DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-128-132

Оригинальная модель вакцины SARS-CoV-2*

Хорошилов И. Е.

ФГБУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41, Россия)

Original SARS-CoV-2 vaccine model*

I. E. Khoroshilov

Federal public budget institution of higher education "North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov" of the Ministry of Health of the Russian Federation (191015, Saint-Petersburg, Kirochnaya str., 41, Russia)

Для цитирования: Хорошилов И. Е. Оригинальная модель вакцины SARS-CoV-2. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;178(6): 128–132. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-128-132

For citation: Khoroshilov I. E. Original SARS-CoV-2 vaccine model. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;178(6): 128–132. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-178-6-128-132

✉ *Corresponding author:*

**Хорошилов
Игорь Евгеньевич**
Igor E. Khoroshilov
ighor1@yandex.ru

Хорошилов Игорь Евгеньевич, д.м.н., профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии имени В.Л. Ваневского

Igor E. Khoroshilov, department of anaesthesiology and reanimatology named after V.L. Vanevsky, doctor of science (med.), professor

Резюме

Появившаяся в конце 2019 года новая коронавирусная инфекция COVID-19 существенно отличается от вирусных инфекций, существовавших ранее. Новый коронавирус SARS-CoV-2 использует два пути передачи – воздушно-капельный и перорально-кишечный. В качестве мишеней для этого вируса выступают как клетки дыхательной системы, так и желудочно-кишечного тракта человека. Наряду с классической формой этого заболевания, описывается так называемая «желудочно-кишечная» форма, при которой в клинической картине преобладают признаки поражения желудочно-кишечного тракта (понос, рвота, анорексия). Эти симптомы выявляются, в целом, у 20% больных COVID-19. Более 80% пациентов имеют легкие формы, у трети лиц этих лиц была диарея. Хотя РНК вируса SARS-CoV-2 и выявляется в кале больных COVID-19, она не несет инфекционного начала, и ни один случай «фекально-оральной» передачи не подтвержден. Поскольку кишечник является самым мощным органом нашей иммунной системы, можно ввести РНК вируса в желудочно-кишечный тракт, чтобы обеспечить формирование иммунитета к этой инфекции.

Ключевые слова: кишечный микробиом, коронавирусная инфекция COVID-19, кишечная иммунная система

Summary

The new coronavirus infection COVID-19 that appeared at the end of 2019 is significantly different from the viral infections that existed previously. The new SARS-CoV-2 coronavirus combines two transmission routes — aerosol and oral-intestinal. The targets for this virus are both cells of the respiratory system and the human gastrointestinal tract. Along with the classical form of this disease, the so-called "gastrointestinal" form is described, in which the clinical picture is dominated by signs of damage to the gastrointestinal tract (diarrhea, vomiting, anorexia). These symptoms are detected, in general, in 20% of patients with COVID-19. More than 80% of patients have mild forms, a third of these individuals had diarrhea. Although SARS-CoV-2 viral RNA is detected in faeces samples of patients with COVID-19, it does not carry an infectious onset, and not a single case of fecal-oral transmission has been confirmed. Since the intestines are the most powerful organ of our immune system, we can introduce SARS-CoV-2 viral RNA into the gastrointestinal tract to ensure the formation of immunity to this infection.

Keywords: intestinal microbiota, new coronavirus infection COVID-19, intestinal immune system

* Иллюстрации к статье – на цветной вклейке в журнал.

* Illustrations to the article are on the colored inset of the Journal.

Человеческий организм представляет собой весьма сложную систему, по-сути «надорганизм». Микробиота человека – это сложная живая эндосистема, которая представлена бактериями, вирусами, грибами, населяющими почти все слизистые оболочки и кожный покров [1, 2].

В нашем кишечнике живут около 30 трлн бактерий более 10 тыс. видов и огромное число вирусов, многие из которых до настоящего времени не определены [3]. Микроорганизмы составляют около 50% массы твердого вещества фекалий.

Коллективный геном человека и его микробиоты (метагеном) составляют 23 тыс. генов человеческих клеток и 4,4 млн генов микроорганизмов (бактерий и вирусов), т.е. более 90% этого коллективного генома представлено низшими организмами [4].

Появившаяся в конце 2019 года новая коронавирусная инфекция COVID-19 существенно отличается от вирусных инфекций, существовавших ранее, например, гриппа. Если грипп поражает только дыхательную систему и распространяется исключительно воздушно-капельным путем передачи, а такие возбудители, как ротавирус или норовирус, наоборот, представляют собой энтеровирусную инфекцию, распространяющуюся алиментарным путем, то новый коронавирус SARS-CoV-2 сочетает в себе два пути передачи – и воздушно-капельный, и перорально-кишечный (не фекально-оральный). В качестве мишеней для этого вируса выступают как клетки дыхательной системы, так и желудочно-кишечного тракта человека [5].

В настоящее время, наряду с классической формой этого заболевания, описывается так называемая «желудочно-кишечная» или «абдоминальная» форма, при которой в клинической картине преобладают признаки поражения желудочно-кишечного тракта (понос, рвота, анорексия). Эти признаки выявляются, в целом, у 20% больных COVID-19. От 1 до 29% пациентов с COVID-19 испытывают тошноту, от 2 до 6% – боли в животе, от 40 до 80% – потерю аппетита. Диарея отмечается у трети больных, причем у 20% – в качестве первого и единственного симптома заболевания. Ряд авторов считают данные симптомы утяжеляющими течение данного заболевания, в то время как другие – более легкой формой его протекания. На наш взгляд, это связано с тем, когда вирус SARS-CoV-2 попадает в пищеварительную систему – до его попадания в бронхи и лёгкие или после этого.

Гастроинтестинальные симптомы COVID-19 проявляются вследствие того, что вирус проникает в клетки-мишени пищеварительной системы через ангиотензинпревращающий фермент 2 – рецептор, обнаруживаемый как в верхних, так и в нижних отделах желудочно-кишечного тракта, где он экспрессируется почти в 100 раз больше, чем в органах дыхания [6]. Кроме того, вирусная РНК обнаруживается в кале более чем у половины пациентов, инфицированных SARS-CoV-2, и почти в четверти случаев пробы стула дают положительный результат, когда респираторные тесты уже отрицательные [7].

Jin X. и соавт. (2020), указывают на то, что 23% (из 74) больных с тяжелым течением COVID-19, госпитализированных в больницу провинции Чжэцзян, имели хотя бы один из симптомов

поражения желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, диарея), и это сопровождалось более высокими показателями лихорадки, более выраженной усталостью, одышкой и головной болью [8].

В то же время указывается, что в Ухане у 10% госпитализированных больных имелась тошнота, диарея или рвота. Последние данные из Уханя показывают, что 79% пациентов с COVID-19 имели гастроинтестинальные симптомы, но такие данные были собраны в течение 10 дней от начала заболевания и зарегистрированы в так называемые «домовые семейные журналы», т.е. отмечались у амбулаторных больных с легкими формами, остающихся на лечении на дому [9]. В этой же статье предлагается уделять большее внимание пациентам, у которых имеются желудочно-кишечные симптомы, но отсутствуют лихорадка и кашель, поскольку почти у 50% таких больных в фекалиях выявляется РНК вируса SARS-CoV-2.

В американском журнале «Гастроэнтерология» в апреле 2020 года была опубликована статья авторов из Уханя (Китай) и Лос-Анжелеса (США), в которой проанализированы данные о 206 пациентах с легкой формой заболевания COVID-19. В этой работе отмечается, что до настоящего времени большая часть публикаций по COVID-19 была ориентирована на пациентов с тяжелыми проявлениями заболевания, тогда как более 80% пациентов имеют легкие формы. Исследование в Китае показало, что у трети лиц с легкой формой COVID-19 была диарея. Она длилась от 1 до 14 дней, со средней продолжительностью $5,4 \pm 3,1$ дня и частотой $4,3 \pm 2,2$ испражнений в день. Подчеркивается, что эта диарея, включая водянистый стул, была не очень серьезной. Лица с желудочно-кишечными симптомами с большей вероятностью имели положительный анализ стула на коронавирус, т.е. они имели РНК SARS-CoV-2.

В настоящее время можно считать практически установленным фактом, что хотя РНК вируса SARS-CoV-2 и выявляется в кале у больных COVID-19 и продолжает определяться методом ПЦР в течение 30 дней, даже после исчезновения РНК вируса в дыхательной системе, она не несет инфекционного начала, и ни один случай так называемой «фекально-оральной» передачи до настоящего времени не подтвержден [10, 11]. Поэтому считать выделение РНК вируса из кишечника человека потенциально опасным с эпидемиологической точки зрения не следует, а, следовательно, и предпринимать особые меры предосторожности при работе с фекалиями больных (заливать их дезинфицирующим раствором, утилизировать особым образом и т.п.).

Возникает резонный вопрос: если вирус попадает в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) человека, почему он не сохраняется в фекалиях? Это происходит именно потому, что его нейтрализует микробиота кишечника человека. Подтверждением этого стали работы с культурой клеток эпителия желудочно-кишечного тракта человека и имитированными жидкими средами, содержащимися в различных отделах ЖКТ, проведенные нашими американскими и китайскими коллегами.

В работе, выполненной Руоченом Зангом, сотрудником отдела молекулярной микробиологии

Вашингтонского университета и его коллегами, на модели клеток кишечника человека было показано, что вирус SARS-CoV-2 проникает в зрелые энтероциты человека с помощью экспрессии двух слизисто-специфических сериновых протеаз (TMPRSS2 и TMPRSS4). Также ими было продемонстрировано, что вирусы в просвете кишечника были быстро инаktivированы имитируемой кишечной жидкостью человека, и инфекционный вирус не был извлечен из образцов кала пациентов с COVID-19 [12].

По сравнению с ротавирусом, который передается фекально-оральным путем, вирус SARS-CoV-2 теряет свою инфекционность в желудочной жидкости с низким pH через 10 минут после инкубации. Однако, вирус SARS-CoV-2 сохраняется в имитированной жидкости тонкого кишечника человека, которая содержит такие биологические поверхностно-активные вещества, как натриевую соль таурохолевой кислоты и лецитин. Напротив, вирус SARS-CoV-2 был инаktivирован некоторыми компонентами в симулированных жидкостях толстой кишки человека. Авторы исследования заключают: вирус SARS-CoV-2 реплицируется в человеческих энтероцитах тонкой кишки, но затем может быть быстро инаktivирован в просвете толстой кишки. В кале живого вируса нет, но есть его РНК.

На наш взгляд, то, что данный вирус попадает в желудочно-кишечный тракт, там размножается и затем инаktivируется, имеет глубокий физиологический смысл. Наш кишечник является самым большим органом иммунной системы организма, 70% иммунокомпетентных клеток находится в пищеварительном тракте. В тонкой кишке человека, а именно, в подвздошной кишке, находятся важнейшие элементы иммунной системы человека, так называемые Пейеровы бляшки. Их количество – обычно от 30 до 50, и уменьшается с возрастом. В слизистой оболочке, в зоне этих бляшек находятся так называемые «антиген-презентирующие клетки», которые передают информацию об антигене (это может быть сам вирус, его РНК или вакцина) на Т-лимфоциты «хелперы» (помощники), а те, в свою очередь, на В-лимфоциты, которые, превращаясь в плазмочиты, начинают продукцию антиген-специфических антител (IgM и IgG). Т-хелперы и сами стимулируют образование так называемых «цитотоксических» лимфоцитов с прямым противовирусным действием, а также и интерферонов. Так работает система противовирусного иммунного ответа нашего организма.

В связи с вышеизложенным, мы предлагаем ввести пероральным путем в просвет тонкой (подвздошной) кишки:

1. Живую или убитую вирусную вакцину (по типу пероральной вакцины от полиомиелита Смородинцева-Чумакова, которая представляла собой «дикий» живой вирус полиомиелита).
2. РНК этого вируса, выделенную, например, из фекалий больных.

В настоящее время в России и за рубежом идет разработка нескольких прототипов вакцин против SARS-CoV-2. Однако большинство этих вакцин использует для антигенной иммунной стимуляции

так называемый «шиповидный», «спайк»- белок (или S-белок), который обладает наибольшей мутагенностью и может приводить к так называемому «антитело-зависимому усилению инфекции» (ADE – antibody-dependent enhancement), которое заключается в том, что антитела, которые присоединяются к вирусным частицам, приводят к более эффективному заражению клеток, и, как следствие, к усиленной репликации коронавируса и, тем самым, к повышению его патогенности (рис. 1). Именно это привело к тому, что в свое время не была разработана эффективная вакцина против коронавируса SARS-CoV (SARS-CoV-1). Вот почему сегодня многие учёные высказывают сомнение, что в ближайшее время будет разработана безопасная и эффективная вакцина против SARS-CoV-2 [13].

Кроме того, путь антигенной стимуляции через кровь (при введении вакцины внутримышечно) или интраназально вызывает сомнение в плане своей безопасности.

В Санкт-Петербурге сегодня идет разработка одной вакцины на основе энтерококка с включенным генетическим методом S-белком (автор – профессор Суворов А. Н.). Эта вакцина, как было заявлено, будет вводиться в организм желудочно-кишечным путем (в виде йогурта). Ее создание одобрил вице-президент РАН академик Чехонин В. П. Однако наличие в составе вакцины только одного S-белка наводит сомнение в ее эффективности и безопасности (в плане того же ADE-эффекта).

В пользу того, что антитела к S-белку могут вредить пациентам, вызывая ADE, говорят и следующие наблюдения. Сравнительный анализ специфического гуморального ответа показал, что у пациентов, умерших от SARS-CoV, специфические нейтрализующие антитела к S-белку вырабатывались значительно быстрее, чем у выздоровевших людей. С феноменом ADE связано протекание заболевания COVID-19 в более тяжелой форме у пожилых людей. При этом может развиваться генерализованная инфекция и цитокиновый шторм [14, 15]. В пользу этого говорит тот факт, что количество IgG антител к S-белку вируса SARS-CoV-2, обнаруженных в сыворотке 29 госпитализированных и протестированных пациентов, линейно коррелировало с возрастом больных, и чем выше был титр таких антител, тем тяжелее протекала болезнь [16, 17].

Феномен ADE, опосредованный антителами к полноразмерному S-белку вируса SARS-CoV (SARS-CoV-1), наблюдали у человекообразных приматов. Несмотря на то, что вакцинация снижала вирусную нагрузку после заражения SARS-CoV-1, наличие IgG антител к S-белку у иммунизированных макаков значительно усиливало воспалительное повреждение легких при реальной инфекции [18].

Во многих лабораториях, изучающих на животных моделях инфекции, вызванные вирусами тяжелого острого респираторного синдрома (SARS) и ближневосточного респираторного синдрома (MERS), наблюдали значительные повреждения легких, связанные с ADE [19].

При повторном заражении SARS-CoV (SARS-CoV-1) и MERS-CoV, вакцинированные животные заболевали снова, и повреждения легких были

более тяжёлыми, чем во время первичной инфекции, несмотря на высокий уровень специфических нейтрализующих антител [20, 21].

Анализ иммунного ответа переболевших COVID-19 показывает, что IgG и IgM антитела вырабатываются не только на S-белок вируса, но и на нуклеокапсидный N-белок, который обладает значительно меньшей изменчивостью (рис. 2).

С другой стороны, специфический противовирусный иммунитет связан с выработкой лимфоцитами крови интерферонов и иммуноглобулинов (антител). Показано, что если интерфероны и антитела вырабатываются рано, то они адекватно нейтрализуют коронавирусы. Если же их выработка

отсрочивается, это приводит к чрезмерной иммунной реакции («цитокиновому шторму») с повреждением лёгких и других внутренних органов [22].

Проблемой также является и локализация инфекции SARS-CoV-2 в бронхиальном эпителии и альвеолоцитах лёгких. Специфические нейтрализующие антитела, которые появятся в организме в результате вакцинации, должны будут укрепить этот барьер и не дать вирусу проникнуть в бронхиальный эпителий, нейтрализовав его в верхних дыхательных путях. При этом присутствие таких антител в крови, даже с высоким титром, может быть недостаточно для инактивации вируса именно в лёгочном эпителии [23].

Литература | References

1. Шемеровский К. А. Хронобиология микробиома. Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. 2018. – № 1. – С. 54–57.
Shemerovskiy K. A. Chronobiology of microbiome. New St. Petersburg medical records. 2018, No. 1, pp. 54–57.
2. Шендеров Б. А. Микробиологическая эпигенетика стресса, заболеваний, здоровья и долголетия. Вестник восстановительной медицины. 2016. – № 1. – С. 21–28.
Shenderov B. A. Microbiological epigenetics of stress, disease, health and longevity. Bulletin of regenerative medicine. 2016, No. 1, pp. 21–28.
3. Ткаченко Е. И., Успенский Ю. П. Питание, микробиоценоз и интеллект человека. – СПб.: СпецЛит, 2006. – С. 108–134.
Tkachenko E. I., Uspenskiy Yu. P. Pitaniye, mikrobiocenoz i intellekt cheloveka [Nutrition, microbiocenosis and human intelligence]. – SPb.: SpecLit, 2006. – pp. 108–134.
4. Ткаченко Е. И. Теория ноосферно-антропогенной гармонии как методологическая основа профилактики и лечения заболеваний. Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. 2018. – № 2. – С. 13–19.
Tkachenko E. I. The theory of noospheric-anthropogenic harmony as a methodological basis for the prevention and treatment of diseases. New St. Petersburg medical records. 2018, No. 2, pp. 13–19.
5. Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции COVID-19. Временные методические рекомендации. Версия 7 (03.06.2020). Министерство здравоохранения Российской Федерации. – С. 6.
Profilaktika, diagnostika i lechenie novoj koronavirusnoj infekcii COVID-19. [Prevention, diagnosis and treatment of a new coronavirus infection COVID-19]. Vremennyye metodicheskie rekomendacii. Versiya 7 [Temporary guidelines. Version 7] (03.06.2020). Ministry of Health of the Russian Federation. 6 P.
6. Han C., Duan C., Zhang S., et al. Digestive symptoms in COVID-19 patients with mild disease severity: clinical presentation, stool viral RNA testing, and outcomes. Am. J. Gastroenterol. Published online. 2020. Apr 15. doi: 10.14309/ajg.0000000000000664.
7. Chen L., Lou J., Bai Y., et al. COVID-19 disease with positive fecal and negative pharyngeal and sputum viral tests. Am. J. Gastroenterol. 2020. [Epub ahead of print March 20, 2020.]
8. Jin X., Lian J.-S., Hu J.-H. et al. Epidemiological, clinical and virological characteristics of 74 cases of coronavirus-infected disease 2019 (COVID-19) with gastrointestinal symptoms. Gut. 2020; 0:1–8. doi:10.1136/gutjnl-2020-320926.
9. Pan Y., Zhang D., Yang P., et al. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. Lancet Infect. Dis. 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30113-4. pmid: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32105638.
10. Wang X., Zhou Y., Jiang N., et al. Persistence of intestinal SARS-CoV-2 infection in patients with COVID-19 leads to re-admission after pneumonia resolved, International Journal of Infectious Diseases. 2020, doi: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.04.063.
11. Xiao F., Tang M., Zheng X., Liu Ye, Li X., Hong S. Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. Gastroenterology. 2020. 158, 1831–33.
12. Zang R., Gomez Castro M. F., McCune B. T. et al. TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes. Science Immunology. 2020;5:47, eabc3582. doi: 10.1126/sciimmunol.abc3582.
13. Зайчук Т., Нечипуренко Ю., Аджубей А. и др. Обзор технологий для создания вакцин против бета-коронавирусов и вирус Сендай как возможный вакцинный вектор // Молекулярная биология. 2020 Препринт. http://molecbio.ru/suppl/coronavirus_vaccines.pdf.
Zaichuk T., Nechipurenko Yu., Ajubey A. et al. Technology review for creating vaccines against beta-coronaviruses and Sendai virus as a possible vaccine vector. Molecular biology. 2020, Preprint [online] http://molecbio.ru/suppl/coronavirus_vaccines.pdf.
14. Gu J., Taylor C. R. Acute immunodeficiency, multiple organ injury, and the pathogenesis of SARS. Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. 2003; 11(4):281–2. doi: 10.1097/00129039-200312000-00001.
15. Gu J., Gong E., Zhang B., et al. Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. J Exp Med. 2005; 202(3):415–24. doi: 10.1084/jem.20050828.
16. Zhao J., Yuan Q., Wang H., et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. Clin. Infect. Dis. 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa344.
17. Wu F., Wang A., et al. Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 recovered patient cohort and their implications. MeRxiv. 2020. doi: https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365.
18. Liu L., Wei Q., Lin Q., et al. Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses

- during acute SARS-CoV infection. JCI Insight. 2019; 4(4). doi: 10.1172/jci.insight.123158.
19. *Perlman S., Dandekar A.A.* Immunopathogenesis of coronavirus infections: implications for SARS. Nat. Rev. Immunol. 2005;5(12):917–27. doi: 10.1038/nri1732.
20. *Tseng C. T., Sbrana E., Iwata-Yoshikawa N., et al.* Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus. PLoS One. 2012; 7(4): e35421. doi: 10.1371/journal.pone.0035421.
21. *Agrawal A. S., Tao X., Algaissi A., et al.* Immunization with inactivated Middle East Respiratory Syndrome coronavirus vaccine leads to lung immunopathology on challenge with live virus. Hum. Vaccin. Immunother. 2016; 12(9): 2351–6. doi: 10.1080/21645515.2016.1177688.
22. *Iwasaki A., Yang Y.* The potential danger of suboptimal antibody responses in COVID-19. Nat. Rev. Immunol. 2020. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0321-6>.
23. *Khan J.* We've never made a successful vaccine for a coronavirus before. This is why it's so difficult 2020. https://www.abc.net.au/news/health/2020-04-17/coronavirus-vaccine-ian-frazer/12146616?fbclid=IwAR3-700wfXvXKNEv0EdLTUGP5NOep-BaD_74p6Dbp9jjhyQaO62f8781qTF0.

К статье

Оригинальная модель вакцины SARS-CoV-2 (стр. 128–132)

To article

Original SARS-CoV-2 vaccine model (p. 128–132)

Рисунок 1.

Схема антитело-зависимого усиления инфекции SARS-CoV-2.

Примечание:

рисунок из работы [13] http://molecbio.ru/suppl/coronavirus_vaccines.pdf

Рисунок 2.

Модели S-белка и N-белка вируса SARS-CoV-2. [11]