

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

ННЦ «Інститут біології та медицини»  
Кафедра вірусології

Завідувач кафедри проф. Ірина БУДЗАНІВСЬКА

Протокол № \_\_\_\_ засідання кафедри

від “ \_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 2024 р.

**АНАЛІЗ ЗАХВОРЮВАНOSTІ НА КОРОНАВІРУСНУ ІНФЕКЦІЮ  
COVID-19 У 2022-2023 РОКАХ**

Кваліфікаційна робота бакалавра  
денної форми навчання  
за спеціальністю Біологія  
Сіварта Дмитрія Дмитровича

Науковий керівник від кафедри  
к.б.н., доцент Андрійчук Олена  
Миколаївна

Робота виконана в ТОВ медична лабораторія “CSD LAB” під керівництвом  
Сави Юрія Ігоровича

Оцінка захисту роботи

**Київ – 2024 р.**

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

|               |  |
|---------------|--|
| ACE2          | – Angiotensin I converting enzyme 2                              |
| BAT-CoV       | – Bat coronavirus  |
| CDC           | – Chinese Center for Disease Control and Prevention)             |
| COVID-19      | – COronaVirus Disease 2019                                       |
| ExoN          | – Exonuclease N-terminal domain                                  |
| IKK $\beta$   | – Inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta        |
| MERS-CoV      | – Middle East respiratory syndrome coronavirus                   |
| Mpro          | – main protease  |
| NF $\kappa$ B | – Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells |
| NSP           | – Non-structural protein   |
| ORF           | – Open reading frame   |
| PLpro         | – Papain-Like Protease   |
| SARS-CoV-2    | – Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2        |
| TMPRSS2       | – Transmembrane protease, serine 2                               |
| VOCs          | – Variants of concern  |
| ZBD           | – Zinc folds the N-terminal domain                               |
| ВООЗ          | – Всесвітня організація охорони здоров'я                         |
| ІФН           | – Інтерферон   |

## ЗМІСТ

|  |    |
|--|----|
| <b>ВСТУП</b> .....   | 4  |
| <b>РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ВІРУСНИХ<br/>ХАРАКТЕРИСТИК COVID-19 (Огляд літератури)</b> | 5  |
| <b>1.1. Історична довідка</b> .....  | 5  |
| <b>1.2. Характеристика вірусу</b> .....  | 6  |
| <b>1.2.1. Генетична структура та мінливість</b> .....  | 6  |
| <b>1.2.2. Протеїнова структура</b> .....   | 9  |
| <b>1.2.2.1. Структурні білки</b> .....   | 9  |
| <b>1.2.2.1. Неструктурні білки</b> .....   | 16 |
| <b>1.3. Штами, патогенез, симптоми</b> .....   | 21 |
| <b>РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ</b> .....  | 27 |
| <b>2.1. Матеріали</b> .....  | 28 |
| <b>2.2. Методи дослідження</b> .....   | 28 |
| <b>2.3 R – мова програмування</b> .....  | 29 |
| <b>2.4. Використані бібліотеки та пакети для R</b> .....                                       | 30 |
| <b>РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ</b> .....  | 34 |
| <b>3.1. Аналіз даних за 2022-2023</b> .....  | 34 |
| <b>3.2. Аналіз даних за 2023-2024</b> .....  | 38 |
| <b>ВИСНОВКИ</b> .....  | 45 |
| <b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b> .....  | 46 |

## ВСТУП

Пандемія COVID-19, спричинена новим коронавірусом SARS-CoV-2, призвела до глобальної кризи охорони здоров'я з глибокими наслідками для окремих людей і суспільства в усьому світі. Розуміння патогенезу, клінічних проявів і підходів до лікування COVID-19 має важливе значення для ефективної боротьби з пандемією [1].

Розповсюдження коронавірусу по всьому світу було стрімким та вагомим. Початково виявлений в Ухані, КНР, він поширився на всі континенти, 11 березня 2020 року ВООЗ оголосила про пандемію SARS-CoV-2. Хвороба спричиняється вірусом SARS-CoV-2, який передається переважно повітряно-крапельним шляхом під час кашлю, чхання та розмови.

Епідеміологічне значення хвороби полягає у її високій заразності та здатності до швидкого поширення серед населення. COVID-19 може призводити до серйозних ускладнень, особливо у людей похилого віку або з хронічним захворюваннями. Це створює значні труднощі для систем охорони здоров'я та суспільства в цілому.

5 травня 2023 року, через загальну імунізацію та низхідну тенденцію захворюваності, ВООЗ офіційно заявила про закінчення пандемії, проте захворюваність у світі все одно продовжується.

Метою роботи є статистичний аналіз захворюваності на коронавірусну інфекцію COVID-19 у 2022-2023 роках на базі даних Медичної лабораторії «CSD LAB» та інтерпритування, порівняння.

## РОЗДІЛ 1

### ЕПІДЕМІОЛОГІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА COVID-19

#### 1.1. Історична довідка

У грудні 2019 року в Ухані, Китай, стався спалах пневмонії, який спочатку пов'язували з оптовим ринком морепродуктів Хуанань. У січні 2020 року Китайський центр контролю та профілактики захворювань (CDC) ідентифікував новий коронавірус у зразках пацієнтів, пізніше названий SARS-CoV-2, що призвело до того, що ВООЗ назвала цю хворобу COVID-19. Незважаючи на зусилля зі стримування, COVID-19 швидко поширився по всьому світу, охопивши щонайменше 114 країн протягом трьох місяців, що спонукало ВООЗ оголосити його пандемією 11 березня 2020 року. У Південній Кореї перший випадок COVID-19 з'явився в січні 2020 року, а до 26 березня 2020 року було зареєстровано 9 241 підтверджений випадок і 131 смерть [2,3].

Крім того, два попередні штами коронавірусу, SARS-CoV і MERS-CoV, раніше викликали важкі респіраторні синдроми у людей. SARS-CoV, що походить від підковоносих кажанів у Китаї, призвів до 8096 випадків захворювання та 774 смертей у всьому світі з 2002 по 2003 рік. MERS-CoV, виявлений у Саудівській Аравії в 2012 році, призвів до спалаху на Аравійському півострові: з 2012 по 2019 рік у 27 країнах було зареєстровано 2502 випадки захворювання та 861 смерть. У Південній Кореї штамп із

Саудівської Аравії був пов'язаний з 186 підтвердженими випадками MERS-CoV і 38 смертями у травні 2015 року [3].

## **1.2. Характеристика вірусу**

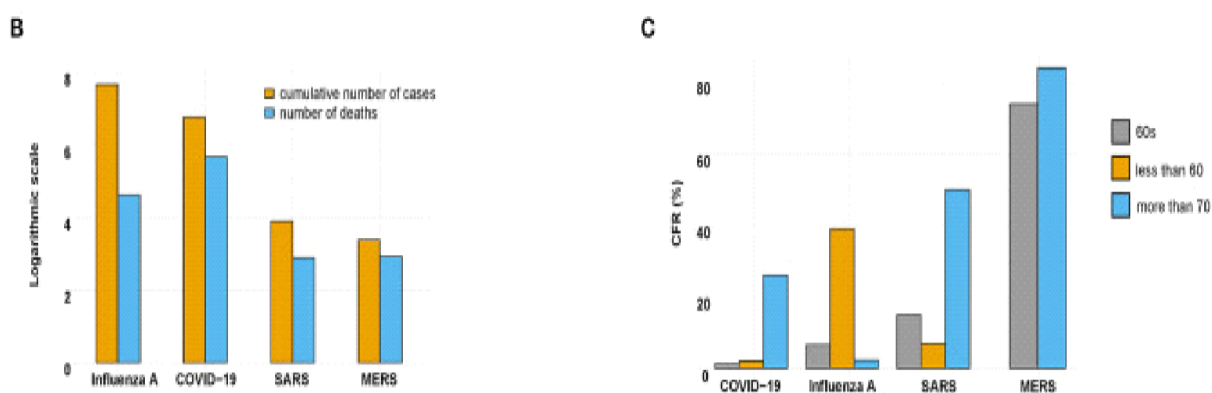
### **1.2.1. Генетична структура та мінливість**

Геном SARS-CoV-2 складається з одноланцюгової позитивної РНК розміром приблизно 29,9 Кб. Він складається з 13-15 відкритих рамок зчитування (ORF), включаючи 12 функціональних, що містять приблизно 30 000 нуклеотидів. Ці ORF кодують 11 генів, що кодують білки, з утворенням 12 експресованих білків. Розташування ORFs дуже нагадує розташування як вірусів SARS-CoV та MERS-CoV. Продукти генів відіграють ключову роль у проникненні, злитті та виживанні вірусу в клітинах хазяїна [4, 5].

Порівняльний аналіз послідовностей показує, що геномна організація SARS-CoV-2 на 89% ідентична з іншими коронавірусами. Вірус кодує поліпротеїн з приблизно 7096 залишків, що складається як зі структурних, так і з неструктурних білків (NSP). За нуклеотидним складом переважають два неструктурні білки, ORF1a і ORF1ab, за якими йдуть структурні білки [4, 6].

MERS-CoV, тісно пов'язаний з SARS-CoV-2, має більший геном з приблизно 30 119 нуклеотидів. Він має 5'-кінцеву структуру і полі(A) хвіст на 3' кінці, а ген гер містить 16 NSP, пронумерованих як nsp1-nsp16. Структурні гени (S, E, M, N) та допоміжні білки (ORF3, ORF4a, ORF4b, ORF5, ORF8) складають близько 10 кб геному на 3' кінці [4, 7].

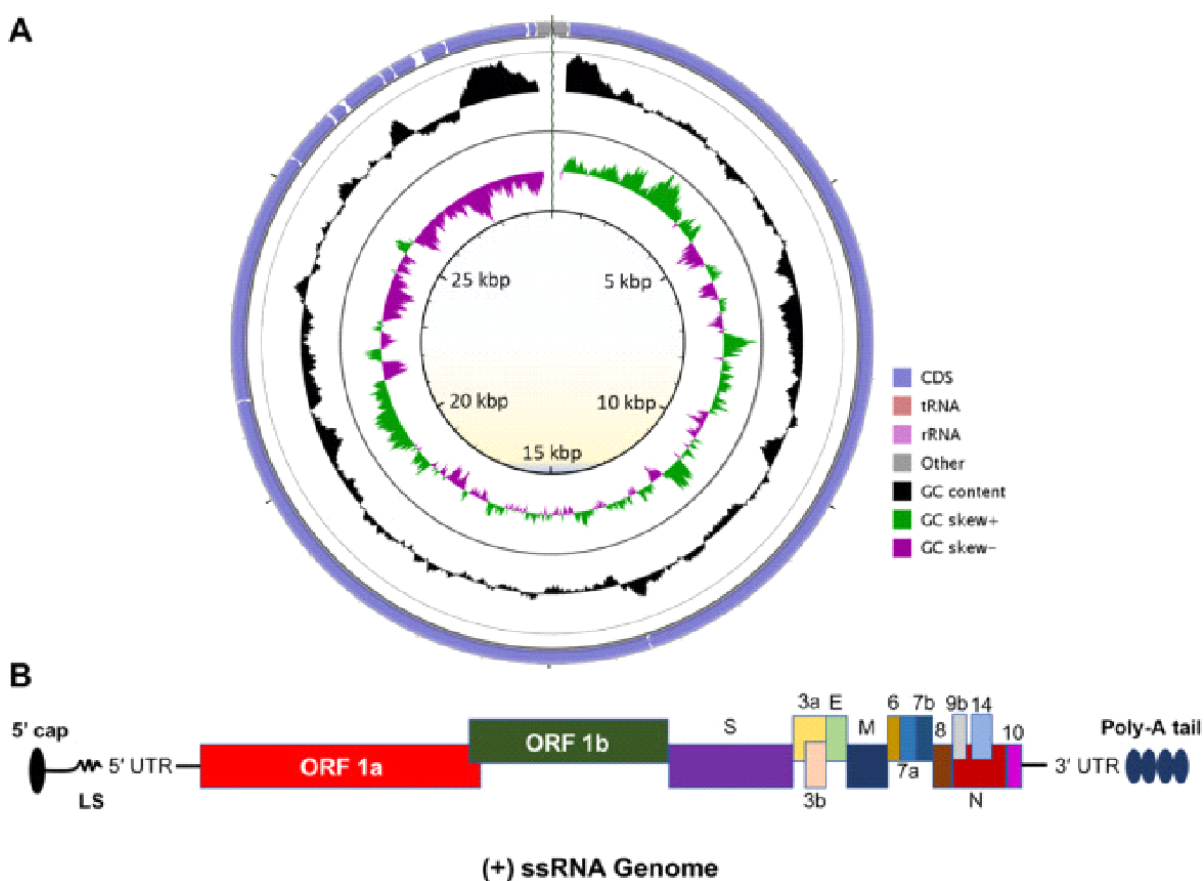
SARS-CoV-2 демонструє відносно вищу інфекційність порівняно з SARS-CoV та MERS-CoV, і приблизно на рівні Influenza A, що потенційно пов'язано з різною епідеміологічною динамікою. Розглядається можливість того, що інші види ссавців можуть виступати в ролі проміжних хазяїв, сприяючи генетичним мутаціям, які сприяють ефективній передачі вірусу людині, тим не менше, невелику статистичну довідку можна спостерігати на рисунку 1.1 [8].



**Рис 1.1** (B) Порівняльний аналіз загальної кількості випадків захворювання та летальних випадків, спричинених вірусами SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV та Influenza A (під час сезонного грипу 2019-2020 рр.). Вірус грипу А продемонстрував найвищий рівень інфікування, тоді як SARS-CoV-2 призвів до найвищої смертності. (C) Показники летальності серед пацієнтів, інфікованих вірусами SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV та грипу А (під час сезонного грипу 2019-2020 рр.), стратифіковані за віковими групами [8, 9].

Порівняльний аналіз послідовностей вказує на значну схожість між геномом SARS-CoV-2 і BAT-CoV, що свідчить про потенційне походження вірусу від кажанів у місті Ухань, Китай. Кажани вважаються природними

резервуарами SARS-подібних коронавірусів, а проміжні хазяї потенційно можуть сприяти передачі вірусу людині. Панголіна також припускають як ймовірне джерело SARS-CoV-2 на основі генної подібності. Дані свідчать про те, що собаки можуть бути інфіковані SARS-CoV-2, можливо, через подібне зв'язування ACE2, як і у людей, що означає потенційну передачу вірусу від людини до тварини [9, 10]. Інформація щодо геному можна спостерігати на рисунку 1.2.



**Рис.1.2.** Ілюстрація мРНК, закритої 5', показує її структурні елементи, включаючи лідерну послідовність на 5' кінці, полі-А-хвіст на 3' кінці, а також 5' і 3' нетрансльовані ділянки. Він охоплює відкриті рамки зчитування для ORF1a, ORF1b, шипа (S), ORF3a, оболонки (E), мембрани (M), ORF6, ORF7a, ORF7b, ORF8, нуклеокапсиду (N) і ORF10 [10].

## 1.2.2. Протеїнова структура

### 1.2.2.1. Структурні білки

Оболонка коронавірусної частинки має виступаючі виступи, відомі як великі поверхневі глікопротеїни або білки-шипи. Ці шипи відповідають за розпізнавання рецепторів хазяїна, ініціювання зв'язування та подальше злиття з мембраною клітини-хазяїна. Термін "коронавірус" походить від латинського слова "corona", що означає "корона", відображаючи схожість цих виступів з короною [10, 11].

Амінокислотна послідовність шипового білка SARS-CoV-2 має приблизно 75% гомології з шиповим білком SARS-CoV. Крім того, субодиниця S1 SARS-CoV-2 демонструє 70% схожість, а субодиниця S2 - 99% схожість з SARS-CoV. Шиповий білок має молекулярну масу приблизно 141178 кДа і складається з 1273 амінокислот. Як правило, коронавірусна частинка може містити близько 50-100 шипових білків [12 - 14].

Спайковий білок структурно організований з ектодомену, трансмембранного сегмента і короткого внутрішньоклітинного фрагмента. Він складається з двох субодиниць: S1, що відповідає за зв'язування рецепторів, та S2, що сприяє злиттю мембран. Ектодомен є тримерним, складається з трьох субодиниць S1 і стебла S2, що утворюють тример. Геномна послідовність та амінокислотний склад шипового білка детально показані на рисунку 1.3, а функціональні компоненти відповідно відображені в [14].

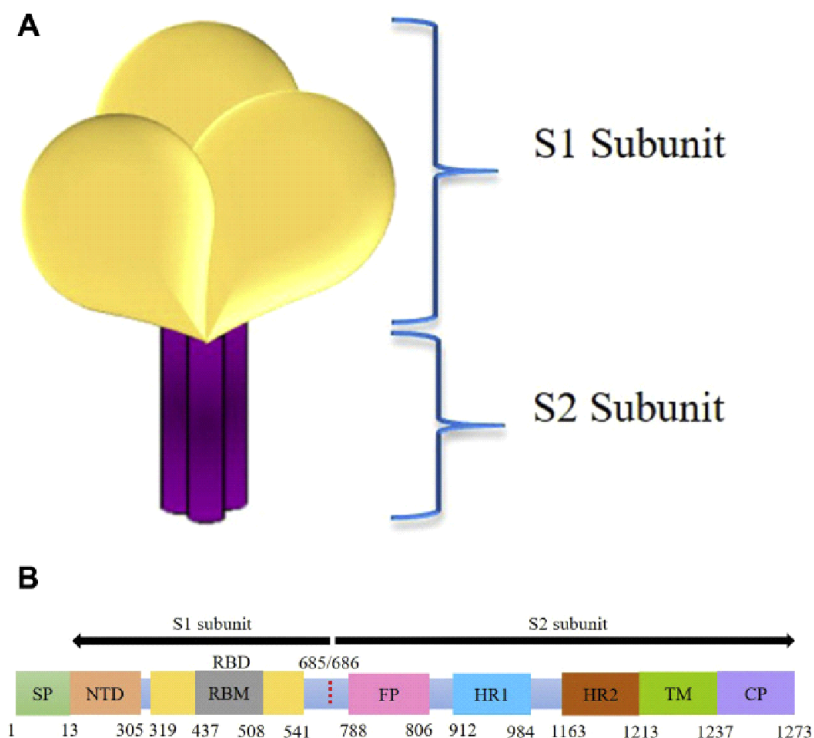
Спайковий білок також сприяє адгезії інфікованих клітин до сусідніх неінфікованих клітин, що полегшує поширення вірусу. Додаткові 12 нуклеотидів біля ділянки розщеплення аргініну корелюють з ділянкою

розщеплення, подібною до фурину, що має вирішальне значення для активації вірусу [15, 16].

У пневмоцитах II типу коекспресуються як ACE2, так і трансмембранна серинова протеаза II типу (TMPRSS2). TMPRSS2 ініціює розщеплення та активацію спайкового білка, сприяючи злиттю мембран та проникненню вірусів у клітини. Спайковий білок зазнає структурної трансформації для мембранного зв'язування, при цьому рецепторний зв'язуючий домен в субодиниці S1 розпізнає і зв'язується з людським ACE2 з підвищеною афінністю порівняно з SARS-CoV. Унікальні структурні особливості в ділянках S1 і S2 роблять SARS-CoV-2 більш чутливим до протеаз клітини-хазяїна [17, 18].

Після зв'язування з рецептором клітини-хазяїна субодиниця S1 дестабілізується і розпадається, що призводить до переходу субодиниці S2 у стабільний постфузійний стан. S2 субодиниця складається з пептиду злиття, протеолітичної ділянки та гептад-повтору. Унікальні для SARS-CoV-2 нові вставки в шиповому білку були ідентифіковані, що демонструють гомологію з білками ВІЛ-1 і Gag [19, 20].

Певні амінокислоти в шиповому білку, такі як глутамін 493, аспарагін 501, лейцин 455, фенілаланін 486 і серин 494, посилюють зв'язування з рецептором ACE2. Таким чином, спайковий білок відіграє ключову роль у проникненні вірусу в клітини хазяїна, а його структурні характеристики впливають на його функціональні властивості. Терапевтичні стратегії, спрямовані на зв'язування спайкового білка з рецепторами хазяїна, можуть запобігти проникненню вірусів у клітини хазяїна [13, 21].



**Рис 1.3.** А Схематичне зображення архітектури спайкового білка. Б.

Геномна послідовність спайкового білка. SP - сигнальний пептид, NTD - N-кінцевий домен, RBM - рецепторний мотив, RBD - рецепторний домен, FP - злитий пептид, HR1 - гептадний повтор 1, HR2 - гептадний повтор 2, TM - трансмембранний домен, CP - цитоплазматичний домен [14].

N-протеїн, який міститься у вірусній структурі, стає помітним у зразках хазяїна на початкових стадіях інфекції. Він зв'язується з вірусною РНК, утворюючи рибонуклеопротеїнове ядро, що має вирішальне значення для проникнення вірусу в клітину хазяїна і подальшої взаємодії з клітинними процесами після злиття вірусу. Послідовність білка SARS-CoV-2 N має приблизно 90% схожість з аналогом у SARS-CoV. Реплікаційно-транскрипційні комплекси, утворені неструктурними білками (nsp), відіграють ключову роль у синтезі вірусного геному [22 - 23].

У SARS-CoV білок N запускає активацію циклооксигенази-2, що викликає запалення легенів. Він також перешкоджає фосфорилуванню фосфопротеїну B23, що має вирішальне значення для прогресування клітинного циклу під час дуплікації centrosomi. Крім того, білок N взаємодіє з субодиницею протеасоми p42, що призводить до деградації вірусного білка, та інгібує інтерферон I типу (ІФН), пригнічуючи імунну відповідь на вірусні інфекції. Дослідження на клітинних лініях показують, що інгібуюча дія N-протеїну на циклін-залежний кіназний комплекс зменшує прогресування S-фази і знижує проліферацію клітин шляхом пригнічення цитокінезу і трансляції білка через агрегацію фактора трансляції, людського фактора елонгації 1  $\alpha$ . Взаємодія між білком N та гетерогенним ядерним рибонуклеопротеїном посилює синтез вірусної РНК [24, 26].

Структурний аналіз N-кінцевого домену N-білка SARS-CoV-2 виявляє асиметричну конформацію, що нагадує зап'ястя з кислотними ділянками, які утворюють долоню, та  $\beta$ -листовими розширеннями, подібними до пальців. N-кінцевий домен зв'язується з геномом РНК переважно в ділянці N45-181, діючи як мономер. Ключові амінокислоти, такі як аргінін у положенні 94 і тирозин у положенні 122, беруть участь у зв'язуванні РНК SARS-CoV. Центральна область лінкера, багата на залишки серину та аргініну (SR-область), містить життєво важливі сайти фосфорилування, що регулюють функцію N-білків. Димеризація N-білків полегшується взаємодією всередині SR-молекул [22, 27].

C-кінцевий домен, гідрофобний і багатий на спіралі, полегшує димеризацію і містить залишки, які самоасоціюються з утворенням гомодимерів. Структурно кожна асиметрична ділянка C-кінцевого домену складається з чотирьох окремих гомодимерів, що утворюють октамер у формі літери "X". Позитивні заряди на N-кінці вказують на те, що це

основний сайт для зв'язування нуклеїнової кислоти. Великі сили відштовхування між компонентами домену запобігають взаємодії всередині доменів, що забезпечує електростатично більшу поверхню зв'язування. Після зв'язування нуклеїнової кислоти нейтралізація зарядів сприяє накопиченню білкової молекули, що призводить до олігомеризації та утворення нуклеокапсиду.

Багатогранна активність N-білка є невід'ємною частиною вірусної функції та проліферації, що робить його привабливою мішенню для терапевтичного втручання поряд зі спайковим білком [13, 28].



**Рис. 1.4.** Геномна послідовність білка SARS-CoV-2 [29]

Блок E, невеликий інтегральний мембранний білок, складається з N-кінцевого домену, гідрофобного домену і C-кінцевого ланцюга, що зазвичай містить 76-109 амінокислот і важить 8-12 кДа [13, 30].

N-кінцева ділянка охоплює амінокислоти з 1 по 9, гідрофобний домен простягається з 10 по 37 позицію, а C-кінцева ділянка охоплює амінокислоти з 38 по 76 у структурній послідовності білка. Амінокислоти з 1-го по 11-те положення розташовані у віріоні, тоді як гідрофобний хвіст звернений до цитоплазми. Гідрофобна ділянка олігомеризується, створюючи іонну пору через мембрани. Структурний аналіз виявляє пентамерну конфігурацію, що характеризується 35  $\alpha$ -спіралями і 40 петлевими ділянками, з динамічними рухами, які впливають на активність

іонних каналів і підвищують патогенність вірусу. Взаємодії в С-кінцевому домені можуть впливати на цю пентамерну структуру [13].

Примітною особливістю послідовності білка SARS-CoV-2 E є 69-та позиція, де аргінін заміщений аланіном, глутаміном і аспаратом, що відрізняється від інших коронавірусів. Крім того, треонін і валін ідентифіковані в позиціях 55-56. Пальмітоїлювання за залишками цистеїну або N-опосередковане глікозилювання за аспаратом може відбуватися після трансляції, хоча ці модифікації можуть не мати вирішального значення для формування вірусоподібної частинки [13, 27].

Віропорини, такі як білок E, є гідрофобними невеликими білками, необхідними для збірки та вивільнення вірусів, опосередкування патогенних процесів та індукції цитотоксичності. Гетеротипові взаємодії між nsр2 і nsр3 мають вирішальне значення для індукції викривлення мембрани ендоплазматичного ретикулуму, в той час як коекспресія білка M і білка E сприяє утворенню сферичних вірулентних частинок [13, 31].

Цитоплазматичний хвіст білка E SARS-CoV приєднується до цис-комплексу Гольджі через залишки проліну. Додаткові асоційовані з комплексом Гольджі елементи в N-кінцевій ділянці гарантують, що мутації в хвостовій ділянці не впливають на таргетування комплексу Гольджі. Білок E може розсіювати іонний градієнт у проміжному компартменті ендоплазматичного ретикулуму Гольджі та компартменті Гольджі, що потенційно полегшує вихід віріонів[32].

Білок M виділяється серед коронавірусних білків завдяки своїй великій кількості, що складається приблизно з 220-260 амінокислот. Він має короткий N-кінцевий домен, з'єднаний з потрійними трансмембранними доменами, за яким слідує карбоксильний кінцевий

домен. Як член N-зв'язаних глікозильованих білків, він містить консервативний домен, що охоплює 12 амінокислот [27, 33].

Структурні дослідження виявили існування двох форм білка М: довгої та компактної. Будучи гомодимерами N-кінцевого ектодомену та С-кінцевого ендодому, ці форми відрізняються за конформацією, причому ендодомен може подовжуватися або стискатися. Довга форма, переважно асоційована з білком колоса, ймовірно, полегшує встановлення колоса. Залишки тирозину в положенні 211 відіграють вирішальну роль у стабілізації довгої форми, яка вигинає мембрану, створюючи сферичну структуру, що оточує рибонуклеопротеїн [27, 34].

Організований у 2D-ґратку, білок М слугує каркасом під час вірусної збірки. Синтезований на полісомах, пов'язаних з мембранами, він зазнає злиття в ендоплазматичному ретикулумі і транспортується до комплексу Гольджі, де взаємодія з білками Е призводить до генерації віріонів. Серед трьох трансмембранних доменів перший сприяє самоасоціації М-протеїну, підвищує мембранну спорідненість і полегшує утримання в комплексі Гольджі [13, 35].

Активация NFκB є важливою для виклику імунної відповіді проти патогенів. Проте білок М інгібує NFκB через взаємодію з IKKβ, знижуючи рівень циклооксигенази-2 та сприяючи проліферації вірусних патогенів. Крім того, С-кінцева ділянка М-протеїну втручається у взаємодію між 3-фосфоінозитидзалежною протеїнкіназою 1 та протеїнкіназою В, що призводить до вивільнення каспаз 8 і 9 та подальшої загибелі або апоптозу клітин. Крім того, білок SARS-CoV М активує β-інтерферони у клітинних лініях.

Враховуючи його ключову роль у життєвому циклі вірусу, білок М є потенційною терапевтичною мішенню для пригнічення утворення віріонів та зменшення запальних реакцій у клітинах-хазяїнах [36, 37].

#### 1.2.2.2. Неструктурні білки

Nsp1, який утворюється з поліпротеїнових попередників pp1a та pp1ab шляхом розщеплення вірусною папаїноподібною протеазою (PLpro), інгібує трансляцію через взаємодію з комплексом 40S субодиниць рибосоми, як показано за допомогою кріо-ЕМ. Гідрофобне ядро  $\beta$ -бочки складається з трьох шарів, причому перший шар заблокований залишком  $\alpha$ 1-спіралі L46, тоді як середній і нижній шари містять специфічні залишки. Ключові поверхневі залишки, включаючи E36, E37, E41, K47, K58, R124 і K125, що мають вирішальне значення для зв'язування мРНК, є висококонсервативними в SARS-CoV-2. Ділянки на С-кінці nsp1 (aa 122-130 і aa 155-165) є ключовими для пригнічення відповіді ІФН та/або противірусної сигналізації. Молекули природних продуктів, такі як гаринолова кислота та гліциризинова кислота, ідентифіковані як потенційні інгібітори nsp1, демонструють багатообіцяючу здатність блокувати утворення комплексу nsp1/SL1 [38 - 39].

nsp2 SARS-CoV-2, другий білок pp1, складається з N-кінцевих (1-345) і С-кінцевих (438-638) доменів, хоча його точні функції і структурна основа залишаються невизначеними. Висококонсервативний залишок цистеїну, який координує іон  $Zn^{2+}$  в мотиві, подібному до цинкової стрічки, вказує на потенційну взаємодію з нуклеїновими кислотами. Хоча не існує жодного відомого інгібітора nsp2, нігелідин, індазол-алкалоїд, є перспективним для молекулярних докінгових досліджень, спрямованих на кишеньку входу nsp2. Використання імуногенності nsp2 може допомогти в розробці інактивованих

або живих ослаблених вірусних вакцин [39]. Найбільший мембранозв'язаний білок SARS-CoV-2 nsp3 складається з 1945 амінокислот і включає різні домени, в тому числі домен Nsp3a (що включає убіквітин-подібний домен 1 і багатий на глюкозу кислий домен), макродомен-X, унікальні для SARS домени, убіквітин-подібний домен 2, папаїн-подібний протеазний домен, домен, що зв'язує нуклеїнові кислоти, домен бета-коронавірус-специфічного маркера, трансмембранні домени (TM), ектодомен nsp3, амфіпатична спіраль 1, Y1 та CoV-Y домен. Убіквітин-подібний домен 1 у CoV пов'язаний зі зв'язуванням ssRNA та взаємодією з білком N. Роль кислого домену, багатого на Glu, залишається незрозумілою, хоча білки, багаті на Glu або Asp, зазвичай беруть участь у різних біологічних функціях. Макродомен, або Nsp3b, відіграє роль у пригніченні вродженої імунної відповіді і взаємодіє з РНК-залежною РНК-полімеразою. Убіквітин-подібний домен 2 необхідний для пригнічення вродженої імунної відповіді хазяїна. SARS-CoV-2 PLpro розпізнає тетрапептидні мотиви LXGG між різними nsps і розщеплює PPla в певних місцях, вивільняючи nsp1, nsp2 і nsp3. Мономер PLpro складається з чотирьох різних доменів, з активним центром, розташованим на межі доменів великого пальця і долоні. Кілька інгібіторів, таких як VIR251, GRL-0617 та YM155, були ідентифіковані для блокування активної ділянки PLpro, що робить його цінною мішенню для лікування інфекцій, спричинених SARS-CoV-2 [39 - 41].

Передбачається, що nsp4 SARS-CoV-2 є мембранозв'язаним білком, який вивільняється за рахунок комбінованої активності протеаз nsp3 і nsp5. Доступна обмежена структурна інформація, але він містить чотири трансмембранні домени: N-кінцевий, люменальний, TM3 та C-кінцевий. Ці домени мають вирішальне значення для продуктивної вірусної інфекції, а C-кінцевий домен знаходиться на цитоплазматичному боці мембрани. Nsp4,

ймовірно, сприяє закріпленню вірусного комплексу RTC в асоціації з іншими інтегральними білками вірусної мембрани, такими як nsp3 і nsp6. Мутації в люменальному домені асоціюються з втратою глікозилування nsp4, перебудовою мембрани та порушенням реплікації РНК [42].

NSP5 SARS-CoV-2, також відомий як основна протеаза (M<sub>pro</sub>) або 3С-подібна протеаза, відповідає за процесинг вірусного поліпротеїну і є ключовою мішенню для противірусної терапії. Мономерна структура M<sub>pro</sub> SARS-CoV-2 складається з N-кінцевих доменів (домен-I і домен-II) та C-кінцевого домену-III. Домени I і II утворюють антипаралельні β-бочки, що містять каталітичну діаду з Cys145 і His41 на їх інтерфейсі. Остання C-кінцева спіраль в домені-III полегшує димеризацію через сольовий місток між Glu290 одного протомеру та Arg4 іншого. N-кінцевий хвіст, відомий як "N-палець" молекули B, встановлює зв'язок між доменом-II молекули A та доменами-II і III вихідних мономерів. Таке розташування стабілізується ключовими H-зв'язками, утвореними залишками Ser1 та Glu166. Активний центр, розташований на межі домену I та домену II, містить п'ять субстрат-зв'язуючих субодиниць (S1, S2, S3, S4 та S5). Для впливу на SARS-CoV-2 M<sub>pro</sub> були використані різні противірусні інгібітори, включаючи N3, інгібітор кальпаїну II, α-кетоамід та пероральний противірусний препарат PF-07321332. Ці інгібітори взаємодіють зі специфічними залишками в активному центрі, утворюючи нековалентні або ковалентні взаємодії з каталітичною діадою або іншими критичними залишками [39, 43].

SARS-CoV-2 nsp6 - це трансмембранний білок, розташований в ендоплазматичному ретикулумі. Він бере участь в утворенні аутофагосом, які вивільняють вірусні компоненти в лізосоми для деградації. SARS-CoV nsp6 та вірус гепатиту мишей nsp6 містять шість трансмембранних доменів з висококонсервативними залишками лізину та гістидину, позначеними як

петля КН в доменах ТМ2 та ТМ3. Функція цієї цитозольної петлі залишається невідомою. Як N-, так і С-кінці nsp6 відкриті для цитозолу. С-кінцевий домен містить сайт пальмітоїлювання, який, як передбачається, є залишком цистеїну в консервативному мотиві G(X)C(X)G. nsp9 SARS-CoV-2 слугує білком, що зв'язує іРНК, необхідним для реплікації вірусу. Структурно nsp9 демонструє гомологію до субдомену серинової протеази, особливо нагадуючи перший домен пікорнавірусу 3С-подібна протеаза. Цей білок має незвичайну складку, унікальну для коронавірусів, з б-ланцюговим закритим  $\beta$ -бочкоподібним ядром з розширеними петлями назовні. Дві позитивно заряджені петлі, багаті на гліцин,  $\beta 2$ - $\beta 3$  і  $\beta 3$ - $\beta 4$ , беруть участь у зв'язуванні РНК. N-кінцевий  $\beta$ -ланцюг у SARS-CoV-2 nsp9 утворює димерний інтерфейс з С-кінцевою  $\alpha 1$ -спіраллю, а висококонсервативний мотив GXXXG полегшує пакування спіралі на залишках G100 і G104. Гідрофобні залишки в  $\alpha 1$ -спіралі створюють воронкоподібну гідрофобну порожнину на межі розділу димерів. Крім того, включення N-кінцевої мітки та послідовності риновірусної протеази 3С додатково модифікує структуру, впливаючи на зв'язування РНК. Аналог урацилу FR6 змінює стан олігомеризації nsp9, впливаючи на канали входу РНК і вірусну проліферацію, порушуючи димерний інтерфейс і зв'язування РНК [39, 44].

Nsp10 - це невеликий однодоменний білок, який діє як каркас для зв'язування з nsp14 (екзонуклеазою та N7-метилтрансферазою) та nsp16 (2'-О-метилтрансферазою), утворюючи комплекс метилювання ковпачка мРНК. Кристалічна структура nsp10 виявляє спіральний домен, антипаралельний  $\beta$ -шар і два цинк-зв'язуючі сайти. Короткий пептид K29 інгібує 2'-О-метилтрансферазну активність nsp16. Nsp14, біфункціональний білок, складається з N-кінцевого екзонуклеазного (ExoN) домену та N7-метилтрансферазного домену, критично важливих для формування ковпачка

РНК та коректури під час вірусної реплікації. Домен ExoN, що містить два мотиви цинкових пальців, бере участь у вичитуванні та захисті вірусного геному. Утворення комплексу nsp10 з nsp14 стабілізує активність ExoN, посилюючи вірусну реплікацію. Інгібітори Nsp14 та нуклеотидні аналоги використовуються для блокування активності ExoN та запобігання розвитку протівірусної резистентності. Nsp16, S-аденозилметіонін-залежний 5'-метилкепінговий фермент, для своєї активності потребує nsp10. Порухення інтерфейсу nsp10/nsp14 або nsp10/nsp16 може бути перспективною терапевтичною стратегією, оскільки взаємодія nsp10 з цими білками має вирішальне значення для їх оптимальної активності. Націленість на РНК-кінцеву метилтрансферазу (nsp16) може бути життєво важливою для розробки протівірусних препаратів проти SARS-CoV-2, хоча ефективні інгібітори наразі недоступні [39, 45].

SARS-CoV-2 nsp13 функціонує як РНК-геліказа, відіграючи важливу роль у розкручуванні дволанцюгової РНК (длРНК) або ДНК (длДНК) на окремі ланцюги в АТФ-залежний спосіб. Його геліказа активність може бути посилена шляхом зв'язування з білком-полімеразою. Крім того, було виявлено, що nsp13 пригнічує вироблення інтерферону типу I, а надмірна експресія пригнічує рівень  $\beta$ -інтерферону в клітинах-хазяїнах. Структурно nsp13 містить N-кінцевий цинк-зв'язуючий домен (ZBD), два субдомени геліказа RecA1 і RecA2 та  $\beta$ -стебловий домен 1B, з'єднаний з ZBD через спіральну ділянку стебла. Дві копії nsp13 можуть взаємодіяти з основним комплексом nsp7-nsp8-nsp12 по різні боки щілини зв'язування РНК. Взаємодія опосередкована доменами ZBD і 1B, які взаємодіють з доменами nsp8 і nsp12. Структура nsp13 в комплексі з nsp8 і nsp12 дозволяє припустити потенційні наслідки для активності та регуляції геліказа. Було виявлено, що

нові інгібітори, такі як FPA-124 та сураміноподібні сполуки, пригнічують активність вірусної гелікази [46 - 48].

SARS-CoV-2 nsp15 - це уридин-специфічна ендорибонуклеаза, яка має високу консервативність серед коронавірусів. Вона втручається у вроджену імунну відповідь, пригнічуючи реакцію інтерферону (ІФН) та апоптоз, опосередкований мітохондріальним противірусним сигнальним білком. Nsp15 містить три дискретні домени: N-кінцевий домен "крило", середній домен "тіло" і C-кінцевий каталітичний домен "крило" NendoU. N-кінцевий домен складається з двох  $\alpha$ -спіралей і трьох антипаралельних  $\beta$ -листів, тоді як середній домен містить десять  $\beta$ -ланцюгів, які утворюють гексамер. C-кінцевий каталітичний домен NendoU містить два антипаралельні  $\beta$ -листи і утворює активний центр. Інгібітори, націлені на nsp15, включають модифіковані олігонуклеотиди, що містять похідні урацилу або похідні, такі як 2'-фтор-модифікована РНК і типірацил на уридин-рибозі. Типірацил пригнічує активність EndoU і зв'язується з уридином, порушуючи стабільність гексамерної конформації. SARS-CoV-2 з дефектами nsp15 був запропонований як жива атенуйована вірусна вакцина [39, 49].

### **1.3. Штами, патогенез, розповсюдження, симптоми**

SARS-CoV-2, як і інші РНК-віруси, зазнає змін у своєму геномі під час реплікації вірусу. Незважаючи на коректувальну здатність комплексу РНК-залежної РНК-полімерази, яка знижує ймовірність нуклеотидних замін порівняно з іншими РНК-вірусами, важливо зазначити, що цей механізм не запобігає делеціям у вірусному геномі. Крім того, хоча коронавіруси мають

апарат коректури, їхні геноми залишаються вразливими до рекомбінацій та інших транскрипційних помилок, пов'язаних з вибором копій. Ці характеристики в поєднанні з широким розповсюдженням вірусу серед людської популяції в різних географічних регіонах призвели до появи нових варіантів вірусу, які відрізняються за способом передачі, патогенністю, діагностикою та ефективністю вакцин порівняно з оригінальним вірусом, що циркулює в Китаї з грудня 2019 року [50].

Коронавіруси зазвичай мають варіанти, і варіант перетворюється на варіант, що викликає занепокоєння, коли його варіації мають клінічні наслідки або наслідки для громадської охорони здоров'я. Центри з контролю та профілактики захворювань запровадили систему класифікації, яка включає варіанти, що становлять інтерес, VOCs та варіанти з високими наслідками. Згідно з критеріями, варіант набуває статусу VOCs, коли він демонструє такі властивості, як широке втручання в мішені діагностичних тестів, знижена чутливість до терапевтичних класів, послаблена нейтралізація антитілами від попередньої інфекції або вакцинації, зниження індукованого вакциною захисту від тяжких захворювань або підвищена трансмісивність і тяжкість захворювання [51, 52].

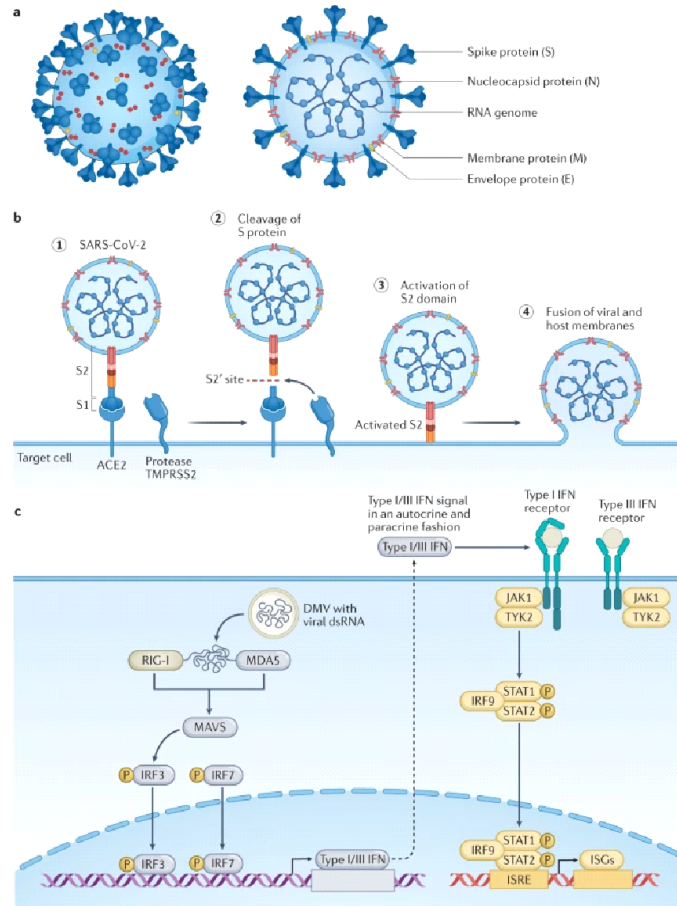
Всесвітньо визнані VOCs включають В.1.1.7 (Альфа), В.1.351 (Бета) і Р.1 (Гамма), що походять з Великої Британії, Південної Африки та Бразилії, відповідно. В.1.617.2 (Дельта), спочатку виявлений в Індії минулого року, нещодавно був класифікований Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) як варіант, що викликає глобальне занепокоєння через його швидке поширення. Цей четвертий варіант був визнаний глобальною загрозою 10 травня 2021 року [53].

Певні варіанти, що становлять інтерес, такі як В.1.427/В.1.429 у США, набули поширення в окремих регіонах і країнах і, як очікується, стануть

VOCs у майбутньому. Хоча Центр контролю та профілактики захворювань США визначив B.1.427 і B.1.429 як VOCs, ВООЗ ще не класифікувала їх як такі [54].

Такі коронавіруси, як SARS-CoV, MERS-CoV та SARS-CoV-2, спричинили значні спалахи серед людей після потрапляння з тваринних резервуарів. Ці віруси вражають насамперед дихальні шляхи, потенційно призводячи до тяжкого респіраторного дистрес-синдрому. SARS-CoV-2, тісно пов'язаний з SARS-CoV, належить до роду сарбековірусів і кодує структурні та неструктурні білки, що мають вирішальне значення для реплікації вірусу та уникнення імунної відповіді хазяїна. Шиповий глікопротеїн відіграє ключову роль у проникненні вірусу, зв'язуючись з рецепторами ACE2 на клітинах хазяїна та опосередковуючи злиття мембран. Після проникнення вірусний геном ініціює виробництво білка, формуючи фабрики реплікації, щоб захистити проміжні продукти дЛРНК від імунного виявлення. Для боротьби з вірусом запускаються вроджені імунні реакції, включаючи вироблення інтерферону та вивільнення цитокінів. Однак, якщо інфекцію не вилікувати, вірус може поширитися до нижніх дихальних шляхів, викликаючи запалення і порушуючи газообмін, особливо в альвеолярних клітинах 2-го типу. Пандемія COVID-19 призвела до глобальної кризи в галузі охорони здоров'я з високим рівнем смертності та значним навантаженням на системи охорони здоров'я. Незважаючи на численні дослідження, специфічних методів лікування COVID-19 досі немає, що підкреслює необхідність глибшого розуміння патогенезу SARS-CoV-2 та імунних реакцій для розробки ефективних методів лікування. Цей огляд зосереджений на останніх досягненнях у розумінні патогенезу SARS-CoV-2, взаємодії з організмом хазяїна та імунної участі у важких захворюваннях,

зокрема COVID-19-асоційованому гострому респіраторному дистрес-синдромі [55, 56].



**Рис 1.4. а** | Структурні компоненти віріона коронавірусу важкого гострого респіраторного синдрому 2 включають шиповий білок (S), нуклеокапсидний білок (N), мембранний білок (M) та оболонковий білок (E).

б|Спочатку S-білок зв'язується з рецептором ангіотензинперетворюючого ферменту 2 на клітині-хазяїні через S1 домен (стадія 1). Згодом TMPRSS2 розщеплює білок S (стадія 2), активуючи

домен S2 для мембранного злиття (стадія 3). Активований S2 полегшує злиття між ліпідними шарами вірусу та хазяїна, дозволяючи вірусному геному одноланцюгової РНК з позитивним смислом проникнути в клітину хазяїна (стадія 4). с | Під час реплікації вірусу утворюються проміжні продукти реплікації дволанцюгової РНК (длРНК), які можуть запускати цитоплазматичні вроджені імунні сенсорні шляхи через активацію MDA5 або RIG-I. Це ініціює сигнальний каскад через мітохондріальний противірусний сигнальний білок, що в кінцевому підсумку призводить до вироблення інтерферонів I та III типу. Ці інтерферони діють як паракринним, так і аутокринним шляхом через рецептори плазматичної мембрани та сигнальний шлях JAK-STAT1/2, індукуючи експресію інтерферон-стимульованих генів з прямими та непрямими противірусними ефектами. ДМВ, двомембранні везикули; ISRE, інтерферон-чутливий елемент відповіді [57].

У більшості пацієнтів з COVID-19 зазвичай спостерігаються такі загальні симптоми, як лихоманка, задишка, кашель (з мокротою або без неї), біль у горлі, закладеність носа, запаморочення, озноб, біль у м'язах і суглобах, слабкість, втома, відчуття стиснення в грудях, надмірне виділення слизу, кровохаркання та задишка. Хоча лихоманка не завжди є початковим симптомом, вона вважається вирішальною. Найпоширенішими симптомами є лихоманка, кашель і втома, рідше - головний біль, діарея, біль у животі, блювання, біль у грудях, нежить і дискомфорт у горлі. Більшість пацієнтів відчувають більше одного симптому, а важкі випадки спостерігаються приблизно у кожного четвертого. Ранній початок задишки асоціюється з погіршенням прогнозу, оскільки дихальна недостатність є найпоширенішою причиною смерті серед летальних випадків, за якою слідує септичний шок, поліорганна недостатність і зупинка серця.

Рідкісними причинами смерті є гострий коронарний синдром, злякисна аритмія та дисеміноване внутрішньосудинне згортання крові. Крім того, повідомлялося про спонтанну пневмомедіастинум та підшкірну емфізему у пацієнтів з COVID-19. Клінічні характеристики можуть відрізнятися між критично хворими та некритично хворими пацієнтами.

## **РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

### **2.1. Матеріали**

ПЛР-тест на COVID-19 дозволяє виявити РНК коронавірусу SARS-CoV-2 в організмі людини. Біоматеріалом служить мазок з носоглотки, що визначає: контагіозність. Позитивний результат вказує, що в дихальних шляхах виявлено коронавірус [76]. Для ефективної та швидкої діагностики коронавірусу, в Медичній лабораторії CSD застосовують тест-системи: Diatech Pharmacogenetics (Італія) Seegene (Південна Корея). Всі реактиви для проведення ПЛР-тестів у лабораторії виготовлені відповідно до міжнародних стандартів якості ISO 9001, ISO 13485.

### **2.2 Методи дослідження**

Для подальшого виділення РНК з досліджуваних зразків (назоорофарингеальних зішкрібів) використовують ручний метод преципітації нуклеїнових кислот. Супутнім обладнання слугує: вортекс, термостат твердотільний, ампліфікатор. Після осадження нуклеїнових кислот, в досліджувані зразки додають ампліфікаційні суміші та ставлять в ампліфікатор для визначення наявності коронавірусної РНК методом полімеразно-ланцюгової реакції в реальному часі.

Полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР) в реальному часі - це метод, що використовується для моніторингу ампліфікації ДНК чи РНК в реальному

часі під час проведення ПЛР. В цьому методі вимірюється кількість ампліконів (ампліфікованих фрагментів ДНК) під час кожного циклу реакції. Це дозволяє отримувати дані про ампліфікацію в реальному часі, а не після завершення реакції, як це відбувалось в більш раніх методах ПЛР [77].

### 2.3 R – мова програмування

R – це мова і середовище для статистичних обчислень і графіки. Це проект GNU, подібний до мови та середовища S, які було розроблено у Bell Laboratories (раніше AT and T, зараз Lucent Technologies) Джоном Чемберсом та його колегами. R можна розглядати як іншу реалізацію S. R надає широкий спектр статистичних (лінійне та нелінійне моделювання, класичні статистичні тести, аналіз часових рядів, класифікація, кластеризація) та графічних методів, а також є дуже розширюваною. Мова S часто є засобом вибору для досліджень у галузі статистичної методології. Однією з сильних сторін R є легкість, з якою можна створювати добре продумані графіки публікаційної якості, включаючи математичні символи і формули, де це необхідно. R доступна як вільне програмне забезпечення на умовах стандартної публічної ліцензії GNU фонду вільного програмного забезпечення у вигляді вихідного коду. Вона компілюється і працює на різноманітних платформах UNIX і подібних системах (зокрема FreeBSD і Linux), Windows і MacOS [59].

## 2.4. Використані бібліотеки та пакети для R

Tidyverse – це набір пакетів, які працюють злагоджено, оскільки мають спільне представлення даних та дизайн API. Пакет tidyverse розроблено для того, щоб полегшити встановлення та завантаження основних пакетів з tidyverse однією командою [60].

ggplot2 – це система для декларативного створення графіки, заснована на The Grammar of Graphics. Найбільше використовують для роботи такі команди: `ggplot(x)`, треба передати набір даних та задати естетичне відображення (за допомогою `aes(x)`). Потім треба додати шари (наприклад: `geom_point(x)` або `geom_histogram(x)`), шкали (наприклад, `scale_colour_brewer(x)`, специфікації фасетування (наприклад: `facet_wrap(x)`) і системи координат (наприклад, `coord_flip()`) [61].

dplyr – пакет розроблений для полегшення маніпулювання даними у фреймах даних. Він базується на ідеях пакета plyr, але покращує швидкість роботи завдяки використанню C++. dplyr також дозволяє працювати безпосередньо з даними, що зберігаються у зовнішніх базах даних, що є корисним для роботи з великими масивами даних, які не вміщуються у пам'яті. Основні функції dplyr: `select(x)`, `filter(x)`, `mutate(x)`, `group_by(x)` і `summarize(x)`. Щоб вибрати стовпці фрейму даних, використовується `select(x)`. Першим аргументом цієї функції є фрейм даних(метадані), а наступними аргументами - стовпці, які потрібно зберегти. Щоб вибрати рядки, використовується функція `filter(x)`:. Часто потрібно створити нові стовпці на основі значень в існуючих стовпцях, наприклад, щоб перевести одиниці виміру або знайти співвідношення значень у двох стовпцях. Для цього використовують функцією `mutate(x)`. dplyr спрощує підхід до аналізу

даних за принципом "розділити-застосувати-об'єднати". Цей метод передбачає поділ даних на категорії (розбиття), аналіз кожної категорії окремо (застосування), а потім об'єднання результатів (комбінування). Функція `dplyr::group_by(x)` допомагає на етапі розділення, організовуючи дані за групами. Після групування функція `summarize(x)` дозволяє проаналізувати кожну групу і звести її в один підсумковий рядок. Це досягається шляхом застосування функції підсумовування, подібно до підрахунку рядків, до кожної групи. Щоб знайти кількість точок даних для кожного статусу "мутант, що використовує цитрат", потрібно згрупувати дані за цим статусом за допомогою функції `group_by(x)`, а потім використати `summarize(x)` з функцією підрахунку [62].

`tuple` – цей пакет розширює базову функціональність R для перевірки унікальних та повторюваних значень у векторах. Пакет включає наступні функції: `%!in%`, `duplicate`, `matchAll`, `matchNone`, `not-in`, `orphan`, `triplicate`, `triplicated`, `tuple-package`, `tuplicate`, `tuplicated`.

`%!in%` – ця функція перевіряє на протилежність. `duplicate` – повертає дубльовані значення у тому самому порядку, у якому вони були б повернуті при виклику функції `orphan`. Це відрізняється від `duplicated`, який повертає логічний вектор, що має значення `TRUE`, коли він натрапляє на будь-яке, крім першого, входження значення (і тому залежить від напрямку перевірки вектора). `matchAll` – розширює функціональність співпадіння для визначення всіх співпадаючих значень, а не тільки першого. Повертає цілочисельний вектор індексу в таблиці для всіх збігів. Результат не сортується за числовим індексом, якщо шукається більше одного значення. Замість цього спочатку перераховуються збіги з першим значенням в `x`, потім збіги з другим значенням в `x` і так далі. Значення `NA` розглядаються як дані. `matchNone` – Значення тегу вибирається зі спеціальних символів так, щоб він ніде не

зустрічався у вихідних даних. Вибирається найкоротший з можливих тегів. Забезпечує гнучкі ідентифікатори відсутніх даних там, де це потрібно для класу S4, і подібні ідентифікатори, що не мають аналогів, для інших проблем з брудними даними. `not-in` – перевіряє, чи немає деяких даних у таблиці. `orphan` – знаходить значення, які зустрічаються у векторі один раз. Повертає унікальні значення в тому ж порядку, в якому вони були б повернуті при виклику функції `unique`. `triplicate` – знаходить значення, які зустрічаються у векторі три рази. `triplicated` – знаходить значення, які повторюються у векторі щонайменше тричі. `tuple-package` – Знаходить кожен збіг, а також "сирітські", дублікати, потрібні та інші повторювані значення. Цей пакет розширює базову функціональність R для перевірки унікальних і повторюваних значень у векторах. Знаходить кожен збіг, а також одиничні, дублікати, потрібні та інші повторювані значення. `tuple` – знаходить елементи, які зустрічаються у векторі рівно  $n$  разів. Повертає  $n$ -повторювані елементи у тому ж порядку, у якому вони були б повернуті при виклику функції `orphan`. Це принципово відрізняється від `triplicated`, який повертає логічний вектор, що має значення TRUE, коли він натрапляє на будь-яке, крім  $(n-1)$ -го і менше, входження елемента ( $i$ , отже, залежить від напрямку перевірки вектора). `tuple` – знаходить елементи, які повторюються у векторі не менше  $n$  разів. Повертає логічний вектор, який дорівнює TRUE, коли він зустрічає будь-яке, окрім  $(n-1)$ -го входження елемента, аналогічно до `uplicated` [63].

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ

#### 3.1. Аналіз даних за 2022-2023

За допомогою мови програмування R було оброблено масив даних, і відповідно до цього створено діаграми, а також графік, які показують зараження COVID-19 в період з початку 2022 року і до початку 2023 року. Відповідно до цього періоду було створено графік, що описує кількість детектованих заражень, графік можна на рисунку 3.1.

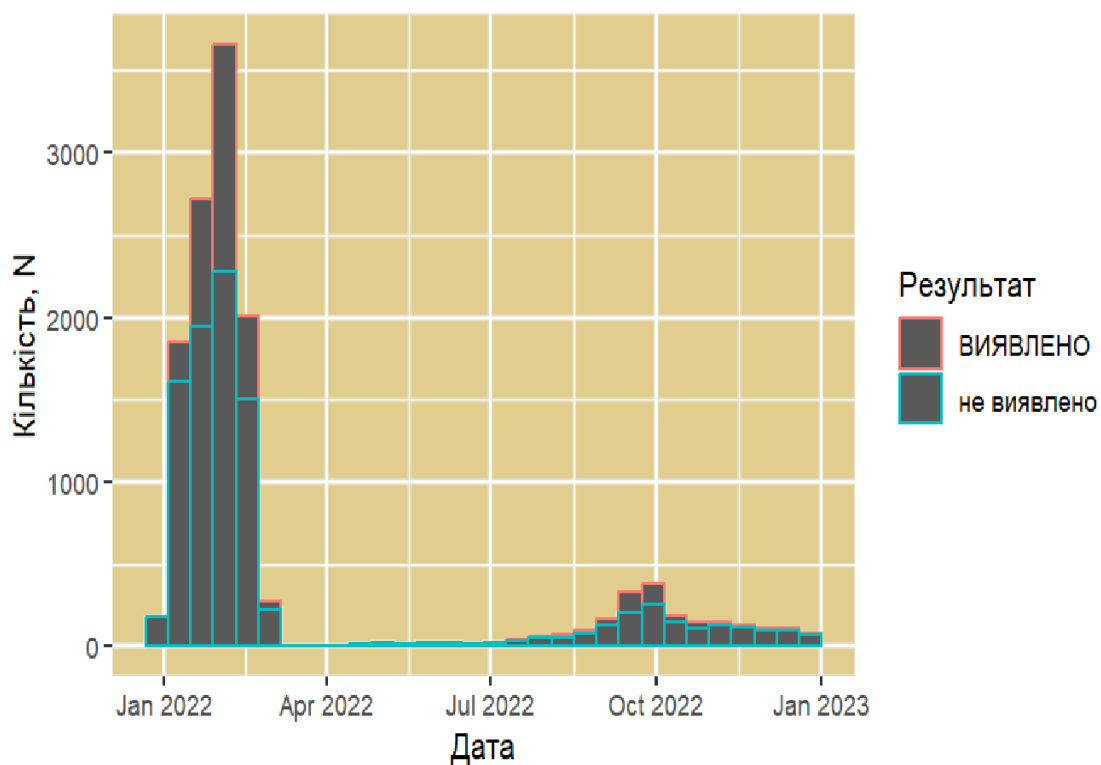
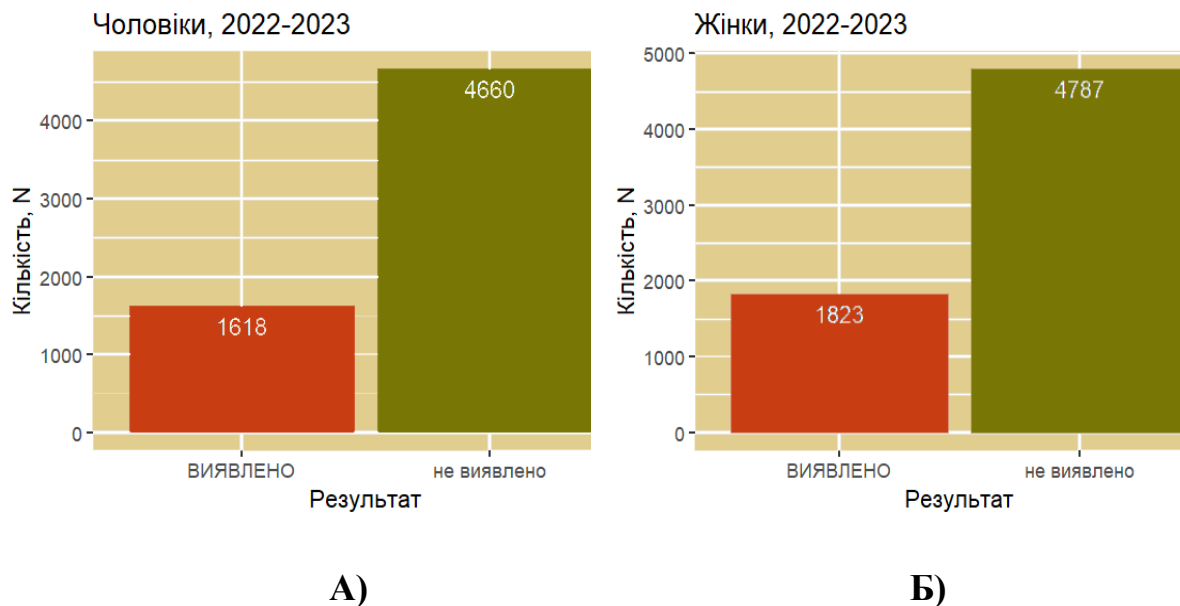


Рис. 3.1. Результати обстеження пацієнтів на COVID-19 за 2022 рік

Відповідно до графіку було встановлено, що пік захворюваності на COVID-19 припав на перший квартал 2022 року. Слід зазначити, що загальна кількість захворілих на COVID-19 становить 3441 людини. А саме на кінець січня початок лютого. Далі спостерігаємо невеликий спалах COVID-19 наприкінці літа, який бере свій початок в липні, й поступово набуває масовості до кінця жовтня, опісля поступово йде на спад. В цілому, отримані дані можна пояснити тим, що в лютому 2022 року розпочалася повномасштабна вторгнення РФ в Україну. Тоді спостерігався значний відтік людей з України, приблизно 8 мільйонів людей покинули Україну з початку повномасштабного вторгнення, відповідно кількість діагностувань COVID-19 скоротилася у зв'язку з цим. До того ж в деяких містах України було неможливо проводити тестування COVID-19 через те, що в перші місяці війни певні території були під окупацією, а відповідно лабораторії не могли виконувати свої функції в повній мірі. Спалах епідемії взимку 2022 року можна пов'язати із світовою тенденцією до зменшення карантинних заходів в той час [64, 65] .

Після того як пройшло 7 місяців після початку повномасштабного вторгнення РФ почала руйнувати українську енергоструктуру, відповідно кількість детектувань знову впала через обмежене електропостачання.

В подальшому було проведено аналіз за статтю, і відповідно до цього аналізу було проведено порівняльний аналіз, що зображено на рисунку 3.2. (А,Б).



**Рис.3.2.** Виявлення захворюваності на COVID-19 у пацієнтів різної статі. (А) діаграма захворюваності чоловіків. (Б) діаграма захворюваності жінок.

Як бачимо, показники на діаграмах мають певні відмінності, дані представлені в таблиці 3.1.

**Таблиця 3.1.**

**Результати обстеження пацієнтів**

| Стать    | Результат   | Кількість |
|----------|-------------|-----------|
| Жінки    | Виявлено    | 1823      |
| Жінки    | Не виявлено | 4787      |
| Чоловіки | Виявлено    | 1618      |
| Чоловіки | Не виявлено | 4660      |

Встановлено, що жінки зверталися за діагностуванням частіше, ніж чоловіки. Кількість жінок, які зверталися: 6610, в той час як чоловіків: 6278. Отже, кількість звернень на діагностування COVID-19 була більша серед жінок на 2% порівняно з чоловіками. Відсоток виявлення COVID-19 у жінок становить: 36.3% серед загальної кількості протестованих жінок. Серед чоловіків: 38.8% – так спостерігаємо різницю в захворюваності в 2.5%. Це може мати потенційну кореляцію з прогнозованими даними в одному дослідженні, в якому припустили 4 сценарії з різними вихідними даними, і наш аналіз найбільше схожий на другий сценарій (модель) описаний в цьому дослідженні, де основу захворюваних складало працездатне населення усіх категорій, при тому було підкреслено, що групу ризику складала чоловіки віком від 50 років [66].

В цілому інші джерела висловлюють протилежну думку, щодо інфікування чоловіків та жінок, вони репрезентують дані, що свідчать про те, що жінки хворіють частіше на COVID-19, ніж чоловіки [67-69]. Що стосується захворювань або факторів ризику, які могли бути у постраждалих до захворювання на коронавірус, то найбільший ризик становили ті, хто страждав супутньою патологією, тобто мав дві або більше хвороб або розладів одночасно. У цих випадках основними факторами ризику є серцево-судинні захворювання, цукровий діабет, високий кров'яний тиск і попередні респіраторні захворювання.

Інше дослідження обґрунтовує отримані дані так, що існують відмінності в імунній системі чоловіків і жінок, які можуть впливати на здатність боротися з SARS-2-CoV-2. Жінки переважно мають більшу стійкість до інфекцій, ніж чоловіки, можливо, це опосередковано кількома факторами, включаючи статеві гормони та високу експресію рецепторів коронавірусу (ACE 2) у чоловіків, а також спосіб життя, наприклад, вищий

рівень куріння та вживання алкоголю серед чоловіків порівняно з жінками. Жінки більш відповідально ставляться до пандемії COVID-19, ніж чоловіки. Це може мати зворотний вплив на вжиття профілактичних заходів, таких як часте миття рук, носіння маски для обличчя та розпорядження залишатися вдома [70].

### 3.2. Аналіз даних за 2023-2024

За допомогою мови програмування R було оброблено ще один масив даних, і відповідно до цього створено діаграми, а також графік, які описують зараження COVID-19 в період з початку 2023 року і до початку 2024 року. Відповідно до цього періоду було побудовано графік, що описує кількість детектованих заражень (рис. 3.3).

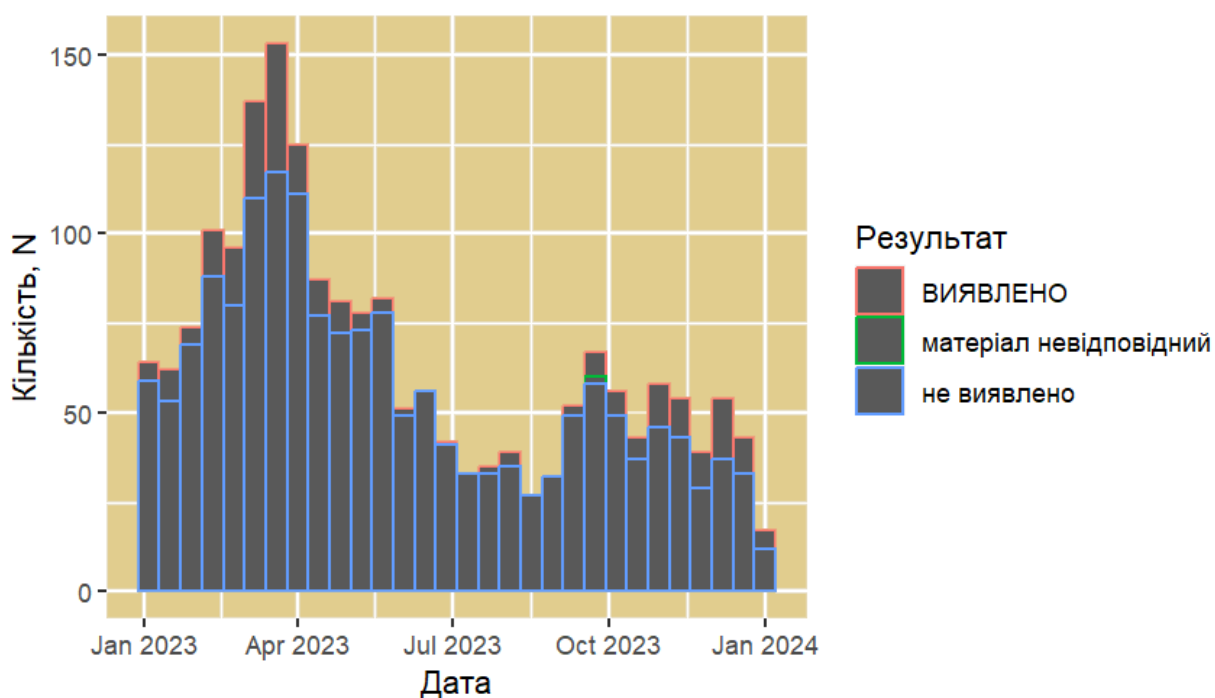
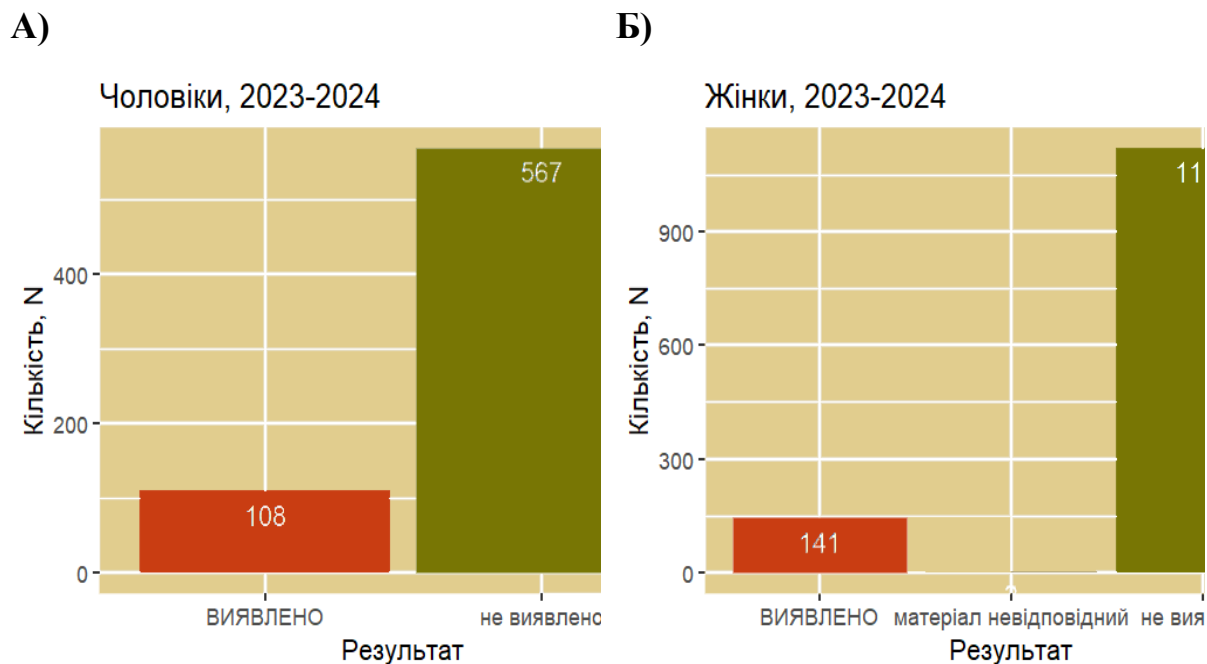


Рис.3.3. Графік детектованих заражень за 2023 рік

Встановлено, що кількість заражених порівняно до 2022 року в цілому мала тенденцію до зниження, і точки оптимуму набагато менше, ніж точки оптимуму на графіку репрезентованому на рисунку 3.1, при тому загальна кількість випадків з COVID-19 становить 249 людини. Хоча в цілому кількість звернення, щодо діагностування також знизилася порівняно до 2022 року. Падіння кількості діагностувань спостерігли в першу чергу через наслідки війни, в тому числі через продовження руйнації енергоструктури з боку рф. Також, варто звернути увагу на економічну складову, оскільки вартість збільшилася на тестування в тому числі. Було встановлено продовження тенденції другого спалаху COVID-19 в 2022 році. Проте спостерігати пікову активність наприкінці березня 2023 року. Цей пік хоч і не має великої кількості обстежених людей, але принаймні тенденція до зростання масовості епідемії прослідковується. Дослідження показало, що навесні 2021 року, дійсно був спалах COVID-19 на Тайвані, хоча також згадуються Північна Америка а також Європа, також слід згадати те, що в грудні 2020 року в цих регіонах була проведена вакцинація від COVID-19. В іншому дослідженні спостерігався пік COVID-19 на початку квітня 2022 року в Тайвані. Проте інше дослідження стверджує про те що сезонність COVID-19 не притаманна, і є лишень збігом обставин. [71, 72].

Також, був проведений аналіз звернень на діагностування COVID-19. Проте кількість, діагностувань COVID-19 в цілому упала як серед жінок так і серед чоловіків. Діаграми, що відповідають цьому аналізу можна спостерігати на рисунку рисунку 3.4. (А,Б)



**Рис.3.4.** Співставлення результатів виявлення захворюваності на COVID-19 у пацієнтів різної статі. Діаграми захворюваності за статтю. (А) діаграма захворюваності чоловіків. (Б) діаграма захворюваності жінок.

Показники на діаграмах мають певні відмінності (табл. 3.2).

**Таблиця 3.2.**

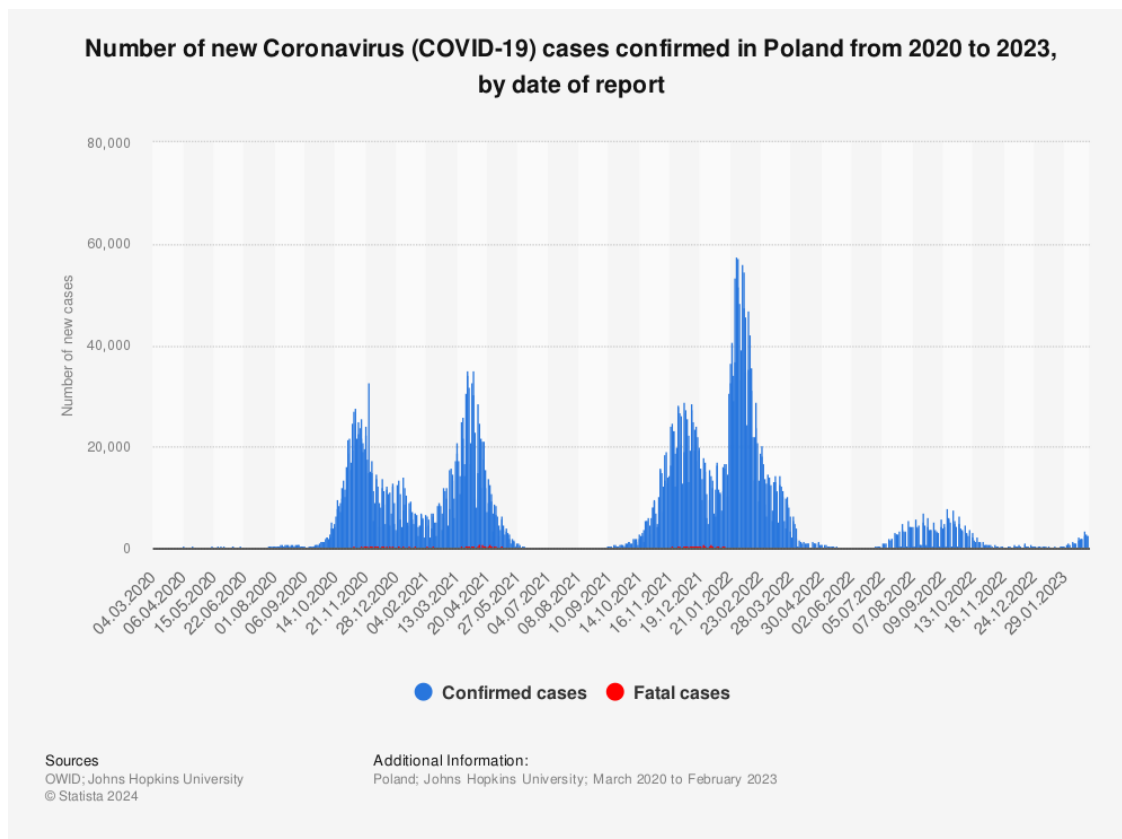
**Результати обстеження пацієнтів**

| Стать    | Результат   | Кількість |
|----------|-------------|-----------|
| Жінки    | Виявлено    | 141       |
| Жінки    | Не виявлено | 1119      |
| Чоловіки | Виявлено    | 108       |
| Чоловіки | Не виявлено | 567       |

Встановлено, що жінки зверталися за діагностуванням більше, ніж чоловіки. Жінки зверталися: 1260, в той час як чоловіки зверталися: 675. Отже, кількість звернень на діагностування COVID-19 була більша серед жінок на 34%, порівняно з чоловіками. Відсоток виявлення COVID-19 у жінок становить: 11.2% серед загальної кількості протестованих жінок. Серед чоловіків: 16% – так ми можемо спостерігати різницю в захворюваності в 4.8%.

Отримані результати тільки підкріплюють інформацію надану в розділі 3.1. За результатами спостерігаємо, що цифри стали ще більше відповідати другому сценарію, там де залишається багато працездатних осіб [73].

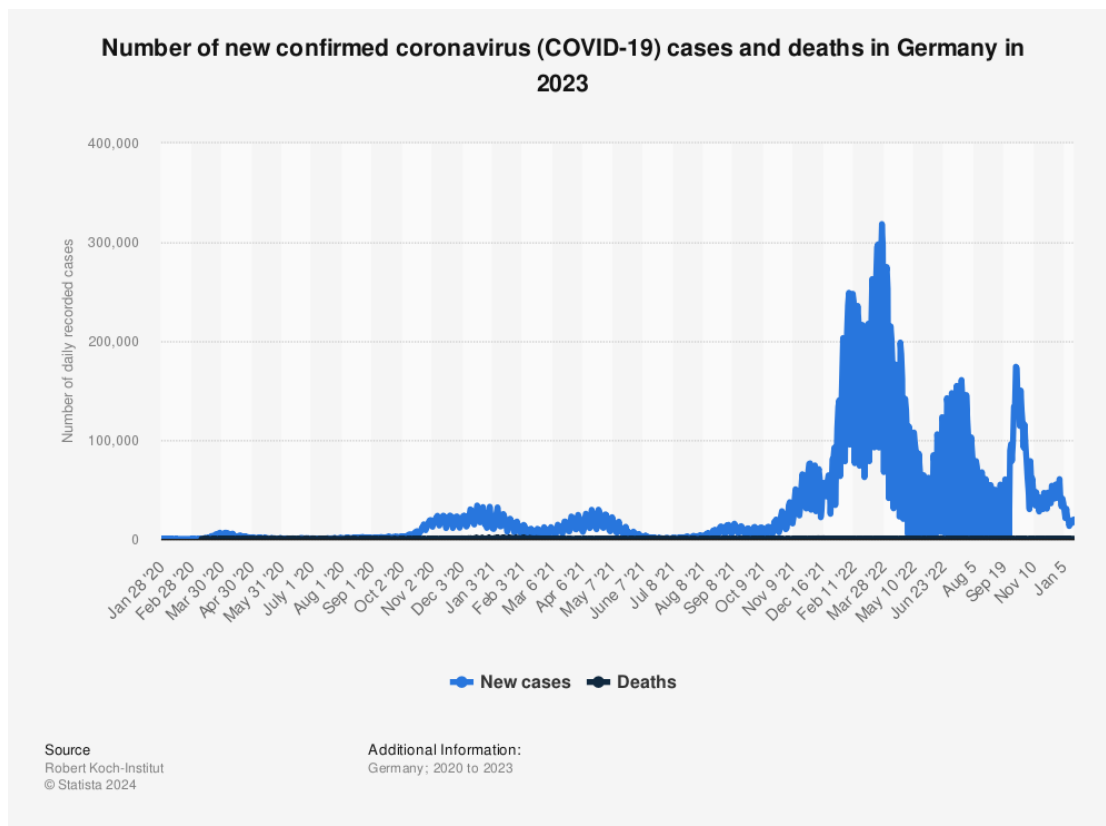
Для того щоб аргументувати значний вплив війни, на протікання епідемії, можемо порівняти статистику стичні дані країн, що знаходяться близько по відношенню до України, тобто Німеччини, а також Польщі. Відповідно до цього, можна спостерігати графік захворюваності в Польщі за 2020-2023 роки, графік можна бачити на рисунку 3.5.



**Рис.3.5.** Графік детектованих заражень за 2020-2023 роки в Польщі.

За літературними даними в Польщі кількість людей, які заразилися на COVID-19, збільшувалася і зменшувалася з часом (підйоми та спади), як і раніше у 2022 році. Були періоди, коли захворюваність стрімко зростала, досягала піку в квітні, а потім спадала. Також у літні місяці був невеликий зріст кількості захворювань.[74].

Графік захворюваності в Німеччині за 2020-2023 роки зображено на рисунку 3.5.



**Рис.3.6.** Графік детектованих заражень за 2020-2023 роки в Польщі.

Ситуація в Німеччині за статистикою захворюваності на COVID-19, була ідентична по динаміці. Спостерігаємо спалах COVID-19 в першому кварталі 2022 році, який так само досягає піка в квітні, а потім різко йде на спад, в літку також прослідковується невеликий спалах COVID-19 влітку 2022 року [75].

Відповідно до проаналізованої ситуації, не дивлячись на війну та іншу проблематику, світові тенденції щодо захворюваності на COVID-19 були актуальні й до України.

Прогноз щодо динаміки розвитку епідемії COVID-19 являє собою аналіз статистичних даних розвитку епідемії в Україні. Він включає у себе

прогнозування поширення епідемії в регіонах України (включаючи смертність), а також порівняння даних з динамікою поширення пандемії за попередній період. Також, прогнозується репродуктивне число, що визначає швидкість поширення інфікування COVID-19 на регіональному рівні та частка госпіталізацій.

## ВИСНОВКИ

1. Виявлено 3441 підтверджених випадків коронавірусної хвороби COVID-19 за період 2022 року та 249 випадків за 2023 року відповідно.
2. Визначено серед пацієнтів відсоток інфікування на COVID-19 чоловіків 84,6%, жінок 61% у 2022-2023 роках (36.3% серед загальної кількості протестованих жінок, 38.8% серед чоловіків у 2022 році та 11.2% серед жінок та 16% чоловіків у 2023 відповідно ).
3. Встановлено вплив повномасштабної війни в Україні на кількість звернень, та відсоток підтверджених випадків. Отриманні результати свідчать про стабільний перебіг коронавірусної хвороби протягом червня-липня 2022 року.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. She, J., Jiang, J., Ye, L., Hu, L., Bai, C., and Song, Y. (2020). 2019 novel coronavirus of pneumonia in Wuhan, China: emerging attack and management strategies. *Clinical and translational medicine*, [online] 9(1), p. 19. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40169-020-00271-z> [Accessed 4 January. 2024]
1. Pollard, C. A., Morran, M. P., and Nestor-Kalinowski, A. L. (2020). The COVID-19 pandemic: a global health crisis. *Physiological genomics*, [online] 52(11), p. 549–557. Available at: <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00089.2020> [Accessed 3 January. 2024]
2. Park S. E. (2020). Epidemiology, virology, and clinical features of severe acute respiratory syndrome -coronavirus-2 (SARS-CoV-2; Coronavirus Disease-19). *Clinical and experimental pediatrics*, [online] 63(4), p. 119–124. Available at: <https://doi.org/10.3345/cep.2020.00493> [Accessed 4 January. 2024]
3. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, Atif SM, Hariprasad G, Hasan GM, Hassan MI. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. [online] 2020 Oct 1;1866(10):165878 pp. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165878> [Accessed 5 January 2024]
4. Hu, T., Liu, Y., Zhao, M., Zhuang, Q., Xu, L., and He, Q. (2020). A comparison of COVID-19, SARS and MERS. *PeerJ*, [online] 8, p. e9725. Available at: <https://doi.org/10.7717/peerj.9725> [Accessed 5 January 2024]
5. Padhan, K., Parvez, M. K., and Al-Dosari, M. S. (2021). Comparative sequence analysis of SARS-CoV-2 suggests its high transmissibility and pathogenicity.

- Future Virology*, [online] 10.2217/fvl-2020-0204 pp. Available at: <https://doi.org/10.2217/fvl-2020-0204> [Accessed 6 January 2024]
6. Goyal, R., Gautam, R. K., Chopra, H., Dubey, A. K., Singla, R. K., Rayan, R. A., and Kamal, M. A. (2022). Comparative highlights on MERS-CoV, SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, and NEO-CoV. *EXCLI journal*, [online] 21, p. 1245–1272. Available at: <https://doi.org/10.17179/excli2022-5355> [Accessed 6 January 2024]
  7. Abdelrahman, Z., Li, M., and Wang, X. (2020). Comparative Review of SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and Influenza A Respiratory Viruses. *Frontiers in immunology*, [online] 11, p. 552909. Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.552909> [Accessed 8 January 2024]
  8. Abdelghany, T. M., Ganash, M., Bakri, M. M., Qanash, H., Al-Rajhi, A. M. H., and Elhussieny, N. I. (2021). SARS-CoV-2, the other face to SARS-CoV and MERS-CoV: Future predictions. *Biomedical journal*, [online] 44(1), p. 86–93. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bj.2020.10.008> [Accessed 9 January 2024]
  9. CRobson B. (2020). COVID-19 Coronavirus spike protein analysis for synthetic vaccines, a peptidomimetic antagonist, and therapeutic drugs, and analysis of a proposed Achilles' heel conserved region to minimize probability of escape mutations and drug resistance. *Computers in biology and medicine*, [online] 121, p. 103749. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2020.103749> [Accessed 10 January 2024]
  10. Li F. (2016). Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins. *Annual review of virology*, [online] 3(1), p. 237–261. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042301> [Accessed 11 January 2024]
  11. Yan, W., Zheng, Y., Zeng, X., He, B., and Cheng, W. (2022). Structural biology of SARS-CoV-2: open the door for novel therapies. *Signal transduction and targeted*

- therapy*, [online] 7(1), p. 26. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00884-5> [Accessed 11 January 2024]
12. Satarker, S., and Nampoothiri, M. (2020). Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *Archives of medical research*, [online] 51(6), p. 482–491. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.05.012> [Accessed 13 January 2022]
  13. Huang, Y., Yang, C., Xu, X. F., Xu, W., and Liu, S. W. (2020). Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antiviral drug development for COVID-19. *Acta pharmacologica Sinica*, [online] 41(9), p. 1141–1149. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0485-4> [Accessed 13 January 2022]
  14. Papa, G., Mallery, D. L., Albecka, A., Welch, L. G., Cattin-Ortolá, J., Luptak, J., Paul, D., McMahon, H. T., Goodfellow, I. G., Carter, A., Munro, S., and James, L. C. (2021). Furin cleavage of SARS-CoV-2 Spike promotes but is not essential for infection and cell-cell fusion. *PLoS pathogens*, [online] 17(1), p. e1009246. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009246> [Accessed 13 January 2022]
  15. Drak Alsibai K. (2020). Expression of angiotensin-converting enzyme 2 and proteases in COVID-19 patients: A potential role of cellular FURIN in the pathogenesis of SARS-CoV-2. *Medical hypotheses*, [online] 143, p. 109893. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109893> [Accessed 15 January 2024]
  16. Heurich, A., Hofmann-Winkler, H., Gierer, S., Liepold, T., Jahn, O., and Pöhlmann, S. (2014). TMPRSS2 and ADAM17 cleave ACE2 differentially and only proteolysis by TMPRSS2 augments entry driven by the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein. *Journal of virology*, [online]

- 88(2), p. 1293–1307. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI.02202-13> [Accessed 17 January 2024]
17. Kawasumi, T., Takeno, S., Ishino, T., Ueda, T., Hamamoto, T., Takemoto, K., Horibe, Y., and Takashi, O. (2022). Co-Expression and Localization of Angiotensin-Converting Enzyme-2 (ACE2) and the Transmembrane Serine Protease 2 (TMPRSS2) in Paranasal Ciliated Epithelium of Patients with Chronic Rhinosinusitis. *American journal of rhinology and allergy*, [online] 36(3), p. 313–322. Available at: <https://doi.org/10.1177/19458924211059639> [Accessed 17 January 2024]
18. Le, K., Kannappan, S., Kim, T., Lee, J. H., Lee, H. R., and Kim, K. K. (2023). Structural understanding of SARS-CoV-2 virus entry to host cells. *Frontiers in molecular biosciences*, [online] 10, 1288686 pp. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1288686> [Accessed 3 January 2024]
19. Xiao, C., Li, X., Liu, S., Sang, Y., Gao, S. J., and Gao, F. (2020). HIV-1 did not contribute to the 2019-nCoV genome. *Emerging microbes and infections*, [online] 9(1), p. 378–381. Available at: <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1727299> [Accessed 17 January 2024]
20. Hatmal, M. M., Alshaer, W., Al-Hatamleh, M. A. I., Hatmal, M., Smadi, O., Taha, M. O., Oweida, A. J., Boer, J. C., Mohamud, R., and Plebanski, M. (2020). Comprehensive Structural and Molecular Comparison of Spike Proteins of SARS-CoV-2, SARS-CoV and MERS-CoV, and Their Interactions with ACE2. *Cells*, [online] 9(12), p. 2638. Available at: <https://doi.org/10.3390/cells9122638> [Accessed 19 January 2024]
21. Wu, W., Cheng, Y., Zhou, H., Sun, C., and Zhang, S. (2023). The SARS-CoV-2 nucleocapsid protein: its role in the viral life cycle, structure and functions, and use as a potential target in the development of vaccines and diagnostics. *Virology*

- journal*, [online] 20(1), p. 6. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12985-023-01968-6> [Accessed 21 January 2024]
22. Bai, Z., Cao, Y., Liu, W., and Li, J. (2021). The SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein and Its Role in Viral Structure, Biological Functions, and a Potential Target for Drug or Vaccine Mitigation. *Viruses*, [online] 13(6), p. 1115. Available at: <https://doi.org/10.3390/v13061115> [Accessed 21 January 2024]
23. McBride, R., van Zyl, M., and Fielding, B. C. (2014). The coronavirus nucleocapsid is a multifunctional protein. *Viruses*, [online] 6(8), p. 2991–3018. Available at: <https://doi.org/10.3390/v6082991> [Accessed 21 January 2024]
24. Zhang, H., Tu, J., Cao, C., Yang, T., and Gao, L. (2020). Proteasome activator PA28 $\gamma$ -dependent degradation of coronavirus disease (COVID-19) nucleocapsid protein. *Biochemical and biophysical research communications*, [online] 529(2), p. 251–256. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.06.058> [Accessed 21 January 2024]
25. Kaur, R., and Lal, S. K. (2020). The multifarious roles of heterogeneous ribonucleoprotein A1 in viral infections. *Reviews in medical virology*, [online] 30(2), p. e2097. Available at: <https://doi.org/10.1002/rmv.2097> [Accessed 8 February 2024]
26. Vlachakis, D., Papakonstantinou, E., Mitsis, T., Pierouli, K., Diakou, I., Chrousos, G., and Bacopoulou, F. (2020). Molecular mechanisms of the novel coronavirus SARS-CoV-2 and potential anti-COVID19 pharmacological targets since the outbreak of the pandemic. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, [online] 146, p. 111805. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111805> [Accessed 8 February 2024]
27. Royster, A., Ren, S., Ma, Y., Pintado, M., Kahng, E., Rowan, S., Mir, S., and Mir, M. (2023). SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein Is a Potential Therapeutic Target

- for Anticoronavirus Drug Discovery. *Microbiology spectrum*, [online] 11(3), p. e0118623. Available at: <https://doi.org/10.1128/spectrum.01186-23> [Accessed 8 February 2024]
28. N nucleocapsid phosphoprotein [Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2] - Gene - NCBI. [online] (n.d.). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/43740575> [Accessed 10 February 2024]
29. Schoeman, D., and Fielding, B. C. (2019). Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology journal*, [online] 16(1), p. 69. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0> [Accessed 10 February 2024]
30. Breiting, U., Farag, N. S., Sticht, H., and Breiting, H. G. (2022). Viroporins: Structure, function, and their role in the life cycle of SARS-CoV-2. *The international journal of biochemistry and cell biology*, [online] 145, p. 106185. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2022.106185> [Accessed 12 February 2024]
31. Wang, W. A., Carreras-Sureda, A., and Demarex, N. (2023). SARS-CoV-2 infection alkalinizes the ERGIC and lysosomes through the viroporin activity of the viral envelope protein. *Journal of cell science*, [online] 136(6), p. jcs260685. Available at: <https://doi.org/10.1242/jcs.260685> [Accessed 13 February 2024]
32. Perrier, A., Bonnin, A., Desmarets, L., Danneels, A., Goffard, A., Rouillé, Y., Dubuisson, J., and Belouzard, S. (2019). The C-terminal domain of the MERS coronavirus M protein contains a trans-Golgi network localization signal. *The Journal of biological chemistry*, [online] 294(39), p. 14406–14421. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.008964> [Accessed 15 February 2024]
33. Alharbi, S. N., and Alrefaei, A. F. (2021). Comparison of the SARS-CoV-2 (2019-nCoV) M protein with its counterparts of SARS-CoV and MERS-CoV species. *Journal of King Saud University. Science*, [online] 33(2), p. 101335.

- Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2020.101335> [Accessed 15 February 2024]
34. Lu, W., Zhao, Z., Huang, Y. W., and Wang, B. (2022). Review: A systematic review of virus-like particles of coronavirus: Assembly, generation, chimerism and their application in basic research and in the clinic. *International journal of biological macromolecules*, [online] 200, p. 487–497. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.01.108> [Accessed 15 February 2024]
  35. Su, C. M., Wang, L., and Yoo, D. (2021). Activation of NF- $\kappa$ B and induction of proinflammatory cytokine expressions mediated by ORF7a protein of SARS-CoV-2. *Scientific reports*, [online] 11(1), p. 13464. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92941-2> [Accessed 18 February 2024]
  36. Tsoi, H., Li, L., Chen, Z. S., Lau, K. F., Tsui, S. K., and Chan, H. Y. (2014). The SARS-coronavirus membrane protein induces apoptosis via interfering with PDK1-PKB/Akt signalling. *The Biochemical journal*, [online] 464(3), p. 439–447. Available at: <https://doi.org/10.1042/BJ20131461> [Accessed 19 February 2024]
  37. Arya, R., Kumari, S., Pandey, B., Mistry, H., Bihani, S. C., Das, A., Prashar, V., Gupta, G. D., Panicker, L., and Kumar, M. (2021). Structural insights into SARS-CoV-2 proteins. *Journal of molecular biology*, [online] 433(2), p. 166725. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2020.11.024> [Accessed 20 February 2024]
  38. Jahirul Islam, M., Nawal Islam, N., Siddik Alom, M., Kabir, M., and Halim, M. A. (2023). A review on structural, non-structural, and accessory proteins of SARS-CoV-2: Highlighting drug target sites. *Immunobiology*, [online] 228(1), p. 152302. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2022.152302> [Accessed 21 February 2024]
  39. Zimmermann, L., Zhao, X., Makroczyova, J., Wachsmuth-Melm, M., Prasad, V., Hensel, Z., Bartenschlager, R., and Chlanda, P. (2023). SARS-CoV-2 nsp3 and

- nsp4 are minimal constituents of a pore spanning replication organelle. *Nature communications*, [online] 14(1), p. 7894. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43666-5> [Accessed 22 February 2024]
40. Lei, J., Kusov, Y., and Hilgenfeld, R. (2018). Nsp3 of coronaviruses: Structures and functions of a large multi-domain protein. *Antiviral research*, [online] 149, p. 58–74. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.11.001> [Accessed 23 February 2024]
41. Gorkhali, R., Koirala, P., Rijal, S., Mainali, A., Baral, A., and Bhattarai, H. K. (2021). Structure and Function of Major SARS-CoV-2 and SARS-CoV Proteins. *Bioinformatics and biology insights*, [online] 15, p. 11779322211025876. Available at: <https://doi.org/10.1177/11779322211025876> [Accessed 25 February 2024]
42. Ferreira, J. C., Fadl, S., Villanueva, A. J., and Rabeh, W. M. (2021). Catalytic Dyad Residues His41 and Cys145 Impact the Catalytic Activity and Overall Conformational Fold of the Main SARS-CoV-2 Protease 3-Chymotrypsin-Like Protease. *Frontiers in chemistry*, [online] 9, p. 692168. Available at: <https://doi.org/10.3389/fchem.2021.692168> [Accessed 26 February 2024]
43. Bills, C., Xie, X., and Shi, P. Y. (2023). The multiple roles of nsp6 in the molecular pathogenesis of SARS-CoV-2. *Antiviral research*, [online] 213, p. 105590. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2023.105590> [Accessed 27 February 2024]
44. Rosas-Lemus, M., Minasov, G., Shuvalova, L., Inniss, N. L., Kiryukhina, O., Wiersum, G., Kim, Y., Jedrzejczak, R., Maltseva, N. I., Endres, M., Jaroszewski, L., Godzik, A., Joachimiak, A., and Satchell, K. J. F. (2020). The crystal structure of nsp10-nsp16 heterodimer from SARS-CoV-2 in complex with S-adenosylmethionine. *bioRxiv: the preprint server for biology*, [online]

- 2020.04.17.047498 pp. Available at: <https://doi.org/10.1101/2020.04.17.047498>  
[Accessed 28 February 2024]
45. Yu, J., Im, H., and Lee, G. (2023). Unwinding mechanism of SARS-CoV helicase (nsp13) in the presence of Ca<sup>2+</sup>, elucidated by biochemical and single-molecular studies. *Biochemical and biophysical research communications*, [online] 668, p. 35–41. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.05.062> [Accessed 29 February 2024]
46. Yan, L., Zhang, Y., Ge, J., Zheng, L., Gao, Y., Wang, T., Jia, Z., Wang, H., Huang, Y., Li, M., Wang, Q., Rao, Z., and Lou, Z. (2020). Architecture of a SARS-CoV-2 mini replication and transcription complex. *Nature communications*, [online] 11(1), p. 5874. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-19770-1>  
[Accessed 29 February 2024]
47. Zeng, J., Weissmann, F., Bertolin, A. P., Posse, V., Canal, B., Ulferts, R., Wu, M., Harvey, R., Hussain, S., Milligan, J. C., Roustan, C., Borg, A., McCoy, L., Drury, L. S., Kjaer, S., McCauley, J., Howell, M., Beale, R., and Diffley, J. F. X. (2021). Identifying SARS-CoV-2 antiviral compounds by screening for small molecule inhibitors of nsp13 helicase. *The Biochemical journal*, [online] 478(13), p. 2405–2423. Available at: <https://doi.org/10.1042/BCJ20210201> [Accessed 1 March 2024]
48. Zhang, D., Ji, L., Chen, X., He, Y., Sun, Y., Ji, L., Zhang, T., Shen, Q., Wang, X., Wang, Y., Yang, S., Zhang, W., and Zhou, C. (2023). SARS-CoV-2 Nsp15 suppresses type I interferon production by inhibiting IRF3 phosphorylation and nuclear translocation. *iScience*, [online] 26(9), p. 107705. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.107705> [Accessed 1 March 2024]
49. Banerjee, A., Mossman, K., and Grandvaux, N. (2021). Molecular Determinants of SARS-CoV-2 Variants. *Trends in microbiology*, [online] 29(10), p. 871–873. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.07.002> [Accessed 1 March 2024]

50. Islam, S., Islam, T., and Islam, M. R. (2022). New Coronavirus Variants are Creating More Challenges to Global Healthcare System: A Brief Report on the Current Knowledge. *Clinical pathology (Thousand Oaks, Ventura County, Calif.)*, [online] 15, p. 2632010X221075584. Available at: <https://doi.org/10.1177/2632010X221075584> [Accessed 1 March 2024]
51. Chavda, V. P., Patel, A. B., and Vaghasiya, D. D. (2022). SARS-CoV-2 variants and vulnerability at the global level. *Journal of medical virology*, [online] 94(7), p. 2986–3005. Available at: <https://doi.org/10.1002/jmv.27717> [Accessed 3 March 2024]
52. Zahmatkesh, S., Sillanpaa, M., Rezakhani, Y., and Wang, C. (2022). Review of concerned SARS-CoV-2 variants like Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1), Delta (B.1.617.2), and Omicron (B.1.1.529), as well as novel methods for reducing and inactivating SARS-CoV-2 mutants in wastewater treatment facilities. *Journal of hazardous materials advances*, [online] 7, p. 100140. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2022.100140> [Accessed 3 March 2024]
53. Salehi-Vaziri, M., Fazlalipour, M., Seyed Khorrami, S. M., Azadmanesh, K., Pouriayevali, M. H., Jalali, T., Shoja, Z., and Maleki, A. (2022). The ins and outs of SARS-CoV-2 variants of concern (VOCs). *Archives of virology*, [online] 167(2), p. 327–344. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00705-022-05365-2> [Accessed 4 March 2024]
54. Al-Rohaimi, A. H., and Al Otaibi, F. (2020). Novel SARS-CoV-2 outbreak and COVID19 disease; a systemic review on the global pandemic. *Genes and diseases*, [online] 7(4), p. 491–501. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2020.06.004> [Accessed 6 March 2024]
55. Li, A., and Xu, J. (2021). Innate Immune Response in Respiratory System: A Double-edged Sword Against Virus Infection. *Infectious diseases and immunity*,

- [online] 2(3), p. 132–134. Available at: <https://doi.org/10.1097/ID9.0000000000000031> [Accessed 7 March 2024]
56. Lamers, M.M., Haagmans, B.L. (2022). SARS-CoV-2 pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*, [online] 20, p. 270–284. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41579-022-00713-0> [Accessed 9 March 2024]
57. Baj, J., Karakuła-Juchnowicz, H., Teresiński, G., Buszewicz, G., Ciesielka, M., Sitarz, R., Forma, A., Karakuła, K., Flieger, W., Portincasa, P., and Maciejewski, R. (2020). COVID-19: Specific and Non-Specific Clinical Manifestations and Symptoms: The Current State of Knowledge. *Journal of clinical medicine*, [online] 9(6), p. 1753. Available at: <https://doi.org/10.3390/jcm9061753> [Accessed 15 March 2024]
58. R: What is R? [online] (n.d.). Available at: <https://www.r-project.org/about.html> [Accessed 12 April 2024]
59. tidyverse package - RDocumentation. [online] (n.d.). Available at: <https://www.rdocumentation.org/packages/tidyverse/versions/2.0.0> [Accessed 12 April 2024]
60. Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics • ggplot2. [online] (n.d.). Available at: <https://ggplot2.tidyverse.org/> [Accessed 13 April 2024]
61. Aggregating and analyzing data with dplyr. [online] (n.d.). Available at: [https://datacarpentry.org/R-genomics/04-dplyr.html#what\\_is\\_dplyr](https://datacarpentry.org/R-genomics/04-dplyr.html#what_is_dplyr) [Accessed 13 April 2024]
62. tuple documentation. [online] (n.d.). Available at: <https://rdrr.io/cran/tuple/man/> [Accessed 14 April 2024]
63. Ukraine - Migration Overview | Migration data portal. [online] (n.d.). Available at: <https://www.migrationdataportal.org/ukraine/migration-overview> [Accessed 14 April 2024]

64. Quinn, Gerry A., Michael Connolly, Norman E. Fenton, Steven J. Hatfill, Paul Hynds, Coilín ÓhAiseadha, Karol Sikora, Willie Soon, and Ronan Connolly. (2024). "Influence of Seasonality and Public-Health Interventions on the COVID-19 Pandemic in Northern Europe". *Journal of Clinical Medicine*, [online] 13, no p. 2: 334. Available at: <https://doi.org/10.3390/jcm13020334> [Accessed 14 April 2024]
65. Doerre A, Doblhammer G (2022) The influence of gender on COVID-19 infections and mortality in Germany: Insights from age- and gender-specific modeling of contact rates, infections, and deaths in the early phase of the pandemic. *PLoS ONE*, [online] 17(5): p. e0268119. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0268119> [Accessed 14 April 2024]
66. Lopez, J. S., Martinez, D. S., Pina, R. G., Gomez, J. H., Rodriguez, I. S., Ruiz, M. B., and Lopez, M. D. C. (2022). Social and gender characteristics in the field of contagion of COVID-19 in a Mediterranean region. *Revista Espanola De Salud Publica*, [online] 96, p. Available at: <https://pesquisa.bvsalud.org/global-literature-on-novel-coronavirus-2019-ncov/resource/fr/covidwho-2207782> [Accessed 15 April 2024]
67. COVID-19 causes more deaths among men than women. *Ace Alzheimer Center Barcelona*, [online]. Available at: <https://www.fundacioace.com/en/news/covid-19-causes-more-deaths-among-men-than-women.html> [Accessed 15 April 2024]
68. Prince, M., and Kim, Y. (2024). Threat Appraisal, Emotional Contagion, and Fear of COVID-19: Revision of the Extended Parallel Process Model. *Journal of Applied Social Science*, [online] 18(1) p. 120–135. Available at: [https://doi.org/10.1177/19367244231208893/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177\\_19367244231208893-FIG2.JPEG](https://doi.org/10.1177/19367244231208893/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_19367244231208893-FIG2.JPEG) [Accessed 16 April 2024]
69. Bwire G. M. (2020). Coronavirus: Why Men are More Vulnerable to Covid-19 Than Women?. *SN comprehensive clinical medicine*, [online] 2(7), p. 874–876.

- Available at: <https://doi.org/10.1007/s42399-020-00341-w> [Accessed 16 April 2024]
70. Chang, S. A., Kuan, C. H., Hung, C. Y., Wang, T. C. C., and Chen, Y. S. (2022). The outbreak of COVID-19 in Taiwan in late spring 2021: combinations of specific weather conditions and related factors. *Environmental Science and Pollution Research*, [online] 29(57), p. 85669–85675. Available at: <https://doi.org/10.1007/S11356-021-17055-8/FIGURES/4> [Accessed 17 April 2024]
71. Quinn, Gerry A., Michael Connolly, Norman E. Fenton, Steven J. Hatfill, Paul Hynds, Coilín ÓhAiseadha, Karol Sikora, Willie Soon, and Ronan Connolly. 2024. "Influence of Seasonality and Public-Health Interventions on the COVID-19 Pandemic in Northern Europe". *Journal of Clinical Medicine*, [online] 13, no. 2: p. 334. Available at: <https://doi.org/10.3390/jcm13020334> [Accessed 18 April 2024]
72. Doerre, A., and Doblhammer, G. (2022). The influence of gender on COVID-19 infections and mortality in Germany: Insights from age- and gender-specific modeling of contact rates, infections, and deaths in the early phase of the pandemic. *PLOS ONE*, [online] 17(5) p. e0268119. Available at: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0268119> [Accessed 18 April 2024]
73. Poland: Coronavirus (COVID-19) new cases by report 2023 | *Statista*, [online] (n.d.). Available at: <https://www.statista.com/statistics/1102374/poland-coronavirus-covid-19-new-cases-by-report/> [Accessed 19 April 2024]
74. COVID-19 cases Germany 2023 | *Statista*, [online] (n.d.). Available at: <https://www.statista.com/statistics/1100823/coronavirus-cases-development-germany/> [Accessed 19 April 2024]
75. <https://www.csdlab.ua/analyzes/covid-19/plr-koronavirus-sars-cov-2-covid-19-rnk-nozoorofarinhealnyy-zishkrib-yakvyzn>

76. <https://www.ebi.ac.uk/training/online/courses/functional-genomics-ii-common-technologies-and-data-analysis-methods/real-time-pcr/>