

УДК: 612.017.1:578.834.1Coronavirus:001.891
DOI: 10.62963/2073-2899-2025-50-71-74

ИЗМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬТУРЫ АДГЕЗИВНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ СИРИЙСКОГО ХОМЯЧКА, ЗАРАЖЁННОЙ *EX VIVO* SARS-COV-2 /OMICRON

¹С.А. Абрамова, ¹Е.И. Дробот, ¹Н.В. Крылова, ¹И.Н. Ляпун, ¹Е.К. Мерлов,
^{1,2}Е.П. Фоменко, ¹П.Г. Милованкин, ^{1,2}Ю.А. Белов, ¹Л.М. Сомова,
^{1,2}М.Ю. Щелканов

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора,
Владивосток, Российская Федерация

² Школа медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального универ-
ситета, Владивосток, Российская Федерация

В первичной культуре адгезивных лейкоцитов, выделенной из крови сирийского хомячка (*Mesocricetus auratus*) и зараженной *ex vivo* штаммом SARS-CoV-2 / Omicron в двух различных дозах, определяли динамику активности ферментов в динамике развития инфекции. Обнаруженные в ходе исследования закономерности имеют дозозависимый характер активации клеток. Снижение ферментативной активности инфицированных клеток свидетельствуют о снижении микробицидного потенциала клеток врождённого иммунитета при COVID-19. Это является ещё одним подтверждением дисфункции иммунной системы в процессе SARS-CoV-2-инфекции.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, лейкоциты, нейтрофилы, АТФаза, 5'-нуклеотидаза, лактатдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа, миелопероксидаза, цитохромоксидаза, микробицидный потенциал.

ENZYMATIC ACTIVITY TRENDS IN THE CULTURE OF SYRIAN HAMSTER ADHESIVE LEUKOCYTES INFECTED *EX VIVO* WITH SARS-COV-2 / OMICRON

¹S.A. Abramova, ¹E.I. Drobot, ¹N.V. Krylova, ¹I.N. Lyapun, ¹E.K. Merlov, ^{1,2}E.P. Fomenko,
¹P.G. Milovankin, ^{1,2}Yu.A. Belov, ¹L.M. Somova, ^{1,2}M.Yu. Shchelkanov

¹ G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation

² School of Medicine and Life Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

In the primary culture of adhesive leukocytes isolated from the blood of a Syrian hamster (*Mesocricetus auratus*) and infected *ex vivo* with the SARS-CoV-2 / Omicron strain in two different doses, the dynamics of enzyme activity in the dynamics of infection development was determined. The patterns discovered during the study have a dose-dependent nature of cell activation. A decrease in the enzymatic activity of infected cells indicates a decrease in the microbicide potential of innate immune cells in COVID-19. This is another confirmation of the dysfunction of the immune system in the process of SARS-CoV-2 infection.

Keywords: SARS-CoV-2, leukocytes, neutrophils, ATPase, 5'-nucleotidase, lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, myeloperoxidase, cytochrome oxidase, microbicide potential.

SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) (Nidovirales: Coronaviridae, *Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*) является этиологическим агентом коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19 – coronavirus disease 2019), пандемия которого (2020-2023 гг.) стала самой продолжительной и одной из наиболее смертоносных среди острых респираторных заболеваний (ОРЗ) в новейшей истории человечества [3, 14]. Более ранние события, связанные с особо опасными бета-коронавирусами – SARS-CoV (Severe acute respiratory syndrome coronavirus) (подрод *Sarbecovirus*) и MERS-CoV (Middle East respiratory syndrome coronavirus) (подрод *Merbecovirus*) – ограничивались масштабами региональных эпидемий с большим количеством завозных случаев [11-13].

После окончания пандемического периода SARS-CoV-2 не исчез из человеческой популяции, а превратился в одну из составляющих в структуре сезонного подъёма заболеваемости, связанной с острыми респираторными вирусными инфекциями [4, 18]. Кроме того, сохранились природные очаги этого вируса в популяциях летучих мышей (Chiroptera), многие биологические особенности которых изучены недостаточно полно [8, 15-17] и потому не позволяют надёжно прогнозировать будущие эпидемические риски. В этих условиях изучение патогенеза SARS-CoV-2-инфекции не теряет своей актуальности – тем более, что ряд аспектов этого процесса всё ещё изучен недостаточно полно. В связи с этим особый интерес вызывает процесс взаимодействия вируса с клетками периферической крови, в частности, с клетками врожденного иммунитета – нейтрофилами и моноцитами.

Описанные нами ранее морфологические изменения лейкоцитов периферической крови свидетельствуют об их значительном вовлечении в процесс SARS-CoV-2-инфекции [1, 5-7]. В научной литературе имеются отдельные сообщения об изменениях активности миелопероксидазы и лактатдегидрогеназы в сыворотке крови пациентов с диагнозом COVID-19, причём выраженность этих изменений коррелирует с тяжестью основного заболевания [21, 24, 28]. Ранее нами было проведено исследование по оценке метаболической функции клеток врожденного иммунитета при SARS-CoV-2-инфекции, вызванной геновариантом Delta [2]. Целью данной работы является изучение динамики ферментативной активности лейкоцитов периферической крови сирийского хомячка (*Mesocricetus auratus*) в динамике SARS-CoV-2-инфекции геноварианта Omicron *ex vivo*.

Материалы и методы

Первичную адгезивную культуру лейкоцитов сирийского хомячка получали из крови 15 особей в возрасте 4 мес. и массой около 100 г. Кровь собирали из сердца в стеклянные пробирки с гепарином. После отстаивания лейкоцитарную плёнку разносили в лунки культурального 96-луночного планшета, который помещали в термостат 37 °C × 40 мин, после чего среду с неадгезивированными клетками удаляли.

В работе использовался штамм SARS-CoV-2/Vladivostok/P60/2023 (VGARus ID: prim000210; GenBank ID: OR083731; GISAID ID: EPI_ISL_17738932; геновариант Omicron) в заражающих дозах 3 lgTCID₅₀/мл и 2 lgTCID₅₀/мл; время контакта заражающей вирус-содержащей жидкости с клеточной культурой 1 ч. Удельную активность аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы), 5'-нуклеотидазы (АМФазы), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), миелопероксидазы (МПО) и цитохромоксидазы (ЦХО) определяли спектрофотометрическим методом после инкубации со специфическими субстратами инфицированных и неинфицированных клеточных культур через $t = 1, 16, 24, 48$ ч после инокуляции вируса (п.и.в.). Дизайн исследования и статистическая обработка полученных результатов соответствовали ранее опубликованным работам [9, 10, 26].

Результаты и обсуждение

В динамике инфекционного процесса, вызванного использованным штаммом SARS-CoV-2, через 1 ч п.и.в. по сравнению с неинфицированными лейкоцитами была снижена удельная активность МПО, повышена активность АТФ-азы, АМФ-азы, ЛДГ, СДГ и ЦХО; через 16 ч п.и.в. снижена активность АТФ-азы, ЛДГ и МПО, повышена активность АМФ-азы и ЦХО, на исходном уровне, т.е. находится примерно на уровне неинфицированного контроля активность СДГ; через 24 ч п.и.в. повышена активность АТФ-азы, АМФ-азы и ЦХО, на исходном уровне – активность ЛДГ, СДГ и МПО; через 48 ч п.и.в. повышена активность АТФ-азы, АМФ-азы, ЛДГ, СДГ, ЦХО, на исходном уровне – активность МПО. После своего возникновения, геновариант Omicron SARS-CoV-2 занял доминирующую позицию в человеческой популяции. Он обладает более высокой трансмиссивностью, контагиозностью и способностью более эффективно избегать действия иммунной системы по сравнению с геновариантом Delta [19, 22, 23, 25]. Это обусловлено большим количеством мутаций в сравнении с другими вариантами, особенности – в спайковом белке [20]. Несмотря на это он считается менее опасным, нежели его предшественники.

Исследования показали, что Omicron – наиболее актуальный на данный момент штамм SARS-CoV-2 – обладает большей способностью подавлять врождённый иммунитет хозяина, тем самым повышая свою адаптивность и заразность [27].

Заключение

Выявленная динамика ферментативной активности в первичной культуре адгезивных лейкоцитов, инфицированных SARS-CoV-2 *ex vivo*, имеет разнонаправленный характер, зависящий от штамма, и свидетельствует о снижении микробицидного потенциала клеток врожденного иммунитета в процессе инфекции.

Литература

1. Абрамова С.А., Дробот Е.И., Пустовалов Е.В. и др. Ультраструктурная патология клеток врождённого иммунитета при COVID-19 // Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2023; (45): 109-111.
2. Абрамова С.А., Ляпун И.Н., Дробот Е.И. и др. Динамика ферментативной активности в первичной культуре адгезивных лейкоцитов сирийского хомячка, заражённых SARS-CoV-2

- ex vivo // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2025; 102(2): 168-178. DOI: 10.36233/0372-9311-649
3. Грибова В.В., Окунь Д.Б., Шалфеева Е.А. и др. Облачный сервис для дифференциальной клинической диагностики острых респираторных вирусных заболеваний (в том числе – связанных с особо опасными коронавирусами) методами искусственного интеллекта // Якутский медицинский журнал. 2020; (2): 44-47. DOI: 10.25789/YMJ.2020.70.13
 4. Попова А.Ю., Щелканов М.Ю., Крылова Н.В. и др. Генотипический портрет SARS-CoV-2 на территории Приморского края в период пандемии COVID-19 // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2024; 101(1): 19-35. DOI: 10.36233/0372-9311-497
 5. Сомова Л.М., Коцюрбий Е.А., Дробот Е.И. и др. Клинико-морфологические проявления дисфункции иммунной системы при новой коронавирусной инфекции COVID-19 // Клиническая и экспериментальная морфология. 2021; 10(1): 11-20. DOI: 10.31088/CEM2021.10.1.11-20
 6. Сомова Л.М., Дробот Е.И., Пустовалов Е.В. и др. Морфология лейкоцитов периферической крови у больных новой коронавирусной инфекцией COVID-19 // Клиническая и экспериментальная морфология. 2023; 12(3): 41-49. DOI: 10.31088/CEM2023.12.3.41-49
 7. Сомова Л.М., Абрамова С.А., Дробот Е.И. и др. Нейтрофильные синцитии в периферической крови пациентов с коронавирусной инфекцией (COVID-19) // Клиническая экспериментальная морфология. 2024; 13(3): 26-33. DOI: 10.31088/CEM2024.13.3.26-33
 8. Щелканов Е.М. Электризационная гипотеза отсутствия вшей (*Anoplura* Leach, 1815) у рукокрылых (*Chiroptera* Blumenbach, 1779) // Юг России: экология, развитие. 2021; 16(2): 6-16. DOI: 10.18470/1992-1098-2021-2-6-16
 9. Щелканов М.Ю., Сахурия И.Б., Полякова Е.Б. и др. Повышение качества МТТ-метода с помощью микродозаторных наконечников специальной конструкции // Иммунология. 1998; 19(4): 57-59.
 10. Щелканов М.Ю., Сахурия И.Б., Бурунова В.В. и др. Дегидрогеназная активность ВИЧ-инфицированных клеток при анализе результатов МТТ-теста // Иммунология. 1999; 20(1): 37-41.
 11. Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Коронавирусы человека (*Nidovirales*, *Coronaviridae*): возросший уровень эпидемической опасности // Лечащий врач. 2013; 10: 49-54.
 12. Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Ближневосточный респираторный синдром: когда вспыхнет тлеющий очаг? // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015; (2): 94-98.
 13. Щелканов М.Ю., Ананьев В.Ю., Кузнецов В.В., Шуматов В.Б. Эпидемическая вспышка Ближневосточного респираторного синдрома в Республике Корея (май-июль 2015 г.): причины, динамика, выводы // Тихоокеанский медицинский журнал. 2015; (3): 89-93.
 14. Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г. и др. История изучения и современная классификация коронавирусов (*Nidovirales*, *Coronaviridae*) // Инфекция и иммунитет. 2020; 10(2): 221-246. DOI: 10.15789/2220-7619-NOI-1412
 15. Щелканов М.Ю., Дунаева М.Н., Москвина Т.В. и др. Каталог вирусов рукокрылых (2020) // Юг России: экология, развитие. 2020; 15(3): 6-30. DOI: 10.18470/1992-1098-2020-3-6-30
 16. Щелканов М.Ю., Табакаева Т.В., Любченко Е.Н. и др. Рукокрылые: общая характеристика отряда. Владивосток: Изд-во ДВФУ, 2021; 130 с. DOI: 10.24866/7444-5119-6
 17. Щелканов М.Ю., Татонина Ю.В., Табакаева Т.В. и др. Эндопаразиты рукокрылых: нематоды. Владивосток: Изд-во ДФВУ, 2023; 112 с. DOI: 10.61726/5457.2024.48.27.001
 18. Щелканов М.Ю. Этиология COVID-19 // В кн.: COVID-19: от этиологии до вакцинопрофилактики. Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2023; 11-53. DOI: 10.33029/9704-7967-4-COV-2023-1-288
 19. Carabelli A.M., Peacock T.P., Thorne L.G., et al. SARS-CoV-2 variant biology: immune escape, transmission and fitness // *Nat. Rev. Microbiol.* 2023; 21(3): 162-177. DOI: 10.1038/s41579-022-00841-7
 20. Chavda V.P., Bezbaruah R., Deka K., et al. The Delta and Omicron variants of SARS-CoV-2: What we know so far // *Vaccines (Basel)*. 2022; 10(11): 1926. DOI: 10.3390/vaccines10111926
 21. Han Y., Zhang H., Mu S., et al. Lactate dehydrogenase, an independent risk factor of severe COVID-19 patients: a retrospective and observational study // *Aging*. 2020; 12(12): 11245-11258. DOI: 10.18632/aging.103372
 22. Kontopodis E., Pierros V., Stravopodis D.J., Tsangaris G.T. Prediction of SARS-CoV-2 Omicron variant immunogenicity, immune escape and pathogenicity, through the analysis of spike protein-specific core unique peptides // *Vaccines (Basel)*. 2022; 10(3): 357. DOI: 10.3390/vaccines10030357
 23. Manathunga S.S., Abeyagunawardena I.A., Dharmaratne S.D. A comparison of transmissibility of SARS-CoV-2 variants of concern // *Virology*. 2023; 20(1): 59. DOI: 10.1186/s12985-023-02018-x
 24. Poggiali E., Zaino D., Immovilli P., et al. Lactate dehydrogenase and C-reactive protein as predictors of respiratory failure in COVID-19 patients // *Clinica Chimica Acta*. 2020; 509: 135-138. DOI: 10.1016/j.cca.2020.06.012
 25. Radhakrishnan N., Liu M., Idowu B., et al. Comparison of the clinical characteristics of SARS-CoV-2 Delta (B.1.617.2) and Omicron (B.1.1.529) infected patients from a single hospitalist service // *BMC Infect. Dis.* 2023; 23(1): 747. DOI: 10.1186/s12879-023-08714-x

26. Shchelkanov M.Y., Sakhuriya I.B., Burunova V.V., et al. Dehydrogenase activity of infected cells and biological properties of HIV-1 variants // Biochemistry. 1999; 64: 431-436.
27. Zhang X., Wu S., Wu B., et al. SARS-CoV-2 Omicron strain exhibits potent capabilities for immune evasion and viral entrance // Signal Transduct. Target Ther. 2021; 6(1): 430. DOI: 10.1038/s41392-021-00852-5
28. Zini G., d'Onofrio G. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Focus on peripheral blood cell morphology // Brit. J. Haemat. 2023; 200(4): 404-419. DOI: 10.1111/bjh.18489

Сведения об ответственном авторе:

Абрамова Светлана Алексеевна - м.н.с. лаборатории патоморфологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия; e-mail: svetochey99@mail.ru.

УДК: 575.28:578.834.1Coronavirus:(571.63)"2020/2024"

DOI: 10.62963/2073-2899-2025-50-74-76

ТИПИЧНЫЕ И МАЛОРАСПРОСТРАНЁННЫЕ МУТАЦИИ SARS-COV-2 В ПРИМОРСКОМ КРАЕ (2020-2024 ГГ.)

¹А.А. Белик, ^{1,2}Л.М. Семейкина, ¹Е.В. Персиянова, ¹М.Ф. Трофимова,
¹П.Г. Милованкин, ^{1,3}Ю.А. Белов, ¹Н.В. Крылова, ⁴С.П. Крыжановский,
^{1,3}М.Ю. Щелканов

¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация

² Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае, Владивосток, Россия

³ Школа медицины и наук о жизни Дальневосточного федерального университета, Владивосток, Российская Федерация

⁴ Медицинское объединение Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Российская Федерация

В НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора были секвенированы 1024 образца SARS-CoV-2, отобранных с 29.09.2020 по 20.12.2024 в Приморском крае. Полученные нуклеотидные последовательности были депонированы в российскую национальную базу молекулярно-генетических данных VGARus. Биоинформационный анализ указанных нуклеотидных последовательностей позволил классифицировать их как принадлежащие к 143 различным генетическим линиям Pango, из которых наиболее часто встречались B.1.1 (178 образцов), JN.1.7 (98) и AY.122 (67). В исследованных образцах были обнаружены как не только типичные, но и нехарактерные для своих генетических линий мутации.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, B.1.1, JN.1.7, AY.122, мутации.

TYPICAL AND RARE MUTATIONS OF SARS-COV-2 IN PRIMORSKY KRAI (2020-2024)

¹A.A. Belik, ^{1,2}L.M. Semeikina, ¹E.V. Persiyanova, ¹M.F. Trofimova, ¹P.G. Milovankin,
¹Yu.A. Belov, ¹N.V. Krylova, ⁴S.P. Kryzhanovsky, ^{1,3}M.Yu. Shchelkanov

¹ G.P. Somov Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor, Vladivostok, Russian Federation

² Center for Hygiene and Epidemiology in Primorsky krai, Vladivostok, Russian Federation

³ School of Medicine and Life Sciences, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

⁴ Medical Association of the Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation