

ОСОБЛИВОСТІ SARS-COV-2 ІНФЕКЦІЇ ТА НАПРЯМИ СТВОРЕННЯ ТЕРАПЕВТИЧНИХ ТА ВАКЦИННИХ ПРЕПАРАТІВ

Волянський А.Ю., Давидова Т.В., Кучма М.В.,
Юдин І.П., Кучма І.Ю.

Інститут мікробіології та імунології
імені. І.І. Мечникова

Вступ

До початку 21 сторіччя коронавіруси людини були відомі як збудники типових сезонних ГРВІ [1,2]. Коронавірус людини (Human coronavirus - HCoV) вперше був виділений з назальних змивів хлопчика із симптомами звичайної застуди у 1965 р. співробітниками госпіталю м. Солсбері D. Tyrrell і M. Vunoe [3]. Високо патогенні коронавіруси були виявлені як причина важкого гострого респіраторного синдрому (Severe acute respiratory syndrome - SARS) з високою летальністю у 2002 році – SARS-CoV, а потім у 2013 році як збудники близькосхідного респіраторного синдрому (Middle East respiratory syndrome) – MERS-CoV. Вони викликали важке респіраторне захворювання у людей через їх здатність пристосовуватися до господаря, збільшуючи

спорідненість до рецепторів дихальних шляхів людини [4-7].

Новий коронавірус SARS-CoV-2, який викликає Covid-19 (coronavirus infection disease) вперше був виявлений в грудні 2019 року в м. Ухань столиці провінції Хубей, звідки він швидко поширився по Китаю, звідки продовжив розповсюджуватися, доставшись до Італії та інших країн Європи і далі по всьому світі, кількість підтверджених нових випадків в даний час збільшується щодня [8-11].

Таксономія коронавірусів

Коронавіруси є представниками порядку Nidovirales сімейства Coronaviridae і поділяються на 4 роди: α - та β - coronavirus, які інфікують лише ссавців та γ - і δ - coronavirus, які переважно вражають птахів [12]. При цьому центральне місце займає рід β - coronavirus, в який входять особливо небезпечні збудники летальних пневмоній людини - SARS-CoV, MERS-CoV, SARS-CoV2. Рід β - coronavirus, в свою чергу, підрозділяється на чотири підроди: А, В, С, D. SARS-CoV-2 – β -коронавірус, підгрупа В, Сарбековірус (табл. 1) [13-15].

Табл. 1. Роди α - та β - коронавірусів, які включають види, вражаючі людину

Родина Coronaviridae, Підродина Coronavirinae				
Рід	Підрід	Вид (найбільш актуальні види)	джерело ізоляції	GenBankID
α -coronavirus	Duvinacovirus	HCoV-229E	людина	NS_002645
	Setracovirus	HCoV-NL63	людина	AY567487
β -coronavirus	Embecovirus	BetaCoV-1	людина (HCoV-OC43)	AY391777
			кролі (RbCoV-HKU14)	NS_017083
			собаки, вовки (CRCoV*)	KX432213
		HCoV-HKU1	людина	NS_006577
		MCoV	миші	AC_000192
	Sarbecovirus	SARS-CoV	людина (GD01*)	AY278489
			кажани підковоноси (rhinolophus sinicus) (Rs672/2006*)	FJ588686
		SARS-CoV-2	людина (Wuhan-Hu-1*)	NC_045512
			кажани підковоноси (rhinolophus affinis) (RaTG13*)	MN996532
		BtRsCoV	кажани підковоноси (rhinolophus sinicus)	MG772933
	Merbecovirus	MERS-CoV	людина (EMS/2012*)	JX869059
			верблюди (Jeddah/Camel-1)	KF917527
			кажани нетопирі (Italy/206645-63/2011*)	MG596803
BtCoV-HKU5		кажани нетопирі	NC_009020	
BtCoV-HKU4		кажани клишоногі	NC_009019	

Епідеміологія коронавірусів

Коронавірусів, вражаючих людину на даний момент 7 видів. Їх можна розділити на 2 групи [16-18].

1 група - 4 широко поширених види коронавірусів, які викликають до 15% типових сезонних ГРВІ: HCoV-229E, NL63, OC43 і HKU1. Зазвичай ці типи викликають легкі форми захворювань верхніх дихальних шляхів у дітей (і рідше у дорослих), проте в окремих випадках (як і інші ГРВІ-віруси) викликають інтерстиціальні пневмонії (у новонароджених, дітей з імунodefіцитами, людей з онкологічною патологією, хворих, які приймають імуносупресивну терапію, літніх людей з серцевою недостатністю і хронічними захворюваннями легенів) [19-22].

2 група – 3 види коронавірусів, які у великому відсотку випадків зараження викликають SARS [16,17].

1. **SARS-CoV** – епідемія розпочалася в Китаї в листопаді 2002 р. з ринків живих тварин у м. Фошань (провінція Гуандун), поширившись Азією та світом [6,8,10]. Природним резервуаром SARS-CoV вважають підковоносних кажанів [20,23]. SARS-CoV протягом 9 місяців вразив 32 країни, захворіло 8096 людей, з яких 774 померло (летальність 9%) [24,26]. З 2004 року не було зареєстровано нових випадків зараження SARS-CoV [27-30].

2. Інший вид коронавірусу, який викликав SARS у людей **MERS-CoV**, вперше було виявлено в Саудівській Аравії в 2012 році [31]. Природним резервуаром MERS-CoV вважаються кажани нетопіри, переносниками - одnogорбі верблюди. MERS-CoV був виявлений у пацієнтів в 27 країнах, переважно на Близькому Сході, та лишається ендемічним у багатьох з них завдяки циркуляції у верблюдів. Останній спалах MERS стався в Південній Кореї в 2015 році, куди вірус був завезений з Кувейту (захворіло 186 та померло 33 хворих - люди похилого віку). Станом на листопад 2019 року MERS-CoV спричинив 858 смертей з 2494 лабораторно підтверджених випадків (летальність - 33%) [14,31].

3. **SARS-CoV-2**, як SARS-CoV та MERS-CoV, може спричинити важке респіраторне захворювання з високим рівнем летальності [21,30,31]. Природним резервуаром SARS-CoV2 (як і SARS-CoV) вважають підковоносних кажанів. З приводу виникнення SARS-CoV2 існує дві версії: перша, що це коронавірус кажанів, який поширився на ринку морепродуктів, подолав міжвидовий бар'єр та став патогенним для людини; друга, що в ході експерименту в інституті вірусології в м. Ухань коронавірус в аерозолі випадково вразив співробітника, який став «першим пацієнтом» [1,2,16,24].

31 грудня 2019 року Національний комітет охорони здоров'я КНР сповістив ВООЗ, що зафіксовано 27 хворих новим коронавірусним захворюванням, яке проявляється тяжкою пневмонією [1-3]. 11 січня 2020 року від Covid-19 померла перша людина. 23 січня в м. Ухань був введений карантин (на той момент 444 людини захворіло і 17 померло) та почато розгортання тимчасових госпіталів (за період

епідемії було розвернуто 16 госпіталів де проходили лікування понад 10 тисяч пацієнтів) [4-6]. 11 березня Китайський центр по контролю і профілактиці захворювань (CDC) сповістив світову громадськість, що число інфікованих в КНР - 80 700 осіб (в провінції Хубей – 67 700), летальність – 2,8%, смертність – 3 на 1 млн населення. Також CDC Китаю повідомив, що Covid-19 набагато легше переносять діти і молоді люди: по даним дослідження 45 000 хворих і контактних тільки 1% інфікованих SARS-CoV-2 були діти віком до 9 років і 1,2% – діти і підлітки віком від 10 до 19 років. У 80% дітей і підлітків спостерігалася безсимптомне інфікування, у 8% - легкий перебіг ГРВІ і у 2% – більш важкий перебіг ГРВІ та поодинокі випадки пневмонії (з температурою, кашлем, але без задишки і без порушення оксигенації, які спостерігалися у літніх людей) [4-8]. Карантин в м. Ухань і провінції Хубей було знято 25 березня. На 08.11.20 у КНР загальна кількість випадків Covid-19 склала 86212 (4634 пацієнта померло) і було оголошено, що Китай впорався з епідемією (з літа не спостерігаються літальні випадки, а захворюваність – спорадична). З початку епідемії у Китаї SARS-CoV-2 почав розповсюджуватися світом і першою європейською країною, яка постраждала від Covid-19 була Італія – 31 січня там було зафіксовано 2 перші випадки захворювання у туристів з м. Ухань, які були госпіталізовані в Національний інститут інфекційних хвороб в Римі, де підтвердили інфікування SARS-CoV-2. 22 лютого в Італії від Covid-19 померли дві перших людини і 23 лютого був введений жорсткий карантин у 11 містах, а 10 березня – в усій країні [1,2,4-10]. 11 березня 2020 року ВООЗ оголосила всесвітню пандемією Covid-19 через високу контагіозність та патогенність SARS-CoV-2 [11].

За даними ВООЗ за тиждень 20.10.2020 по 27.10.2020 (на момент підготовки статті) в усьому світі було зареєстровано найбільшу кількість нових випадків захворювання на COVID-19, яка склала понад 2 мільйони нових випадків за останні 7 днів, що є найкоротшим періодом для такого значного експоненціального приросту з початку пандемії, тоді як кількість нових смертей лишилась на тому ж рівні, як і у попередні тижні. Станом на 25 жовтня у світі загалом було зареєстровано понад 42 мільйони випадків COVID-19 та 1,1 мільйон смертей, за минулий тиждень було зареєстровано понад 2,8 мільйона нових випадків та майже 40 000 нових смертних випадків [11].

Шляхи передачі SARS-CoV-2

Передача SARS-CoV-2 від людини до людини відбувається повітряно – крапельним (при чханні або кашлі) та контактним шляхом (через слизову оболонку рота, носа та очей при тісному контакті з матеріалом, який містить SARS-CoV-2). [3,5,6,28]. Для зараження необхідно, щоб на слизові оболонки попала достатня кількість життєздатного вірусу. Хоча для захисту від інфікування рекомендована відстань у 1,5 – 2 метри, цього може бути недостатньо. Віруси в краплях діаметром <5 мкм можуть триматися у повітрі протягом тривалого часу і передаватися на відстані

більше 2 м, особливо в закритому приміщенні [3-6]. Коронавіруси швидко втрачають життєздатність на предметах та на відкритому повітрі (з-за висихання, дії ультрафіолету, вітру, перепаду температур). Відомі німецькі вірусологи К. Дростен (директор інституту Вірусології університету м. Берліна) та Х. Штрек (директор інституту Вірусології університету м. Бонна) провели дослідження методами ПЛР та на культурах клітин 140 змивів з поверхонь телефонів, дверних ручок та інших предметів в госпіталі, де лікували хворих на Covid-19. Вони виявили РНК SARS-CoV-2, але не спостерігали життєздатних вірусів і зробили висновок, що передача SARS-CoV-2 через предмети мало ймовірна. [4,7].

Будова коронавірусів

Віріон коронавірусів вкритий ліпідною оболонкою з чітко помітними на електронно-мікроскопічних знімках булавовидними шипами (англ. spike) довжиною 10 нм [12-14]. Свою назву коронавіруси отримали у 1968 році у зв'язку з морфологічною схожістю їх оболонки з сонячною короною. Коронавіруси містять позитивний одноланцюговий РНК - геном довжиною від 26 до 32 тисяч нуклеотидів (найбільший серед відомих РНК - вірусів) і чотири структурні білки - шипові (S),

оболонкові (E), мембранні (M) та нуклеокапсидні (N). Білок S зв'язується з рецепторами клітини-мішені і запускає інфекційний процес, білок M відіграє роль в утворенні оболонки та складанні віріону [10,12,14], білок E формує пентамерні іонні канали, які руйнують мембрани клітин в ході брунькування вірусів. Пентамери білка E є тільки у представників *Coronavirinae*, виявляються в кількості всього декількох копій на віріон і являють собою важливий фактор вірулентності. N білки упаковують вірусну РНК в вигляді спіралі і відіграють важливу роль в збірці віріону [4, 8, 10-12, 14, 15]. Основна частина генома коронавірусів консервативна, проте він легко піддається генетичній рекомбінації, так що вірус може бути перенацілений як в природних, так і в штучних умовах з диких тварин на людину шляхом зміни структури білка S.

Будова SARS-CoV-2

Перший геном SARS-CoV-2 під назвою Wuhan-Hu-1 (еталонний сіквенс NC_045512) було виділено та сіквеновано в Китаї в січні 2020 р. [8, 12]. Геном SARS-CoV-2 має 96 % подібності до коронавірусу кажана BatCoV-RaTG13, 82% ідентичності з геномом SARS-CoV та 70% - з геномом MERS-CoV. [13, 14].

IVDC-HB-01/2019 (~29.8kb)

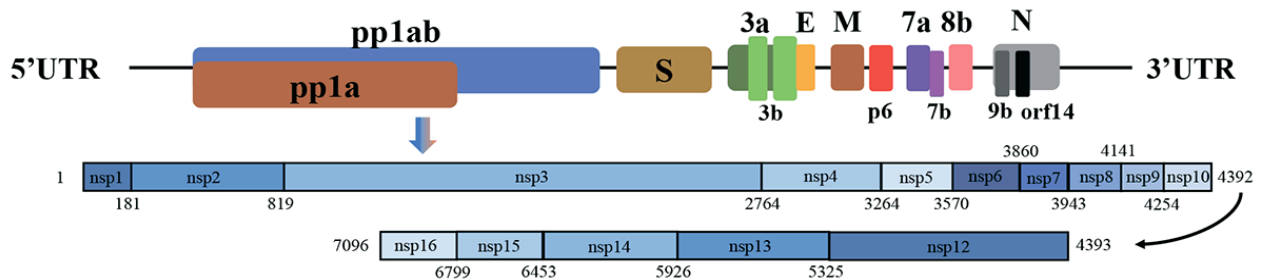


Рис. 1. геном SARS-CoV-2 [1]

Як і інші коронавіруси, SARS-CoV-2 мають сферичну або овальну форму і діаметр від 60 до 140 нм [8,16,18]. На поверхні розташовані пепломери, кожен з яких містить три однакових S глікопротеїни, складені з 3 компонентів: поверхневий S1 взаємодіє з клітинним рецептором, а S2 і S3 запускають процес злиття вірусної мембрани з клітинної. SARS-CoV-2 має додатковий шар протеїнів оболонки – гемаглютинінастераз (HE), які приймають участь у взаємодії з клітиною – мішенню [20,21]. Білки M взаємодіють один з одним та з мембраною, яку вірус захоплює із враженої клітини і в результаті утворюється вірусна оболонка. Спіральний нуклеокапсид зформован з N білка в комплексі з РНК (+), яка складається з 5 'термінальної кеп-структури та 3 'поліаденілірованого «хвосту». РНК SARS-CoV-2 має 14 відкритих рамок зчитування (Open Reading

Frame - ORF), що кодують 27 білків. 5 'кінець генома містить гени ORF1ab та ORF1a. ORF1ab - найбільший ген (складає 2/3 генома), кодує білок pp1ab, який розщеплюється на 16 неструктурних протеїнів (nsp), що беруть участь в транскрипції і реплікації. ORF1a кодує білок pp1a, а також має 10 nsp [15,19,22-24]. 3'-кінець РНК кодує структурні білки: S; E; M та N, а також містить 8 допоміжних білків (3a, 3b, p6, 7a, 7b, 8b, 9b та ORF14) [16] (рис. 1b). Допоміжні білки відіграють роль в ухиленні коронавірусу від імунної відповіді, включаючи інгібування інтерферонів I типу (3b та 6), стимулювання апоптозу (3a, 3b, 8a), припинення синтезу клітинної ДНК (6, 8b), стимуляції синтезу хемокінів (3a - стимулює ліганди CCL5 і CXCL8) та розвитку запалення (7a та 7b активують запалення через NF-κB та MAPK-8) [19-22].

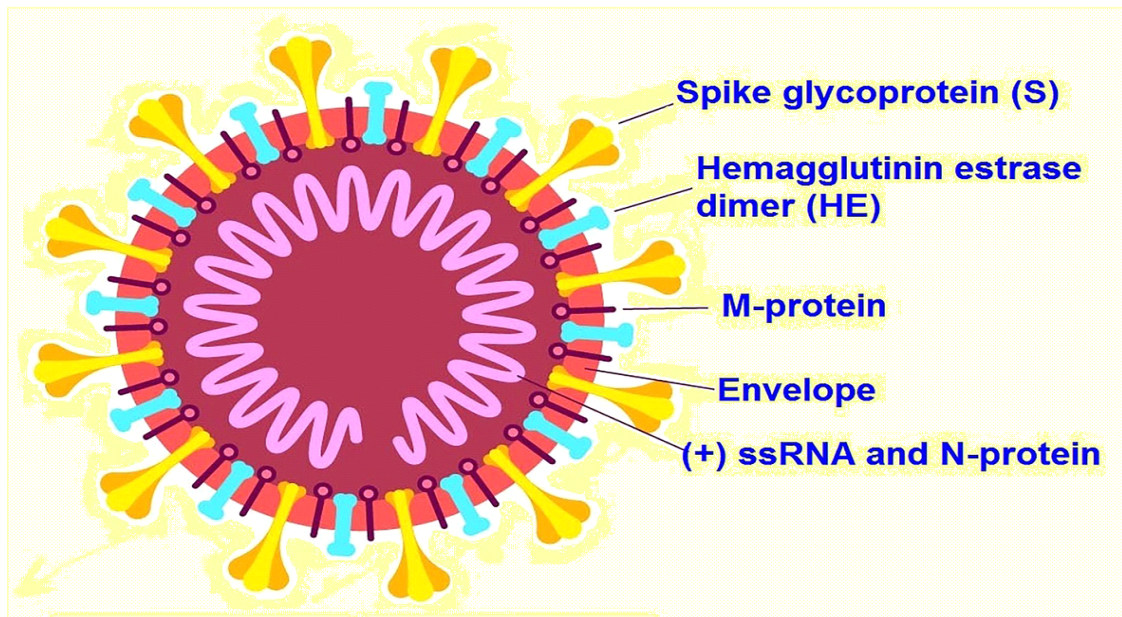


Рис. 2. Типова структура SARS-CoV-2 [14]

Патогенез Covid-19

SARS-CoV-2 використовує в якості рецепторів для проникнення в клітину CD147 - глікопротеїн та ангіотензин перетворюючий фермент 2 типу (angiotensin converting enzyme 2 – ACE2) [2,22]. CD147 – експресується в клітинній мембрані епітеліальних та ендотеліальних клітин і Т-лімфоцитів. Моноклональні антитіла проти CD147 запобігають інфікуванню клітин SARS-CoV2 *in vitro*. Аналіз клітинних зразків на наявність РНК-последовностей SARS-CoV-2 виявляє значну транскрипцію РНК в епітелії носу і меншу в клітинах нижніх дихальних шляхів і альвеолярного епітелію [23,32-36]. Це свідчить про те, що верхні, а не нижні дихальні шляхи є початковим місцем зараження SARS-CoV-2. ACE2 локалізовані в пневмоцитах I та II типу, клітинах ендотелію судин та ентероцитах (тому симптоми з боку дихальних шляхів часто супроводжуються симптомами з боку шлунково-кишкового тракту – нудота, діарея та ін.) [37]. Зараження SARS-CoV2 призводить до цитопатичних ефектів, включаючи апоптоз, лізис клітин та утворення синцитію у тканинах легенів [38-41]. Після проникнення до клітини господаря геном SARS-CoV-2 приєднується до рибосом, що призводить до трансляції вірусних поліпротеїнів, які в подальшому переробляються вірусними протеолітичними ферментами [18,19,26,37,42]. У результаті протеолізу опосередкованого протеазами вірусу 3CLpro (chymotrypsin-like protease) та PLpro (papain-like protease) поліпротеїни розщеплюються на менші компоненти, що відіграє головну роль у опосередкуванні реплікації та транскрипції вірусів та сприяє поширенню інфекції [20,26,43-46]. Інший фермент RdRp (RNA-dependent RNA-polymerase) – репліказа, має важливе значення для реплікації вірусного геному [21,28,47]. та продукції нових віріонів [22,23,26,36]. Отже, ці ферменти можна розглядати як потенційні лікарські мішені для розробки терапевтичних засобів, оскільки вони мають вирішальне значення для виживання, реплікації та

передачі SARS-CoV-2 [14,20,22,26,48]. Лише 100 нм базальної мембрани відокремлює поверхні епітеліальних та ендотеліальних клітин в альвеолах і це сприяє тому, що SARS-CoV2 може заражати обидва типи клітин послідовно і в кінцевому підсумку призводить до викиду вірусу в кров [50-52]. Так само, як і SARS-CoV, SARS-CoV-2 викликає тяжкі ускладнення – гострий респіраторний дистрес-синдром (acute respiratory distress syndrome – ARDS) і гостру легеневу недостатність, що є основною причиною смерті пацієнтів. Стінки альвеоли формуються пневмоцитами I і II типу і альвеолярними макрофагами [23,41,53-57]. Пневмоцити I типу покривають 95% альвеолярної поверхні і забезпечують газообмін з кров'ю в капілярах легенів. Пневмоцити типу II (попередники пневмоцитів типу I), відповідальні за продукцію сурфактанта, який перешкоджає злипанню стінок альвеол при диханні за рахунок зниження поверхневого натягу плівки рідини, що покриває альвеолярний епітелій [29,58-62]. SARS-CoV-2, інфікувавши пневмоцити I і II типів, викликає десквамацію пневмоцитів, сприяючи альвеолярній дисфункції, набряку та кровотечі, що порушує газообмін в альвеолах і призводить до дихальної недостатності [63-66]. Одночасно відбувається зниження рівня сурфактанту в тканинній рідині, що покриває альвеолярний епітелій, її поверхневий натяг збільшується [18,24,67-68]. Відповідно, здатність легких розширюватися і стискатися під час нормального акту дихання знижується. Цей процес може привести до колапсу легких під час видиху. У міру заповнення альвеол рідиною, наростає дихальна недостатність [29]. Важке запалення легенів розвивається також через індукцію SARS-CoV2 інтенсивної цитокінової відповіді [42,69]. Прозапальні цитокіни і хемокіни, в тому числі IL-1, TNF α , IL-6 і CCL2, привертають запальні клітини до місця інфекції [43-46,70]. Нейтрофіли і цитотоксичні Т-клітини, поряд з цитокінами, викликають пошкодження тканини легенів, підвищення проникності судин і стимулювання легеневого фіброзу [47-49,71].

Профіброзні гени людини, включаючи Tgfp1, Ctgf і Pdgfa, а також численні транскрипти колагену відповідають підвищеною експресією на вторгнення SARS-CoV2 і накопиченням фібрину в альвеолярному просторі [50-53]. Накопичення колагену, фібрину і фібринових згустків в альвеолах сприяє розвитку

фіброзного легкого, одночасно стимулюючи фібринолітичні шляхи. Порушення регуляції цих коагуляційних/антикоагуляційних каскадів призводить до погіршення стану хворого і до його смерті [54-55].

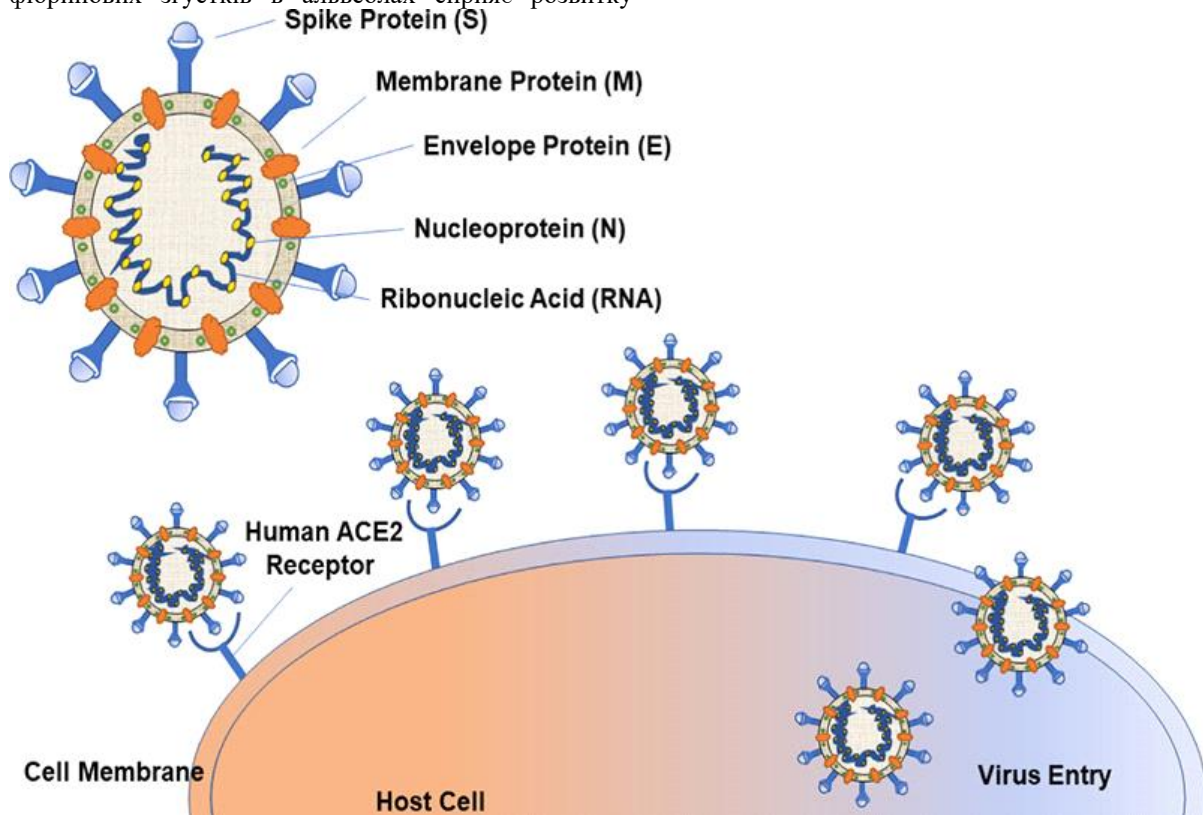


Рис.3. Механізм проникнення SARS-CoV-2 до клітин організму [32]

Літні люди більш сприйнятливі до SARS-CoV-2 і мають суттєво вищий ризик захворюваності та смертності [71]. Інфекції у людей похилого віку часто мають нетиповий та більш тяжкий перебіг, що обумовлено супутньою патологією. Факторами, що сприяють їхній більшій вразливості є фізіологічні зміни старіння; множинні супутні захворювання, такі як хвороба серця та легенів, діабет та деменція. Імунна система літніх людей зазнає численних вікових змін, які спільно називають імунним старінням [72]. Ці зміни впливають на багато клітинних та молекулярних елементів як вродженої [73], так і адаптивної [74,75] імунної системи, а також на координацію самої відповіді [72], яка ефективно працює у молодих людей, але погіршується з віком.

Клінічні прояви Covid-19

Вхідними воротами SARS-CoV2 є слизова оболонка верхніх дихальних шляхів; можливе ураження шлунково-кишкового тракту. Інкубаційний період від 1 до 14 днів (в середньому 5-7 днів). Вважається що інфікована людина є заразною від початку інкубації і до кінця клінічних проявів. Як і при звичайній коронавірусній інфекції одужання при легкій формі Covid-19 настає через 3-5 днів [14,25,54]. Вірус в першу чергу заражає людей з ослабленою

імунною системою і представляє особливий ризик для людей похилого віку [76-80]. У більшості ж випадків прояви хвороби легкі: 80% пацієнтів видужують без серйозних скарг. Аналіз захворюваності показує зростання показника смертності серед людей старше 60 років, а серед хворих людей старше 80 років вмирили близько 15%. Ризик важкого перебігу суттєво підвищують хронічні захворювання, летальність у пацієнтів з захворюваннями серцево-судинної системи в Китаї була 10%, з діабетом – 7,3%, хронічними захворюваннями дихальних шляхів – 6,3%, важкою гіпертонією – 6%. Симптоми Covid-19 неспецифічні: підвищення температури (90%), сухий кашель, який проходить протягом декількох днів (70%), сухий кашель, що переходить в кашель з виділенням мокротиння (30%), біль в горлі (20%), головний біль, біль у м'язах і суглобах (15%), риніт (10%), утруднене дихання (10%), нудота і блювання (5,0%), діарея (4%) [2,34,81-83]. Відзначається також ослаблення або втрата нюху навіть при відсутності нежиті. Ускладнена зустрічається у 5% випадків, переважно у людей із супутньою патологією та у людей похилого віку. У більшості хворих з ускладненою формою інфекції виражені симптоми інтоксикації, температура тіла $\geq 38,5$ °C, порушення гемодинаміки (зниження АТ нижче 90/60 мм рт. ст, ЧСС більше 120 уд/хв), ЧДД ≥ 30 /хв, лейкопенія менш $4,0 \times 10^9$ /л або лейкоцитоз

$\geq 15,0 \times 10^9/\text{л}$ з кількістю незрілих нейтрофілів $\geq 10\%$. Запалення поширюється на декілька долей легені, може бути плевральний випіт, сатурація – SaO₂ 90-93% і нижче [84-87]. Легені є основним місцем ураження для SARS-CoV-2 [22,47,88,89]. На КТ грудної клітини у інфікованих пацієнтів зазвичай виявляється двостороння картина інтерстиціальної інфільтрації по типу «матового скла» з подальшим зменшенням обсягу ураження при сприятливому розвитку запалення або приєднання КТ-картини «бруківки» при несприятливому перебігу пневмонії [47,48,90-92]. Відзначено, що для вірусної пневмонії викликаной Covid-19 характерно розгашування змін у задніх субплевральних і перібронхіальних відділах. Дослідження біопсійних зразків легенів, печінки та серця, отриманих у померлих, виявили агрегацію тромбоцитів, тромботичні мікроангіопатії, відкладення фібрину, значні скупчення CD4⁺ клітин навколо дрібних тромбованих судин та числені крововиливи [47-49,93-95]; визначається велика кількість вірусної РНК у нейтрофілах та альвеоцитах, мультифокальний печінковий некроз, синусоїдальна

дилатація та стеатоз, гіпертрофія та вогнищевий фіброз міокарда [49,96]. Отже, ефективна терапія тяжких форм Covid-19 не повинна обмежуватися лише вірусним збудником як мішенню, але також бути націлена на мікроангіопатичні та тромботичні порушення [46,97-100]. SARS-CoV-2 може спричинити пошкодження нервової системи через гіпоксію та імунні розлади і може потрапляти в нервову систему безпосередньо через нюховий нерв та через кровообіг, що призводить до неврологічних розладів (гострі цереброваскулярні порушення, вірусний енцефаліт, інфекційно-токсична енцефалопатія) а також до аносмії та втрати смаку [33,38,42,43,44,45]. Білок ACE2 експресується у нюховому епітелії, що може пояснити асоційовану з Covid-19 нюхову дисфункцію, а також передбачає потенційну інтраназальну терапію [38,45,101-106].

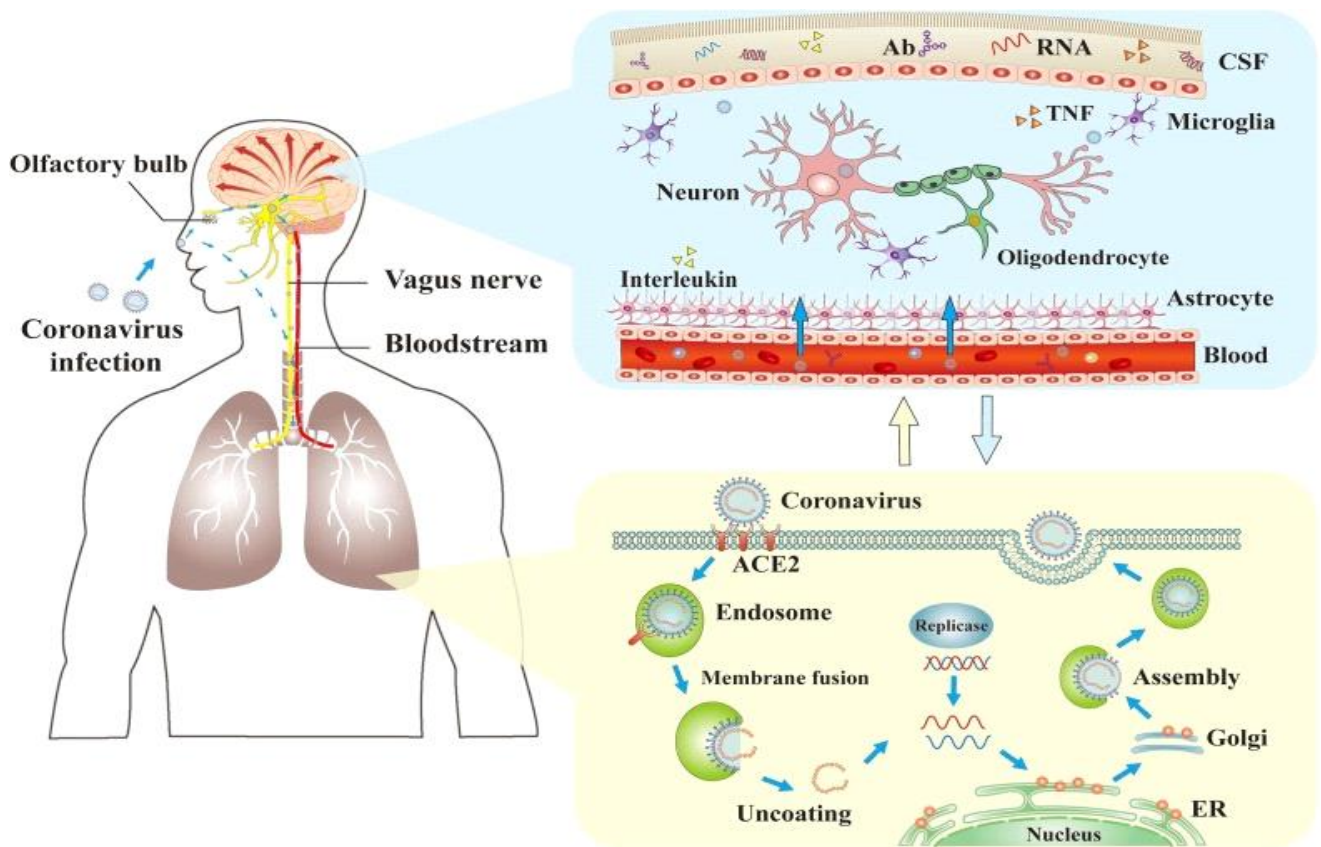


Рис. 4 Механізми зараження SARS-CoV-2 та неврологічні пошкодження, спричинені ним. Ab – антитіло; ACE2 – ангіотензинперетворюючий фермент II; CSF – спинномозкова рідина; ER – ендоплазматичний ретикулум; TNF – фактор некрозу пухлини [42].

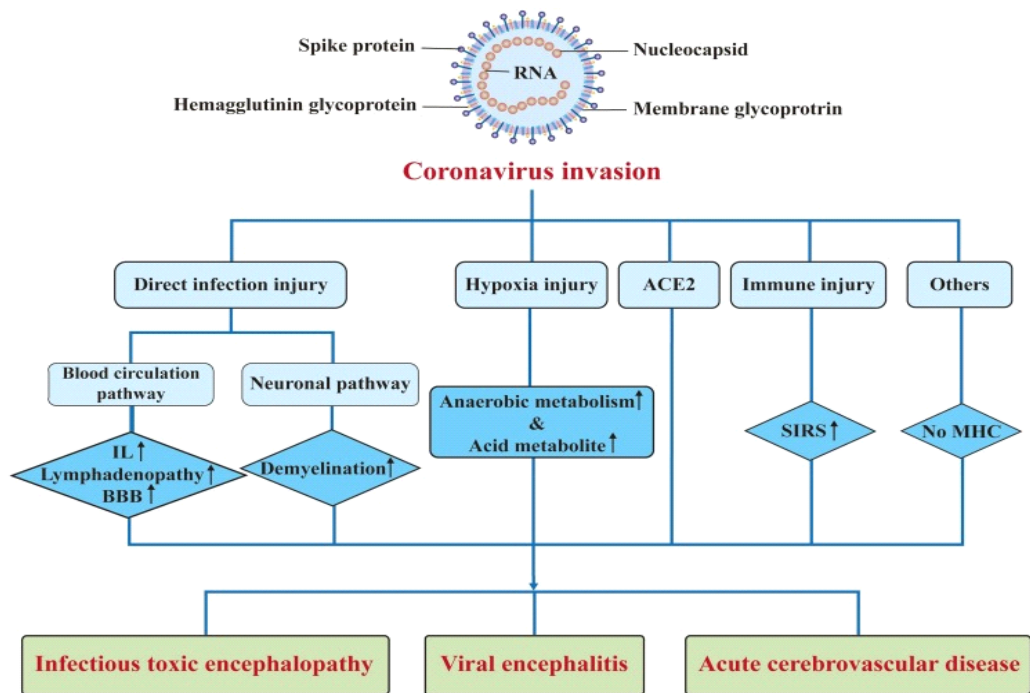


Рис. 5. Патогенез ураження нервової системи, спричиненого коронавірусами, включаючи SARS-CoV-2. ACE2 – ангіотензинперетворюючий фермент II; BBB – гематоенцефалічний бар'єр; IL – інтерлейкін; MHC – основні комплекси гістосумісності; SIRS – синдром системної запальної відповіді [42].

Лікувальні засоби проти SARS-CoV-2

Терапевтичні стратегії, що припускають використовувати для лікування Covid-19 в основному поділяються на імунні та протівірусні. Як потенційні

мішені для ліків та вакцин проти SARS-CoV-2 можуть бути розглянуті білки S, E, M, N, дві ізоформи реплікази (RdRp1a та RdRp1ab) та протеази (3CLpro та PLpro). Рис. 8 показує можливі мішені для інгібуючої дії різних препаратів проти SARS-CoV-2 [82].

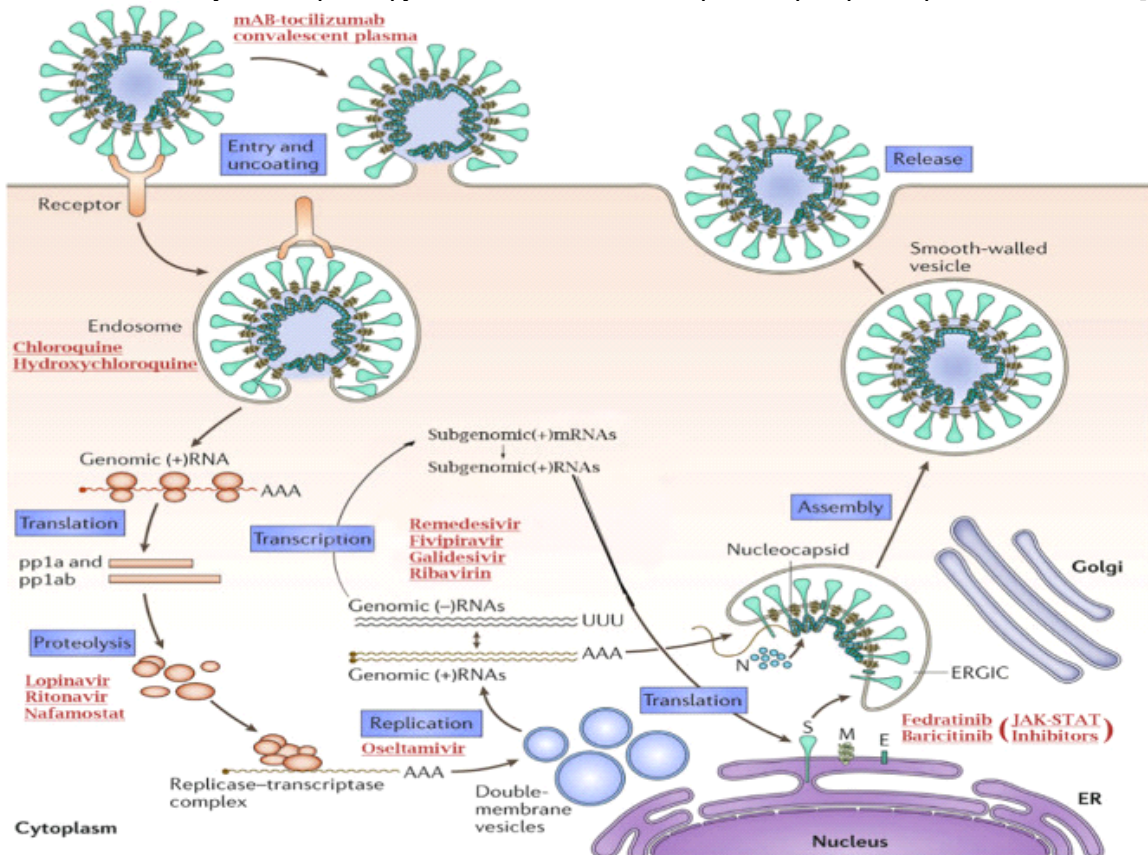


Рис.6. Життєвий цикл SARS-CoV-2, що показує потенційні лікарські мішені в клітині хазяїна [38].

Враховуючи шляхи зараження у перші часи/дні доцільним є використання інтраназальних інтерферонів, що мають протівірусну активність та спроможні блокувати інфекційний процес на перших стадіях. Існуючі протівірусні препарати широкого спектра дії, що застосовуються для лікування ГРВІ – уміфеновір, рибавірин, циклофілін та інтерферони є першим напрямком терапевтичного пошуку в лікуванні Covid-19 [86,107-110].

Нещодавно опубліковано результати пілотного рандомізованого, подвійного засліпленого дослідження другої фази з вивчення ефективності та безпечності інгаляційного призначення інтерферону β -1a (SNG001) в порівнянні з плацебо у 101 пацієнта, яких госпіталізували з підтвердженим діагнозом Covid-19 [109]. Хворі, які отримали інгаляції інтерферону β -1a на протязі 14 діб, мали більші шанси покращення клінічного стану за шкалою BOO3 Ordinal Scale for Clinical Improvement (OSCI) в порівнянні з групою плацебо (відношення шансів 2.32 [95% ДІ 1.07–5.04]; $p=0.033$). Препарат добре переносився, найбільш частим небажаним явищем була головна біль.

В той же час попередні дані багатоцентрового дослідження SOLIDARITY не виявили достовірного впливу ін'єкцій інтерферону β -1a на зниження летальності або скорочення строків госпіталізації [111]. Існує нагальна потреба проведення досліджень 3 фази, які мають встановити роль інгаляційного шляху введення інтерферону в лікуванні Covid-19.

Експериментально вивчаються та застосовуються препарати, які діють як інгібітори білка S, РНК-залежної РНК-полімерази (ремдесивір, фівіпіравір, галідезівір, рибавірин), інгібітори протеаз (лопінавір, ритонавір, нафамостат). Також запропоновано препарати, що змінюють рН ендосом (хлорохін, гідроксихлорохін), інгібітори JAK-STAT (федратиніб, барицитиніб), моноклональні антитіла проти ІЛ-6 (тоцілізумаб), що виявляють перспективні ефекти проти SARS-CoV-2 [83,111-115].

Ремдесивір (аналог аденозину) включаючись замість справжнього нуклеотиду зв'язується з RdRp, пригнічує його активність і припиняє синтез вірусних ланцюгів РНК [87]. Ремдесивір разом з хлорохіном інгібують SARS-CoV-2 *in vitro*. Ремдесивір був ефективним проти РНК-вірусів, включаючи MERS та SARS-CoV.

Перші результати застосування ремдесивіру у хворих на Covid-19, отримані в дослідженні АСТТ-1 виглядали досить обнадійливо, в порівнянні з плацебо препарат скорочував час госпіталізації на 5 діб та підвищував шанси на покращення клінічного стану за шкалою OSCI [116]. Подальші роботи, включаючи попередні дані дослідження SOLIDARITY не виявили достовірного впливу ремдесивіру на зниження летальності або скорочення строків госпіталізації. В системному метааналізі, який постійно оновлюється, було показано, що вплив ремдесивіру на летальність, потребу в штучній вентиляції легень та строки госпіталізації до кінця не виявлено, він імовірно

скорочує тривалість симптомів на 2-4 дні та не підвищує частоту небажаних явищ [117].

У пошуку препаратів проти SARS-CoV-2, було запропоновано використання антималярійного препарату хлорохіну, який має також протівірусну дію, збільшуючи рН ендосом та лізосом, що спричиняє порушення вивільнення з них вірусу [93]. Гідроксихлорохін, менш токсичний похідний хлорохіну, також міг бути ймовірно ефективним у пригніченні інфекції, викликаній SARS-CoV-2 [94]. Однак клінічні дослідження не показали достовірного впливу гідроксихлорохіну на летальність, строки госпіталізації та інші показники, включаючи потребу в штучній вентиляції легень [111,118].

Протизапальні препарати, такі як ібупрофен рекомендуються щоб контролювати симптоми запалення [95].

На сьогоднішній день дексаметазон є єдиним препаратом, для якого показано позитивний вплив на летальність від Covid-19. В дослідженні RECOVERY 2104 пацієнтів отримували дексаметазон в дозі 6 мг на день на протязі 10 діб, в порівнянні з 4321 хворих в групі стандартного лікування. Летальність склала 22.9% в групі дексаметазону проти 25.7% в групі стандартного лікування (співвідношення частоти 0.83; 95% довірчий інтервал 0.75-0.93; $P<0.001$). Найбільш виражене покращення було виявлено у хворих, які знаходилися на штучній вентиляції легень або отримували кисень, навпроти, не виявлено різниці між групами пацієнтів, які не отримували респіраторної підтримки [119].

Додатково патогенетичним препаратом для пацієнтів з тяжкою формою Covid-19 є Тоцілізумаб – моноклональне антитіло проти ІЛ-6. ІЛ-6 спричиняє «цитокінову бурю» та надмірні запальні реакції в легенях і інших органах. Початкові дані по застосуванню тоцілізумабу були досить обнадійливими [114]. Однак, нещодавно опубліковане рандомізоване, подвійне засліплене дослідження не підтвердило цих сподівань. В нього було залучено 243 пацієнтів з SARS-CoV-2 інфекцією, 161 з них отримали тоцілізумаб і 81 плацебо, які мали гіперінфламаторний статус, що визначався на підставі наявності бодай 2 з наступних показників: температура тіла вища за 38°C, наявність легневих інфільтратів або потреба в кисні для підтримки рівня сатурації $>92\%$ [120]. На 28 день госпіталізації 17 пацієнтів (10.6%) в групі тоцілізумабу були інтубовані для проведення штучної вентиляції легень або померли в порівнянні з 10 пацієнтами (12.5%) в групі плацебо, відношення частот 0.83 (95% довірчий інтервал 0.38-1.81; $P=0.64$). Таким чином, тоцілізумаб виявився неефективним для зменшення частоти штучної вентиляції легень або летальності у хворих на Covid-19.

Нещодавно було показано, що препарати, схвалені FDA для лікування гепатиту С, глекапревір (glecaprevir) та маравірок (maraviroc) можуть бути віднесені до інгібіторів основної протеази SARS-CoV-2 та використовуватися при терапії тяжких випадків Covid-19 [115].

У створенні вакцин проти SARS-CoV-2 задіяні спеціалісти із багатьох країн, які анонсують різні види препаратів, включаючи вакцини проти цільного вірусу, вакцини проти субодиниць рекомбінантних білків вірусу, вакцини до нуклеїнових кислот та векторні вакцини. В даний час всі вони перебувають на стадії оцінки та клінічних і доклінічних випробувань [121].

Не дивлячись на багато напрямів у пошуках ефективних препаратів для лікування Covid-19, на сьогодні найбільш дієвою стратегією у терапії є забезпечення пацієнтам доступу до кисню та якісний догляд, які знижують смертність більше, ніж будь-який лікарський засіб.

Заключення

Раптова поява SARS-CoV-2 та викликана цим вірусом пандемія спричинила загрозу безпеці світовій системі охорони здоров'я. Наукове співтовариство всього світу ретельно працює над пошуком ефективних ліків та вакцин проти нового коронавірусу. Прагнучи знайти ліки від Covid-19, ВООЗ розробила концепцію SOLIDARITY, міжнародне клінічне випробування як загальну глобальну платформу для поліпшення наукових зв'язків та прискорення обміну інформацією. На базі Державної установи «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України» також розпочато дослідження особливостей імунітету при Covid-19 для подальшої розробки терапевтичних та вакцинальних стратегій.

Ключові слова: SARS-CoV-2, геном, патогенез, терапевтичні стратегії

Features of SARS-COV-2 infection and directions of drug and vaccine creation

Volyansky A.Yu., Davydova T.V., Kuchma M.V., Yudin IP, Kuchma I.Yu.

Introduction: Until the beginning of the 21st century human coronaviruses were known as the cause of typical seasonal acute respiratory disease. Highly pathogenic coronaviruses were identified as the cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) with high mortality in 2002 – SARS-CoV, and then in 2013 as the causative agents of Middle East respiratory syndrome – MERS-CoV. They have caused severe respiratory disease in humans because of their ability to adapt to the host, increasing affinity for human airway receptors. The emergence a new coronavirus in 2019 caused a rapid increase in the incidence of severe acute respiratory syndrome and turned into a pandemic. **Background:** The new coronavirus SARS-CoV-2, which causes Covid-19 (coronavirus infection disease), was first detected in December 2019 in Wuhan, the capital of Hubei province, from where it quickly spread to China and continued to spread to Italy and other countries of Europe and after around the world, the number of confirmed new cases is increasing daily.

Rationale: Coronaviruses are members of the order Nidovirales of the family Coronaviridae and divided into 4 genera: α - and β -coronavirus, which infect only mammals, and γ - and δ -coronavirus, which mainly affect birds. The central place is occupied by the genus β -coronavirus, which includes especially dangerous pathogens of lethal human pneumonia – SARS-CoV,

MERS-CoV, SARS-CoV2. In turn, β -coronavirus divided into four subgenres: A, B, C, D. SARS-CoV-2 is β -coronavirus, subgroup B, Sarbecovirus. Coronaviruses affecting humans currently have 7 species. They divide into 2 groups. 1st group has 4 common types of coronaviruses that cause about 15% of typical seasonal SARS: HCoV-229E, NL63, OC43 and HKU1. Usually these types cause mild forms of upper respiratory tract diseases in children (and less often in adults), but in some cases (like other SARS viruses) cause interstitial pneumonia (in newborns, children with immunodeficiency, people with cancer, patients who take immunosuppressive therapy, the elderly with heart failure and chronic lung disease). 2nd group has 3 types of coronaviruses, which in a large percentage of cases SARS. 1. SARS-CoV – the epidemic began in China in November 2002 from live animal markets in Foshan (Guangdong Province), spreading to Asia and the world. Considered, horseshoe bats can be the natural reservoir of SARS-CoV. SARS-CoV affected 32 countries for 9 months, 8096 people became ill, of which 774 died (9% mortality). No new cases of SARS-CoV have been report since 2004. 2. Another type of coronavirus that caused SARS in humans, MERS-CoV, first detected in Saudi Arabia in 2012. Considered bats can be the natural reservoir of MERS-CoV, and single-humped camels can be vectors. MERS-CoV has been founding in patients in 27 countries, mainly in the Middle East, and remains endemic in many of them due to circulation in camels. The last outbreak of MERS occurred in South Korea in 2015, where the virus was imported from Kuwait (186 became ill and 33 died – the elderly). As of November 2019, MERS-CoV caused 858 deaths out of 2494 laboratory-confirmed cases (33% mortality). 3. SARS-CoV-2, like SARS-CoV and MERS-CoV, can cause severe respiratory disease with a high mortality rate. Horseshoe bats considered the natural reservoir of SARS-CoV2 (as well as SARS-CoV). There are two versions for SARS-CoV2: the first is that is bat coronavirus and it has spread from the seafood market, can crossed the interspecies barrier and become pathogenic to humans; second, that during an experiment at the Institute of Virology in Wuhan, the coronavirus accidentally struck an employee in an aerosol, who became the "first patient". **Discussion:** The virion of coronaviruses is covered with a lipid shell that clearly visible on electron microscopic images club-shaped spikes length of 10 nm. Coronaviruses contain a positive single-stranded RNA genome with a length of 26 to 32 thousand nucleotides (the largest known RNA virus) and four structural proteins – spike (S), envelope (E), membrane (M) and nucleocapsid (N). Protein S binds to target cell receptors and triggers the infectious process, protein M plays a role in shell formation and virion formation, and protein E forms pentameric ion channels that destroy cell membranes during viral budding. SARS-CoV-2 uses as receptors for cell penetration CD147 – glycoprotein and angiotensin converting enzyme type 2 (angiotensin converting enzyme 2 – ACE2). CD147 expressed in the cell membrane of epithelial and endothelial cells and T lymphocytes. Monoclonal antibodies against CD147 prevent infection of SARS-CoV2 cells in vitro. Analysis

of cell samples for the presence of RNA sequences SARS-CoV-2 reveals significant RNA transcription in the nasal epithelium and less in the cells of the lower respiratory tract and alveolar epithelium. This suggests that the upper rather than the lower respiratory tract is the initial site of SARS-CoV-2 infection. ACE2 localized in type I and II pneumocytes, vascular endothelial cells and enterocytes (therefore symptoms from the respiratory tract are often accompanied by symptoms from the gastrointestinal tract – nausea, diarrhea, etc.). SARS-CoV2 infection leads to cytopathic effects, including apoptosis, cell lysis, and syncytium formation in lung tissue. After penetration into the host cell, the SARS-CoV-2 genome attaches to the ribosomes, leading to the translation of viral polyproteins, which subsequently processed by viral proteolytic enzymes. As a result, of proteolysis the protease-mediated virus 3CLpro (chymotrypsin-like protease) and PLpro (papain-like protease), polyproteins are broken down into smaller components, which plays a major role in mediating the replication and transcription of viruses and promotes infection. Another RdRp (RNA-dependent RNA-polymerase) enzyme, replicase, is important for viral genome replication and products of new virions. Therefore, these enzymes can be considered as potential drug targets for the development of therapeutic agents, as they are crucial for the survival, replication and transmission of SARS-CoV-2. Therapeutic strategies for the treatment of Covid-19 mainly divided into immune and antiviral. S, E, M, N proteins, two replicase isoforms (RdRp1a and RdRp1ab) and proteases (3CLpro and PLpro) can be considered as potential targets for drugs and vaccines against SARS-CoV-2. Despite the many directions in the search for effective drugs for treatment Covid-19, today the most effective strategy in therapy is access to oxygen and well-staffed supportive care reduces mortality more than any medicinal product. **Conclusion.** The sudden appearance of SARS-CoV-2 and the pandemic caused by this virus have posed a threat to the security of the global health system. The scientific community around the world is working hard to find effective drugs and vaccines against the new coronavirus. In an effort to find the cure for Covid-19, WHO has developed the SOLIDARITY concept, an international clinical trial as a common global platform for improving scientific links and accelerating information exchange. On the base of Mechnikov institute of microbiology and immunology National academy of medical sciences of Ukraine also began the study of the peculiarities of immunity Covid-19 for further development of the therapeutic and vaccine strategies.

Key words: SARS-CoV-2; genome; pathogenesis; therapeutic strategies

References:

1. Cui J., Li F., Shi Z-L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* 2019. N. 17. P. 181–192.
2. Li W., Zhang C., Sui J. et al. Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2. *EMBO J*. 2005. N. 24. P. 1634–1643.

3. Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Ind J Pediatr*. 2020. Vol. 87. N. 4. P. 281–6.
4. Wu F., Zhao S., Yu B. et al. A new Coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020. Vol. 579. P. 265–269.
5. Wu Z., McGoogan J.M. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020. doi.org/10.1001/jama.2020.2648.
6. Wang D., Hu B., Hu C. et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020. doi.org/10.1001/jama.2020.1585.
7. Mehra M.R., Desai S.S., Kuy S. et al. Cardiovascular Disease, Drug Therapy, and Mortality in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020. doi.org/10.1056/NEJMoa2007621.
8. Malik Y.S., Sircar S., Bhat S. et al. Emerging novel coronavirus (2019-nCoV) – current scenario, evolutionary perspective based on genome analysis and recent developments. *Vet. Q*. 2020. Vol. 40. P. 68–76.
9. Huang C., Wang Y., Li X. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. 2020. Vol. 395. P. 497–506.
10. Li Q., Guan X., Wu P. et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N. Engl. J. Med*. 2020. Vol. 382. P. 1199–1207.
11. Weekly epidemiological update - 27 October 2020/Data as received by WHO from national authorities, as of 10am CEST 25/October/2020. www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update---27-october-2020
12. Chen Y., Liu Q., Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J. Med. Virol*. 2020. Vol. 92. P. 418–423.
13. Wu A., Peng Y., Huang B. et al. Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell Host Microbe*. 2020. Vol. 27. P. 325–328.
14. Hanie Esakandari, Mohsen Nabi-Afjadi, Javad Fakkari-Afjadi. et al. A comprehensive review of COVID-19 characteristics. *Biological Procedures Online* 2020. Vol. 22. P. 217-234.
15. 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. Vol. 395. P. 565–574.
16. Zhang L., Lin D., Sun X. et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved alpha-ketoamide inhibitors. *Science*. 2020. N. 14. P. 342-356.
17. Shamsi A., Mohammad T., Anwar S. et al. Glecaprevir and Maraviroc are high-affinity inhibitors of SARS-CoV-2 main protease: possible implication in COVID-19 therapy. *Biosci Rep*. 2020. N. 2. P. 540-552.
18. Graham R.L., Sparks J.S., Eckerle L.D. et al. SARS coronavirus replicase proteins in pathogenesis. *Virus Res*. 2008. Vol. 133. P. 88–100.

19. Shang J., Ye G., Shi K. et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature*. 2020. Vol. 581. P. 221–224
20. Luk H.K.H., Li X., Fung J. et al. Molecular epidemiology, evolution and phylogeny of SARS coronavirus. *Infect Genet Evol*. 2019. Vol. 71. P. 21–30.
21. de Wit E., van Doremalen N., Falzarano D. et al. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2016. N. 14. P. 523–34.
22. Brian DA, Baric RS. Coronavirus genome structure and replication. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2005. Vol. 287. P. 1–30. CAS Central
23. Li C, Yang Y, Ren L. Genetic evolution analysis of 2019 novel coronavirus and coronavirus from other species. *Infect Genet Evol*. 2020. Vol. 82. P. 104-135. CAS
24. Minakshi R, Padhan K, Rehman S. et al. The SARS coronavirus 3a protein binds calcium in its cytoplasmic domain. *Virus Res*. 2014. Vol. 191. P. 180–183.
25. Nishikiori M, Sugiyama S, Xiang H. et al. Crystal structure of the superfamily 1 helicase from tomato mosaic virus. *J. Virol*. 2012. Vol. 86. P. 7565–7576.
26. van Dinten LC, van Tol H, Gorbalenya AE. et al. The predicted metal-binding region of the arterivirus helicase protein is involved in subgenomic mRNA synthesis, genome replication, and virion biogenesis. *J. Virol*. 2000. Vol. 74. P. 5213–5223.
27. von Grothuss M, Wyrwicz LS, Rychlewski L. mRNA cap-1 methyltransferase in the SARS genome. *Cell*. 2003. Vol. 113. P. 701–702.
28. Zhao WM, Song SH, Chen ML. et al. The 2019 novel coronavirus resource. *Yi Chuan*. 2020. N. 42. P. 212–21.
29. Hodcroft EB, Zuber M, Nadeau S. Emergence and spread of a SARS-CoV-2 variant through Europe in the summer of 2020. *SeqCOVID-SPAIN consortium medRxiv preprint*. doi: doi.org/10.1101/2020.10.25.20219063
30. Kuiken T, Fouchier RA, Schutten M. et al. Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet*. 2003. Vol. 362. P. 263–70. CAS Central
31. Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM. et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med*. 2012. Vol. 367. P. 1814–20. CAS
32. Ahmad Abu Turab Naqvi, Kisa Fatima, Taj Mohammad. et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020. Oct 1. Vol. 1866. N. 10. P. 165878. Published online 2020 Jun 13. doi: 10.1016/j.bbdis.2020.165878 PMID: PMC7293463 PMID: 32544429
33. Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC. et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS Coronavirus. *J Pathol* 2004. Vol. 203. P. 631–637. CAS Central
34. Li M-Y, Li L, Zhang Y. et al. Expression of the SARS-CoV-2 cell receptor gene ACE2 in a wide variety of human tissues. *Infect Dis Poverty* 2020. N. 9. P. 45. Central
35. Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC. et al. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol* 2004. Vol. 203. P. 631–637. CAS Central
36. Xiao H-L, Zhao L-X, Yang J. et al. Association between ACE2/ACE balance and pneumocyte apoptosis in a porcine model of acute pulmonary thromboembolism with cardiac arrest. *Mol Med Rep*. 2018. Vol. 17. N. 3. P. 4221–8. CAS Central
37. Lamers MM, Beumer J, van der Vaart J. et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science*. 2020. doi: doi.org/10.1126/science.abc1669
38. Zhu H, Rhee JW, Cheng P. et al. Cardiovascular Complications in Patients with COVID-19: Consequences of Viral Toxicities and Host Immune Response. *Curr Cardiol Rep*. 20. Vol. 22. N. 5. P. 32-48. Central
39. Wrapp D, Wang N, Corbett KS. et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. *Science*. 2020. Vol. 367. P. 1260–1263.
40. Suzuki T, Otake Y, Uchimoto S. et al. Genomic characterization and phylogenetic classification of bovine coronaviruses through whole genome sequence analysis. *Viruses*. 2020. N. 12. P. 183.
41. Lu R, Wang Y, Wang W. et al. Complete genome sequence of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) from the first imported MERS-CoV case in China. *Genome Announc*. 2015. N. 3. P. 26-34. (e00818-00815)
42. Yeshun Wu, Xiaolin Xu, Zijun Chen. et al. Nervous system involvement after infection with COVID-19 and other coronaviruses. *Brain Behav Immun*. 2020 Jul. Vol. 87. P. 18–22. doi: 10.1016/j.bbi.2020.03.031 PMID: PMC7146689 PMID: 32240762
43. Pallanti S. Importance of SARS-Cov-2 anosmia: From phenomenology to neurobiology. *Compr Psychiatry*. 2020. Jul. Vol. 100. P. 152184. doi:10.1016/j.comppsy.2020.152184. Epub 2020 May 11. PMID: 32422426
44. Ellul MA, Benjamin L, Singh B. et al. Neurological associations of COVID-19. *Lancet Neurol*. 2020. Sep. Vol. 19. N. 9. P. 767-783. doi: 10.1016/S1474-4422(20)30221-0. Epub 2020 Jul 2. PMID: 32622375
45. Payus AO, Liew Sat Lin C, Mohd Noh M. et al. SARS-CoV-2 infection of the nervous system: A review of the literature on neurological involvement in novel coronavirus disease-(COVID-19). *J Basic Med Sci*. 2020. Aug 3. Vol. 20. N. 3. P. 283-292. doi:10.17305/bjbms.2020.4860. PMID: 32530389
46. Morse JS, Lalonde T, Xu S. et al. Learning from the past: possible urgent prevention and treatment options for severe acute respiratory infections caused by 2019-nCoV. *ChemBiochem*. 2020. Vol. 21. P. 730–738.
47. Zhang H, Zhou P, Wei Y. et al. Histopathologic Changes and SARS-CoV-2 Immunostaining in the Lung of a Patient With COVID-19. *Ann Intern Med*. 2020. May 5. Vol. 172. N. 9. P. 629-632. doi: 10.7326/M20-0533. Epub 2020 Mar 12. PMID: 32163542 Free PMC article.
48. Xu YH, Dong JH, An WM. et al. Clinical and computed tomographic imaging features of novel coronavirus pneumonia caused by SARS-CoV-2. *J*

- Infect. 2020 Apr. Vol. 80. N. 4. P. 394-400. doi: 10.1016/j.jinf.2020.02.017. Epub 2020 Feb 25. PMID: 32109443 Free PMC article
49. Wichmann D, Sperhake JP, Lütgehetmann M. et al. Autopsy Findings and Venous Thromboembolism in Patients With COVID-19: A Prospective Cohort Study. *Ann Intern Med.* 2020 Aug 18. Vol. 173. N. 4. P. 268-277. doi: 10.7326/M20-2003. Epub 2020 May 6. PMID: 32374815 Free PMC article.
50. Imai Y, Kuba K, Rao S. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 protects from severe acute lung failure. *Nature.* 2005. Vol. 436. P. 112-6. CAS Central
51. Taisheng L, Zhifeng Q, Linqi Z. et al. Significant changes of peripheral T lymphocyte subsets in patients with severe acute respiratory syndrome. *J Infect Dis.* 2004. Vol. 189. N. 4. P. 648-651. doi: 10.1086/381535 CrossRef
52. Liu Z Y, Li T S, Wang Z. et al. Clinical features and therapy of 106 cases of severe acute respiratory syndrome. *Chinese J Intern Med.* 2003. N. 06. P. 16-20.
53. Li TS, Qiu ZF, Han Y et al. The alterations of T cell subsets of severe acute respiratory syndrome during acute phase. *Chinese J Lab Med.* 2003. N. 05. P. 40-42.
54. Xie J, Fan HW, Li TS et al. Dynamic changes of T lymphocyte subsets in the long-term follow-up of severe acute respiratory syndrome patients. *Chinese Acad Med Sci.* 2006. Vol. 28. N. 2. P. 253-255.
55. Gang L, Chen MJ, Chen W. et al. Variation in the titer of the specific IgG antibody in patients with SARS. *J Trop Med.* 2003. N. 03. N. 283-285.
56. Cao Z, Liu L, Du L. et al. Potent and persistent antibody responses against the receptor-binding domain of SARS-CoV spike protein in recovered patients. *Virology.* 2010. Vol. 7. N. 1. P. 299. doi: 10.1186/1743-422X-7-299 CrossRef
57. Stockman LJ, Bellamy R, Garner P. SARS: Systematic review of treatment effects. *PLoS Med.* 2006. Vol. 3. N. 9. e343. doi: 10.1371/journal.pmed.0030343 CrossRef
58. Cameron MJ, Ran L, Xu L. 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. Vol. 81. P. 8692-706. CAS Central
59. Cameron MJ, Bermejo-Martin JF, Danesh A. et al. Human immunopathogenesis of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Virus Res.* 2008. Vol. 133. P. 13-9. CAS
60. Raj VS, Mou H, Smits SL. et al. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. *Nature.* 2013. Vol. 495(7440). P. 251-254. doi: 10.1038/nature12005 CrossRef
61. Li W, Moore MJ, Vasileva N. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature.* 2003. Vol. 426(6965) P. 450-454. doi: 10.1038/nature02145 CrossRef
62. Ko JH, Park GE, Lee JY. et al. Predictive factors for pneumonia development and progression to respiratory failure in MERS-CoV infected patients. *J Infect.* 2016. Vol. 73. P. 468-475. doi: 10.1016/j.jinf.2016.08.005 CrossRef
63. Min CK, Cheon S, Ha NY. et al. Comparative and kinetic analysis of viral shedding and immunological responses in MERS patients representing a broad spectrum of disease severity. *Sci Rep.* 2016. N. 6. P. 25359. doi: 10.1038/srep25359 CrossRef
64. Zumla A, Hui DS, Perlman S. et al. Middle East respiratory syndrome. *Lancet.* 2014. Vol. 40. N. 7. P. 995-1007.
65. Alosaimi B, Hamed ME, Naeem A. et al. MERS-CoV infection is associated with downregulation of genes encoding Th1 and Th2 cytokines/chemokines and elevated inflammatory innate immune response in the lower respiratory tract. *Cytokine.* 2020;126:154895. doi: 10.1016/j.cyto.2019.154895 CrossRef
66. Shin HS, Kim Y, Kim G. et al. Immune responses to Middle East respiratory syndrome coronavirus during the acute and convalescent phases of human infection. *Clin Infect Dis.* 2019. Vol. 68. P. 984-992. doi: 10.1093/cid/ciy595 CrossRef
67. Stohlman SA, Bergmann CC, Veen RCVD. et al. Mouse hepatitis virus-specific cytotoxic T lymphocytes protect from lethal infection without eliminating virus from the central nervous system. *J Virol.* 1995. Vol. 69. N. 2. P. 684-694. doi: 10.1128/JVI.69.2.684-694.1995 CrossRef
68. Zhao J, Alshukairi AN, Baharoon S A. et al. Recovery from the Middle East respiratory syndrome is associated with antibody and T-cell responses. *Sci Imm.* 2017. N. 2(14). undefined.
69. Bautista E, Chotpitayasunondh T, Gao ZC. et al. Clinical aspects of pandemic 2009 influenza A (H1N1) virus infection. *N Engl J Med.* 2010. Vol. 362. N. 18. P. 1708-1719. doi: 10.1056/NEJMra1000449 CrossRef
70. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* 2020. N. 4. P. 102433.
71. Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV). *Biosci Trends.* 2020. Vol. 14. N. 1. P. 69-71. CAS
72. Nikolich-Zugich J. The twilight of immunity: emerging concepts in aging of the immune system. *Nat Immunol.* 2018. Vol. 19. P. 10-9. CAS
73. Solana R, Pawelec G, Tarazona R. Aging and innate immunity. *Immunity.* 2006. N. 24. P. 491-4.
74. Goronzy JJ, Li G, Yu M, Weyand CM. Signaling pathways in aged T cells – a reflection of T cell differentiation, cell senescence and host environment. *Semin Immunol.* 2012. Vol. 24. P. 365-72.
75. Kogut I, Scholz JL, Cancro MP. [et al.] B cell maintenance and function in aging. *Semin Immunol.* 2012. Vol. 24. P. 342-9. CAS
76. Chinn IK, Blackburn CC, Manley NR. et al. Changes in primary lymphoid organs with aging. *Semin Immunol.* 2012;24:309-20. CAS Central
77. Naylor K, Li G, Vallejo AN. et al. The influence of age on T cell generation and TCR diversity. *J Immunol.* 2005. Vol. 174. P. 7446-52. CAS
78. Thompson HL, Smitley MJ, Surh CD. et al. Functional and homeostatic impact of age-related changes in lymph node stroma. *Front Immunol.* 2017. N. 8. P. 706. Central

79. Richner JM, Gmyrek GB, Govero J. et al. Age-dependent cell trafficking defects in draining lymph nodes impair adaptive immunity and control of west nile virus infection . *PLoS Pathog.* 2015. N. 11. P. 5027.
80. Brien JD, Uhrlaub JL, Hirsch A. et al. Key role of T cell defects in age-related vulnerability to West Nile virus . *J Exp Med.* 2009. Vol. 206. P. 2735–45.
CAS Central
81. Smithey MJ, Renkema KR, Rudd BD. et al. Increased apoptosis, curtailed expansion and incomplete differentiation of CD8(+) T-cells combine to decrease clearance of L. monocytogenes in old mice . *Eur J Immunol.* 2011. Vol. 41. P. 1352–64
82. Ledford H. Coronavirus shuts down trials of drugs for multiple other diseases . *Nature.* 2020. Vol. 580. P. 15–16.
83. 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. N. 7. P. 226–236.
84. Liu C, Zhou Q, Li Y. et al. Research and development on therapeutic agents and vaccines for COVID-19 and related human coronavirus diseases . *ACS Cent Sci.* 2020. N. 6. P. 315–331.
85. Guastalegname M, Vallone A. Could chloroquine /hydroxychloroquine be harmful in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) treatment? . *Clin. Infect. Dis.* 2020. P. 321.
86. Zumla A, Chan JF, Azhar EI. et al. Coronaviruses – drug discovery and therapeutic options . *Nat. Rev. Drug Discov.* 2016. N. 15. P. 327–347.
87. Gao Y, Yan L, Huang Y. et al. Structure of the RNA-dependent RNA polymerase from COVID-19 virus . *Science.* 2020. Vol. 254. P. 504-534.
88. Wang M, Cao R, Zhang L. et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro . *Cell Res.* 2020. Vol. 30. P. 269–271.
89. Wang Y, Zhang D, Du G. et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial . *The Lancet.* 2020. Vol. 395. P. 1569–1578.
90. Schlagenhauf P, Grobusch MP, Maier JD. et al. Repurposing antimalarials and other drugs for COVID-19 . *Travel Med. Infect. Dis.* 2020. Vol. 34. P. 101658.
91. Huang M, Tang T, Pang P. et al. Treating COVID-19 with chloroquine . *J Mol Cell Biol.* 2020. N. 12. P. 322–325.
92. Hong W. Combating COVID-19 with chloroquine . *J Mol Cell Biol.* 2020. N. 12. P. 249–250.
93. Gao J, Tian Z, Yang X. Breakthrough: chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies . *Bioscience Trends.* 2020. N. 14. P. 72–73.
94. Liu J, Cao R, Xu M. et al. Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro . *Cell Discovery.* 2020. N. 6. P. 16.
95. FitzGerald GA. Misguided drug advice for COVID-19 . *Science.* 2020. Vol. 367. P. 1434.
96. South AM, Diz DI, Chappell MC. COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences . *Am. J. Phys. Heart Circ. Phys.* 2020. Vol. 318. P. 1084–1090.
97. Huang GJ, Xu, Liu J. et al. Zhang, angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers decrease the incidence of atrial fibrillation: a meta-analysis . *Eur. J. Clin. Investig.* 2011. Vol. 41. P. 719–733.
98. Zhang P, Zhu L, Cai J. et al. Association of inpatient use of angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers with mortality among patients with hypertension hospitalized with COVID-19 . *Circ. Res.* 2020. Vol. 126. P. 142–143.
99. Grein J, Ohmagari N, Shin D. Compassionate use of remdesivir for patients with severe Covid-19 . *N Engl J Med.* 2020. Vol. 382:2327–2336.
100. Cao X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy . *Nat Rev Immunol.* 2020. N. 20. P. 269–270.
101. Xu X, Han M, Li T. Effective treatment of severe COVID-19 patients with tocilizumab . *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2020. Vol. 117. P. 10970–10975.
102. Golchin A, Seyedjafari E, Ardeshiryajimi A. Mesenchymal stem cell therapy for COVID-19: present or future . *Stem Cell Rev. Rep.* 2020. P. 1–7.
103. Shen C, Wang Z, Zhao F. et al. Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA.* 2020. Vol. 323. P. 1582–1589.
104. Chen L, Xiong J, Bao L. et al. Convalescent plasma as a potential therapy for COVID-19 . *Lancet Infect. Dis.* 2020. N. 20. P. 398–400.
105. Duan YJ, Liu Q, Zhao S.Q. et al. The Trial of Chloroquine in the Treatment of Corona Virus Disease COVID-19 and its research progress in forensic toxicology . *Fa Yi Xue Za Zhi.* 2019. Vol. 36(2020)
106. Bhatnagar T, Murhekar MV, Soneja M. et al. Lopinavir/ritonavir combination therapy amongst symptomatic coronavirus disease 2019 patients in India: protocol for restricted public health emergency use . *Indian J. Med. Res.* 2020. Vol. 151. P. 184–189.
107. Day M. Covid-19: European drugs agency to review safety of ibuprofen . *BMJ.* 2020. Vol. 368. P. 1168.
108. Atluri S, Manchikanti L, Hirsch JA. Expanded umbilical cord mesenchymal stem cells (UC-MSCs) as a therapeutic strategy in managing critically ill COVID-19 patients: the case for compassionate use . *Pain Physician.* 2020. N. 23. P. 71–83.
109. Monk PD, Marsden RJ, Tear VJ. et al. Safety and efficacy of inhaled nebulised interferon beta-1a (SNG001) for treatment of SARS-CoV-2 infection: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial . *Lancet Respir Med* 12.11.2020. P. 1-11.
doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30511-7
.www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600(20)30511-7/fulltext
110. Gurwitz D. Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics . *Drug Dev. Res.* 2020. doi: 10.1002/ddr.21656. In preparation.
CrossRef
111. Pan H, Peto R, Quarraisha AK. et al. Repurposed antiviral drugs for COVID-19 –interim WHO

- SOLIDARITY trial results . MedRxiv. 15.10.2020. doi: doi.org/10.1101/2020.10.15.20209817
112. Jawhara S. Could intravenous immunoglobulin collected from recovered coronavirus patients protect against COVID-19 and strengthen the immune system of new patients? . *Int. J. Mol. Sci.* 2020. N. 21. P. 2272.
113. Ma J, Xia P, Zhou Y. et al. Potential effect of blood purification therapy in reducing cytokine storm as a late complication of severe COVID-19 . *Clinical Immunology (Orlando, Fla.)* 2020. Vol. 140. P. 108408.
114. Luo P, Liu Y, Qiu L. et al. Tocilizumab treatment in COVID-19: a single center experience . *J. Med. Virol.* 2020. Vol. 92. P. 814–818.
115. Shamsi A, Mohammad T, Anwar S. et al. Glecaprevir and Maraviroc are high-affinity inhibitors of SARS-CoV-2 main protease: possible implication in COVID-19 therapy . *Bioscience Reports.* 2020 Vol. 40. BSR20201256.
116. Beigel JH, Tomashek RM, Dodd LE. et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report . *N Engl J Med* 05.11.2020. V. 383. P. 1813-1826. doi: doi.org/10.1056/NEJMoa2007764
117. Siemieniuk RAC, Bartoszko JJ, Long Ge. et al. Drug treatments for covid-19: living systematic review and network meta-analysis . *BMJ* 2020. V. 370. www.bmj.com/content/370/bmj.m2980
118. Horby P, Landray M. No clinical benefit from use of hydroxychloroquine in hospitalised patients with COVID-19. The RECOVERY Collaborative Group . *Recovery.* 05.06.2020. www.recoverytrial.net/files/hcq-recovery-statement-050620-final-002.pdf
119. Horby P, Wei Shen Lim, Landray M. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 — Preliminary Report. The RECOVERY Collaborative Group . *N Engl J Med* 16.11.2020. V. 383. P. 1-11. www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2021436
120. Stone JH, Frigault MT, Serling-Boyd NJ. et al. Efficacy of Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 . *N Engl J Med.* 21.10.2020. www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa2028836
121. Chen WH, Strych U, Hotez PJ. et al. The SARS-CoV-2 vaccine pipeline: an overview . *Curr Trop Med Rep.* 2020. P. 1–4.