

ФОРМЫ ИЗМЕНЧИВОСТИ КОРОНАВИРУСА

UDK: 616.612.017.1

Ферганский медицинский институт общественного здоровья

кафедра “Микробиология, вирусология и иммунология”

г. Фергана Республики Узбекистан.

ORCID: 0000-0003-1232-5577 alisa2678@mail.ru

Ассистент кафедры “Микробиология, вирусология и иммунология”

Борецкая А.С, alisa2678@mail.ru

Annotatsiya: *Immun tizimining barqaror bo'lishi va yod genlar bilan samarali kurashishida ayrim dorivor o'simliklarning ahamiyati kotta. Tibbiyotda ko'plab yuqumli kasalliklar borki ular (qozg'atuvchisi) organizmga tushganidan boshlab immun tizimi unga qarshi kurasha boshlaydi, immun tizimining javob reaksiyasi samaradorligi ko'p jihatdan uning xolatiga (immun statusga) bog'liq. Zamonaviy tibbiyot yutuqlari immun tizimi hujayralarining miqdori va sifatiga bog'lik kasalliklarni aniqlashga imkon yaratdi.*

Аннотация: *Современные достижения медицины позволили выявить заболевания которые зависят от количества и качества клеток иммунной системы. В медицине известно множество инфекционных заболеваний, с которыми иммунная система начинает бороться при попадании их (возбудителя) в организм. Эффективность реакции иммунной системы во многом зависит от ее состояния (иммунного статуса). Значение некоторых лекарственных растений велико для устойчивости иммунной системы и эффективной борьбы с чужеродными генами.*

Abstract: *The effectiveness of the immune system's response largely depends on its condition (immune status). The importance of some medicinal plants is great for the stability of the immune system and the effective fight against foreign genes. In medicine, there are many infectious diseases that the immune system begins to fight*

when they (the pathogen) enter the body. Modern advances in medicine have made it possible to identify diseases that depend on the quantity and quality of cells of the immune system.

Ключевые слова: *Инфекционные заболевания, иммунный статус, вирус, секвенирование, ПЦР.*

Актуальность: Впервые коронавирус выделен Schalk A.F., Hawn M.C. (1931 г.), который вызывал «новое респираторное заболевание» у цыплят и был идентифицирован как вирус инфекционного бронхита (Infectious bronchitis virus - IBV), в настоящее время носит название коронавируса птиц (Avian coronavirus - ACoV) [3]. В последующие годы и десятилетия было открыто множество различных по происхождению видов коронавирусов (HCoV), выделенных от млекопитающих и птиц, но только в 1968 г. они объединились в группу Coronavirus [4]. В каталогах Международного комитета по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses - ICTV) группа коронавирусов появились в 1971 г., когда были объединены в отдельный род, а в 1976 г. - таксономический ранг повысился до семейства [5, 6]. последние открытия и достижения клинических дисциплин и, в частности иммунологии и вирусологии показывают, что патогенез многих заболеваний в той или иной степени связан с функционированием иммунной системы человека [1, 6]. Современные исследования все чаще показывают, что различные факторы внешней среды приводят к неизбежному нарушению функционирования иммунной системы и, как следствие, изменению иммунного статуса организма [3, 8]. Это связано с тем, что иммунная система очень уязвима к проникновению вируса в организм является основной целью для исследования [3, 5]. Нарушение функционирования различных звеньев иммунной системы приводит к увеличению аутоиммунных, аллергических, неинфекционных и инфекционно-воспалительных заболеваний, которые характеризуются быстрым прогрессированием, частой рецидивами, изменением классического течения заболевания. отсутствие клинического ответа на проводимую фармакотерапию [2, 5].

В данное время к вирус, влияющий на иммунную систему организма и оказывающим комплексное действие с учетом уровня и степени поражает иммунную систему [1, 7]. Несмотря на большие успехи в разработке химических препаратов, по-прежнему сохраняется интерес к препаратам растительного происхождения и их активному компоненту, обладающему иммуностропной активностью, в том числе для лечения хронических и длительно протекающих заболеваний [8].

Изучение веществ, используемых в народной медицине разных этнических или культурных групп (этнофармакология), вносит значительный вклад в открытие и развитие современных методов лечения. По данным ВОЗ (2019 г.), около 130 стран мира имеют официальные программы, использующие традиционную медицину для лечения заболеваний. [2, 8]. Некоторые растительные лекарственные средства, используемые во всем мире, хорошо известны своим противоинфекционным действием, не только за счет непосредственного воздействия на возбудителя, но и за счет стимуляции естественных защитных механизмов хозяина [3]. В последнее время в мире активно исследуется применение растительных иммуномодуляторов, в том числе для пациентов с COVID-19 [4, 6].

Введение Изучение клеточных рецепторов у различных коронавирусов, в том числе играющих роль в патологии человека показало, что выявляются некоторые особенности. Коронавирусы первой группы использовали в качестве клеточного рецептора N-аминопептидазу (aminopeptidase-N - APN), известного как кластер дифференцировки CD13 (англ. cluster of differentiation, cluster designation - CD). CD получил название в соответствии с номенклатурой дифференцированных антигенов лейкоцитов человека и является рецепторами между взаимодействующими вирусами и клетками-хозяина. Группа разделялась на две подгруппы из-за различий в структуре 3' концевых наборов генов. Подгруппа 1a, в которую входили вирусы млекопитающих и птиц, не отличались между собой. Подгруппа 1b включала как коронавирусы играющие роль в патологии человека (HCoV-229E, HCoV-NL63), так и вызывающие

патологию у животных, птиц, когда в геноме находилась дополнительная рамка считывания для одного или двух неструктурных белков между генами S и E [8, 33 - 39].

Коронавирусы второй группы подразделялись на 2А, 2В, 2С подгруппы. Вирусы 2А подгруппы включали два разных клеточных рецептора: в первую – молекулу клеточной адгезии, ассоциированную с раково-эмбриональным антигеном 1 типа (carcinoembryonic antigenrelated cell adhesion molecule 1 - CEACAM1), являющийся маркером CD66а; во вторую – молекулу N-ацетил-9-О-ацетилнейроминовой кислоты (N-acetyl-9-O-acetylneuraminic acid – N-aneu9Ac), включающую вирус, вызывающий заболевания у людей HCoV-NKU1. Вирусы третьей группы объединила коронавирусы специфичные к $\alpha 2'$ -3' сиалозидам - полисахаридам, терминированной сиаловой или N-ацетилнейроминовой кислотой (N-acetylneuraminic acid N-aneuAc), связанной с моносахаридом $\alpha 2'$ -3' связью, в которую входили коронавирусы млекопитающих и птиц, и не входили коронавирусы вызывающие патологию у человека. Группа дифференцировалась на три подгруппы вирусов из-за различий в структуре 3' концевого набора генов. Подгруппа 3А включала вирусы, которые содержали рамки считывания для двух неструктурных белков; подгруппа 3В - содержала вирус и имела рамки считывания для трех неструктурных белков; подгруппа 3С, в которую входили вирусы обладающие рамкой считывания для более трех неструктурных белков между генами S и E [8, 33 - 39]. Сложившаяся таксономическая структура коронавирусов оказалась мозаичной, что потребовало изменения в классификации в сторону повышения ранга таксонов. Предложение реализовалось в IX Таксономическом каталоге ICTV (2011 г.): род Coronavirus перешел в категорию подсемейства Coronaviridae. Вместо рода Coronavirus описано четыре новых рода, обозначенные буквами латинского алфавита: первый род - Alphacoronavirus (1 группа), второй род - Betacoronavirus (2 группа), третий род - Gammacoronavirus (3 группа с подгруппами 3А и 3В), четвертый род - Deltacoronavirus (3 группа с подгруппой 3С) [40].

Вирус COVID-19, Который первый раз заявил о себе в 2019 году, постоянно мутирует — известно уже множество штаммов вируса SARS-CoV-2. Болезни, вызванные разными штаммами, протекают неодинаково и порождают много вопросов как у медиков, так и у остальных людей. Ответим на самые важные вопросы о генетических вариантах коронавируса.

Изменения возбудителя инфекционного заболевания вируса SARS-CoV-2 семейства Коронавирусов не дают повода говорить о том, что мы наблюдаем эволюцию этого вируса. На примере этого микроорганизма мы наблюдаем типичную внутривидовую изменчивость. Новая коронавирусная инфекция является важным элементом молекулярного генетического мониторинга. Определение мутаций проводится с использованием широкого спектра молекулярно-биологических методов, из которых наибольшее практическое применение получили ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-PPV). Для того чтобы определить генетический вариант SARS-CoV-2, необходима объективная диагностика, изучение вирусного генома в лабораторных условиях. Для этого проводят полимеразную цепную реакцию (ПЦР) методом секвенирования. Диагностика требует сложного оборудования, но сама процедура проста: берут мазок из носоглотки и ротоглотки. Результат готов уже через несколько часов, их достоверность близка к абсолютной. Поэтому ПЦР признана «золотым стандартом» диагностики инфекции COVID-19.

В настоящее время мониторинг штаммов возбудителя новой коронавирусной инфекции осуществляется с помощью подходов, основанных на секвенировании по Сэнгеру и массовом параллельном секвенировании с использованием различных платформ. Все структуры вирусной клетки детерминированы генами вируса, которые имеют некоторые отличия у разных вирусов, и определяют процесс изменчивости вирусов и репликацию.

Цель: Определение форма изменчивости коронавируса.

Методы исследования:

Данная работа была проведена на положительных по SARS-Cov-2

образцах с постановкой дикого типа вируса в качестве контроля специфичного определения нуклеотидных замен методикой ПЦР-РРВ. Фрагментного секвенирования которая была разработана позволяет определять эпидемические значимые варианты штаммов вируса:

- альфа («британский», В.1.1.7);
- бета («южноафриканский», В.1.351);
- гамма («бразильский», Р.1);
- дельта («индийский», В.1.617.2);
- «Эриус» (В.1.1.451).

При определении и идентификации вариантов используется обнаружение мутаций: del HIV69-70, del Y144, N501Y, A570D, E484K (G>A), D80A (A>C), D138Y (G>T), L452R (T>G), P681R, S494P (T>C), FR157-158del, F306L (T>C), E484Q (G>C) в различных сочетаниях, что возможно выявление новых генетических вариантов вируса SARSCoV-2, возникающих как под давлением популяционного иммунитета, так и в результате случайных эволюционных изменений. Во всех основных перечисленных методов – 45 циклов амплификации короткого фрагмента к ДНК вируса (не более 120 пар оснований), что имеет значение при тестировании образцов, содержащих небольшие количества вирусной РНК. Для проведения филогенетического анализа использовались данные, представленные на сайте организации GISAID (<https://www.gisaid.org>), по нуклеотидным последовательностям геномов вируса SARS-CoV-2, полученным из образцов клинического материала в период с конца декабря 2019 по июль 2020 г. По состоянию на 6 июля 2020 г. в этой базе содержалось 37952 полных последовательности геномов вируса SARS-CoV-2 с высокой степенью покрытия, полученных из всех регионов мира. Позже, 5 августа 2020 г., с сайта GISAID загружена еще 641 последовательность геномов вируса SARSCoV-2, полученных из образцов клинического материала, взятого в июле 2020 г. В филогенетическом анализе нами использовались только нуклеотидные последовательности геномов вируса с высоким качеством прочтения. Для отбора последовательности

геномов выравнивали (использовался сервис <https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>) по референсу – WuhanHu-1 (NC_045512.2). Затем последовательности выровненных геномов обрезали на 106 нуклеотидов от начала генома и на 390 нуклеотидов от его правого края по геному референсной последовательности. В случае наличия в оставшейся части последовательности генома хотя бы одного нераспознанного нуклеотида (N) этот геном удалялся из выборки для анализа. По описанным критериям отобрано 8360 нуклеотидных последовательностей геномов вируса SARS-CoV-2. Построение филогенетических деревьев проводили с помощью программного обеспечения BioNumerics 7.6 (<https://www.applied-maths.com>) с использованием алгоритма максимальной экономии (maximum parsimony). Для статистической обработки частоты встречаемости отдельных мутаций использовали всю базу данных полных геномов вируса SARS-CoV-2 на сайте GISAID (52468 геномов). Для оценки эпидемиологических тенденций использованы данные о ежедневном числе регистрируемых случаев COVID-19 и летальных исходов в странах мира по данным университета Джонса Хопкинса на 13 июля 2020 г. по 188 странам за 173 дня наблюдений (<https://github.com/CSSEGISandData/COVID-19>) Были разработаны подходы для верификации основанных на ПЦР основанных на пиросеквенировании, позволяет решать проблему дифференцировки истинных однонуклеотидных вариантов (SNV) от ошибок полногеномного и фрагментного секвенирования или артефактов проб подготовки.

Вывод. Несмотря на то что в мае 2023 года ВОЗ объявила об отмене статуса пандемии, вирус представляет угрозу, особенно для пожилых людей и пациентов с хроническими заболеваниями. В конце августа был зафиксирован резкий рост заболеваемости COVID-19 в мире. Число инфицированных с 24 июля по 20 августа 2023 года выросло на 63%, увеличилось также количество госпитализаций. В настоящее время с использованием новых методов лабораторных исследований и вычислительных технологий сформировалась современная таксономическая структура коронавирусов, изучение которой

происходит уже более 80 лет. Новые подходы в изучении и обработке полученных результатов позволили быстро изучить филогенетическое родство различных вирусов, в том числе и коронавирусов. Из почти 40 видов коронавирусов известных в настоящее время, только 7 вирусов имеют медицинское значение. Анализ литературных источников таксономического положения, морфологических свойств, структуры разных видов коронавирусов показал, что среди 7 видов коронавирусов, имеющие медицинское значение следует выделить 2 группы коронавирусов: группу особо опасных коронавирусов человека (SARS-CoV, MERS-CoV и SARS-CoV-2); группу «банальных» коронавирусов человека (HCoV 229E, HCoV NL63, HCoV HKU1, HCoV OC43). Обращает на себя внимание необходимость проведения мониторинговых исследований изучения биологического разнообразия коронавирусов. Эти исследования должны включать изучение структур вирусной клетки у коронавирусов, независимо от вида хозяев обитания и это позволит выявить те изменения в его структурах, влияющие на эволюционный дрейфовый процесс конкретного вида HCoV, что, вероятно, приводит к изменению места обитания с рукокрылых или птиц на человека.

Список литературы:

1. ВОЗ Международные медико-санитарные правила (2005г.) третье издание. Швейцария: Отдел печати ВОЗ. 2013.
2. Neuman B.W., Adair B.D., Yoshioka C., Quispe J.D., Kuhn G.O.P., Milligan R.A., Yeager M., Buchmeier M.J. Supramolecular architecture of severe acute respiratory syndrome coronavirus revealed by electron cryomicroscopy. *J. Virol.* 2006;80(16):7918– 7928. doi: 10.1128/JVI.00645-06.
3. Schalk A.F., Hawn M.C. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1931;78:19.
4. Almeida J.D., Berry D.M., Cunningham C.H., Hamre D., Hofstad M.S., Mallucci L., McIntosh K., Tyrrell D.A.J. *Virology: Coronaviruses.* *Nature.* 1968;220:650. doi: 10.1038/220650b0.

5. Classification and nomenclature of viruses. First report of the International committee on nomenclature of viruses. Ed. Wildy P. Basel: Karger. 1971.
6. Neuman B.W., Kiss G., Kunding A. H. David Bhella, M Fazil Baksh, Stephen Connelly, Ben Droese, Joseph P Klaus, Shinji Makino, Stanley G Sawicki, Stuart G Siddell, Dimitrios G Stamou, Ian A Wilson, Peter Kuhn, Michael J Buchmeier et al. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology J. struct. Biol. 2011;174(1):11–22. doi: 10.1016/j. jsb.2010.11.021.
7. Смирнов В.С., Зарубаев В.В., Петленко С.В. Биология возбудителей и контроль гриппа и ОРВИ. — СПб.: Гиппократ; 2020.
8. Медицинская вирусология. Под ред. Д.К. Львова. М.: МИА; 2008.