

# Zmienność wirusów – przyczyny i skutki

Zdzisław Gliński, Andrzej Żmuda

z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Lublinie

Wirusy człowieka i zwierząt wywołują wiele chorób o zróżnicowanym przebiegu, objawach oraz skutkach zdrowotnych i epidemiologicznych. Jedną z ważnych charakterystycznych cech wirusów, zwłaszcza wirusów RNA, jest brak stabilności genetycznej, która może prowadzić do dużych zmian w ich właściwościach biologicznych, w tym zmian zjadliwości, adaptacji do nowych gospodarzy, a nawet do pojawiania się chorób zakaźnych o nieznanym wcześniej przebiegu klinicznym. Ten brak stabilności, który jest związany ze zmiennością genetyczną, utrudnia wdrożenie czułych metod diagnostycznych oraz skutecznych programów profilaktycznych (szczepienia) i często odpowiada za lekooporność wirusów. Zmienność genetyczna jest podstawową cechą wszystkich żywych organizmów. Stanowi ona fundament dla naturalnej selekcji i adaptacji do zmieniającego się środowiska. W przypadku patogenów umożliwia ona przeżycie i namnożenie w zakażonym organizmie i obronę przed mechanizmami odporności naturalnej i adaptacyjnej. Zdolność do unikania odpowiedzi immunologicznej odgrywa dominującą rolę w strategiach, które umożliwiają przetrwanie wirusów (1), np. modyfikacja ligandów dla T-podobnych receptorów i przeciwciał, latencja (2).

Analizy genetyczne i statystyczne jednoznacznie wskazują na wpływ zmienności genetycznej zarówno na zjadliwość i drogi rozprzestrzeniania się wirusów, charakter gospodarzy pośrednich i ostatecznych, jak na ich właściwości zoonotyczne. Do wirusów RNA cechujących się dużą zmiennością należą wirusy grypy, dengi, Zachodniego Nilu, Zika, SARS, MERS, SARS-CoV-2 i wirus wścieklizny.

## Wirus grypy

Wirusy grypy (*Alphainfluenzavirus*: Orthomyxoviridae) z jednopasmowym liniowym RNA (13kb) o polaryzacji ujemnej (– ss RNA) podzielonym na 8 segmentów koduje 13 białek (3): hemaglutyninę (H), neuraminidazę (N), białko macierzy (M1) i jego elementy integralne (M2), białko kanału jonowego (M2), białko nukleokapsydu (NP), dwa białka niestrukturalne (NS1, NS2), kompleks polimerazy RNA (PB1, PB2, PA) (4). W osłonce lipidowej otaczającej białko macierzy są zakotwiczone silnie immunogenne glikoproteiny: H i N. W oparciu o różnice w strukturze białka NP i białka M wyróżniono 4 typy wirusa grypy A, B, C i D. Typ A zakaża ludzi, konie, świnie, psy, koty, norki, ptaki, foki i wieloryby (5), typy A i B wywołują sezonowe epidemie, typ A odpowiada za pandemię. W ostatnich 100 latach były pandemię grypy: w 1918 r. „hiszpanka” wywołana przez podtyp H1N1, grypa „azjatycka” w latach 1957–1958, podtyp H2N2, „Hongkong” w 1968–1969 r. podtyp H3N2,

## Genetic viral variability – causes and effects

Gliński Z., Żmuda A., Faculty of Veterinary Medicine, University of Life Sciences in Lublin

Viruses are endowed with a great ability to adapt to different environments. It means altering their cellular tropism and crossing host animal species barriers. The basis of their evolutionary success lies in subtle genetic changes through mutations and major genetic changes through recombination and nucleotide substitution. Genetic recombination is one of the primary processes that produce the genetic diversity upon which natural selection acts. RNA viruses have a great potential for genetic variation, rapid evolution and adaptation. Since influenza viruses have segmented genome, the reassortment is among important mechanisms for generation of new hybrid strains and/or subtypes. The modifications of viral RNA genome are frequently dependent on RNA polymerases erroneous action during replication, on the evolutionary pressure, on the novel environment of the host, the immune pressure, or antiviral drugs pressure. Shift to the new host species and virus transmission by insect vectors induced changes due to positive selection of variants with higher fitness for host-virus or vector-virus interactions. This article covers basic aspects of genetic diversity mechanisms of mutation and recombination of selected RNA viruses. The Influenza virus, Dengue, Zika, West Nile, Rabies and SARS-CoV-2 are just among several examples of virus genetic variations, that influence rapid evolution of viral diseases, and make design of reliable vaccine quite difficult.

**Keywords:** RNA viruses, genetic variability, mutation, recombination.

grypa „rosyjska” w 1977 r. i grypa „amerykańska” w latach 2009–2010 r. wywołana przez podtyp H1N1 (6). Na hiszpankę umierali najczęściej ludzie młodzi, w pełni zdrowia, co było spowodowane nasileniem burzy cytokinowej. Chorowało 5 i zmarło 2% populacji światowej (7, 8). Typ C wirusa grypy wywołuje łagodne zachorowania, a typ D zakaża świnie i bydło w USA i we Francji (9).

Wirus grypy typu A cechuje się dużą zmiennością antygenową, na podstawie różnic w antygenach powierzchniowych wyodrębniono 11 podtypów uwarunkowanych neuraminidazą (N1–N11) i 18 podtypów uwarunkowanych hemaglutyniną (H1–H18), ponadto wyróżnia się kłady i subklady wirusa grypy typu A (10). W przeciwieństwie do innych wirusów RNA replikacja i transkrypcja wirusów grypy odbywa się w jądrze zakażonych komórek.

Wirus grypy, ażeby odbyć cały cykl rozwojowy w zakażonej komórce, rozwinęły liczne strategie interakcji z gospodarzem, w tym zmienność. Znaczna zmienność genetyczna jest najbardziej charakterystyczną cechą wirusów grypy, która je wyróżnia spośród wszystkich znanych wirusów. U wirusów RNA występuje wyższy wskaźnik mutacji aniżeli u wirusów DNA, co jest spowodowane brakiem obecności w polimerazie RNA mechanizmów sprawdzających

i korygujących produkt przyłączenia nowego nukleotydu (11). U wirusa grypy typu A za zmienność genetyczną odpowiada ponadto organizacja genomu w postaci segmentów, co pozwala na reasortację, która stanowi ważny mechanizm powstawania różnorodnych szczepów (12).

Gromadzenie zmian molekularnych w ośmiu segmentach RNA wirusa grypy występuje na drodze mutacji punktowych (dryft antygenowy), reasortacji genetycznej (shift antygenowy, skok antygenowy), cząsteczek defektywno-interferujących oraz rekombinacji RNA. Skok antygenowy jest spowodowany wymianą segmentów genów kodujących białka N i H. Dzięki wymianie jednego lub kilku fragmentów jednopasmowego RNA są nowe genetycznie i antygenowo podtypy tego wirusa. Dochodzi do niej przy jednoczesnym zakażeniu komórki gospodarza przez dwa różne wirusy (12)

Nowe szczepy pandemiczne powstają przez reasortację genów szczepów ludzkich i zwierzęcych podczas podwójnej infekcji u pośredniego gospodarza, np. świni, która pełni rolę „naczynia mieszającego”. Przeskok wirusów pomiędzy zwierzęciem i człowiekiem wystąpił w przypadku wirusa grypy świń oraz reasortantu wirusa grypy ptasiej A (H7N9; 13). Przeskok antygenowy miał też miejsce w 2009 r. w Ameryce Północnej, gdzie pojawił się podtyp H1N1 z genami wirusa świń, ludzkimi i ptasimi, zakaził człowieka, zakażenie szybko zaczęło się szerzyć i wybuchła pandemia (14). Zmiany w skoku antygenowym dotyczą głównie hemaglutyniny (H) i neuraminidazy (N). Przeciwno takim zmienionym szczepom wirusów grypy organizm nie ma wytworzonej uprzednio odporności, stąd często są one przyczyną znanych w XX wieku epidemii i pandemii grypy. W przypadku typu A skoki antygenowe występują w nieregularnych odcinkach co 10–40 lat (15). Skok antygenowy jest nie tylko następstwem błędów w replikacji polimerazy RNA, ale też presji ewolucyjnej, nowego środowiska w nowym gospodarzu wirusa i działania antywirusowego układu odpornościowego (16, 17), a także stosowanych leków antywirusowych (18). Rezultatem reasortacji genetycznej i mutacji jest pojawienie się bardziej zjadliwych i wysoce inwazyjnych reasortantów, adaptacja do nowych gatunków gospodarzy dzięki przeskokowi bariery międzygatunkowej i możliwość transmisji wśród osobników nowego gatunku przy braku ze strony nowego gospodarza odporności stadnej. Szybkie mutacje uniemożliwiają wyprodukowanie szczepionki stosowanej przez kilka lat i całkowitą likwidację wirusa grypy typu A na świecie.

Grypę psów wywołuje podtyp H3N8 CIV (canine influenza virus), a podtyp H3N2 CIV wirusa grypy A zakaża psy i koty. H3N8 CIV jest mutantem wirusa grypy koni, który przekroczył granicę koń→pies i zaadaptował się do psa w latach 1999–2000 r. Natomiast podtyp wirusa grypy H3N2 CIV pochodzi od ptaków, o czym świadczy obecność w nabłonku tchawicy, oskrzelach i płucach zakażonych psów receptora SAalpha 2,3-gal dla wirusa grypy ptasiej. Wirus ptasi po przeskoczeniu najprawdopodobniej w 2005 r. na psy zaadaptował się do nowego gospodarza i nabył zdolności szerzenia się wśród psów (19). Źródłem

zakażenia psów były najprawdopodobniej skarmiane narządy wewnętrzne i głowy kaczek oraz gęsi, niepoddane obróbce termicznej (20). Gripę koni wywołują dwa podtypy H7N7 i H3N8. Wszystkie występujące w naturze wirusy grypy ptaków o wysokiej patogenności (HPAI) należą do podtypu H5 lub H7. Podtypy H5, H7 i H9 stanowią potencjalne ryzyko wywołania pandemii grypy w przypadku dodatkowych mutacji, które umożliwiają transmisję wirusa z człowieka na człowieka.

Dryft antygenowy (przesunięcie antygenowe) jest następstwem punktowej mutacji genów w przebiegu replikacji wirusów grypy prowadzących do zmian sekwencji aminokwasów, które zmieniają miejsca antygenowe w epitopach. Najistotniejsze są zmiany antygenowe glikoprotein H i N wirusa, a efektem są nowe warianty i coroczne epidemie grypy. Mutacja jest zjawiskiem losowym, a jej częstość zależy m.in. od doskonałości aparatu powielania kwasu nukleinowego i jego naprawy (21). Każda mutacja, która ułatwia wirusowi unikanie układu immunologicznego zakażonego organizmu, ulega selekcji pozytywnej, jest przekazywana następnemu pokoleniu i szerszemu rozprzestrzenieniu.

Rekombinacja genetyczna jest jednym z mechanizmów różnorodności genetycznej, dzięki któremu działa dobór naturalny. Rekombinacja niehomologiczna zachodzi pomiędzy dwoma różnymi fragmentami RNA (22), zaś homologiczna zachodzi pomiędzy PB2 i P pomiędzy szczepami człowieka podtypu H1N1 oraz pomiędzy PB2 i N, pomiędzy szczepem ludzkim podtypu H1N1 i podtypem H3N2 (23).

## Wirus dengi

Wirus dengi z jednopasmowym RNA o polaryzacji ujemnej występuje w czterech serotypach. Serotypy różnią się od ok. 25 do 40% składem aminokwasów białka otoczki wirusa (E; 24). Białko E jest celem przeciwciał neutralizujących wirus. Wszystkie serotypy wywołują chorobę, przy czym serotyp DENV-2 z Azji Południowo-Wschodniej jest bardziej zjadliwy i wywołuje ciężką postać choroby ze śmiertelnymi komplikacjami aniżeli DENV-2 z Ameryki, który jest główną przyczyną gorączki denga (25). Różnice antygenowe są ściśle uzależnione od różnic na poziomie genomu. Każdy serotyp cechuje się antygenową heterogenością związaną z mutacjami we wszystkich domenach białka E, które występują najczęściej zarówno pomiędzy serotypami, jak i w obrębie samych serotypów (26). Spośród 48 szczepów DENV 25,7% różni się składem aminokwasów białka E powstałym w następstwie mutacji. Genotypy heterotypowe różnią się średnio 6,9 mutacjami antygenowymi, genotypy homotypowe 1,9 mutacjami antygenowymi. Mutacje obejmują wszystkie główne domeny białka E i występują w obrębie serotypów i pomiędzy serotypami wirusa dengi (27). Lekki lub ciężki przebieg i nasilenie epidemii dengi są uzależnione od wywołujących je genotypów (28). Okazało się ponadto, że wirus dengi DKE-121 (być może nowy 5. serotyp) izolowany od pacjenta z dengą różni się od DENV-4 na poziomie serotypu i genotypu.

Surowica odpornościowa anty – DKE-121 słabo neutralizuje DENV-4 (29).

W obrębie każdego serotypu wirusa dengi wyróżnia się genotypy o zmienności aminokwasów dochodzącej do 3% (30). DENV-4 zawiera pięć genotypów. Genotypy GI i GII zakażają obecnie ludzi. Źródłem genetycznej różnorodności szczepów o epidemicznym potencjale jest cykl leśny dengi (31). Genotypy różnią się też zaraźliwością. Porównanie szczepów DENV-2 z genotypem amerykańskim z trzema szczepami DENV-2 z genotypem azjatyckim południowo-wschodnim wykazało wzrost 2–65-krotny zdolności do transmisji w przypadku genotypu południowo-wschodniego. Tak więc drobne różnice w modyfikacji wtórnej struktury wirusowego RNA w ogromnym stopniu wpłynęły na replikację wirusa (32).

Wirus dengi krąży w cyklu epidemicznym pomiędzy ludźmi i komarami *Aedes aegypti* (cykl miejski) i w cyklu enzootycznym pomiędzy komarami i małpami nieczłokształtnymi (cykl leśny). Rezerwuarem wirusa jest człowiek. Z reguły w obydwu cyklach denga przebiega łagodnie. Jednak w cyklu leśnym pojawiają się szczepy, które wywołują epidemie wśród ludzi. Każdy serotyp wirusa dengi powstał w wyniku zmian i przejścia wirusa z cyklu leśnego do endemicznego (miejskiego; 33).

## Wirus Zika

Wirus Zika (Flaviridae) ma 20–ścienny wirion, linearny jednopasmowy RNA o polaryzacji dodatniej, który koduje siedem białek niestrukturalnych i trzy białka strukturalne: białko kapsydu (C), prekursorowe białko błony (prM), otoczkę z glikoproteiną E o właściwościach hemaglutyniny i siedem białek niestrukturalnych (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B i NS5). Białko E odpowiada za przyłączenie wirionu do komórki docelowej organizmu gospodarza i indukuje produkcję przeciwciał zobojętniających wirus. Wirus przenoszą komary (*Aedes albopictus*, *A. aegypti*), zakażenie szerzy się też z matki na płód, drogą kontaktów płciowych i przez transfuzję krwi (34). Wirus Zika pojawił się w Afryce Wschodniej, skąd rozprzestrzenił się przed 50–100 laty na Afrykę Zachodnią i Azję, gdzie wyewoluowały trzy genotypy: zachodnioafrykański (klaster nigeryjski), wschodnioafrykański (klaster prototypowy MR766) i klaster azjatycki (35). Wirus replikował się w cyklu komar → małpa → komar i następnie transfer wirusa zaczął odbywać się w cyklu komar → człowiek → komar (36). Okres inkubacji choroby zależy od czynników środowiskowych, zakażonego organizmu i genotypu wirusa. Mediana czasu inkubacji wynosi 6,8 (5,8–7,7) dni, średni czas inkubacji 15,4 (12,7–19,7) dni (37). Większość mutacji i kombinacji mutacji wirusa jest związana z epidemiami i dotyczy białek powierzchniowych wirionu. Setki mutacji pojawiły się w genomie, zanim ród azjatycki wirusa Zika rozprzestrzenił się z Polinezji Francuskiej do Haiti i Brazylii, a stamtąd do Ameryki (38). Mutacje białka niestrukturalnego NS1 349Val, NS5 322Val i 878Glu w mniejszej liczbie stwierdzano w Brazylii, więcej w szczepach z Dominikany i USA, a w 2017 r. występowały w szczepach z Kuby. W części

114 genu NS5 w miarę postępu epidemii walina zastępowała metioninę. Mutacje stwierdzone po raz pierwszy w 2013 r. – Pr Val1Ala i Ser17Asn, Env Val-473Met, NS1 Ala188Val, NS3 Tyr584His, zwłaszcza w NS5 Thr114Val 2014 stanowiły punkt zwrotny i stały się integralną częścią genotypu wywołującego epidemie. Okazało się, że różnorodność genetyczna dwóch głównych rodów wirusa Zika w Oceanii i Ameryce Południowej zwiększyła się od 2013 r. wraz z geograficzną ich ekspansją, przy czym nie dominował żaden ze szczepów rodu z Ameryki Południowej (39).

## Wirus Zachodniego Nilu

Wirus Zachodniego Nilu (WNV) chorobotwórczy szczególnie dla dzikich, wędrownych i drapieżnych ptaków, które są jednocześnie jego głównym rezerwuarem, jest też patogenem człowieka, u koni, bydła, owiec i psów wywołuje głównie zakażenia bezobjawowe (40). Krąży pomiędzy komarami z rodzaju *Culex* (*C. pipiens*, *C. restaunas*, *C. quinquefasciatus*) i ptakami. Replikuje się w cyklu komar → ptak → komar, część zakażonych komarów podczas kąsania przenosi zakażenie na ludzi i zwierzęta. Wyróżnia się dziewięć rodów (lineages) WNV, ród czwarty zawiera nowy wariant (LEIVKrnd88–190) wyizolowany od kleszcza *Dermacentor marginatus* w Rosji w 1998 r. Genomowy RNA wirusa (ok. 11 kb) składa się z jednej długiej otwartej ramki odczytu (ORF) i dwóch niekodujących regionów. Koduje białko kapsydu (C), białko prM i białko otoczeki (Env) oraz siedem białek niestrukturalnych (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4, NS4B, NS5; 41). Wirus Zachodniego Nilu stanowi względnie homogeną populację, najbardziej odległe szczepy wirusa różnią się tylko kilkoma substytucjami nukleotydów lub aminokwasów (42). Haplotypy wirusa nie ulegają zmianom w enzootycznym cyklu transmisji wirusa. Epidemie gorączki Zachodniego Nilu z objawami neurologicznymi wywołują szczepy z rodu 1. Od glikozylacji miejsca N białka otoczeki wirusa zależy neuroinwazyjność u myszy, replikacja wirusa i jego transmisja do komara (43). Mutacja w 22 i w 72 pozycji kodonu białka prM zwiększa zjadliwość i rozsiewalność wirusa, podczas gdy glikozylacja w pozycji 154–156 w Env wpływa na zjadliwość (44).

## Wirus wścieklizny

Wirus wścieklizny (*Lyssavirus*; Rhabdoviridae) o kształcie pocisku (60 × 300 nm) w nukleokapsydzie zawiera jednopasmowy, niesegmentowany RNA o polaryzacji ujemnej oraz posiada 2-warstwową lipidową osłonkę z transbłonowymi glikoproteinowymi kolcami. Genom koduje pięć białek: nukleoproteinę N, fosfoproteinę P, białko matriks M, glikoproteinę G i polimerazę L. Rybonukleokapsydowy kompleks umożliwia wirusowi transkrypcję i replikację w cytoplazmie zakażonej komórki. Wszystkie biotypy wirusa są patogenne dla człowieka, zarówno klasyczny wirus wścieklizny (RABV), jak i wirusy izolowane od nietoperzy: Lagos (LBV), Mokola (MOKV), Duvenhage (DRV), europejskie wirusy wścieklizny nietoperzy (EBLV1 i EBLV2), australijski wirus wścieklizny

nietoperzy (ABLV) oraz gatunki pokrewne (rabies-related), jak Aravan, Khujand, Irkut i zachodnio-kaukaskie wirusy wyosobnione od euroazjatyckich nietoperzy (45, 46). Wyróżniono dwa główne filogenetyczne klasterzy RABV, jeden związany z nietoperzami (bat gathering), drugi z psami (47). Różne podgrupy RABV klasteru związanego z nietoperzami nie ewoluowały w jednakowym tempie, podczas gdy w przypadku RABV psów tempo ewolucji było stałe. Izolaty RABV specyficzne dla nietoperzy krążą na półkuli południowej głównie wśród nietoperzy, w mniejszym zakresie w populacji zwierząt mięsożernych (skunks, szop), zaś izolaty RABV specyficzne dla psów szybko rozprzestrzeniły się na świecie i krążą głównie wśród psów, w Europie wśród także wolno żyjących dzikich zwierząt mięsożernych, takich jak lisy i szopy pracze, lisy na Środkowym Wschodzie, szopy i borsuki w Azji, skunksy, lisy, kojoty i mangusty w Amerykach (47). Do globalnego rozprzestrzenienia się RABV przyczynił się rozwój handlu światowego zapoczątkowany w XV wieku (48). Tempo substytucji nukleotydów u wirusów wścieklizny w RABV nietoperzy jest większe u gatunków tropikalnych i subtropikalnych aniżeli u gatunków strefy umiarkowanej, na co mogą też mieć wpływ czynniki środowiskowe i organizm zakażony (49). Średnie tempo zmian ewolucyjnych RABV psów wynosi  $2,44 \times 10^{-4}$  podstawień/miejsce/rok dla pięciu połączonych genów, przy czym tylko w przypadku genu P tempo podstawienia nukleotydu jest istotnie wyższe aniżeli dla genów N i L (47). Mutacje białka P RABV modulują odpowiedź naturalną gospodarza na zakażenie, ale zmniejszają replikację wirusa (50). Gen N RABV krążących w populacji fretek i borsuków w Azji i mangust w Afryce ewoluował ok. 2–4 razy szybciej ( $7,82 \times 10^{-4}$  podstawień/miejsce/rok) aniżeli geny RABV psów ( $5,88 \times 10^{-4}$  podstawień/miejsce/rok). Mutacja Leu-N374-Ser i prawdopodobnie Lys-L200-Arg ułatwiają adaptację RABV do organizmu fretek i borsuków. Niektóre mutacje genów N, P, M i G wpływają na zjadliwość wirusa i jego rozprzestrzenianie się w ośrodkowym układzie nerwowym. Już po podstawieniu asparaginy<sub>194</sub> przez lizynę<sub>194</sub> w białku G niepatogennego atenuowanego szczepu RABV (SPBNGA) nabywa on zjadliwości, natomiast mutacja nie zachodzi w przypadku podstawienia asparaginy<sub>194</sub> przez serynę<sub>194</sub> (51).

### SARS-CoV-2

Koronawirusy wywołujące zespół ciężkiej ostrej niewydolności oddechowej (SARS), bliskowschodni zespół niewydolności oddechowej (MERS; 2), a zwłaszcza pandemię COVID-19 (SARS-CoV-2), zajęły czołowe miejsca wśród zakażeń XXI wieku (52). Wszystkie przekroczyły granicę międzygatunkową człowiek → zwierzę i uzyskały zdolność do szerzenia się wśród ludzi, głównie na drodze kontaktów bezpośrednich człowiek zakażony → człowiek zdrowy. Przekroczenie bariery międzygatunkowej i adaptacja wirusów do organizmu człowieka jest następstwem mutacji i rekombinacji genetycznych, zmian epigenetycznych, dryftu oraz przesunięcia antygenowego. Rolę w tym procesie odegrała także zmiana

powinowactwa wirusa do receptorów komórki gospodarza, delecja w łożdźce neuraminidazy lub mutacja w miejscu przyłączenia receptorów do komórki gospodarza (53). Protoplastą i najważniejszym rezerwuarem koronawirusów są nietoperze (54), natomiast łaskun chiński (paguma chińska) w przypadku SARS, a wielbłąd jednogarbnny w przypadku MERS są najprawdopodobniej tylko gospodarzami pośrednimi, a nie głównymi rezerwuarami tych koronawirusów (55), podobnie jak lama w przypadku koronawirusa ludzkiego HCoV-229 E (56).

Sferyczny wirion koronawirusa SARS-CoV-2 z osłonką białkową z kolcami (12–12 nm), które nadają wirionowi kształt korony słonecznej, posiada genom utworzony z jednopasmowego RNA (32 kb) kodującego długie białko ORF1ab na zakończeniu genomu 5', cztery białka strukturalne: glikoproteina S zbudowana z dwóch podjednostek S1 i S2, białko osłonki wirusa E, glikoproteinę M związaną z błoną komórkową i białko nukleokapsydu N. Glikoproteina kolca umożliwia SARS-CoV-2 zakażenie, jest najważniejszym antygenem wirusa i przeciwko temu antygenowi są ukierunkowane przeciwciała indukowane przez większość obecnie stosowanych szczepionek (57). S1 zawiera domenę N-terminalną o funkcji receptora oraz „tarczy”, która chroni przed działaniem przeciwciał i domenę C-kończącą, która łączy się z receptorem komórki gospodarza ACE2 (enzym konwertujący angiotensynę). S1 jest najważniejszym induktorem przeciwciał ochronnych. Zmiany w S1 zachodzą w wyniku dryftu antygenowego z innym wariantem w procesie zakażenia lub pod wpływem antygenów szczepionki lub delecji i mutacji. S2 zawiera peptyd wiążący (spike fusion peptide), domenę transmembranową i krótki cytoplazmatyczny ogonek.

Analiza genomów SARS-CoV-2 z Japonii (Aichi), USA (Wisconsin) i Australii (Victoria) wykazała obecność dwóch delecji, jedna obejmowała 3, a druga 24 nukleotydy w ORF1ab i jedną delecję w zakończeniu genomu 3' oraz 93 mutacje wzdłuż całego genomu (58), w tym 29 mutacji missensowych (missense mutations) dotyczyło ORF1ab 8 mutacji glikoproteiny powierzchni kolca, jedna białka M i cztery białka nukleokapsydu. Trzy mutacje (D<sup>354</sup>, Y<sup>364</sup>, F<sup>367</sup>) występowały w domenie wiążącej receptor glikoproteiny powierzchni kolca. Mutacje indukują zmiany w konformacji epitopów, wiążą się ze zmianą struktury antygenowej wirusa. Wynikiem mutacji w sekwencji D614G, która polega na substytucji kwasu asparaginy nowego przez glicynę w pozycji 614 w glikoproteinie kolca, jest pojawienie się nowego wariantu wirusa różniącego się wirulencją, antygenowością i transmisyjnością. Została ona po raz pierwszy zidentyfikowana w 2020 r. (59, 60).

Sekwencjonowanie genomu SARS-CoV-2 w jednym roku pandemii COVID-19 wykazało, że tempo substytucji nukleotydu wynosi ok.  $\sim 1 \times 10^{-3}$ /rok (61), a więc jest zbliżone do notowanego dla wirusa Ebola w latach 2013–2015 w epidemii w Afryce Zachodniej, które wynosiło  $1,42 \times 10^{-3}$ . Mutacja D614G, która występuje u 80% szczepów SARS-CoV-2, ułatwia zakażenie ludzkich komórek z ekspresją ACE2, zwiększa zakaźność i transmisyjność wirusa. Stwierdzono

ją po raz pierwszy w lutym 2020 r. (59). W głównym kładzie (ród oraz podrodziny Pango B1) występują dodatkowo mutacje genetyczne podjednostek polimerazy NSP12 i P323L. Mutacja N501Y wystąpiła u pacjenta z immunosupresją, cechuje się większą transmisyjnością i śmiertelnością (62), natomiast mutacje w glikoproteinie S1 kolca N501Y, Δ69–70, Δ144, P681H zwiększyły możliwość wiązania z ACE2. W marcu 2020 r. stwierdzono w Europie i USA mutacje kolca N439K i D614G, które zwiększyły wiązanie wirusa z ACE2.

Delecje i obcięcia w ORF7a, ORF6 i ORF8 pojawiają się niezależnie. Ze łagodniejszym przebiegiem choroby wiąże się delecja w otwartej ramce ORF8. Ramka koduje dodatkowe białko o 121 aminokwasach, które najprawdopodobniej osłabia odpowiedź przeciwważaką. Wirusy z klasteru z Singapuru cechowała delecja 382. nukleotydu, co prowadziło do skrócenia ORF7b i całkowitej ablacji ekspresji ORF8. Zmutowany szczep był mniej zjadliwy (63). W 2000 r. stwierdzono transmisję SARS-CoV-2 pomiędzy norkami, norką → człowiekiem i człowiekiem → norką (64). Wiele izolatów z Danii wykazywało mutację Y453F domeny wiążącej receptora kolca, która zwiększa powinowactwo do ACE2 nerek. W rodzie B.1.1.7 wystąpiło osiem mutacji w glikoproteinie kolca, w tym w N501Y w domenie wiążącej receptora i P681H w miejscu rozszczepienia furyny. Te mutacje wpływają zarówno na wiązanie wirusa z komórką gospodarza, jak i na jego replikację. Adaptacja SARS-CoV-2 do norki umożliwiła wirusowi częściowe unikanie odporności humoralnej. Zarówno mutacja Y453F, jak i N501T zwiększyły silniejsze związanie receptora kolca z ACE2.

W listopadzie 2021 r. zidentyfikowano w Afryce Południowej wariant SARS-CoV-2 (B.1.1.529; VOC) nazwany omikron. Według WHO (65) w przypadku tego wariantu ryzyko reinfekcji jest znacznie wyższe aniżeli przy wariantach delta. Nie wiadomo, czy zakażenie nowym wariantem powoduje przebieg choroby cięższy w porównaniu do zakażeń innymi wariantami, w tym wariantem delta. Ten nowy wariant można wykryć stosowanym powszechnie w diagnostyce zakażeń COVID-19 testem PCR. Szczepionki zalecane są skutecznie w przypadku wariantu omikron. W COVID-19 o przebiegu ciężkim wywołanym przez wariant omikron można zalecać leczenie kortykosteroidami i blokerami interleukiny-6. Zwraca się uwagę, że gdy wcześniejsze warianty, alfa, beta i delta, pojawiły się w populacji o niskiej odporności przeciw SARS-CoV-2, to omikron pojawił się przy wzrastającej grupowej (stadnej) odporności poszczepiennej. W Republice Południowej Afryki w czasie zaledwie kilku dni stał się on wariantem dominującym, zastępując wcześniejszy wariant delta. Dominacja wariantu delta na świecie wiązała się ze zwiększoną transmisyjnością, większą wirusowością, dłuższym czasem zakaźności i wysokim wskaźnikiem reinfekcji (66). Wariant omikron jest efektem co najmniej substytucji 30 aminokwasów, trzech małych delecji i jednej insercji, przy czym 15 z 30 substytucji aminokwasów dotyczy domeny receptora wiążącego kolca (RBD) – reszty aminokwasowe 319–541. Zmiany i delecje występują też w innych regionach genomu (67).

Informacje odnośnie zakaźności i zjadliwości wariantu omikron, często podawane w środkach masowego przekazu, nie znajdują uzasadnienia w dotychczas opublikowanych badaniach.

## Piśmiennictwo

- Kikkert M.: Innate immune evasion by human respiratory RNA viruses. *J. Innate Immun.* 2020, **12**, 4–20.
- Simmons R.A., Willberg C.B., Klenerman P.: Immune evasion by viruses. *Wiley on Line Library*, <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0024790>
- Jagger B.W., Digard P.: An overlapping protein-coding region in influenza A virus segment 3 modulates the host response. *Science* 2012, **337**, 199–204.
- Cox N.J., Subbarao K.: Global epidemiology of influenza: Past and present. *Annu. Rev. Med.* 2000, **51**, 407–421.
- Voorhees I.E.H., Glaser A.L., Toohey-Kurth K., Newbury S., Dalziel B.D., Dubovi E.J., Poulsen K., Leutenegger C., Willgert K.J.E., Brisbane-Cohen L., Richardson-Lopez J., Holmes E.C., Parrish C.R.: Spread of canine influenza A (H3N2) virus, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2017, **23**, 1950–1957.
- WHO: Managing epidemics. Key facts about major deadly diseases. WHO 2018, <https://www.who.int/emergencies/diseases/managing-epidemics-interactive.pdf>
- Taubenberger J.K., Morens D.M.: 1918 influenza: the mother of all pandemics. *Emerg. Infect. Dis.* 2006, **12**, 15–22.
- Liu Q., Zhou Y., Yang Z.: The cytokine storm of severe influenza and development of immunomodulatory therapy. *Cell Mol. Immunol.* 2016, **13**, 3–10.
- Ducatez M.F., Pelletier C., Meyer G.: Influenza D virus in cattle, France, 2011–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2015, **21**, 368–371.
- Allen J.D., Ross T.M.: H3N2 influenza viruses in humans: Viral mechanisms, evolution, and evaluation. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2018, **14**, 1840–1847.
- Delmittgo E., Martinez-Salas E., Sobrino F., de la Torre J.C., Portela A., Ortin J., Lopez-Galindez C., Perez-Brena P., Villanueva N., Najera R., Vandepot S., Steinhauer D., DePolo N., Holand J.: The quasi-species (extremely heterogenous) nature of viral RNA genome populations: biological relevance: A review. *Gene* 1985, **40**, 1–8.
- Brydak L.B.: Grypa. Pandemia grypy mit czy realne zagrożenie? *Oficyna Wyd. Rytm*, Warszawa 2008.
- CDC: Emergence of avian influenza A(H7N9) virus causing severe human illness – China February–April 2013. *M.M.W.R.* 2013, **62**, 1–5.
- Zost S.J., Wu N.C., Hensley S.E., Wilson I.A.: Immunodominance and antigenic variation of influenza virus hemagglutinin: Implications for design of universal vaccine immunogens. *J. Infect. Dis.* 2019, **219**, 38–45.
- Reid A.H., Taubenberger J.K.: The origin of the 1918 pandemic influenza virus: A continuing enigma. *J. Gen. Virol.* 2003, **84**, 2285–2292.
- Peiris JS, Hui KP, Yen HL.: Host response to influenza virus: protection versus immunopathology. *Curr. Opin. Immunol.* 2010, **22**, 475–481.
- Wierzbicka-Woś A., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Układ odpornościowy a wirus grypy. *Postępy Hig. Med. Dośw.* (online) 2015, **69**, 214–220.
- Landolt G.A., Olsen C.W.: Up to new tricks: A review of cross-species transmission of influenza A viruses. *Anim. Health Res. Rev.* 2007, **8**, 1–21.
- Song D., Kang B., Lee C., Jung K., Ha G., Kang D., Park S., Park B., Oh J.: Transmission of avian influenza virus (H3N2) to dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2008, **14**, 741–746.
- Li G., Wang R., Zhang Z., Wang S., He W., Zhang J., Liu J., Cai Y., Zhou J., Su S.: Genetic and evolutionary analysis of emerging H3N2 canine influenza virus. *Emerg. Microb. Infect.* 2018, **7**, 73. [Doi: 10.1038/s41426-018-0079-0](https://doi.org/10.1038/s41426-018-0079-0).
- Shao W., Li X., Goraya M.U., Wang S., Chen J.L.: Evolution of influenza A virus by mutation and re-assortment. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, **18**, 1650. [Doi: 10.3390/ijms18081650](https://doi.org/10.3390/ijms18081650).
- Orlich M., Gottwald H., Rott R.: Non homologous recombination between the hemagglutinin gene and the nucleoprotein gene of an influenza virus. *Virology* 1994, **204**, 462–465.
- He C.Q., Han G.Z., Wang D., Liu W., Li G.R., Liu X.P., Ding N.Z.: Homologous recombination evidence in human and swine influenza A viruses. *Virology* 2008, **380**, 12–20.
- Van Blargan L.A., Goo L., Pierson T.C.: Deconstruction the antiviral neutralizing-antibody response: Implications for vaccine development and immunity. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2016, **80**, 989–1010.
- Rico-Hesse R., Harrison L.M., Salas R.A., Tovar D., Nisalak A., Ramos C., Boshell J., de Mesa M.T., Nogueira R.M., da Rosa A.T.: Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. *Virology* 1997, **230**, 244–251.

26. Bell S.M., Katzelnick L., Bedford T.: Dengue genetic divergence generates within-serotype antigenic variation, but serotypes dominate evolutionary dynamics. *eLife* 2019; 8: e42496.
27. Waggoner J.J., Balmaseda A., Gresh L., Sahoo M.K., Montoya M., Wang C., Abenynayake J., Kuan G., Pinsky B.A., Harris E.: Hemotypic dengue virus reinfections in Nicaraguan children. *J. Infect. Dis.* 2016, 214, 986–993.
28. Holmes E., Twiddy S.: The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. *Infect. Genet. Evol.* 2003, 3, 19–28.
29. Chen R.E., Smith B.K., Enrico J.M., Gordon D.M., Winkler E.S., Van Blargan L.A., Desai C., Handley S.A., Dowd K.A., Amaro-Carambot E., Cardoso M.J., Sariol C.A., Kallas E.G., Sékaly R.P., Vasilakis N., Fremont D.H., Whitehead S.S., Pierson T.C., Diamond M.S.: Implications of a highly divergent dengue virus strain for cross-neutralization, protection, and vaccine immunity. *Cell Host Microbe* 2021, 11, 1634–1648.
30. Rico-Hesse R.: Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. *Virology* 1990, 174, 479–493.
31. Pollett S., Melendrez M.C., Berry M., Duchêne S., Salje H., Cummings D.A.T., Jarman R.G.: Understanding dengue virus evolution to support epidemic surveillance and counter-measure development. *Infect. Genet. Evol.* 2018, 62, 279–295.
32. Anderson J.R., Rico-Hesse R.: Aedes aegypti vectorial capacity is determined by the infecting genotype of dengue virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2006, 75, 886–892.
33. Messina J.P., Brady O.J., Scott T.W., Zou C., Pigott D.M., Duda K.A., Bhatt S., Katzelnick L., Howes R.E., Battle K.E.: Global spread of dengue virus types: mapping of the 70 year history. *Trends Microbiol.* 2014, 22, 138–146.
34. Sharma A., Lal S.K.: Zika virus: transmission, detection, control, and prevention. *Front. Microbiol.* 2017, 8, 10–17.
35. Musso D., Nilles E.J., Cao-Lormeau V.M.: Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014, 20, 595–596.
36. Hayes E.B.: Zika virus outsider Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2009, 15, 1347–1350.
37. Fourie T., Grard G., Kepare-Goffart I., Briolant S., Fontaine A.: Variability of Zika virus incubation period in humans. *Open Forum Infect. Dis.* 2018, 5, <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy261>
38. Lednicky J., Beau De Rochars V.M., El Badry M., Loeb J., Telisma T., Chavannes S.: Zika virus outbreak in Haiti in 2014: Molecular and clinical data. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016, 10: e0004687 [10.1371/journal.pntd.0004687](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004687)
39. Shi W., Zhang Z., Ling C., Carr M.J., Tong Y., Gao G.F.: Increasing genetic diversity of Zika virus in the Latin American outbreak. *Emerg. Microb. Infect.* 2016, 5, 1–3.
40. Hayes E.B., Sejvar J.J., Zaki S.R., Lanciotti R.S., Bode A.V., Campbell G.L.: Virology, pathology, and clinical manifestations of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2005, 11, 1174–1179.
41. Shah-Hosseini N., Chinikar S., Atefi B., Fooks A.R., Groschup M.H.: Phylogenetic analysis of West Nile genome, Iran. *Emerg. Infect. Dis.* 2014, 20, 1419–1421.
42. Ebel G.D., Carricaburu J., Young D., Bernard K.A., Kramer L.D.: Genetic and phenotypic variation of West Nile virus in New York, 2000–2003. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2004, 71, 493–500.
43. Moudy R.M., Zhang B., Shi P.Y., Kramer L.D.: West Nile virus envelope protein glycosylation is required for efficient viral transmission by Culex vectors. *Virology* 2009, 387, 222–228.
44. Setoh Y.X., Prow N.A., Hobson-Peters J., Lobigs M., Young P.R., Khromykh A.A., Hall R.A.: Identification of residues in West Nile virus pre-membrane protein that influence viral particle secretion and virulence. *J. Gen. Virol.* 2012, 93, 1965–1975.
45. Hooper P.T., Lunt R.A., Gould A.R., Samaratunga H., Hyatt A.D., Gleson L.J., Rodwell B.J., Rupprecht C.E., Smith J.S., Murray P.K.: A new lyssavirus the first endemic rabies-related virus recognized in Australia. *Bull. Inst. Pasteur* 1997, 95, 209–218.
46. Bourhy H., Kissi B., Tordo N.: Molecular diversity of the lyssavirus genus. *Virology* 1993, 194, 70–81.
47. Troupin C., Dacheux L., Tanguy M., Sabeta C., Blanc H., Bouchier C., Vignuzzi M., Duchene S., Holmes E.C., Bourhny H.: Large-scale phylogenomic analysis reveals the complex evolutionary history of rabies virus in multiple carnivore hosts. *PLoS Pathog* 2016, 12: e1006041.
48. Davis R., Nadin-Davis S.A., Moore M., Hanlon C.: Genetic characterization and phylogenetic analysis of skunk-associated rabies viruses in North America with special emphasis on the central plains. *Virus Res.* 2013, 174, 27–36.
49. Streicker D.G., Lemey P., Velasco-Villa A., Rupprecht C.E.: Rates of viral evolution are linked to host geography in bat rabies. *PLoS Path.* 2012, 8(5): e1002720.
50. Wiltzer L., Okada K., Yamaoka S., Larrous F., Kuusisto H.V., Sugiyama M., Blondel D., Bourhy H., Jans D.A., Ito N., Moseley G.W.: Interaction of rabies virus P-protein with STAT proteins is critical to lethal rabies disease. *J. Infect. Dis.* 2014, 209, 1744–1753.
51. Faber M., Faber M.L., Papaneri A., Bette M., Weihe E., Dietzschold B., Schnell M.J.: A single amino acid change in rabies virus glycoprotein increases virus spread and enhances virus pathogenicity. *J. Virol.* 2005, 79, 14141–14148.
52. WHO: Coronavirus disease (COVID-19) outbreak, <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
53. Vijgen L., Keyaerts E., Moës S., Maes P., Duson G., van Ranst M.: Development of One-Step, Real-Time, Quantitative reverse Transcriptase PCR assay for absolute quantitation of Human coronaviruses OC43 and 229E. *J. Clin. Microbiol.* 2005, 43, 5452–5456.
54. Vijaykrishna D., Smith G.J., Zhang J.X., Peiris J.S., Chen H., Guan Y.: Evolutionary insights into the ecology of coronaviruses. *J. Virol.* 2007, 81, 4012–4020.
55. Lim Y.X., Ng Y.L., Tam J.P., Liu D.X.: Human coronaviruses: A review of virus-host interactions. *Diseases* 2016. Doi: 10.3390/diseases4030026.
56. Colisher C.H., Childs J.E., Field H.E., Holmes K.V., Schountz T.: Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006, 19, 531–545.
57. Yu F., Du L., Ojcius D.M., Pan C., Jiang S.: Measures for diagnosing and treating infections by a novel coronavirus responsible for a pneumonia outbreak originating in Wuhan, China. *Microbes Infect.* 2020, 10.1016/j.micinf. 2020.01.003.
58. Phan T.: Genetic diversity and evolution of SARS-CoV-2. *Infect. Genet. Evol.* 2020, 81:104260.
59. Korber B., Fischer W.M., Gnanakaran S., Yon H., Theiler J., Abfalterer W., Hengartner N., Giorgi E.E., Bhattacharya T., Foley B., Hastie K.M., Parker M.D., Partridge D.G., Evans C.M., Freeman K.M., de Silva T.I., Sfeffield COVID-19 Genomics Group.: Tracking changes in SARS-CoV-2 spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. *Cell.* 2020, 182, 812–827.
60. Luring A.S., Hodcroft E.B.: Genetic variants of SARS-CoV-2—What do they mean? *JAMA* 2021, 325, 529–531.
61. Duchene S., Featherstone L., Haritopoulou-Sinaidou M., Rambaut A., Lemey P., Baele G.: Temporal signal and the phylogenetic threshold of SARS-CoV-2. *Virus Evol.* 2020; 6: veaa061.
62. Challen R., Brooks-Pollock E., Read J.M., Dyson L., Tsaneva-Atanasova K., Danon L.: Increased hazard of mortality in cases compatible with SARS-CoV-2 variant of concern 202012/1 – a matched cohort study. *medRxiv* 2021.02.09.21250937.
63. Gong Y.N., Tsao K.C., Hsiao M.J., Huang C.G., Huang P.N., Huang P.W., Lee K.M., Liu Y.C., Yang S.L., Kuo R.L., Chen K.F., Liu Y.C., Huang S.Y., Liu M.T., Yang J.R., Chiu C.H., Yang C.T., Chen G.W., Shih S.R.: SARS-CoV-2 genomic surveillance in Taiwan revealed novel ORF8-deletion mutant and clade possibly associated with infections in Middle East. *Emerg. Microbes Infect.* 2020, 9, 1457–1466.
64. Oude Munnink B.B., Sikkema R.S., Nieuwenhuijse D.F., Molenaar R.J., Munger E., Molenkamp R., van der Spek Paulien A., Rietveld T.A., Kompans M.P.G.: Transmission of SARS-CoV-2 on mink farms between humans and mink and back to humans. *Science* 2020; eabe5901.
65. WHO: Update on Omicron, <https://www.who.int/news/item/28-11-2021-update-on-omicron>
66. Abdool Karim S.S., Abdool Karim Q.: Omicron SARS-CoV-2 variant: a new chapter in the COVID-19 pandemic. *Lancet* 2021. Doi: [https://doi.org/10.1016/S01406736\(21\)02758-6](https://doi.org/10.1016/S01406736(21)02758-6)
67. Volz E., Mishra S., Chand M., Barrett J.C., Johnson R., Geidelberg L., Hinsley W.R., Laydon D.J., Dabrera G., O Toole A., Amato R., Ragonnet-Cronin M., Harrison I., Jackson B., Ariani C.V., Boyd O., Loman N.J., McCrone J.T., Gonçalves S., Jorgensen D., Myers R., Hill V., Jackson D.K., Gaythorpe K., Groves N., Sillitoe J., Kwiatkowski D.P.: Assessing transmissibility of SAES-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Nature* 2021, 593, 266–269.