *nidos* (гнезда).

сгРНК являются матрицей для синтеза субгеномных матричных РНК позитивной полярности, с которых считываются структурные белки.

Сборка дочерних вирионов происходит в эндоплазматическом ретикулуме. Затем дочерние вирионы покидают хозяйскую клетку путём экзоцитоза.

Вирус 2019-nCoV



Характеристика вируса

- Впервые обнаружен на оптовом рынке морепродуктов (в продаже змеи, летучие мыши и пр.);
- Имеет зоонозную природу (по неподтвержденным данным – заражение вирусом летучих мышей (Zhou с соавт., 2020 [biorxiv](#)) либо вариантом вируса летучих мышей и змей (Ji W с соавт., 2020 [J Medical Virology](#));
- ACE2 (рецептор ангиотензинпревращающего фермента II) – рецептор для входа коронавируса;
- ACE2 содержится в клетках легочного альвеолярного эпителия, энтероцитах тонкой кишки, в эндотелиальных клетках артерий и вен.
- Вирус имеет низкую устойчивость к дезинфектантам;
- Относится ко II группе патогенности.

Доказательства патогенности SARS-CoV-2

30 декабря 2019 г.

- 3 образца БАЛ от пациента с внебольничной пневмонией
- RT-PCR: пан- β -коронавирус
- Секвенирование: β -коронавирус линии 2B
- Полногеномное секвенирование: 96% совпадение с BatCov RaTG13 (SARS – подобный)
- Цитопатический эффект на клетках эпителия человека (Vero E6, Huh-7) через 96 часов
- Типичные корона-подобные частицы при трансмиссионной электронной микроскопии (TEM) с негативным окрашиванием
- Инфицирование клеток полностью подавляется сывороткой реконвалесцентов
- Трансназальное заражение трансгенных мышей ACE2 и макак Rhesus
 - Мультифокальная пневмония с интерстициальной гиперплазией
 - Выделение вируса от зараженных животных

Культивирование

Вирусы культивируют на культуре клеток:

- Перевиваемые клетки HeLa;
- Первично-трипсинизированная культура клеток почек эмбриона СВИНЬИ

Резистентность

Устойчивость в окружающей среде низкая:

- ▣ Погибает под воздействием УФО.
- ▣ Дезинфекционных средств.
- ▣ При нагревании до 40°C погибает в течение 1 часа
- ▣ При нагревании до 56°C погибает в течение 30 мин.
- ▣ На поверхности предметов при $18-25^{\circ}\text{C}$ сохраняет жизнеспособность от 2 до 48 час.

Сохранение коронавируса SARS-CoV-2 на различных поверхностях

Аэрозоли – 3 часа

Пластик – 5 дней

Алюминий – 2-8 часов

Бумага – 4-5 дней

Стекло – 4 дня

Дерево – 4 дня

Сталь – 72 часа

Медь – 4 часа

Хирургические перчатки – 8 часов

Патогенез

- Патогенез новой коронавирусной инфекции изучен недостаточно
- Данные о длительности и напряжённости иммунитета в отношении SARS-CoV-2 отсутствуют
- Иммунитет при инфекциях, вызванных другими представителями семейства коронавирусов, не стойкий, возможно повторное заражение

Клетки-мишени

- 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 ангиотензинпревращающего фермента II типа (ACE2). Основной и быстро достижимой мишенью являются альвеолярные клетки II типа (AT2) легких, что определяет развитие пневмонии. Также обсуждается роль CD147 в инвазии клеток SARS-CoV-2. Диссеминация SARS-CoV-2 из системного кровотока или через пластинку решетчатой кости (Lamina cribrosa) может привести к поражению головного мозга.
- Гипосмия у больного на ранней стадии заболевания может свидетельствовать о поражении ЦНС

Патогенез

Развивается диффузное альвеолярное повреждение. Вирус вызывает повышение проницаемости мембран клеток и усиленный транспорт жидкости, богатой альбумином, в интерстициальную ткань лёгкого и просвет альвеол. Развивается интерстициальный и альвеолярный отёк. При этом разрушается сурфактант, что ведёт к коллапсу альвеол, в результате резкого нарушения газообмена развивается острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС)

Экссудативная (острая) стадия

Повреждение альвеоцитов I типа
→повышение проницаемости альвеоло-
капиллярной мембраны
клеток→интерстициальный и
альвеолярный отёк→заполнение альвеол
лейкоцитами, эритроцитами,
продуктами разрушенных клеток
(затопление альвеол, нарушение
функции и продукции эндогенного
сурфактанта).

Пролиферативная (подострая) стадия

Повреждение альвеоцитов II
типа → миграция фибробластов в
альвеолярный
экссудат → пролиферация альвеоцитов
II типа → уменьшение отёка лёгких

Фибропролиферативная (хроническая) стадия

Облитерация альвеол → выраженный
фиброз лёгочной паренхимы

Использованные источники

- Временные методические рекомендации МЗ РФ профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19) Версия 6 (24.04.2020)
- Материалы кафедры гигиены, эпидемиологии и инфекционных болезней Академии постдипломного образования ФГБУ ФНКЦ ФМБА России