

Медико-биологические проблемы жизнедеятельности

Научно-практический рецензируемый журнал

№ 3(35)
2025 г.

Учредитель

Государственное учреждение
«Республиканский научно-
практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»

Журнал включен в

Перечень научных изданий
Республики Беларусь
для опубликования
диссертационных исследований
по медицинской
и биологической
отраслям науки
(31.12.2009, протокол 25/1)

Журнал зарегистрирован

Министерством информации
Республики Беларусь,
Свид. № 762 от 6.11.2009

Подписано в печать 19.09.25
Формат 60×90/8. Бумага мелованная.
Гарнитура «Times New Roman».
Печать цифровая. Тираж 100 экз.
Усл. печ. л. 14,0. Уч.-изд. л. 8,05.
Зак. 260.

Издатель ГУ «Республиканский
научно-практический центр
радиационной медицины
и экологии человека»
Свидетельство N 1/410 от 14.08.2014

Отпечатано в
КУП «Редакция газеты
«Гомельская праўда»
г. Гомель, ул. Полесская, 17а

ISSN 2074-2088

Главный редактор, председатель редакционной коллегии

А.В. Рожко (д.м.н., профессор)

Редакционная коллегия

В.С. Аверин (д.б.н., профессор), В.В. Аничкин (д.м.н., профессор),
В.Н. Беляковский (д.м.н., профессор), К.Н. Буздакин (к.т.н.,
доцент), Н.Г. Власова (д.б.н., профессор, научный редактор),
А.В. Величко (к.м.н., доцент), И.В. Веякин (к.б.н., доцент),
Н.Н. Веякина (к.б.н., отв. секретарь), А.В. Воропаева (к.б.н.,
доцент), Д.И. Гавриленко (к.м.н.), М.О. Досина (к.б.н., до-
цент), А.В. Жарикова (к.м.н.), С.В. Зыблева (д.м.н., доцент),
С.А. Игумнов (д.м.н., профессор), А.В. Коротаев (к.м.н.,
доцент), А.Н. Лызилов (д.м.н., профессор), А.В. Макарович
(к.м.н., доцент), С.Б. Мельнов (д.б.н., профессор), В.М. Мицура
(д.м.н., профессор, зам. гл. редактора), Я.Л. Навменова (к.м.н.,
доцент), И.А. Новикова (д.м.н., профессор), Э.Н. Платошкин
(к.м.н., доцент), Э.А. Повелица (к.м.н.), А.С. Подгорная
(к.м.н.), Ю.И. Рожко (к.м.н., доцент), И.П. Ромашевская
(к.м.н., доцент), А.П. Саливончик (к.б.н.), А.Е. Силин (к.б.н.,
доцент), А.Н. Стожаров (д.б.н., профессор), И.О. Стома (д.м.н.,
профессор), Р.М. Тахауов (д.м.н., профессор), Н.И. Шевченко
(к.б.н., доцент), Ю.И. Ярец (к.м.н., доцент)

Редакционный совет

А.В. Аклеев (д.м.н., профессор, Челябинск), О.В. Алейникова
(д.м.н., чл.-кор. НАН РБ, Минск), С.С. Алексанин (д.м.н.,
профессор, Санкт-Петербург), Е.Л. Богдан (Минск),
Л.А. Бокерия (д.м.н., академик РАН и РАМН, Москва),
А.Ю. Бушманов (д.м.н., профессор, Москва), И.И. Дедов
(д.м.н., академик РАМН, Москва), В.И. Жарко (Минск),
К.В. Котенко (д.м.н., профессор, Москва), В.Ю. Кравцов
(д.б.н., профессор, Санкт-Петербург), Н.Г. Кручинский (д.м.н.,
профессор, Пинск), Т.В. Мохорт (д.м.н., профессор, Минск),
В.Ю. Рыбников (д.м.н., профессор, Санкт-Петербург), А.А. Усс
(д.м.н., профессор, Минск), В.А. Филонюк (д.м.н., профессор,
Минск), Р.А. Часнойть (к.э.н., Минск), В.Д. Шило (Минск)

Технический редактор

С.Н. Никонович

Корректор

Н.Н. Юрченко

Адрес редакции 246040 г. Гомель, ул. Ильича, д. 290,
ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ», редакция журнала
тел (0232) 38-95-00, факс (0232) 37-80-97
<http://www.mbp.rcrm.by> e-mail: mbp@rcrm.by

© Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр
радиационной медицины и экологии человека», 2025

№ 3(35)

2025

Medical and Biological Problems of Life Activity

Scientific and Practical Journal

Founder

Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

Journal registration
by the Ministry of information
of Republic of Belarus

Certificate № 762 of 6.11.2009

© Republican Research Centre
for Radiation Medicine
and Human Ecology

ISSN 2074-2088

Медико-биологические проблемы**Medical-biological problems**

И.В. Веялкин, С.Л. Ачинович, И.Л. Кравцова, И.В. Ковалев, Е.А. Никиташина, А.А. Россол, Э.А. Надыров

Разработка и валидация номограммы, прогнозирующей неблагоприятный исход рака прямой кишки у пациентов на I–III стадии заболевания

6

Н.Г. Власова, К.Н. Буздалькин, Е.К. Нилова
Прогноз доз облучения работников при возврате земель в использование

13

М.В. Линков, И.В. Веялкин, Ж.М. Козич, Е.С. Евсейчик, Н.Н. Усова

Эпидемиологическая сводка по множественной миеломе в Гомельской области и Республике Беларусь за последние 15 лет

19

Е.Г. Фомина, Е.Е. Григорьева, В.В. Зверко, А.Д. Коржеева

Сравнительный анализ экспрессии ключевых белков для инфицирования коронавирусом клеточных культур различного происхождения

27

Е.Г. Юркина, С.И. Кривенко, Е.А. Примакова, Е.А. Назарова, А.А. Сыманович, Н.И. Дедюля, И.А. Романова, Е.А. Янушевская, В.В. Смольникова, Д.Ю. Ефимов

Сравнительный анализ продукции растворимых факторов мезенхимальными стволовыми клетками плацентарно-пуповинного комплекса, жировой ткани и костного мозга

34

M. Ghaith, A.G. Syasa, E.P. Zhyvitskaya

Phenobarbital-induced CD4⁺ up-regulation predicts seizure reduction in epilepsy

42

I.V. Veyalkin, S.L. Achinovich, I.L. Kravtsova, I.U. Kavaleu, L.A. Nikitashina, A.A. Rasol, E.A. Nadyrov

Development and validation of a nomogram predicting unfavorable outcomes in patients with stage I–III rectal cancer

N.G. Vlasova, C.N. Bouzdalkin, E.K. Nilova

Forecast of radiation doses to workers during the return of land to use

M.V. Linkou, I.V. Veyalkin, Zh.M. Kozich, K.S. Yauseichyk, N.N. Usova

Epidemiological summary of multiple myeloma in the Gomel region and the Republic of Belarus over the past 15 years

E.G. Fomina, E.E. Grigorieva, V.V. Zverko, A.D. Korzheeva

A comparative analysis of the expression of key proteins involved in the entry of coronavirus into different types of cell cultures

E.G. Yurkina, S.I. Krivenko, E.A. Primakova, E.A. Nazarova, A.A. Symanovich, N.I. Dedyulya, I.A. Romanova, E.A. Yanush-evskaya, V.V. Smolnikova, D.Yu. Efimov

Comparative analysis of the production of soluble factors by mesenchymal stem cells of the placenta-umbilical cord complex, adipose tissue and bone marrow

M. Gaith, A.G. Syasa, E.P. Zhyvitskaya

Фенобарбитал-индуцированное повышение уровня CD4⁺-лимфоцитов предсказывает снижение частоты приступов при эпилепсии

Клиническая медицина**Clinical medicine**

Т.В. Бобр, О.М. Предко, И.И. Бутко
Клинический случай интравитреальной
гематомы при буллезном ретиношизисе 49

А.В. Доманцевич
Взаимосвязь стадии множественной
миеломы, типа остеодеструктивного
поражения и костной плазмцитомы:
взгляд лучевого диагноста 55

**М.В. Белевцев, С.О. Шарапова, И.Е. Гу-
рьянова, Ю.С. Жаранкова, Е.А. По-
лякова, С.Н. Алешкевич, И.С. Сако-
вич, А.Н. Купчинская, Т.П. Володашич,
Е.Я. Скоповец, В.Р. Вертелко, П.Ю. Бо-
брик, М.Г. Шитикова, Д.А. Цеханович,
Л.В. Жерко, Т.А. Углова, А.В. Солнце-
ва, А.П. Саливончик, С.В. Зыблева,
О.М. Хурс, О.В. Прибушеня**
Регистр первичных иммунодефицитов
в Республике Беларусь: 20-летний опыт 63

**О.В. Пархоменко, Э.А. Повелица, А.С. Кня-
зюк, В.А. Доманцевич, А.М. Шестерня**
К вопросу реваскуляризации полового
члена и операции Virag 75

**А.С. Подгорная, А.Ю. Захарко, О.В. Му-
рашко, В.Н. Калачев**
Синдром внутрисосудистой абсорбции
как осложнение оперативной гистероскопии 81

А.В. Рожко, В.А. Рожко, И.Г. Савастеева
Риски клинической манифестации са-
харного диабета 2 типа у населения
трудоспособного возраста 89

**И.П. Ромашевская, С.А. Ходулева, А.Н. Де-
миденко, Е.Ф. Мицура, Е.В. Борисова**
Гематологические проявления парво-
вирусной В19 инфекции у детей 96

T. Bobr, O. Predko, I. Butko
A clinical case of intraretinal hematoma
in bullous retinoschisis

A. V. Domantsevich
The relationship between multiple my-
eloma stage, type of osteodestructive le-
sion, and bone plasmacytoma: a radiolo-
gist's perspective

**M. Belevtsev, S. Sharapova, I. Gury-
anova, Yu. Zharankova, E. Polyakova,
S. Aleshkevich, I. Sakovich, A. Kupchin-
skaya, T. Volodashchik, E. Skopovets,
V. Vertelko, P. Bobrik, M. Shitikova,
D. Tsehanovich, L. Zherko, T. Uglova,
A. Solntseva, A. Salivonchik, S. Zybleva,
O. Hurs, O. Pribushenya**
Registry of primary immunodeficiencies in
the Republic of Belarus: 20-year experience

**O.V. Parhomenko, E.A. Povelitsa, A.S. Kni-
aziuk, A.V. Domantsevich, A.M. Shesternja**
On the Issue of Penile Revascularization
and the VIRAG Operation

**A.S. Podgornaya, A.Yu. Zaharko, O.V. Mu-
rashko, V.N. Kalachev**
Intravascular absorption syndrome as a
complication of surgical hysteroscopy

A.V. Rozhko, V.A. Rozhko, I.G. Savasteeva
Risks of clinical manifestation of diabe-
tes mellitus type 2 in the working-age
population

**I. Romashevskaya, S. Khoduleva, A. De-
midenko, E. Mitsura, E. Borisova**
Hematological manifestations of parvo-
virus B19 infection in children

Обмен опытом**Experience exchange**

Е.В. Родина, Д.И. Гавриленко, Н.И. Корженевская, О.А. Романива, А.П. Саливончик, Е.С. Тихонова, Л.А. Ткаченко

Место спекл-трекинг эхокардиографии в современной диагностике ишемической болезни сердца: разбор клинического случая

101

Tian-Qi He, Xu-Liang Xia, Zhi-Qiang Jiang
The Evolution of Thyroid Surgery in China: From Open Approach to Endoscopic Minimally Invasive Techniques

109

A. Rodzina, D. Haurilenka, N. Karzhaneuskaya, A. Romaniva, A. Salivontchik, K. Tsikhanava, L. Tkachenka

The place of speckle tracking echocardiography in modern diagnostics of ischemic heart disease: analysis of a clinical case

Тяньци Хэ, Сюйлян Ся, Чжицян Цзян

Эволюция хирургии щитовидной железы в Китае: от открытого доступа к эндоскопическим малоинвазивным методам

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ КЛЮЧЕВЫХ БЕЛКОВ ДЛЯ ИНФИЦИРОВАНИЯ КОРОНАВИРУСОМ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

¹ГУ «РЦ гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», г. Минск, Беларусь;

²ООО «Альгимед Техно», г. Минск, Беларусь

Экспрессия определённых рецепторов и протеаз в каждом типе клеток диктует относительное предпочтение различных путей проникновения SARS-CoV-2: путём слияния вирусной мембраны с мембраной клетки-хозяина, опосредованного TMPRSS2, либо путём эндоцитоза, при котором катепсин L (CTSL) отвечает за расщепление S-белка вируса. В клеточных линиях человека различного тканевого происхождения (n=5) и в линиях клеток, происходящих из почечной ткани различных видов животных (n=7), оценён уровень экспрессии м-РНК трёх ключевых белков (ACE2-рецептора, сериновой протеазы TMPRSS2 и катепсина L), участвующих в этапе проникновения вируса SARS CoV-2 в клетки хозяина. Наибольший уровень экспрессии гена ACE2 наблюдался в клетках аденокарциномы ободочной кишки человека Caco-2, а в клетках Vero и VeroE6 (почка африканской зелёной мартышки) уровень экспрессии этого гена более чем в 4 раза превышал таковой для остальных исследованных клеточных линий животного происхождения. Среди клеточных линий человека наибольший уровень экспрессии гена TMPRSS2 наблюдался для клеточных культур HEK293T (почка эмбриона) и Caco-2, среди культур клеток животного происхождения — для клеток MDBK (бык домашний). Максимальный уровень экспрессии мРНК гена CTSL имел место для культуры A549 (карцинома лёгкого человека).

Полученные данные представляют интерес для выбора модельной системы исследования путей, используемых вирусом для проникновения в инфицируемые мишени и изучения различных аспектов взаимодействия SARS-CoV-2 с клеткой.

Ключевые слова: коронавирус SARS-CoV-2, ACE-2 рецептор, сериновая протеаза TMPRSS, катепсин L, культуры клеток

Введение

Коронавирусы могут использовать различные протеазы хозяина для инфицирования клеток-мишеней. К ферментам, способствующим проникновению вируса, относятся пропротеиновые конвертазы (главным образом, фурин), трансмембранные сериновые протеазы, в частности трансмембранная сериновая протеаза второго типа TMPRSS2, лизосомальные катепсины, эластаза и фактор свёртывания крови Ха [1, 2].

Коронавирус SARS-CoV-2, как известно, характеризуется сходным с SARS-CoV механизмом заражения клеток-хозяев. Он распознаёт и связывает, но с более высо-

ким сродством, рецептор ангиотензин-превращающего фермента 2 типа (ACE2) на поверхности клетки, при этом для слияния вириона с клеточной мембраной необходим процессинг вирусного поверхностного спайкового гликопротеина (S-белка).

S-белок SARS-CoV-2 состоит из 1 273 аминокислот и содержит N-концевой S1 домен, включающий рецептор-связывающий домен (RBD), и C-концевой S2 домен, ответственный за слияние. Процессирование спайкового белка предполагает его протеолитическое расщепление в двух специфических сайтах: между доменами S1 и S2, а также в домене S2 (сайт S2') [2]. Сайт гидролиза S1/S2 в S-белке распознаётся различными про-

теазами, включая фурин и TMPRSS2. Протеолиз по сайту S2' может осуществляться протеазой TMPRSS2 на поверхности клетки или цистеиновыми протеазами, главным образом катепсином L (CTSL), в эндолизосомах [3].

К настоящему времени установлено, что проникновение вируса SARS-CoV-2 в клетки может реализовываться двумя путями: посредством слияния вириона с клеточной мембраной, экспонирующей молекулы ACE2 и TMPRSS2 (и/или другие трансмембранные сериновые протеазы), а также за счёт рецептор-опосредованного эндоцитоза. В первом случае оба этапа гидролиза S-белка реализуются при участии TMPRSS2, тогда как при втором механизме связывание вириона с ACE2-рецептором индуцирует эндоцитоз с последующим процессированием S-белка катепсином L и/или другими цистеиновыми протеазами. В результате реализации обоих путей вирусная РНК высвобождается в клетке-хозяине и подвергается процессам репликации. Способность SARS-CoV-2 использовать различные пути проникновения в клетки, вероятно, позволяет увеличить спектр инфицируемых клеток-мишеней, что способствует широкому тропизму вируса в естественных условиях [2, 3].

Клеточные культуры, как известно, находят широкое применение в качестве моделей при изучении различных аспектов коронавирусной инфекции, поскольку являются полезным инструментом для понимания механизмов взаимодействия между SARS-CoV-2 и разнообразными клеточными мишенями, изучения влияния ингибиторов на процесс заражения клеток, анализа эффективности противовирусных лекарственных средств и др.

Цель исследования — оценить уровень экспрессии генов ACE2, TMPRSS2 и CTSL, кодирующих ключевые для инфицирования SARS-CoV-2 молекулы, в различных культурах клеток человеческого и животного происхождения.

Материал и методы исследования

В эксперименте были использованы клеточные культуры человеческого про-

исхождения: HEK293T (почка эмбриона), HeLa (карцинома шейки матки), HuTu-80 (аденокарцинома двенадцатиперстной кишки), Caco-2 (аденокарцинома ободочной кишки), A549 (карцинома лёгкого), а также культуры клеток, происходящие из почечной ткани различных видов животных: BGM (африканская зелёная мартышка), Vero E6 (африканская зелёная мартышка), Vero (африканская зелёная мартышка), Ma-104 (карликовая мартышка), MDBK (бык домашний), СПЭВ (свинья), MDCK (собака). Клетки культивировали в среде DMEM, содержащей 2мМ L-глутамина, 10% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, антибиотики пенициллин (100 ЕД/мл) и стрептомицин (100 мкг/мл), в атмосфере 5% CO₂ при температуре 37°C. Пересев клеток осуществляли общепринятым методом. Для диссоциации клеток использовали 0,25% раствор трипсина и 0,02% раствор Версена в соотношении 1:3.

Уровень экспрессии генов оценивали методом количественной ОТ-ПЦР (обратная транскрипция с последующей полимеразной цепной реакцией). Выделение РНК из клеточной суспензии осуществляли с использованием реагента Trizol (Ambion, США) согласно инструкции производителя. Для получения кДНК проводили реакцию обратной транскрипции с набором «ОТ-1» (Синтол, Российская Федерация).

Постановку ПЦР осуществляли на термоциклере Quant Studio 5.0 (Applied Biosystems, США) по алгоритму Comparative Ct ($\Delta\Delta C_t$) с использованием олигонуклеотидов, синтезированных ООО «АртБиоТех» (Республика Беларусь). Для амплификации фрагмента гена ACE2 человека — прямой / обратный 5'-CGAAGCCGAAGACCTGTTCTA-3' / 5'-GGGCAAGTGTGGACTGTTCC-3' [4]; для культур клеток приматов Vero, VeroE6, BGM, Ma-104 — прямой / обратный 5'-CCCTTGGACAGAAACCAAAC-3' / 5'-TTCCCAGAATCCTTGAGTCAT-3'; для культур клеток MDCK, MDBK, СПЭВ — прямой / обратный 5'-GAAGGGTGACTTCAGGATCAA-3' /

5'-GCCATGTCATACTGGATGTG-3' [5]. Для амплификации фрагмента гена *TMPRSS2* — прямой / обратный 5'-AATCGGTGTGTTTCGCCTCTAC-3' / 5'-CGTAGTTCTCGTTCCAGTCTCGT-3' [6]. Для амплификации фрагмента гена *CTSL* — прямой / обратный 5'-AAACTGGGAGGCTTATCTCACT-3' / 5'-GCATAATCCATTAGGCCACCAT-3' [7].

Состав реакционной смеси: 2,5 мкл 10xTaq-буфера, 1,0 мкл $MgCl_2$ (50 мМ), 0,5 мкл смеси дНТФ (10 мМ), по 7,5 пмоль соответствующих праймеров, 0,25 мкл 100x интеркалирующего красителя SYBR Green (Евроген, Российская Федерация), 0,2 мкл Taq-ДНК-полимеразы (5 ед/мкл) ArtStart (АртБиоТех, Республика Беларусь), 2,5 мкл матрицы, деионизованная вода до конечного объёма 25 мкл. Для оценки специфичности реакции проводили анализ кривых плавления. Плавление продуктов амплификации осуществляли в диапазоне 65–95°C при градиенте температуры 0,15°C/секунду. Уровень экспрессии нормировали относительно референс-гена *18S rRNA* по методу 2- ΔC_t .

Результаты исследования

Ангиотензинпревращающий фермент 2-го типа в той или иной степени экспрессируется во многих клетках человека и выполняет различные функции в зависимости от локализации в организме. Известно, что в сердечно-сосудистой системе ACE2 обеспечивает баланс между двумя основными ветвями ренин-ангиотензин-альдостероновой системы. В кишечнике ACE2 контролирует транспорт аминокислот, экспрессию антимикробных пептидов и поддержание видового разнообразия микробиома. Иммуногистохимическими методами показано, что относительно высокий уровень экспрессии ACE2 характерен для клеток ряда органов и тканей, включая лёгочную (бронхиальный эпителий, пневмоциты I и II порядка), миокард, эпителиоциты почек, эндотелий сосудов, клетки мочевого пузыря, подвздошной кишки, центральной нервной системы [8].

В этой связи интересным представлялось исследовать ряд клеточных линий человека различного тканевого происхождения на наличие ACE2, как специфического вирусного рецептора, отвечающего за связывание с S-белком SARS-CoV-2. Результаты сравнительного анализа уровня мРНК гена *ACE2*, проведённого методом ОТ-ПЦР, показали, что наибольший уровень экспрессии гена *ACE2* наблюдался для клеточной культуры Сасо-2. Культуры A549 и HEK293T характеризовались невысоким уровнем экспрессии исследуемого гена, тогда как в клетках HuTu-80 и HeLa экспрессия гена *ACE2* не детектировалась (рисунок 1А).

Большое количество работ посвящено всестороннему изучению ACE2 рецептора у животных с целью установления особенностей взаимодействия между коронавирусами и их рецепторами у разных организмов, путей и потенциала зоонозной передачи SARS-CoV-2, оценки риска заражения и степени восприимчивости различных видов животных к коронавирусной инфекции [9].

Для проведения исследований по оценке уровня экспрессии ACE2-рецептора были выбраны клеточные линии, происходящие из почечной ткани различных видов животных, которые характеризуются разной степенью гомологии ACE2-рецептора с ACE2-рецептором человека. Как показали результаты выполненных к настоящему времени исследований *in silico*, для приматов *Chlorocebus aethiops* (африканская зелёная мартышка) и *Macaca mulatta* (макака резус) имеет место 100% совпадение 25 аминокислотных остатков, участвующих в связывании с S-белком, с аналогичными аминокислотами в составе ACE2-рецептора человека (25/25); средняя степень гомологии (21/25) установлена для *Bos taurus* (бык), низкая (19/25) — для *Canis lupus familiaris* (собака) и *Sus scrofa* (свинья). При этом процент сходства полных нуклеотидных последовательностей ACE2 составляет около 95% для приматов и 78,8% — для *Bos taurus* (бык), 83,3% — для *Canis lupus familiaris* (собака) и 81,4% — *Sus scrofa* (свинья) [9].

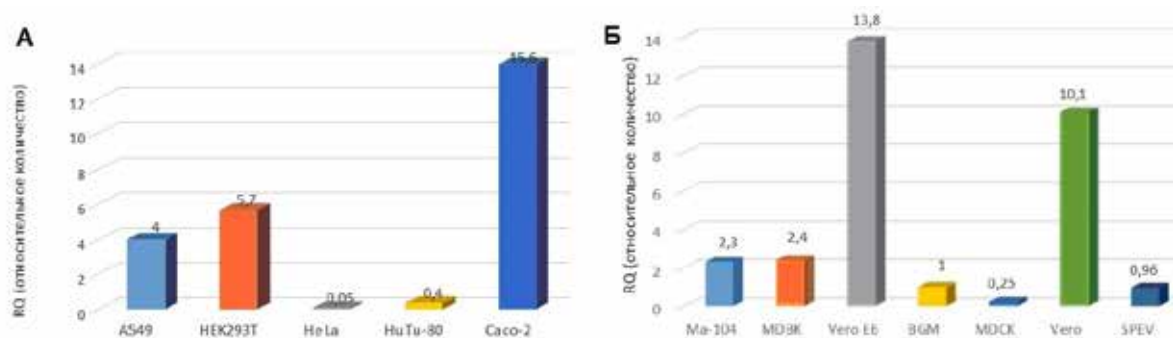


Рисунок 1 — Сравнительный анализ уровня экспрессии гена, кодирующего ACE2-рецептор, в клеточных линиях человека (А) и животных (Б)

Результаты проведённых экспериментов показали, что в клетках культур Vero и VeroE6 экспрессия гена *ACE2* максимальна, при этом её уровень более чем в 4 раза превышает таковой для остальных исследованных клеточных линий. Помимо культур клеток приматов ген *ACE2* также экспрессировался в клетках MDBK и СПЭВ, тогда как в клетках MDCK экспрессии ACE2 не наблюдалось (рисунок 1Б).

TMPRSS2 принадлежит к семейству трансмембранных сериновых протеаз (TTSP), которое включает 19 поверхностно-экспрессируемых трипсиноподобных мультидоменных ферментов (сериновых протеаз), участвующих в протеолитических каскадах по ремоделированию внеклеточного матрикса и активации мембранных белков, а также играющих важную роль в поддержании гомеостаза эпителиальных клеток [10]. Функции TMPRSS2 в организме человека реализуются в ходе целого ряда физиологических и патологических процессов, таких как пищеварение, свёртывание крови, воспалительная реакция, инвазия опухолевых клеток. TMPRSS2 экспрессируется в различных органах и тканях человека, включая предстательную железу, дыхательные пути и желудочно-кишечный тракт, а также в печени, почках, поджелудочной железе, тимусе и слюнных железах [11]. Интересно, что степень гомологии TMPRSS2 между человеком и другими видами млекопитающих существенно ниже по сравнению с гомологией ACE2. Так, например, у *Macaca mulatta* гомология

ACE2 с человеком составляет 94,96%, тогда как для TMPRSS2 — 88,06% [12].

Анализ полученных нами данных показал, что среди клеточных линий человека наибольший уровень экспрессии гена *TMPRSS2* наблюдался для клеточных культур HEK293T и Caco-2 (рисунок 2А). Следует упомянуть, что клеточная линия Caco-2 также характеризовалась максимальным значением уровня мРНК гена *ACE2* среди культур человеческого происхождения, исследованных в эксперименте. Отсутствие экспрессии гена *TMPRSS2* было отмечено для культур клеток HeLa и A549.

Результаты сравнительного анализа уровня мРНК гена *TMPRSS2* для клеточных культур животного происхождения, проведённого методом ОТ-ПЦР, показали, что максимальный уровень экспрессии гена *TMPRSS2* наблюдался для культуры клеток MDBK; детектируемый — для Vero E6, BGM и Ma-104. В клеточных линиях MDCK, СПЭВ и Vero ген *TMPRSS2* не экспрессировался (рисунок 2Б).

Группа цистеиновых катепсинов, принадлежащих к папаин-подобному семейству цистеиновых протеаз, у человека насчитывает 11 катепсинов (В, С, F, Н, К, L, О, S, V, X и W). Данные ферменты относятся к лизосомальным протеазам и участвуют преимущественно во внутриклеточном распаде белков, процессинге антигенов, МНС-II опосредованном иммунном ответе и апоптозе. Помимо этого, они задействованы в ряде биохимических процессов во внеклеточном матриксе. Как и другие катепсины, катепсин

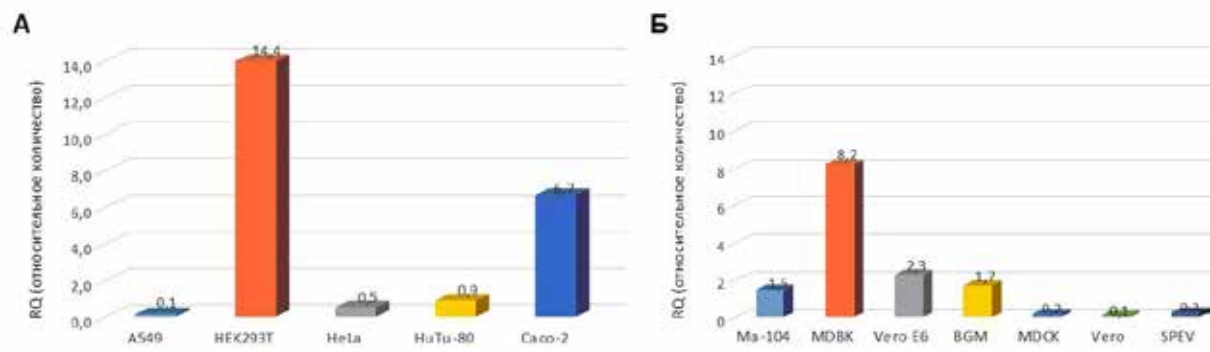


Рисунок 2 — Относительная экспрессия матричной РНК гена, кодирующего сериновую протеазу TMPRSS2, в различных клеточных культурах человека (А) и животных (Б)

L проявляет плейотропную активность в организме человека, главным образом участвуя в воспалительных процессах при различных патологических состояниях. К настоящему времени установлена доминирующая роль катепсина L в рецептор-опосредованном эндцитозном механизме инфицирования клеток при COVID-19 [2, 13].

По результатам количественной ОТ-ПЦР исследованные культуры клеток человеческого происхождения характеризовались разным уровнем экспрессии гена *CTSL*. Так, в клетках HuTu-80 мРНК данного гена не выявлялась, минимальное её количество детектировалось для клеточной линии HEK293T, средние значения были отмечены для Caco-2 и HeLa. Максимальный уровень экспрессии гена *CTSL* имел место для культуры A549 (рисунок 3А).

Среди культур животного происхождения наибольший уровень экспрессии гена *CTSL*

наблюдался для клеточной культуры Vero. Он же являлся максимальным среди всех исследованных в эксперименте клеточных линий. Культуры клеток BGM, Ma-104, Vero E6 имели сопоставимые уровни экспрессии гена, кодирующего катепсин L. Отсутствие экспрессии гена *CTSL* отмечено для клеточных линий MDBK, MDCK, СПЭВ (рисунок 3Б).

Заключение

На основании полученных результатов, а также анализа литературных данных можно выделить ряд особенностей применения различных клеточных культур для изучения коронавирусной инфекции.

Культура клеток Vero E6, происходящая из клеток почки африканской зелёной мартышки, как известно, является наиболее часто используемой клеточной моделью для накопления и изучения коронавируса SARS-CoV-2. Клетки Vero E6 в высокой

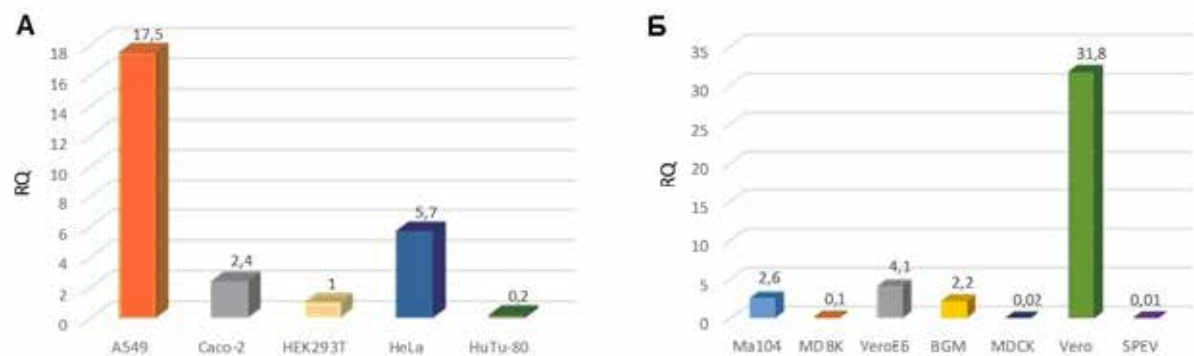


Рисунок 3 — Относительная экспрессия матричной РНК гена, кодирующего катепсин L, в различных клеточных культурах человека (А) и животных (Б)

степени экспрессируют ACE2-рецептор, SARS-CoV-2 проявляет в культуре выраженную цитопатогенность и эффективно реплицируется. Однако данная культура не всегда пригодна для решения отдельных специализированных задач. Так, например, Vero E6, не подходит в качестве клеточной системы для изучения патофизиологических внутриклеточных процессов в ответ на инфицирование SARS-CoV-2, поскольку в клетках Vero E6 отсутствуют гены, кодирующие интерфероны I типа [14].

Важными характеристиками обладает клеточная линия человеческого происхождения Caco-2. В данной культуре накопление SARS-CoV-2 происходит в высоком титре без выраженного цитопатического эффекта [15]. При этом, ввиду эндогенной экспрессии ACE2, TMPRSS2 и катепсина L, Caco-2 является подходящим объектом для одновременного исследования обоих путей, используемых вирусом для проникновения в инфицируемые мишени. Кроме того, клеточная культура Caco-2 может представлять интерес для анализа эффективности ингибиторов протеаз при разработке подходов к лечению и профилактике COVID-19.

Культура клеток Vero в виду высокой эндогенной экспрессии CTSL при отсутствии экспрессии TMPRSS2 представляет собой удобную модель для изучения особенностей заражения клетки вирусом SARS-CoV-2 посредством формирования эндолизосом, когда праймирующую функцию для S-белка выполняют катепсины.

Для клеток HEK293T характерна относительно выраженная экспрессия TMPRSS2 при минимальном уровне эндогенного ACE2. Тем не менее, данная клеточная культура является ценным инструментом для проведения исследований, позволяющих оценить влияние экспрессии специфических белков на репликацию вируса, ввиду возможности эффективно трансфицироваться плазмидными ДНК и в последующем поддерживать продуктивную репликацию SARS-CoV-2. Подобный подход может быть использован, например, для изучения роли потенциальных клеточных рестрик-

ционных факторов на различных стадиях цикла репликации SARS-CoV-2, что важно для понимания процессов взаимодействия в системе «вирус-хозяин».

Клеточные культуры, экспрессирующие ключевые для инфицирования вирусом SARS-CoV-2 молекулы ACE2, TMPRSS2, катепсин L, могут быть использованы в качестве модельных систем в исследованиях по изучению механизмов взаимодействия между SARS-CoV-2 и различными клеточными мишенями, в том числе при анализе влияния на процессы заражения вирусом SARS-CoV-2 соотношения между активностью ACE2-рецептора и паттерном мембранно-ассоциированных и внутриклеточных протеаз.

Сведения о НИР. Исследование выполнено при поддержке гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № M21КОВИД-028 от 01.02.2021, ГР № 20210926).

Библиографический список

1. Izaguirre, G. The proteolytic regulation of virus cell entry by furin and other proprotein convertases / G. Izaguirre // *Viruses*. – 2019. – Vol. 11, no. 9. – P. 837.
2. The role of cysteine peptidases in coronavirus cell entry and replication: the therapeutic potential of cathepsin inhibitors / A. Pišlar [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2020. – Vol. 16, no. 11. e1009013.
3. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells / C.B. Jackson [et al.] // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2022. – Vol. 23, no. 1. – P. 3-20.
4. Human immunodeficiency viruses pseudotyped with SARS-CoV-2 spike proteins infect a broad spectrum of human cell lines through multiple entry mechanisms / C. Xu [et al.] // *Viruses*. – 2021. – Vol. 13, no. 6. – P. 953.
5. The SARS-CoV-2 spike protein has a broad tropism for mammalian ACE2 proteins / C. Conceicao [et al.] // *PLoS Biol.* – 2020. – Vol. 18, no. 12. e3001016.
6. SARS-CoV-2 pseudovirus infectivity and expression of viral entry-related factors ACE2, TMPRSS2, Kim-1, and NRP-1 in human cells from the respiratory, urinary, digestive, reproductive, and immune systems / F. Zhang [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2021. – Vol. 93. – P. 6671-6685.
7. Cathepsin L plays a key role in SARS-CoV-2 infection in humans and humanized mice and is a promising target for new drug development / M. Zhao [et al.] // *Signal Transduct. Target Ther.* – 2021. – Vol. 6, no. 1. – P. 134.
8. A comprehensive investigation of the mRNA and protein level of ACE2, the putative receptor of SARS-CoV-2, in human tissues and blood cells /

Y. Wang [et al.] // Int. J. Med. Sci. – 2020. – Vol. 17, no. 11. – P. 1522-1531.

9. Evaluating angiotensin-converting enzyme 2-mediated SARS-CoV-2 entry across species / H-L. Zhang [et al.] // J. Biol. Chem. – 2021. – Vol. 296. – P. 100435.

10. Structure and activity of human TMPRSS2 protease implicated in SARS-CoV-2 activation / B. Fraser [et al.] // Nat. Chem. Biol. – 2022. – Vol. 18, no. 9. – P. 963-971.

11. Wettstein, L. The transmembrane protease TMPRSS2 as a therapeutic target for COVID-19 treatment / L. Wettstein, F. Kirkhoff, J. Munch // Int. J. Mol. Sci. – 2022. – Vol. 23, no. 3. – P. 1351.

12. Huang, C. Comparative analyses of ACE2 and TMPRSS2 gene: implications for the risk to which

vertebrate animals are susceptible to SARS-CoV-2 / C. Huang, Y. Jiang, J. Yang // J. Med. Virol. – 2021. – Vol. 93, no. 9. – P. 5487-5504.

13. Berdowska, I. Cathepsin L, transmembrane peptidase/serine subfamily member 2/4, and other host proteases in COVID-19 pathogenesis – with impact on gastrointestinal tract / I. Berdowska, M. Matusiewicz // World J. Gastroenterol. – 2021. – Vol. 27, no. 39. – P. 6590-6600.

14. The genome landscape of the african green monkey kidney-derived Vero cell line / N. Osada [et al.] // DNA Res. – 2014. – Vol. 21, no. 6. – P. 673-683.

15. Culture of SARS-CoV-2 in a panel of laboratory cell lines, permissivity, and differences in growth profile / N. Wurtz [et al.] // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2021. – Vol. 40, no. 3. – P. 477-484.

E.G. Fomina, E.E. Grigorieva, V.V. Zverko, A.D. Korzheeva

A COMPARATIVE ANALYSIS OF THE EXPRESSION OF KEY PROTEINS INVOLVED IN THE ENTRY OF CORONAVIRUS INTO DIFFERENT TYPES OF CELL CULTURES

The expression of specific receptors and proteases in each cell type determines the relative preference for different modes of SARS-CoV-2 entry. This includes entry through TMPRSS2-mediated fusion of the viral and host cell membranes, as well as entry through endocytosis, which involves the activity of cathepsin L. Cathepsin L is responsible for cleaving the viral S protein, and its expression level can affect the efficiency of viral entry. The expression level of mRNA for three key proteins involved in SARS CoV-2 entry into host cells (ACE2 receptor, TMPRSS2 serine protease, and cathepsin L) was assessed in human cell lines from various tissues (n=5), and in cell lines derived from the kidneys of different animal species (n=7). The highest level of *ACE2* gene expression was observed in the human colon adenocarcinoma cell line Caco-2, and in the Vero and VeroE6 cells (derived from African green monkey kidneys), the expression of this gene was more than four times higher than in the other studied animal cell lines. Among human cell lines, the highest level of *TMPRSS2* gene expression was observed in HEK293T (embryonic kidney) and Caco-2 cells, and among animal cell cultures, it was seen in MDBK (domestic bovine kidney) cells. The maximum level of CTSL mRNA expression was found in A549 (human lung cancer) cells. These findings are important for selecting a model system to study the pathways used by the virus to enter target cells and to investigate various aspects of SARS-CoV-2's interaction with cells.

Key words: SARS-CoV-2; ACE2 receptor; serine protease TMPRSS; cathepsin L; cell cultures

Поступила 15.07.2025