

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО

КРЫМСКИЙ ЖУРНАЛ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

CRIMEAN JOURNAL OF EXPERIMENTAL AND CLINICAL MEDICINE

2021, том 11, № 1

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

А. В. Кубышкин (главный редактор)
И. И. Фомочкина (заместитель главного редактора)
М. А. Плотникова (ответственный секретарь)
В. А. Белоглазов, К. А. Ефетов, А. М. Кацев

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Л. ДуБаске (Вашингтон, США), *Е. В. Евстафьева* (Симферополь, Россия),
В. П. Завьялов (Турку, Финляндия), *И. Л. Кляритская* (Симферополь, Россия),
Я. Коки (Люблин, Польша), *Ю. Л. Криворутченко* (Симферополь, Россия),
А. В. Матвеев (Симферополь, Россия), *О. Матсуо* (Осакасама, Япония),
В. Ю. Михайличенко (Симферополь, Россия), *С. Н. Орлов* (Монреаль, Канада),
А. В. Петров (Симферополь, Россия), *А. Петросян* (Оаха, США),
М. Покорский (Ополе, Польша), *О. А. Притуло* (Симферополь, Россия),
А. Г. Резников (Киев, Украина), *И. Д. Сапегин* (Симферополь, Россия),
Г. М. Тарман (Инсбрук, Австрия), *Т. Трояновский* (Люблин, Польша),
С. Э. Шибанов (Симферополь, Россия), *Я. М. Шуба* (Киев, Украина),
А. Б. Хайтович (Симферополь, Россия)

На первой странице обложки — репродукция картины Роберта Тома «Сушрута-врач-хирург Древней Индии»

АДРЕС РЕДАКЦИИ:
295051, бульвар Ленина, 5/7, г. Симферополь, ФГАОУ ВО «КФУ имени В. И. Вернадского»
Медицинская академия имени С. И. Георгиевского
E-mail: nauka_3@ma.cfuv.ru

Журнал является правопреемником Трудов КГМУ, издающихся с 1935 г.

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций Российской Федерации. Свидетельство ПИ № ФС77-61787 от 18 мая 2015 г.

Индекс издания ISSN: 2224-6444 (печатная версия), 2244-6452 (online)

С 07 декабря 2015 года журнал включен в «Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук».

В соответствии с распоряжением Минобрнауки России от 28 декабря 2018 года № 90-р, журнал считается включенным в Перечень ВАК по следующим научным специальностям и соответствующим им отраслям наук:

03.01.02 – Биофизика (медицинские науки); 03.01.03 – Молекулярная биология (биологические науки); 03.01.04 – Биохимия (медицинские науки); 03.01.07 – Молекулярная генетика (биологические науки); 03.01.08 – Биоинженерия (биологические науки); 03.01.09 – Математическая биология, биоинформатика (медицинские науки); 03.03.01 – Физиология (медицинские науки); 03.03.02 – Антропология (медицинские науки); 03.03.03 – Иммунология (медицинские науки); 03.03.04 – Клеточная биология, цитология, гистология (медицинские науки); 03.03.05 – Биология развития, эмбриология (медицинские науки); 03.03.06 – Нейробиология (медицинские науки); 14.03.01 – Анатомия человека (медицинские науки); 14.03.02 – Патологическая анатомия (медицинские науки); 14.03.03 – Патологическая физиология (медицинские науки); 14.03.05 – Судебная медицина (медицинские науки); 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки); 14.03.07 – Химиотерапия и антибиотики (медицинские науки); 14.03.08 – Авиационная, космическая и морская медицина (медицинские науки); 14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология (медицинские науки); 14.03.10 – Клиническая лабораторная диагностика (медицинские науки); 14.03.11 – Восстановительная медицина, спортивная медицина, лечебная физкультура, курортология и физиотерапия (медицинские науки).

Подписной индекс издания в каталоге Агентства «Роспечать» — 80124

Рекомендовано к печати ученым советом Медицинской академии имени С. И. Георгиевского (протокол № 3 от 25.02.2021)

УЧРЕДИТЕЛЬ:

ФГАОУ ВО «КРЫМСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ В. И. ВЕРНАДСКОГО»
МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ С. И. ГЕОРГИЕВСКОГО

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ORIGINAL ARTICLES

- Майлян Э. А., Чурилов А. В., Немсадзе И. Г., Румянцева З. С., Глазков И. С.**
ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ЖЕНЩИН С ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ В ДИНАМИКЕ
ЛЕЧЕНИЯ АЛЕНДРОНАТОМ.....5
- Maylyan E. A., Churilov A. V., Nemsadze I. G., Rumyantceva Z. S., Glazkov I. S.**
CYTOKINE STATUS OF WOMEN WITH POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS IN DYNAMICS OF TREATMENT
WITH ALENDRONAT.....5
- Мишина Е. С., Затолокина М. А., Воронцова З. А.**
ИЗУЧЕНИЕ СПОНТАННОГО ЗАЖИВЛЕНИЯ КОЖНОЙ РАНЫ В УСЛОВИЯХ ВЛАЖНОЙ СРЕДЫ12
- Mishina E. S., Zatolokina M. A., Vorontsova Z. A.**
STUDY OF SPONTANEOUS HEALING OF A SKIN WOUND IN A WET ENVIRONMENT12
- Шестопалов А. В., Шатова О. П., Гапонов А. М., Волкова Н. И., Румянцев А. Г.,
Москалева Н. Е., Апполонова С. А., Макаров В. В., Юдин С. М., Румянцев С. А.**
МЕТАБОЛИТЫ ТРИПТОФАНА – МЕДИАТОРЫ ОСИ «МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА – ЖИРОВАЯ ТКАНЬ»16
- Shestopalov A. V., Shatova O. P., Gaponov A. M., Volkova N. I., Rumyantsev A. G.,
Moskaleva N. E., Appolonova S. A., Makarov V. V., Yudin S. M., Rumyantsev S. A.**
TRYPTOPHAN METABOLITES-MEDIATORS OF THE «MICROBIOM OF INTENSTINE – ADIPOSE TISSUE»
AXIS.....16
- Ядгаров М. Я., Ликарь Ю. Н., Шаманская Т. В., Качанов Д. Ю., Кайлаш Ч.,
Киреева Е. Д., Матвеев Н. В., Щелькалина С. П.**
РАЗРАБОТКА МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ АСПЕРИЧНОСТИ ОБЛАСТИ НАКОПЛЕНИЯ КАК
НОВОГО ПРЕДИКТОРА НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА У ПАЦИЕНТОВ С НЕЙРОБЛАСТОМОЙ25
- Yadgarov M. Ya, Likar Yu. N., Shamanskaya T. V., Kachanov D. Yu., Kailash Ch.,
Kireeva E. D., Matveev N. V., Shchelykalina S. P.**
DEVELOPMENT OF A METHOD FOR QUANTITATIVE ASSESSMENT OF THE ASPHERICITY OF
ACCUMULATION REGION AS A NEW PREDICTOR OF ADVERSE OUTCOME IN PATIENTS WITH
NEUROBLASTOMA.....25

ИСТОРИЯ МЕДИЦИНЫ

HISTORY OF MEDICINE

- Фоминых Т. А., Дьяченко А. П., Захарова А. Н.**
ГАСПАРЕ АЗЕЛЛИ (1581-1626) И ЕГО ВКЛАД В ИЗУЧЕНИЕ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ.....32
- Fominykh T. A., D'yachenko A. P., Zakharova A. N.**
GASPARE ASELLI (1581-1626) AND HIS CONTRIBUTION TO STUDY OF LYMPHATIC SISTEM.....32

ЛЕКЦИИ

LECTURE

- Цибулевский А. Ю., Дубовая Т. К.**
КОЖА: МОРФОЛОГИЯ, ГИСТОХИМИЯ, ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ.....37
- Tsibulevsky A. Yu., Dubovaya T. K.**
SKIN: MORPHOLOGY, HISTOCHEMISTRY, HISTOPHYSIOLOGY.....37

ОБЗОРЫ

REVIEWS

**Герасименко Д. А., Халилова А. С., Велиляева Д. Э., Манчиева А. Р.,
Сатаева Т. П.**

ПОВТОРНОЕ ЗАРАЖЕНИЕ SARS-COV-2: АНАЛИЗ СЛУЧАЕВ И МЕХАНИЗМОВ РЕЦИДИВОВ ИНФЕКЦИИ.....43

Gerasimenko D. A., Khalilova A. S., Velilyaeva D. E., Manchieva A. R., Sataieva T. P.

SARS-COV-2 RE-INFECTION: THE ANALYSIS OF CASES OF MECHANISMS43

Демьяненко И. А., Ткач А. В.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ЖИРОВОЙ ТКАНИ И ЕЁ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ

МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА.....51

Demyanenko I. A., Tkach A. V.

FUNCTIONAL MORPHOLOGY OF ADIPOSE TISSUE AND ITS ROLE IN THE FORMATION OF METABOLIC

SYNDROME51

Хайтович А. Б., Ермачкова П. А.

КОРОНАВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ (МУТАЦИИ, ГЕНОТИПЫ).....61

Khaitovich A. B., Yermachkova P. A.

CORONAVIRUS (GENOME STRUCTURE, REPLICATION)61

ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС ЖЕНЩИН С ПОСТМЕНОПАУЗАЛЬНЫМ ОСТЕОПОРОЗОМ В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ АЛЕНДРОНАТОМ

Майлян Э. А.¹, Чурилов А. В.¹, Немсадзе И. Г.¹, Румынцева З. С.², Глазков И. С.³

¹ГОО ВПО «Донецкий национальный медицинский университет имени М.Горького», 283003, проспект Ильича, 16, Донецк

²Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского» Минобрнауки России, 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

³Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Республики Крым «Симферопольский клинический родильный дом №2» (ГБУЗ РК «Симферопольский КРД №2»), 295034, ул. Б.Хмельницкого, 16, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Майлян Эдуард Апетнакович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии и аллергологии Донецкого национального медицинского университета им. М.Горького, e-mail: mea095@yandex.ru

For correspondence: Maylyan Edward Apetnakovich, MD, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Allergology of Donetsk National Medical University named after M. Gorky, e-mail: mea095@yandex.ru

Information about authors:

Maylyan E. A., <http://orcid.org/0000-0003-2845-7750>

Churilov A. V., <https://orcid.org/0000-0003-2420-7156>

Nemsadze I. G., <https://orcid.org/0000-0001-9436-6406>

Rumyantceva Z. S., <http://orcid.org/0000-0002-1711-021X>

Glazkov I. S., <https://orcid.org/0000-0003-4027-8835>

РЕЗЮМЕ

Целью работы было исследование концентраций в сыворотке крови фактора некроза опухолей альфа (TNF- α), интерлейкинов (IL) -1 β , -6, -10, -17A, остеопротегерина (OPG) и лиганда активатора рецептора ядерного фактора kB (RANKL) в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом препаратом алендроновой кислоты. Всего было обследовано 136 женщин с постменопаузальным остеопорозом. Длительность терапии составила 12 мес. Всем пациентам до и после лечения исследовали сывороточные концентрации TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, OPG и RANKL. Молекулярно-генетические исследования включали тестирование методом ПЦР в режиме реального времени полиморфизмов rs2234693 гена ESR1 и rs1800795 гена IL-6. Установлено, что женщины с постменопаузальным остеопорозом характеризуются увеличенными концентрациями в сыворотке крови IL-1 β и IL-6 как до, так и после терапии ($p < 0,05$), а также RANKL до лечения ($p = 0,033$). Отмечена динамика снижения к концу терапии содержания в сыворотке крови OPG ($p = 0,013$), а также индекса OPG/RANKL ($p = 0,010$). Наличие у женщин с постменопаузальным остеопорозом генотипа TT полиморфизма rs2234693 гена ESR1 ассоциировано с повышенной продукцией RANKL и сниженными показателями индекса OPG/RANKL как до, так после проведенного лечения ($p < 0,05$). Обладатели генотипа GG полиморфизма rs1800795 гена IL-6 отличаются стабильно увеличенными показателями IL-6 (до и после лечения), а также IL-17A до начала терапии ($p < 0,05$). Полученные результаты целесообразно использовать для разработки персонализированных схем терапии постменопаузального остеопороза.

Ключевые слова: постменопаузальный остеопороз, цитокины, лечение, алендронат.

CYTOKINE STATUS OF WOMEN WITH POSTMENOPAUSAL OSTEOPOROSIS IN DYNAMICS OF TREATMENT WITH ALENDRONAT

Maylyan E. A.¹, Churilov A. V.¹, Nemsadze I. G.¹, Rumyantceva Z. S.², Glazkov I. S.³

¹Donetsk National Medical University named after M. Gorky, Donetsk

²Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

³Simferopol Clinical Maternity Hospital №2, Simferopol, Russia

SUMMARY

The aim of work was to study blood serum concentrations of tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukins (IL) -1 β , -6, -10, -17A, osteoprotegerin (OPG) and receptor activator of nuclear factor kB ligand (RANKL) in dynamics of alendronic acid-based treatment in women with postmenopausal osteoporosis with. 136 women with postmenopausal osteoporosis were examined in dynamics of treatment with alendronate. Treatment duration was 12 months. TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, OPG and RANKL serum concentrations were studied in all patients before and after treatment. Molecular genetic studies included real-time PCR testing of ESR1 gene rs2234693 polymorphisms and IL-6 gene rs1800795 one. Women with postmenopausal osteoporosis had increased serum IL-1 β and IL-6 concentrations before and after therapy ($p < 0.05$), as well as RANKL before treatment ($p = 0.033$). The dynamics of OPG content ($p = 0.013$), as well as OPG/RANKL index ($p = 0.010$) decrease was noted during the therapy course. TT genotype of rs2234693 polymorphism of ESR1 gene in women with postmenopausal osteoporosis is associated with increased RANKL production and decreased OPG/RANKL ratio both before and after treatment ($p < 0.05$). Women with GG genotype of rs1800795 polymorphism of IL-6 gene are characterized by consistently increased levels of IL-6 (before and after treatment), as well as IL-17A before starting therapy ($p < 0.05$). It is reasonable to use the obtained results for development of postmenopausal osteoporosis personalized treatment regimens development.

Key words: postmenopausal osteoporosis, cytokines, treatment, alendronate.

Результаты исследований в области иммунологии в 70-е годы XX века позволили заподозрить возможное участие иммунных факторов в ремоделировании костной ткани и развитии остеопороза [1]. А спустя всего лишь 20 лет, к концу 90-х годов, уже была обозначена новая область научных знаний – «Остеоиммунология» [2; 3]. И сейчас не остается ни одного факта, позволяющего усомниться в ключевой роли иммунных механизмов в патогенезе остеопороза (ОП), в том числе его постменопаузальной формы [4; 5]. Бурное развитие остеоиммунологии демонстрирует все новые доказательства центральной роли иммунной системы в развитии вышеуказанного заболевания. Более того, последние и весомые достижения в изучении ОП даже обусловили появление нового термина в отношении этой патологии скелета – «Иммунопороз» [6]. Подтверждением значимости иммунного компонента в патогенезе постменопаузального ОП являются результаты многочисленных работ, выполненных на культурах тканей, моделях у животных. Достаточно много исследований было посвящено изучению иммунных факторов в формировании ОП в клинической практике. В настоящее время остеоиммунология предпринимает серьезные усилия для разработки и внедрения в практическое здравоохранение новых методов и лекарственных средств для терапии широко распространенной патологии скелета у женщин в постменопаузе. При этом немаловажным является изучение влияния различных антиостеопоротических препаратов на цитокиновый баланс у пациентов с постменопаузальным ОП.

Цель исследования – изучить сывороточные уровни фактора некроза опухолей альфа (TNF- α), интерлейкинов (IL) -1 β , -6, -10, -17A, остеопротегерина (OPG) и лиганда активатора рецептора ядерного фактора κ B (RANKL) в динамике лечения женщин с постменопаузальным ОП препаратом алендроновой кислоты.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в соответствии со стандартами надлежущей клинической практики и принципами Хельсинской Декларации. Все участники оригинального исследования давали письменное добровольное информированное согласие. При отборе пациентов в исследование критериями включения были женский пол, наличие постменопаузы и ОП. В исследование не включали женщин, принимающих антиостеопоротические средства, гормональную заместительную терапию или имеющих вторичный ОП (хирургическая или медикаментозная менопауза, прием глюкокортикостероидов, длительная

иммобилизация, гиперпаратиреоз, гипертиреоз, сахарный диабет и др.).

Для выявления заболевания скелета женщинам выполняли остеоденситометрию, для чего использовали денситометр «Discovery» (HOLOGIC Inc., США). Пациентам с подтвержденным постменопаузальным ОП назначали лечение алендронатом (по 70 мг внутрь 1 раз в неделю) в течение 12 мес. Наряду с алендронатом пациенты принимали препараты витамина D (холекальциферол по 800 МЕ/сутки) и кальция (по 1000 мг/сутки). Спустя 12 мес. терапии под наблюдением из 158 осталось 136 женщин.

Всем пациентам в динамике лечения определяли в сыворотке крови концентрации цитокинов, играющих важную роль в патогенезе ОП – TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17A, OPG и RANKL. Исследование вышеуказанных медиаторов выполняли с помощью соответствующих иммуноферментных тест систем производства Вектор-Бест» (РФ), «eBiosciences» (США), «Biomedica Medizinprodukte» (Австрия). Кроме того, проводили молекулярно-генетические исследования – определяли полиморфизмы rs2234693 гена ESR1 и rs1800795 гена IL-6 методом ПЦР в режиме реального времени («ДНК-Технология», РФ). В качестве контрольных данных служили результаты исследования цитокинов у 75 женщин аналогичного возраста, не имеющих остеопоротических нарушений.

При выполнении статистической обработки полученных результатов использовали непараметрические методы. Результаты исследований представляли в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [Q25%; Q75%]). Для сравнения центров двух независимых выборок использовали U-тест Манна-Уитни, а для выявления статистически значимых изменений показателей в динамике лечения – Т-критерий Вилкоксона. При множественных сравнениях применяли ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса и критерий Данна. Статистически значимыми отличия принимали при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ результатов проведенных исследований показал (табл. 1), что женщины с постменопаузальным ОП характеризуются существенным увеличением концентраций в сыворотке крови провоспалительных цитокинов IL-1 β ($p=0,035$), IL-6 ($p < 0,001$) и RANKL ($p=0,033$). Близкая к статистической значимости была выявлена тенденция к увеличению значений IL-17A ($p=0,056$). Показатели же остальных цитокинов (TNF- α , IL-10, OPG), а также соотношения OPG/RANKL определялись на уровне контрольных значений ($p > 0,05$).

Таблица 1

Содержание цитокинов (Me [Q25%; Q75%]) в сыворотке крови женщин с постменопаузальным остеопорозом

Показатели	Здоровые женщины (n=75)	Женщины с остеопорозом (n=136)	P
TNF- α , пг/мл	0 [0,0; 2,5]	0,45 [0,0; 4,4]	-
IL-1 β , пг/мл	2,0 [1,0; 4,4]	3,95 [1,1; 7,8]	0,035
IL-6, пг/мл	0,5 [0,0; 3,0]	2,95 [0,2; 5,8]	<0,001
IL-10, пг/мл	4,1 [2,6; 6,9]	5,5 [1,85; 8,85]	-
IL-17A, пг/мл	1,5 [0,0; 4,2]	2,2 [0,4; 5,7]	0,056
OPG, пг/мл	78,1 [48,0; 106,7]	85,3 [46,2; 152,4]	-
RANKL, пг/мл	3,3 [1,1; 5,6]	4,1 [2,7; 6,9]	0,033
OPG/RANKL	22,1 [10,1; 71,4]	21,45 [10,25; 38,65]	-

После проведенного курса лечения (табл.2) ассоциация постменопаузального ОП с повышенными сывороточными показателями RANKL была нивелирована (3,85 [0,75; 7,05] пг/мл против 3,3 [1,1; 5,6] пг/мл в контроле; $p>0,05$). Наряду с этим и после лечения у пациентов сохранялись увеличенные концентрации IL-1 β (4,45 [1,8; 8,25] пг/мл против 2,0 [1,0; 4,4] пг/мл в

контроле; $p=0,002$) и IL-6 (3,3 [0,05; 5,95] пг/мл против 0,5 [0,0; 3,0] пг/мл в контроле; $p<0,001$). Следует отметить динамику снижения содержания в сыворотке крови OPG – от 85,3 [46,2; 152,4] пг/мл перед лечением до 77,0 [47,7; 105,6] пг/мл после терапии ($p=0,013$). Это обусловило, конечно же, и снижение к концу терапии индекса OPG/RANKL ($p=0,010$).

Таблица 2

Содержание цитокинов (Me [Q25%; Q75%]) в сыворотке крови женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике лечения аллендроновой кислотой

Показатели	Женщины с остеопорозом (n=136)		P
	До лечения	После лечения	
TNF- α , пг/мл	0,45 [0,0; 4,4]	0,35 [0,0; 3,95]	-
IL-1 β , пг/мл	3,95 [1,1; 7,8]	4,45 [1,8; 8,25]	-
IL-6, пг/мл	2,95 [0,2; 5,8]	3,3 [0,05; 5,95]	-
IL-10, пг/мл	5,5 [1,85; 8,85]	4,3 [1,85; 7,85]	-
IL-17A, пг/мл	2,2 [0,4; 5,7]	2,45 [0,0; 5,2]	-
OPG, пг/мл	85,3 [46,2; 152,4]	77,0 [47,7; 105,6]	0,013
RANKL, пг/мл	4,1 [2,7; 6,9]	3,85 [0,75; 7,05]	-
OPG/RANKL	21,45 [10,25; 38,65]	18,4 [9,8; 85,5]	0,010

Исследование уровней цитокинов в зависимости от полиморфных вариантов гена ESR1 показало, что женщины с генотипом ТТ полиморфизма rs2234693 характеризовались существенно повышенной продукцией цитокина RANKL как до, так и после проведенного лечения (табл.3). Так, обладатели генотипа ТТ и при первом, и при втором обследовании имели более высокие ($p<0,05$) показатели вышеуказанного цитокина (4,7 [3,35; 8,2] пг/мл и 5,6 [2,15; 9,55] пг/мл соответственно), чем у остальных пациентов (3,95 [2,1; 6,1] пг/мл и 3,5 [0,4; 6,2] пг/мл соответственно). По всей видимости, эти особенности в син-

тезе RANKL и обусловили ассоциацию полиморфизма rs2234693 со значениями индекса OPG/RANKL. До начала терапии носители генотипа ТТ имели существенно сниженные показатели OPG/RANKL (13,4 [6,9; 28,7] против 23,4 [13,0; 47,6] у остальных; $p=0,006$). Эта же отличительная особенность женщин с вышеуказанным генотипом сохранилась и по окончании курса терапии (13,55 [7,85; 34,4] против 23,3 [12,1; 157,0] у остальных; $p=0,027$). При этом наличие генотипа СС полиморфизма rs2234693 гена ESR1 сочеталось у женщин с динамикой прироста индекса OPG/RANKL ($p=0,031$).

Таблица 3

Сывороточные уровни RANKL и индекс OPG/RANKL (Me [Q25%; Q75%]) в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs2234693 гена ESR1

Показатели	Срок обследования	Группы женщин с генотипами полиморфизма rs2234693 гена ESR1:			P
		ТТ (n=36)	ТС (n=72)	СС (n=28)	
RANKL, пг/мл	1	4,7 * [3,35; 8,2]	4,0 [2,1; 6,0]	3,45 [2,1; 6,2]	0,040
	2	5,6 * [2,15; 9,55]	3,75 [0,5; 6,75]	3,05 [0,25; 5,75]	0,010
	P	-	-	-	
OPG/RANKL	1	13,4 * [6,9; 28,7]	23,4 [13,8; 43,6]	23,7 [12,6; 56,6]	0,024
	2	13,55 * [7,85; 34,4]	20,1 [10,5; 114,9]	31,45 [14,7; 243,7]	0,009
	P	-	-	0,031	

Примечание: срок обследования 1 и 2 – до и после лечения соответственно; * – $p < 0,05$ по сравнению с результатом у женщин, имеющих генотипы ТС и СС (ТТ против ТС+СС).

Ассоциации с уровнями отдельных цитокинов имел и полиморфизм rs1800795 гена IL-6 (табл.4). Так, при сравнении пациентов с различными генотипами вышеуказанного полиморфизма было установлено, что женщины, гомозиготные по аллелю G, отличались от остальных пациентов (CG+CC) существенно увеличенной секрецией IL-6 как до терапии (4,85 [1,65; 8,25]

пг/мл против 2,75 [0,0; 4,95] пг/мл; $p=0,002$), так и после (5,35 [3,7; 7,4] пг/мл против 2,45 [0,0; 4,85] пг/мл; $p=0,005$). Следует отметить, что до начала лечения обладатели генотипа GG также имели повышенные значения IL-17A и по сравнению с обладателями генотипа CG ($p < 0,05$), и по сравнению с носителями генотипа СС ($p < 0,05$).

Таблица 4

Сывороточные уровни IL-6 и IL-17A (Me [Q25%; Q75%]) в динамике лечения женщин с постменопаузальным остеопорозом алендроновой кислотой в зависимости от генотипов полиморфизма rs1800795 гена IL-6

Показатели	Срок обследования	Группы женщин с генотипами полиморфизма rs1800795 гена IL-6:			P
		CC (n=30)	CG (n=78)	GG (n=28)	
IL-6, пг/мл	1	2,85 [0,0; 5,3]	2,7 [0,0; 4,9]	4,85 * [1,65; 8,25]	0,018
	2	2,6 [0,0; 5,4]	2,45 [0,0; 4,6]	5,35 * [3,7; 7,4]	0,009
	P	-	-	-	
IL-17A, пг/мл	1	1,9 [0,0; 6,0]	1,85 [0,3; 5,2]	4,1 ** [2,25; 6,65]	0,015
	2	2,25 [0,7; 6,1]	2,4 [0,0; 4,9]	3,95 [0,0; 5,7]	-
	P	-	-	-	

Примечание: срок обследования 1 и 2 – до и после лечения соответственно; * – $p < 0,05$ по сравнению с результатом у женщин, имеющих генотипы CG и СС (GG против CG+СС); ** – $p < 0,05$ по сравнению как с результатом у женщин, имеющих генотип CG (GG против CG), так и пациентами с генотипом СС (GG против СС).

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, проведенные исследования позволили установить существенные изменения продукции отдельных цитокинов при постменопаузальном ОП. В частности, было обнаружено увеличение ($p < 0,05$) при вышеуказанном заболевании концентраций в сыворотке крови IL-1 β , IL-6 и RANKL. Полученные результаты согласуются с современными представлениями о патогенезе постменопаузального ОП. Известно, что сниженный синтез эстрогенов у женщин в постменопаузе сопровождается активацией Т лимфоцитов, что приводит к увеличению продукции ими провоспалительных цитокинов. Последние путем прямых и опосредованных механизмов вызывают и поддерживают хроническую стимуляцию остеокластов. В итоге это приводит к усилению резорбционных процессов в костной ткани. Результаты, аналогичные нашим, были получены и в других исследованиях [7; 8; 9; 10]. Выводы, сделанные в этих работах, также подтверждают важную роль провоспалительных цитокинов в патогенезе ОП.

Гены ESR1 и IL-6 по праву относят к генам-кандидатам постменопаузального ОП. Предполагается, что полиморфизм гена ESR1 может вызывать изменения (снижение) функции эстрогеновых рецепторов альфа (ER- α). Как следствие у обладателей полиморфного варианта гена ESR1 может наблюдаться дефицит регулирующих эффектов эстрогенов как на клетки костной системы, так и на лимфоциты, что приводит к активации последних и увеличению продукции ими остеокластогенных цитокинов. По всей видимости, этим можно объяснить повышенный синтез RANKL при генотипе TT полиморфизма rs2234693 гена ESR1. Ведь для вышеуказанного генотипа доказана и связь с повышенным риском переломов и развитием ОП [11; 12]

При изучении роли полиморфизма rs1800795 гена IL-6 было установлено, что генотип GG имеет ассоциацию с увеличением уровней IL-6 и IL-17A. Причем, связь генотипа GG с изменением синтеза IL-6 была свойственна как до, так и после лечения. Полученные результаты согласуются с доказательствами того, что аллель G обуславливает увеличенную промоторную активность гена IL-6. Как следствие, обнаруживается ассоциация между наличием этого аллеля и увеличенной продукцией цитокина IL-6 [13]. По всей видимости, именно эта особенность женщин, имеющих генотип GG, и приводит к повышенному риску развития остеопоротических нарушений в постменопаузе [14; 15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлено, что женщины с постменопаузальным ОП характеризуются увеличенными концентрациями в сыворотке крови IL-1 β и IL-6 как до, так и после терапии ($p < 0,05$), а также RANKL до лечения ($p = 0,033$). Отмечена динамика снижения к концу терапии содержания в сыворотке крови OPG ($p = 0,013$), а также индекса OPG/RANKL ($p = 0,010$). Наличие у женщин с постменопаузальным ОП генотипа TT полиморфизма rs2234693 гена ESR1 ассоциировано с повышенной продукцией RANKL и сниженными показателями индекса OPG/RANKL как до, так после проведенного лечения ($p < 0,05$). Обладатели генотипа GG полиморфизма rs1800795 гена IL-6 отличаются стабильно увеличенными показателями IL-6 (до и после лечения), а также IL-17A до начала терапии ($p < 0,05$). Полученные результаты целесообразно использовать для разработки персонализированных схем терапии постменопаузального ОП.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of Interests. The authors declare that there is no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

- Horton J. E., Raisz L. G., Simmons H. A., Oppenheim J. J., Mergenhagen S. E. Bone resorbing activity in supernatant fluid from cultured human peripheral blood leukocytes. *Science*. 1972;177:793-795. doi 10.1126/science.177.4051.793.
- Arron J. R., Choi Y. Bone versus immune system. *Nature*. 2000;408:535-536. doi 10.1038/35046196.
- Chen X., Wang Z., Duan N., Zhu G., Schwarz E. M., Xie C. Osteoblast-osteoclast interactions. *Connect Tissue Res*. 2018;59(2):99-107. doi 10.1080/03008207.2017.1290085
- Игнатенко Г. А., Майлян Э. А., Немсадзе И. Г., Румянцева З. С., Чурилов А. В., Глазков И. С., Минович Е. Д. Роль цитокинов в ремоделировании костной ткани в норме и патологии. *Таврический медико-биологический вестник*. 2020;23(1):133-139.
- Игнатенко Г. А., Немсадзе И. Г., Минович Е. Д., Чурилов А. В., Майлян Э. А., Глазков И. С., Румянцева З. С. Роль цитокинов в ремоделировании костной ткани и патогенезе постменопаузального остеопороза. *Медицинский вестник Юга России*. 2020;11(2):6-18. doi:10.21886/2219-8075-2020-11-2-6-18.
- Srivastava R. K., Dar H. Y., Mishra P. K. Immunoporosis: Immunology of Osteoporosis-Role of T Cells. *Front Immunol*. 2018;9:657. doi:10.3389/fimmu.2018.00657.

7. Zhang J., Fu Q., Ren Z., Wang Y., Wang C., Shen T., Wang G., Wu L. Changes of serum cytokines-related Th1/Th2/Th17 concentration in patients with postmenopausal osteoporosis. *Gynecol Endocrinol.* 2015;31(3):183-90. doi: 10.3109/09513590.2014.975683.
8. Wei Q. S., Huang L., Tan X., Chen Z. Q., Chen S. M., Deng W. M. Serum osteopontin levels in relation to bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women. *Scand J Clin Lab Invest.* 2016;76(1):33-9. doi:10.3109/00365513.2015.1087045.
9. Zhao R., Wang X., Feng F. Upregulated Cellular Expression of IL-17 by CD4+ T-Cells in Osteoporotic Postmenopausal Women. *Ann Nutr Metab.* 2016;68(2):113-8. doi: 10.1159/000443531.
10. Azizieh F., Raghupathy R., Shehab D., Al-Jarallah K., Gupta R. Cytokine profiles in osteoporosis suggest a proresorptive bias. *Menopause.* 2017;24(9):1057-1064. doi: 10.1097/GME.0000000000000885.
11. Tang L., Cheng G.L., Xu Z.H. Association between estrogen receptor α gene (ESR1) PvuII (C/T) and XbaI (A/G) polymorphisms and hip fracture risk: evidence from a meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8(12):e82806. doi:10.1371/journal.pone.0082806.
12. Wang J., Feng G., Li H., Li W., Pan Z., Wang J. Estrogen receptor α (ESR1) IVS1-397T>C polymorphism lowers risk of fracture. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(8):12696-705.
13. Wang C., Ge J., Ni S. Effect of interleukin-6 polymorphism on fracture risk. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(6):9599-602.
14. Wang Z., Yang Y., He M., Wang R., Ma J., Zhang Y., Zhao L., Yu K. Association between interleukin-6 gene polymorphisms and bone mineral density: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2013;17(12):898-909. doi: 10.1089/gtmb.2013.0223.
15. Ni Y., Li H., Zhang Y., Zhang H., Pan Y., Ma J., Wang L. Association of IL-6 G-174C polymorphism with bone mineral density. *J Bone Miner Metab.* 2014;32(2):167-73. doi: 10.1007/s00774-013-0477-2.
1. Horton J. E., Raisz L. G., Simmons H. A., Oppenheim J. J., Mergenhagen S. E. Bone resorbing activity in supernatant fluid from cultured human peripheral blood leukocytes. *Science.* 1972;177:793-795. doi 10.1126/science.177.4051.793.
2. Arron J. R., Choi Y. Bone versus immune system. *Nature.* 2000;408:535-536. doi:10.1038/35046196.
3. Chen X., Wang Z., Duan N., Zhu G., Schwarz E. M., Xie C. Osteoblast-osteoclast interactions. *Connect Tissue Res.* 2018;59(2):99-107. doi: 10.1080/03008207.2017.1290085.
4. Ignatenko G. A., Maylyan E. A., Nemsadze I. G., Rummyantseva Z. S., Churilov A. V., Glazkov I. S., Mirovich E. D. The role of cytokines in bone tissue remodeling in health and disease. *Tavrisheskiy Mediko-Biologicheskiy Vestnik.* 2020;23(1):133-139.
5. Ignatenko G. A., Nemsadze I. G., Mirovich E. D., Churilov A. V., Maylyan E. A., Glazkov I. S., Rummyantseva Z. S. The role of cytokines in bone remodeling and the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *Medical Herald of the South of Russia.* 2020;11(2):6-18. doi:10.21886 / 2219-8075-2020-11-2-6-18.
6. Srivastava R. K., Dar H. Y., Mishra P. K. Immunoporosis: Immunology of Osteoporosis- Role of T Cells. *Front Immunol.* 2018;9:657. doi:10.3389/fimmu.2018.00657.
7. Zhang J., Fu Q., Ren Z., Wang Y., Wang C., Shen T., Wang G., Wu L. Changes of serum cytokines-related Th1/Th2/Th17 concentration in patients with postmenopausal osteoporosis. *Gynecol Endocrinol.* 2015;31(3):183-90. doi: 10.3109/09513590.2014.975683.
8. Wei Q. S., Huang L., Tan X., Chen Z. Q., Chen S. M., Deng W. M. Serum osteopontin levels in relation to bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women. *Scand J Clin Lab Invest.* 2016;76(1):33-9. doi:10.3109/00365513.2015.1087045.
9. Zhao R., Wang X., Feng F. Upregulated Cellular Expression of IL-17 by CD4+ T-Cells in Osteoporotic Postmenopausal Women. *Ann Nutr Metab.* 2016;68(2):113-8. doi: 10.1159/000443531.
10. Azizieh F., Raghupathy R., Shehab D., Al-Jarallah K., Gupta R. Cytokine profiles in osteoporosis suggest a proresorptive bias. *Menopause.* 2017;24(9):1057-1064. doi: 10.1097/GME.0000000000000885.
11. Tang L., Cheng G.L., Xu Z. H. Association between estrogen receptor α gene (ESR1) PvuII (C/T) and XbaI (A/G) polymorphisms and hip fracture risk: evidence from a meta-analysis. *PLoS One.* 2013;8(12):e82806. doi:10.1371/journal.pone.0082806.
12. Wang J., Feng G., Li H., Li W., Pan Z., Wang J. Estrogen receptor α (ESR1) IVS1-397T>C polymorphism lowers risk of fracture. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(8):12696-705.
13. Wang C., Ge J., Ni S. Effect of interleukin-6 polymorphism on fracture risk. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(6):9599-602.
14. Wang Z., Yang Y., He M., Wang R., Ma J., Zhang Y., Zhao L., Yu K. Association between interleukin-6 gene polymorphisms and bone mineral density: a meta-analysis. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2013;17(12):898-909. doi: 10.1089/gtmb.2013.0223.
15. Ni Y., Li H., Zhang Y., Zhang H., Pan Y., Ma J., Wang L. Association of IL-6 G-174C polymorphism with bone mineral density. *J Bone Miner Metab.* 2014;32(2):167-73. doi: 10.1007/s00774-013-0477-2.

REFERENCES

Biomarkers. 2013;17(12):898-909. doi: 10.1089/gtmb.2013.0223.

15.Ni Y., Li H., Zhang Y., Zhang H., Pan Y., Ma J., Wang L. Association of IL-6 G-174C

polymorphism with bone mineral density. J Bone Miner Metab. 2014;32(2):167-73. doi: 10.1007/s00774-013-0477-2.

ИЗУЧЕНИЕ СПОНТАННОГО ЗАЖИВЛЕНИЯ КОЖНОЙ РАНЫ В УСЛОВИЯХ ВЛАЖНОЙ СРЕДЫ

Мишина Е. С.¹, Затолокина М. А.¹, Воронцова З. А.²

¹Кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии. ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», 304000, ул. Карла Маркса, 3, Курск, Россия

²Кафедра гистологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко», 394036, ул. Студенческая, 10, Воронеж, Россия

Для корреспонденции: Мишина Екатерина Сергеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, эмбриологии, цитологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: katusha100390@list.ru

For correspondence: Mishina Ekaterina Sergeevna, PhD, associate Professor of the Department of Histology, Embryology, Cytology, Kursk State Medical University, Ministry of Health of Russia. E-mail: katusha100390@list.ru

Информация об авторах:

Mishina E. S., <https://orcid.org/0000-0003-3835-0594>

Zatolokina M. A., <https://orcid.org/0000-0002-9553-1597>

Vorontsova Z. A., <https://orcid.org/0000-0002-3610-2549>

РЕЗЮМЕ

Проблема образования рубцовой ткани вследствие заживления кожных дефектов, а также возможность развития осложнений, связанных с данным процессом, стимулирует исследователей к постоянному совершенствованию методов их лечения и получению органоспецифичных регенератов. В последнее время, в доступной литературе появилось значительное количество научных работ, посвященных изучению регенерации кожного покрова в условиях применения жидких лекарственных форм, в связи с этим становится актуальным вопрос относительно особенностей влияния жидкой среды на процесс регенерации кожных ран и изучения его механизмов. Целью данного исследования явилось изучение морфофункциональных перестроек кожного покрова в результате спонтанного заживления во влажной среде. Эксперимент был выполнен на 30-ти белых крысах-самцах линии Wistar. Раны наносили путем иссечения фрагмента кожи размером 1x1 см, глубина которых доходила до подкожной фасции. Далее в течение 14-ти суток рана находилась под влажным бинтовым покрытием эквивалентно окклюзионным повязкам без применения лекарственных средств, применяемых в клинической практике. Результаты исследования показали, что процесс регенерации в условиях эксперимента приводил к формированию высокой степени зрелости тонкого соединительнотканного рубца с отсутствием воспалительной реакции спустя 14 суток.

Ключевые слова: регенерация, кожа, раневой процесс, рана.

STUDY OF SPONTANEOUS HEALING OF A SKIN WOUND IN A WET ENVIRONMENT

Mishina E. S.¹, Zatolokina M. A.¹, Vorontsova Z. A.²

¹Kursk State Medical University, Kursk, Russia

²Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko, Voronezh, Russia

SUMMARY

The problem of scar formation due to the healing of skin defects, as well as the possibility of developing complications associated with this process, stimulates researchers to constantly improve methods of treating skin lesions and obtain tissue-organ-specific regenerates as a result. Recently, there have been many scientific works devoted to the study of regeneration after the use of liquid dosage forms. In this regard, the question of the influence of the liquid medium itself on the healing processes of skin wounds becomes relevant. The aim of the planned study is to study morphological and functional rearrangements of the skin as a result of spontaneous healing in a humid environment. The experiment was performed on 30 whites Wistar male rats. The wounds were applied by excision of the skin of the specified size and depth to the subcutaneous fascia. Then, within 14 days, the wound was under a moist bandage, not containing drugs, by analogy with occlusive dressings used in clinical practice. The data of the experiment showed that healing in an aqueous medium leads to the formation of a thin mature connective tissue scar with no inflammatory reaction on the 14th day of the study.

Key words: regeneration, skin, wound process, wound.

Заживление кожных ран, ожогов и обморожений является одной из актуальных проблем в медицине, поскольку кожный покров наиболее часто подвергается повреждениям и регенерирует с образованием атипичной рубцовой ткани с

нарушением функциональности и эстетичности, что приводит к неблагоприятной психологической симптоматике [1; 2].

По данным литературы было обнаружено, что при определенных условиях возможно пол-

ноценное восстановление кожного покрова [3; 4; 5; 6; 12] и полнота репаративной регенерации будет зависеть от периода онтогенеза, места и глубины повреждения, выраженности воспалительной реакции, резистентности, иммунореактивности и цитокиновой составляющей в области раны. Учитывая, что начало спонтанного заживления кожных ран происходит в условиях воспаления, необходим поиск методов, устраняющих воздействие на раневой процесс неблагоприятных факторов для восстановления [7; 8]. В связи с этим наиболее перспективным является использование жидкостной среды в качестве локального окружения раневой поверхности и обоснованием ее применения в лечении кожных ран могут быть работы Л.Б. Берлин (1952) и В.В. Райвид (1961), в которых предложен сравнительный анализ на животных, ведущих водный образ жизни, где отмечено, что именно водная среда способствует полноте регенерационного процесса. Временное погружение в водные растворы больных с обширными ожогами улучшало общее состояние обожженных, способствовало сокращению сроков отторжения струпа и эпителизации поверхности [9; 10; 11]. Состав растворов можно менять, т.е. оптимизировать процесс заживления, вводя необходимые компоненты. Такая стратегия лечения травм позволила с большей эффективностью для воссоздания де novo полноценного кожного покрова [13].

Целью данного исследования является изучение морфофункциональных перестроек кожного покрова в условиях спонтанного заживления ран с применением влажной среды.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная модель исследования представлена кожными ранами размером 1x1 см, которые были нанесены 30-ти лабораторным крысам-самцам линии Wistar путем иссечения фрагмента кожи глубиной до подкожной фасции. В течение 14-ти суток рана находилась под влажным бинтовым покрытием, не содержащим лекарственных средств, по аналогии с окклюзионными повязками, применяемыми в клинической практике. Срок взятия биопсийного материала обусловлен тем, что на 14-е сутки происходила смена экссудативной фазы на пролиферативную [14; 15]. Крысы содержались в стандартных условиях в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями по их содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ №51 от 29 августа 2014 г.). Уход и содержание экспериментальных крыс проведены в соответствии со стандартами, описанными Директивой

2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях, а также Правилами, утвержденными Приказом Минздрава России от № 199н 01 апреля 2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Для световой микроскопии материал фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина. Заливку в парафин и микротомирование осуществляли по стандартным прописям. Срезы толщиной 5-7 мкм окрашивали по методу Маллори.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спустя 14 суток после нанесения раны наблюдалось заполнение места дефекта зрелой грануляционной тканью с хорошо выраженной контракцией (рисунок 1А). Соединительнотканый рубец был покрыт тонким слоем новообразованного эпидермиса. Архитектоника слоев эпидермиса соответствовала нормальному распределению при сглаженном рельефе. Базальный слой состоял из одного-двух рядов эпителиоцитов с апикально расположенными базофильными ядрами и базальной безъядерной цитоплазмой. Далее следовали шиповатый и хорошо выраженный зернистый слой. Гранулы кератогиалина плотно прилежали к поверхности нижележащих клеток и не обнаруживали роговых чешуек (рисунок 1Б).

Рубцовая ткань состояла преимущественно из тонких упорядоченных коллагеновых волокон с небольшими межволоконными промежутками. Толщина волокон в области новообразованного соединительнотканного рубца была значительно тоньше, по сравнению с волокнами интактной дермы и составляла $1,3 \pm 0,1$ мкм. В субэпидермальном слое волокнистые структуры обладали большей анизотропией, что может быть связано с максимальной силой натяжения в данной зоне. В более глубоких слоях наблюдались признаки интерстициального отека, за счет чего происходило набухание и разволокнение фибриллярных структур. Волокна здесь были толще и составили $1,7 \pm 0,12$ мкм, по сравнению со спиралевидно закрученными волокнами интактной дермы. Переходная зона выражена нечетко и состояла из переплетения тонких коллагеновых фибрилл новообразованного регенерата с толстыми волокнами рядом расположенной дермы (рисунок 1В).

При изучении клеточного состава наибольшая плотность клеток была выявлена в субэпидермальном слое, на границе с интактной дермой и сохраненной гиподермой. При этом в двух вышеописанных зонах преобладали фибробласты и зрелые фиброциты. Активные фибробласты имели овальную форму с базофильным

округлым ядром, молодые фиброциты были удлиненной формы со слабо базофильной цитоплазмой. В более глубоких слоях обнаружено большое количество макрофагов. На всем протяжении отмечена высокая плотность кровеносных сосудов микроциркуляторного русла.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, заживление ран в эксперименте с использованием влажных бинтовых повязок приводило к формированию тонкого зрелого соединительнотканного рубца с отсутствием воспалительной реакции спустя 14 суток. Применение влажной среды без использования лекарственных средств способствовало сокращению сроков репаративной регенерации тканеспецифического восстановления поврежденных структурных элементов кожного покрова.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shapovalova Ye. Yu., Boyko T. A., Baranovskiy Yu. G., Morozova M. N., Barsukov N. P., Ilchenko F. N., Baranovskiy A. G. Effects of fibroblast transplantation on the content of macrophages and the morphology of regenerating ischemic cutaneous wounds. *International Journal of Biomedicine*. 2017;7(4): 302-306.

2. Johnson B. Z., Stevenson A. W., Prêle C. M., Fear M. W. The role of il-6 in skin fibrosis and cutaneous wound healing. *Biomedicines*. 2020;8(5):101.

3. Богданенко Е. В., Сергиевич Л. А., Карнаухов А. В., Карнаухова Н. А. Изучение регенеративного потенциала стволовых клеток цельного костного мозга для лечения механических травм кожи в модельных экспериментах на мышах. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2020; 64(1):31-38.

4. Парамонов Б. А. Нерешенные вопросы и спорные моменты диагностики рубцов кожи. *Косметика и медицина*. 2015;3:16-26.

5. Одинцова И. А. Современные аспекты гистологического анализа раневого процесса. *Вопросы морфологии XXI века*. 2015;4:51–53.

6. Алексеева Н. Т., Клочкова С. В., Никитюк Д. Б. Морфологическая характеристика тучных клеток при регенерации кожи. *Оренбургский медицинский вестник*. 2016;6(3):13–16.

7. *Fibrosis: Methods and Protocols*. Edited by Laure Rittie; 2017.

8. Ghazanfari S., Khademhosseini A., Smit T.H. Mechanisms of lamellar collagen formation in connective tissues. *Biomaterials*. 2016;97:74–84.

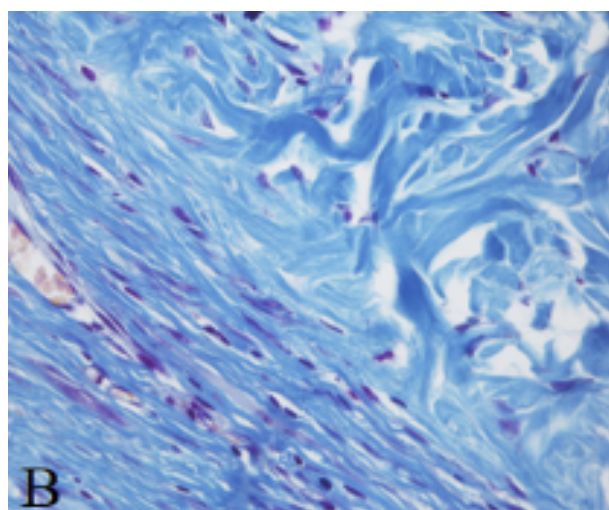
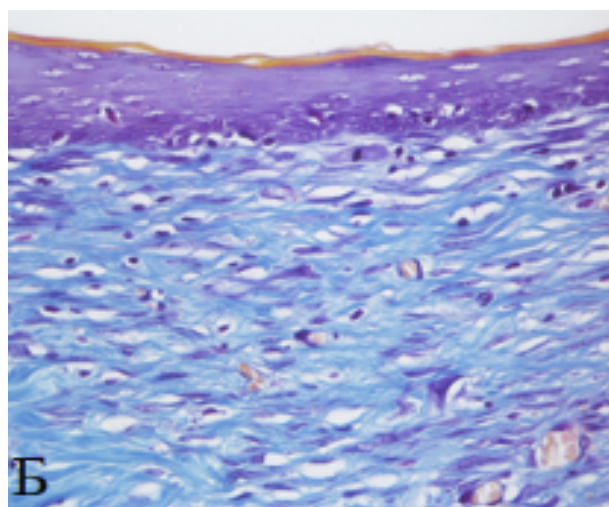
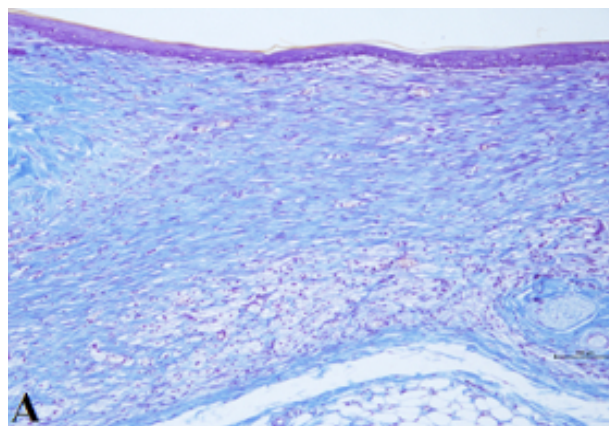


Рис. 1. Микрофотографии кожи на месте нанесенного дефекта спустя 14 суток спонтанного заживления во влажной среде. Окраска по методу Маллори. А – соединительнотканый рубец, состоящий из зрелой грануляционной ткани, (x40). Б – тонкий слой эпидермиса с субэпителиальной зоной, (x200). В – зона переплетения волокнистых структур новообразованного регенерата с сохраненными структурами интактной дермы, (x200).

9. Walmsley G. G., Maan Z. N., Wong V. W., Duscher D., Hu M. S., Zielins E. R., Wearda T., Muhonen E., McArdle A., Tevlin R. Scarless wound healing: Chasing the holy grail. *Plast. Reconstr. Surg.* 2015;135:907–917. doi: 10.1097/PRS.0000000000000972.

10. Шаповалова Е. Ю., Бойко Т. А., Барановский Ю. Г., Василенко С. А. Содержание тучных клеток в структурах ишемизированной модельной раны на 12 сутки после стимуляции регенераторного потенциала ауто- и гетерофибробластами и дермальным эквивалентом. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2017;24(5):96–102.

11. Мишина Е. С., Затолокина М. А., Сергеева С. Ю. Изучение факторов динамического структурирования коллагеновых волокон в эксперименте. *Морфология.* 2019;11(2):199.

12. Воронцова З. А., Образцова А. Е. Восстановительные процессы и гормоны. *Вестник новых медицинских технологий.* 2018;6:321–328.

13. Мнихович М. В., Соколов Д. А., Загребин В. Л. От анатомии и гистологии к клинической патологии. *Журнал анатомии и гистопатологии.* 2017;:29–30. doi:10.18499/2225-7357-2017-0-0-29-30.

REFERENCES

1. Shapovalova Ye. Yu., Boyko T. A., Baranovskiy Yu. G., Morozova M. N., Barsukov N. P., Ichenko F. N., Baranovskiy A. G. Effects of fibroblast transplantation on the content of macrophages and the morphology of regenerating ischemic cutaneous wounds. *International Journal of Biomedicine.* 2017;7(4):302–306.

2. Johnson B. Z., Stevenson A. W., Prêle C. M., Fear M. W. The role of il-6 in skin fibrosis and cutaneous wound healing. *Biomedicines.* 2020;8(5):101.

3. Bogdanenko E. V., Sergievich L. A., Karnauhov A. V., Karnauhova N. A. Study of the regenerative potential of whole bone marrow stem cells for the treatment of mechanical skin injuries

in model experiments on mice. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2020;64(1):31–38.

4. Paramonov B. A. Unresolved issues and controversial points in the diagnosis of skin scars. *Kosmetika i medicina.* 2015;3:16–26.

5. Odincova I. A. Modern aspects of the histological analysis of the wound process. *Voprosy morfologii XXI veka.* 2015;4:51–53.

6. Alekseeva N. T., Klochkova S. V., Nikitjuk D.B. Morphological characteristics of mast cells during skin regeneration. *Orenburgskij medicinskij vestnik.* 2016;6(3):13–16.

7. *Fibrosis: Methods and Protocols.* Edited by Laure Rittie; 2017.

8. Ghazanfari S., Khademhosseini A., Smit T. H. Mechanisms of lamellar collagen formation in connective tissues. *Biomaterials.* 2016; 97:74–84.

9. Walmsley G. G., Maan Z. N., Wong V. W., Duscher D., Hu M. S., Zielins E. R., Wearda T., Muhonen E., McArdle A., Tevlin R. Scarless wound healing: Chasing the holy grail. *Plast. Reconstr. Surg.* 2015;135:907–917. doi: 10.1097/PRS.0000000000000972.

10. Shapovalova E. Ju., Bojko T. A., Baranovskij Ju. G., Vasilenko S. A. The content of mast cells in the structures of the ischemic model wound on the 12th day after stimulation of the regenerative potential by autoand heterophyoblasts and dermal equivalent. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik.* 2017;24(5):96–102.

11. Mishina E. S., Zatolokina M. A., Sergeeva S. Ju. Experimental study of the factors of dynamic structuring of collagen fibers. *Morfologiya.* 2019;11(2):199.

12. Vorontsova Z. A., Obrastsova A. E., Recovery processes and hormones. *Bulletin of new medical technologies.* 2018;6:321–328.

13. Mnihovich M. V., Sokolov D. A., Zagrebin V. L. From anatomy and histology to clinical pathology. *Zhurnal Anatomii I Gistopatologii.* 2017;:29–30. doi:10.18499/2225-7357-2017-0-0-29-30

МЕТАБОЛИТЫ ТРИПТОФАНА – МЕДИАТОРЫ ОСИ «МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА – ЖИРОВАЯ ТКАНЬ»

Шестопапов А. В.^{1,2}, Шатова О. П.², Гапонов А. М.¹, Волкова Н. И.³, Румянцев А. Г.²,
Москалева Н. Е.⁴, Апполонова С. А.⁴, Макаров В. В.⁵, Юдин С. М.⁵, Румянцев С. А.^{1,2}

¹Центр цифровой и трансляционной биомедицины ООО «Центр молекулярного здоровья», 117218, Нахимовский проспект, д. 32, стр.1, Москва, Россия

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, 117997, ул. Островитянова, д.1, Москва, Россия

³Ростовский государственный медицинский университет, 344022, пер. Нахичеванский, д.29, Ростов-на-Дону, Россия

⁴Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), 119991, ул. Большая Пираговская, д. 2, стр.4, Москва, Россия

⁵Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью, 111992, Москва, Россия ул. Погодинская, д. 10, стр.1

Для корреспонденции: Шатова Ольга Петровна, доцент кафедры биохимии и молекулярной биологии лечебного факультета, Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова, e-mail: shatova.op@gmail.com

For correspondence: Shatova O. P., Associate Professor of Biochemistry and Molecular Biology of the Medical Faculty, N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, e-mail: shatova.op@gmail.com

Information about authors:

Shestopalov A. V., <https://orcid.org/0000-0002-1428-7706>

Shatova O. P., <https://orcid.org/0000-0003-4265-1293>

Gaponov A. M. <https://orcid.org/0000-0002-3429-1294>

Volkova N. I., <https://orcid.org/0000-0003-4874-7835>

Rumyantsev A. G., <https://orcid.org/0000-0002-1632-4822>

Moskaleva N. E., <https://orcid.org/0000-0002-7309-8913>

Appolonova S. A. <https://orcid.org/0000-0002-7309-8913>

Makarov V. V. <https://orcid.org/0000-0001-9495-0266>

Yudin S. M., <https://orcid.org/0000-0002-7942-8004>

Rumyantsev S. A., <https://orcid.org/0000-0002-7418-0222>

РЕЗЮМЕ

В последние 10 лет происходит активное изучение системы сопряжения метаболизма макроорганизма и его микробиома. Микробиотическая конверсия пищевых субстратов в небольшие биологически активные сигнальные молекулы представляет собой потенциальный регуляторный механизм, с помощью которого кишечная микробиота может изменять физиологию клеток кишечника и всего макроорганизма. Установлено, что у пациентов с ожирением, но без метаболических нарушений уровень сывороточного триптамина был статистически значимо выше, чем у пациентов с метаболически нездоровым ожирением. Для ожирения вне зависимости от наличия/отсутствия метаболических нарушений установлено, что ксантуреновая и хинолиновая кислоты стимулируют секрецию миостатина. При этом для пациентов с метаболически здоровым ожирением показана взаимосвязь индол-3-ацетата в согласованной стимуляции секреции инсулина и лептина. Тогда как у пациентов с метаболически нездоровым ожирением антралиловая кислота стимулирует секрецию лептина. Для инсулина же снижение секреции обеспечивает индол-3-пропионат у пациентов с метаболически нездоровым ожирением. Кроме того индол-3-пропионат и триптамиин активируют секрецию от FGF 21 у пациентов с метаболически нездоровым ожирением. Из полученных данных можно сделать предположение о том, что изменение концентраций различных метаболитов триптофанового обмена имеет взаимосвязь с уровнем секреции адипокинов/миокинов и следовательно с развитием метаболически здорового или метаболически нездорового ожирения.

Ключевые слова: микробиота кишечника, ожирение, триптофан, кинуренины, индолы, адипомиокины.

TRYPTOPHAN METABOLITES-MEDIATORS OF THE «MICROBIOM OF INTENSTINE – ADIPOSE TISSUE» AXIS

Shestopalov A. V.^{1,2}, Shatova O. P.^{2*}, Gaponov A. M.¹, Volkova N. I.³, Rumyantsev A. G.², Moskaleva N. E.⁴, Appolonova S. A.⁴, Makarov V. V.⁵, Yudin S. M.⁵, Rumyantsev S. A.^{1,2}

¹Center of Digital and Translational Biomedicine, Center for Molecular Health, Moscow, Russia

²N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³Rostovsky State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

⁴The First I. M. Sechenov Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

⁵Center for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Moscow, Russia

SUMMARY

In the last 10 years, there has been an active study of the system of coupling the metabolism of a macroorganism and its microbiome. The microbiotic conversion of food substrates into small biologically active signaling molecules represents a potential regulatory mechanism by which the gut microbiota can alter the physiology of gut cells and the entire macroorganism. It was found that in patients with obesity, but without metabolic disorders, the level of serum tryptamine was statistically significantly higher than in patients with metabolically unhealthy obesity. For obesity, regardless of the presence/absence of metabolic disorders, it was found that xanthurenic and quinolic acids stimulate the secretion of myostatin. At the same time, for patients with metabolically healthy obesity, the leading role of indole-3-acetate in the coordinated stimulation of insulin and leptin secretion is shown. Whereas in patients with metabolically unhealthy obesity, anthranilic acid stimulates leptin secretion. For insulin, the decrease in secretion is provided by indole-3-propionate in patients with metabolically unhealthy obesity. In addition, indole-3-propionate and tryptamine activate the secretion of FGF 21 in patients with metabolically unhealthy obesity. From the data obtained, it can be assumed that changes in the concentrations of various tryptophan metabolites have a relationship with the level of adipokine/myokine secretion and, consequently, with the development of metabolically healthy or metabolically unhealthy obesity.

Key words: gut microbiota, obesity, tryptophan, kynurenine, indoles, adipokines.

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ожирением страдают 1,1 миллиарда взрослых людей во всем мире [1]. Ожирение как независимый фактор риска сердечнососудистых заболеваний (ССЗ) приводит к росту заболеваемости, смертности и сокращению продолжительности жизни [2]. Известно, что ожирение представляет собой основной фактор риска развития инсулинорезистентности и сахарного диабета II типа (СД II), а также возникновения рака [3].

Огромное количество исследований демонстрируют патогенетическую роль сигнальных молекул жировой и мышечной тканей – адипокинов и миокинов в развитии метаболического синдрома, инсулинорезистентности и ожирения [4; 5]. Адипомиокины – это биологически активные молекулы, которые регулируют ряд физиологических функций, таких как энергетический обмен, пищевое поведение, чувствительность к инсулину, воспалительную реакцию, а также иммунный ответ [6; 7]. Адипомиокины в основном секретируются адипоцитами, хотя недавние исследования показали, что желудок, кишечник, надпочечники, миоциты, лейкоциты, макрофаги, гепатоциты и кардиомиоциты также могут секретировать данные сигнальные молекулы [1]. Следует отметить, что некоторые адипомиокины обладают противовоспалительным и кардиопротекторным действием (оментин, апелин и адипонектин) [4], тогда как другие адипомиокины оказывают провоспалительное воздействие (лептин, фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), ретинолсвязывающий протеин-4 (РСР-4), висфатин, резистин и остеоопонтин) [2] и также возможно двойственное влияние, как для адипонектина – про- и противовоспалительное [4]. Сывороточный уровень многих адипомиокинов прямо пропорционально коррелирует с количе-

ством и размером жировых клеток [3]. Миокины это цитокины и хемокины мышечной ткани, такие как ирисин, метеорин-подобный пептид и др. Наиболее изученным из них является ирисин [5].

Кроме изменения синтеза и секреции адипомиокинов и миокинов для пациентов с ожирением характерной метаболической чертой является изменение скорости катаболизма триптофана [6]. Так известно, что у пациентов с ожирением в сыворотке крови увеличивается концентрация кинуренина и снижается концентрация триптофана [6], повышается концентрация 3-гидроксикинуруенина, 3-гидроксиантралиловой кислоты [7], кинуреновой кислоты и антралиловой кислот [8; 9]. При этом следует отметить, что сведения о регуляторной роли адипомиокинов в метаболизме триптофана или триптофановых метаболитов в регуляции сигнальных молекул жировой ткани крайне фрагментарны и малоизучены. Очевидно, что адипомиокины могут влиять на скорость катаболизма триптофана и концентрацию метаболитов данной аминокислоты в сыворотке крови. Однако, кинуреновая кислота и триптамин являясь сигнальными молекулами, также могут влиять на синтез и секрецию адипомиокинов.

Поэтому целью данной работы было изучить взаимосвязь сывороточных концентраций метаболитов триптофанового обмена и сигнальных молекул ткани у пациентов с ожирением в зависимости от его фенотипа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследован 71 пациент средний возраст, которых составил $39,9 \pm 4,2$ лет, все пациенты имели ожирение и/или метаболический синдром со средним ИМТ – $32,96 \text{ кг/м}^2$ и ОТ – $108,98 \text{ см}$. Нами были сформированы 2 подгруппы об-

следуемых пациентов (по фенотипу ожирения): метаболически здоровые (МЗО – 30 человек) и метаболически нездоровые (МНО – 41 человек).

Пациенты с МНО имели меньше двух из перечисленных показателей (по Wildman) [10]:

- САД ≥ 130 мм рт. ст. и/или ДАД ≥ 85 мм рт. ст. или гипотензивная терапия
- ТАГ $\geq 1,7$ ммоль/л
- ЛПВП: $< 1,04$ ммоль/л (мужчины), $< 1,3$ ммоль/л (женщины) или гиполипидемическая терапия
- глюкоза крови натощак $\geq 5,5$ ммоль/л
- СРБ > 90 -й перцентили
- НОМА > 90 -й перцентили

От всех участников исследования были получены образцы цельной крови, сыворотки крови согласно протоколу исследования. Транспортировка и хранение образцов осуществляется с соблюдением холодовой цепи при температуре не выше – 40°C.

Количественный анализ секретируемых адипокинов и миокинов проводили методом мультиплексного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем Milliplex: Human Adipokine Magnetic Bead Panel 1 (Adiponectin, Adipsin, Resistin); Human Adipokine Magnetic Bead Panel 2 (Insulin, Leptin); Human Myokine Magnetic Bead Panel 3 (Irisin, Myostatin) согласно рекомендациям фирмы производителя на анализаторе Magpix (BioRad, США). Обработку данных проводили с использованием программы Bio-Plex Manager 4.1 (Bio-Rad Laboratories). Концентрацию аспросина определяли методом ИФА при помощи тест-системы ELISA Kit For Asprosin (Cloud-Clone Corp., США).

Количественный анализ метаболитов обмена триптофана в сыворотке крови проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Анализ проводили при помощи жидкостного хроматографа Agilent 1200 (Agilent inc., США) с системой автоматического ввода образцов, термостатом колонки и дегазатором. Хроматографическое разделение проводили с использованием аналитической колонки Discovery PFP HS F5 (2,1 * 150 мм; 3 мкм). Состав подвижной фазы: фаза А – 0,1% раствор муравьиной кислоты в воде дионизированной; фаза В – 100% ацетонитрил для хроматографии. Градиент подвижной фазы от 1% в до 10 % в течение 4 мин, далее до 90% В к 9 минуте анализа. Скорость потока подвижной фазы 0,40 мл/мин.

Для детектирования использован масс-спектрометрический детектор на основе тройного квадруполя Agilent 6460 (Agilent inc., США) MRM и электрораспылительной ионизацией. Характеристические для каждого соединения ро-

дительские и дочерные ионы для режима MRM, а также параметры ионизации и диссоциации оптимизированы с использованием стандартов исследуемых метаболитов. Полученный сигнал обрабатывали при помощи программного обеспечения Masshunter (Agilent inc., США).

Расчет концентраций метаболитов проводили методом внутреннего стандарта (2-гидроксинокотиновая кислота). Стандарты определяемых соединений готовили с использованием искусственной матрицы, содержащей бычий сывороточный альбумин и хлорид натрия. В матрицу добавляли исследуемые метаболиты и проводили подготовку согласно методике анализа.

Для подготовки пробы сыворотки крови, к 100 мкл сыворотки добавляли внутренний стандарт (2-гидроксинокотиновую кислоту), осаждали белки ацетонитрилом, супернатант упаривали и растворяли в 10% метаноле в воде с добавлением аскорбиновой кислоты для предотвращения окисления аналитов.

Для подготовки пробы кала его лиофилизировали до сухого остатка, далее навеску около 5 мг экстрагировали 50% метанолом в воде с добавлением внутреннего стандарта и аскорбиновой кислоты. После центрифугирования образец анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС.

Методика была валидирована по показателям селективности, линейности, точности, воспроизводимости, матричному эффекту и стабильности аналита. Валидация проводилась в соответствии с руководством по валидации биоаналитических методик FDA.

Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием пакета программы STATISTICA 12.0 (StatSoft Inc, США). В таблицах приведены средние величины (M) и их стандартные отклонения (σ). Статистическую значимость различий средних величин независимых выборок оценивали с помощью параметрического анализа после проверки распределения данных на нормальность. Оценка на нормальность распределения признаков в группах проводилась при помощи критерия Шапиро-Уилка. Так как данные подчиняются нормальному распределению, то для сравнительного анализа независимых выборок использовали t-критерий Стьюдента. Статистически значимое различие принимали $p < 0,05$. При изучении взаимосвязей между сывороточной концентрацией метаболитов триптофанового обмена и сывороточной концентрацией адипо- и миокинов проводили корреляционный анализ и использовали линейный коэффициент корреляции Пирсона (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами установлена статистически значимая разница между пациентами с МЗО и МНО только

для концентрации триптамина в сыворотке крови (табл.1). Получено, что у пациентов с МНО концентрация триптамина в сыворотке крови была статистически значимо ниже, чем у пациентов с

МЗО при $p < 0,05$. Для сывороточных концентраций всех остальных метаболитов триптофанового обмена нами не установлено статистически значимой разницы между пациентами с МЗО и МНО.

Таблица 1

Концентрации в сыворотке крови метаболитов триптофанового обмена у пациентов с МЗО и МНО

Метаболит обмена триптофана, нмоль/л	МЗО (30)	МНО (41)
Хинолиновая кислота	79,9±40,6	90,9±74,1
Кинурунин	2551±873	2578±933
Серотонин	819±383	827±536
5-гидроксииндол-3-ацетат	91,208±143	81,5±36,1
Антраниловая кислота	38,5±20,9	42,1±23,1
Кинуреновая кислота	20,8±9,35	22,8±9,03
Ксантуруеновая кислота	3,89±2,19	5,01±4,13
Индол-3-лактат	485±211	573±298
Индол-3-ацетат	1728±1365	1445±1016
Индол-3-карбоксальдегид	46,1±26,4	51,9±33,9
Индол-3-акрилат	3,31±3,86	7,51±27,3
Индол-3-пропионат	911±1139	716±525
Индол-3-бутират	4,64±3,27	3,88±2,11
Триптамин	0,801±0,299	0,614±0,311*

Примечание: * - разница достоверна при $p < 0,05$.

Следует отметить, что триптамин имеет исключительно микробиотическое происхождением и оказывает регуляторное воздействие на макроорганизм хозяина, увеличивая секрецию анионов и соответственно жидкости в проксимальном отделе толстой кишки, а также участвуя в иммунной функции [11]. Свои эффекты на клетки кишечника триптамин реализует через G-протеин связанный серотониновый рецептор. При этом гены, кодирующие гомологи триптофандекарбоксилазы (ТД, ЕС:4.1.1.105), фермента, который катализирует реакцию образования триптамина, обнаруживаются приблизительно у 10% репрезентативной микробиоты кишечника человека [11]. Возможно, что у пациентов с МНО происходит обеднение микробиоты данного таксономического состава и как следствие снижение продукции триптамина в кишечнике и всасывание его в кровь в меньшем количестве.

При изучении сывороточной концентрации триптамина и адипомиокинов у пациентов с МЗО нами не установлено статистически значимых связей (табл.2). Тогда как у пациентов с МНО были обнаружены статистически значимые положительные взаимосвязи для пар сывороточных концентраций: «триптамин – фактора роста фибробластов 21 (FGF 21)» и «триптамин – миоастатин» (табл.3.). Так кроме

триптамина, у пациентов с МНО FGF 21 статистически значимо прямо был взаимосвязан с сывороточным уровнем индол-3-пропионата. При этом данный индольный метаболит триптофана у пациентов с МНО статистически значимо положительно также был связан с концентрацией ирисина и отрицательно с концентрацией инсулина в сыворотке. Следует отметить, что индол-3-пропионат имеет противовоспалительное действие на клетки кишечника, так как подавляет продукцию ФНО- α [5]. Можно предположить, что индол-3-пропионат также оказывает системное действие на организм, в том числе и на жировую ткань, и на β -клетки поджелудочной железы. Кроме того индол-3-пропионат уменьшает проницаемость кишечника и изменяет экспрессию глюкозных транспортеров 5 типа (ГЛЮТ 5) [12]. Возможно, что у пациентов с МНО увеличение концентрации FGF 21 в сыворотке крови приводит к гиперпродукции индол-3-пропионата кишечной микробиотой, формируя компенсаторно-приспособительный процесс стимуляции адипомиокином определенных микробиотических штаммов с целью снижения всасывания глюкозы в кишечнике.

Известно, что у пациентов с ожирением наблюдается повышение миоастатина в сыворотке крови [13]. Однако нет информации о том,

какова концентрация миостатина у пациентов с МЗО и МНО. Так нами установлено, что у пациентов с МЗО концентрация миостатина прямо и статистически значимо взаимосвязана с сывороточными концентрациями хинолиновой и ксантуреновой кислотами (табл.2). Тогда как у пациентов с МНО концентрация сывороточного миостатина зависела не только от концентрации хинолиновой и ксантуреновой кислот, а еще и от концентрации в сыворотке крови бактериальных метаболитов триптофанового обмена – индол-3-лактата и индол-3-карбоксальдегида (табл.3).

То есть вне зависимости от фенотипа ожирения концентрация в сыворотке хинолиновой кислоты прямо и статистически значимо коррелирует с концентрацией в сыворотке крови миостатина. Второй константой для обеих подгрупп наблюдения является прямая статистически значимая взаимосвязь ксантуреновой кислоты в сыворотке крови с сывороточной концентрацией миостатина. Так нами установлена положительная статистически значимая связь между метаболитами макроорганизма и микробиоты с одной стороны и миостатином при ожирении с метаболическими нарушениями с другой стороны. Тогда как у пациентов с ожирением без метаболических нарушений более высокий уровень триптамина в сыворотке крови не стимулировал продукцию миостатина, а на продукцию данного цитокина влияли метаболиты кинуренинового пути обмена триптофана немикробиотического происхождения.

Следует отметить, что миостатин участвует в адипогенезе, а также в дифференцировке мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в преадипоциты, а также стимулирует продукцию лептина в организме [14]. Кроме того, установлено, что миостатин индуцирует экспрессию ирисина [15]. При этом нами не установлено статистически значимых взаимосвязей для сывороточной концентрации хинолиновой кислоты с лептином или резистином, а также такие взаимосвязи отсутствуют для сывороточной концентрации ксантуреновой кислоты с этими же адипокинами. Однако у пациентов с МЗО концентрация ксантуреновой кислоты в сыворотке крови статистически значимо положительно была связана с уровнем адипонектина и резистина в сыворотке крови и отрицательно с аспросином (табл.2), тогда как у пациентов с МНО таких взаимосвязей нами установлено не было. Показано, что миостатин у пациентов с МНО это один из показателей, концентрация которого статистически значимо положительно взаимосвязана со многими метаболитами триптофанового обмена.

Важно отметить, что именно у пациентов с МЗО концентрация аспросина в сыворотке кро-

ви снижена на фоне повышения концентрации ксантуреновой кислоты (табл.2). Наши данные согласуются с имеющимся представлением о том, что повышение аспросина в сыворотке крови является предиктором развития инсулинорезистентности и сахарного диабета II типа [15]. При этом ксантуреновая кислота, которая является макроорганизменным метаболитом триптофана, может быть вовлечена в механизмы регуляции синтезе и секреции аспросина жировой тканью.

Для адипомиокина ирисина у пациентов с МНО установлена статистически значимая положительная взаимосвязь с сывороточной концентрацией: серотонина, индол-3-акрилата и индол-3-пропионата (табл.3). Тогда как у пациентов с МЗО статистически значимая прямая связь только для пары «ирисин сыворотка крови – 5-гидроксииндол-3-ацетат сыворотка крови» (табл.2). Полученные нами данные подтверждают имеющиеся в литературе представления о том, что ирисин стимулирует продукцию серотонина [16]. Возможно, дальнейшие исследования продемонстрируют участие серотонина и указанных производных индола в трансдифференцировке жировой ткани, так как ирисин считается одним из главных участников данного процесса [16]. Кроме того, нельзя исключать возможное стимулирующее влияние серотонина или индол-3-акрилата и индол-3-пропионата на синтез и секрецию ирисина у пациентов с МЗО.

Высокий сывороточный уровень кинуренина общепризнанно считается показателем ожирения [8]. При этом нами установлено, что у пациентов с МЗО сывороточный уровень кинуренина статистически значимо положительно коррелирует с адипонектином и резистином в сыворотке крови (табл.2). Тогда как у пациентов с МНО сывороточный уровень кинуренина не взаимосвязан ни с одним из изученных адипомиокинов (табл.3).

Пациенты с МЗО характеризовались наличием статистически значимой положительной взаимосвязью между сывороточной концентрацией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и 5-гидроксииндол-3-ацетатом и индол-3-ацетатом (табл.2).

Тогда как у больных с МНО нами установлена статистически значимая прямая взаимосвязь VEGF только с сывороточной концентрацией ксантуреновой кислоты (табл.3). Следует отметить, что у пациентов с МНО сывороточные концентрации 5-гидроксииндол-3-ацетата и индол-3-ацетата не взаимосвязаны ни с одной из изученных сигнальных молекул (табл.3).

При анализе адипомиокинов показано, что главный из них - лептин статистически значимо

Таблица 2

Взаимосвязь сывороточных концентраций метаболитов триптофанового обмена с сывороточными концентрациями адипомиокинов у пациентов с МЗО

Метаболит обмена триптофана, нмоль/л	VEGF	Адипонектин	Резистин	Аспросин	FGF 21	Ирисин	Миостатин	Инсулин	Лептин
Хинолиновая кислота	-0,06	0,07	0,36	-0,06	0,05	-0,13	0,53*	0,08	0,09
Кинуренин	-0,02	0,55*	0,48*	-0,24	0,27	0,07	0,31	-0,06	0,25
Серотонин	0,01	0,61*	0,21	-0,11	0,23	0,11	-0,14	-0,11	0,05
5-гидроксииндол-3-ацетат	0,42*	-0,05	0,31	0,08	-0,11	0,54*	-0,05	-0,12	-0,24
Антралиловая кислота	0,19	0,06	0,34	-0,07	0,16	0,05	0,31	0,12	0,05
Кинуреновая кислота	0,17	0,47*	0,42*	-0,35	-0,15	0,08	0,20	0,02	0,15
Ксантуреновая кислота	-0,13	0,51*	0,59*	-0,41*	0,19	0,13	0,46*	-0,14	-0,03
Индол-3-лактат	0,23	0,23	0,33	-0,29	-0,05	0,40	-0,05	0,03	0,29
Индол-3-ацетат	0,41*	0,27	0,21	-0,36	0,11	0,34	-0,07	0,48*	0,61*
Индол-3-карбоксальдегид	0,28	0,24	0,30	-0,18	0,00	0,18	0,23	0,03	0,30
Индол-3-акрилат	-0,17	0,13	0,11	-0,11	-0,09	0,01	-0,08	-0,09	0,03
Индол-3-пропионат	-0,25	0,10	0,07	-0,12	0,04	0,14	-0,10	-0,15	0,08
Индол-3-бутират	0,17	0,47*	0,29	-0,12	0,34	0,17	-0,08	0,06	0,17
Триптамин	-0,39	-0,38	-0,18	0,26	0,02	-0,27	0,16	-0,19	-0,15

Примечание: * - коэффициент корреляции достоверен при $p < 0,05$, ** - $p = 0,0001$.

и положительно взаимосвязан с сывороточной концентрацией антралиловой кислоты только у пациентов с МНО. Тогда как для адипонектина у пациентов с МНО нами установлена отрицательная статистически значимая взаимосвязь с антралиловой и кинуреновой кислотами. Вместе с тем, для резистина и аспросина нами не установлено статистически значимых взаимосвязей с сывороточными концентрациями метаболитов обмена триптофана у пациентов с МНО.

Нами установлено, что при ожирении максимальное процентное повышение из метаболитов триптофанового обмена отмечается для индол-3-ацетата [17]. Так у пациентов с МЗО показано, что сывороточная концентрация индол-3-ацетата прямо и статистически значимо коррелирует с уровнем инсулина и лептина в сыворотке крови. Чем выше концентрация индол-3-ацетата, тем выше концентрация инсулина и лептина. Возможно, данные гормоны или их метаболиты изменяют таксономический состав кишечника и очевидно, что повышение индол-3-ацетата в сыворотке крови прогностически неблагоприятный признак развития ожирения

и воспаления в кишечнике. Так как выше было отмечено о том, что гиперинсулинемия сопровождается снижением противовоспалительного метаболита обмена триптофана в сыворотке крови – индол-3-пропионата. А возможно и наоборот индол-3-ацетат стимулирует секрецию лептина и инсулина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Снижение концентрации триптамина в сыворотке крови у пациентов с ожирением можно расценивать как маркер МНО.

Концентрации в сыворотке крови хинолиновой и ксантуреновой кислот вне зависимости от фенотипа ожирения всегда взаимосвязаны с секрецией миостатина.

При этом у пациентов с МЗО ксантуреновая и кинуреновая кислоты, а также сам кинуренин положительно статистически значимо взаимосвязаны с концентрациями резистина и адипонектина в сыворотке крови. Тогда как у этой же подгруппы пациентов концентрации лептина и инсулина коррелируют с концентрацией индол-3-ацетата в сыворотке крови.

Таблица 3

Взаимосвязь сывороточных концентраций метаболитов триптофанового обмена с сывороточными концентрациями адипомиокинов у пациентов с МНО

Метаболит обмена триптофана, нмоль/л	VEGF	Адипонектин	Резистин	Аспросин	FGF 21	Ирисин	Миостатин	Инсулин	Лептин
Хинолиновая кислота	0,13	-0,20	-0,09	-0,08	0,14	-0,19	0,58**	0,14	0,01
Кинуренин	0,17	-0,29	-0,17	-0,06	0,13	0,12	0,28	0,03	0,07
Серотонин	0,20	-0,26	-0,25	0,22	-0,25	0,57**	-0,17	0,17	-0,10
5-гидроксииндол-3-ацетат	0,04	-0,31	-0,21	-0,15	-0,04	0,15	-0,01	-0,06	0,16
Антралиловая кислота	-0,14	-0,32*	-0,12	0,03	0,11	-0,01	-0,10	0,12	0,56**
Кинуреновая кислота	0,08	-0,32*	-0,11	0,05	-0,07	0,17	0,24	0,09	-0,09
Ксантуреновая кислота	0,46*	-0,20	-0,03	0,11	0,12	0,06	0,69*	0,07	-0,18
Индол-3-лактат	0,31	-0,29	-0,13	0,19	0,16	0,10	0,59**	-0,05	-0,10
Индол-3-ацетат	-0,14	-0,12	0,02	-0,12	-0,01	-0,14	0,07	-0,01	-0,08
Индол-3-карбоксальдегид	0,08	-0,25	-0,19	0,16	0,04	0,22	0,38*	-0,14	-0,21
Индол-3-акрилат	-0,06	-0,08	-0,10	0,02	-0,03	0,79**	0,03	-0,09	-0,02
Индол-3-пропионат	0,22	-0,12	-0,10	0,11	0,33*	0,33*	0,24	-0,32*	0,24
Индол-3-бутират	0,01	-0,27	-0,01	-0,15	-0,03	0,04	0,05	-0,11	-0,04
Триптамин	0,02	-0,02	-0,01	-0,18	0,36*	-0,01	0,44*	-0,06	0,13

Примечание: * - коэффициент корреляции достоверен при $p < 0,05$, ** - $p = 0,0001$.

У пациентов с МНО сывороточная концентрация индол-3-пропионата коррелирует с более низкой концентрацией инсулина в сыворотке крови и более высокой концентрацией FGF 21 и ирисина. Концентрация последнего коррелирует статистически значимо и очень тесно с концентрацией индол-3-акрилата.

Таким образом, полученные взаимосвязи между сывороточными концентрациями метаболитов триптофанового обмена и секрецией адипомиокинов могут свидетельствовать, что метаболиты триптофана являются медиаторами эндокринной активности жировой ткани и определяют фенотип ожирения.

Финансирование. Работа выполнена в рамках договора № 0373100122119000041 по проекту «Создание банка биообразцов сыворотки крови и фекалий от здоровых доноров и пациентов с ожирением, метаболическим синдромом, СД II типа, нарушением мукозального барьера желудочно-кишечного тракта с целью выявления кандидатных видонеспецифических медиаторов систем quorum sensing микробиоты человека,

модулирующих эндокринную и метаболическую функцию жировой ткани».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

Соблюдение этических норм. Исследование одобрено Локальным независимым этическим комитетом РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России протокол № 186 от 26.06.2019 г. Все больные подписали информированное добровольное согласие на использование биологического материала в научных целях.

ЛИТЕРАТУРА

- Recinella L., Orlando G., Ferrante C., Chiavaroli A., Brunetti L., Leone S. Adipokines: New Potential Therapeutic Target for Obesity and Metabolic, Rheumatic, and Cardiovascular Diseases Front Physiol. 2020;11:1-32. doi:10.3389/fphys.2020.578966
- Farkhondeh T., Llorens S., Pourbagher-Shahri A. M., Ashrafizadeh M., Talebi M., Shakibaei M.,

Samarghandian S. An Overview of the Role of Adipokines in Cardiometabolic Diseases *Molecules*. 2020;25:5218. doi: 10.3390 / molecules25215218

3. Senesi P., Luzi L., Terruzzi I. Adipokines, Myokines, and Cardiokines: The Role of Nutritional Interventions. *Int J Mol Sci*. 2020;8(21):8372. doi:10.3390/ijms21218372.4.

4. Nguyen T.M. Adiponectin: Role in Physiology and Pathophysiology. *Int J Prev Med*. 2020;11:136.

5. Chen W., Wang L., You W., Shan T. Myokines mediate the cross talk between skeletal muscle and other organs. *J Cell Physiol*. 2021;236(4):2393-2412, doi:10.1002 / jcp. 30033.

6. Mallmann N.H., Lima E.S., Lalwani P. Dysregulation of Tryptophan Catabolism in Metabolic Syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 2018;16:135-142

7. Christensen M. H., Fadnes D. J., Rost T. H., Pedersen E. R., Andersen J. R., Vage V., Ulvik A., Midttun O., Ueland P. M., Nygard O. K., Mellgren G. Inflammatory markers, the tryptophan-kynurenine pathway, and vitamin B status after bariatric surgery. *PLoS One*. 2018;13(2): e0192169. doi: 10.1371/journal.pone.0192169

8. Favennec M., Hennart B., Caiazza R., Leloire A., Yengo L., Verbanck M., Arredouani A., Marre M., Pigeyre M., Bessede A., Guillemin G. J., Chinetti G., Staels B., Pattou F., Balkau B., Allorge D., Froguel P., Poulain-Godefroy O. The kynurenine pathway is activated in human obesity and shifted toward kynurenine monooxygenase activation. *Obesity (Silver Spring)*. 2015;23:2066-2074.

9. Шестопалов А. В., Шатова О. П., Комарова Е. Ф., Румянцев С. А. Особенности метаболического сопряжения в системе «суперорганизма» (хозяин -микробиота). *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020;10(2):95-103, doi:10.37279/2224-6444-2020-10-2-95-103

10. Liu C., Wang C., Guan S, Liu H., Wu X., Zhang Z., Gu X., Zhang Y., Zhao Y., Tse L.A., Fang X. The Prevalence of Metabolically Healthy and Unhealthy Obesity according to Different Criteria. *Obes Facts*. 2019;12:78-90.

11. Bhattarai Y , Williams B. B., Battaglioli E. J. Gut Microbiota-Produced Tryptamine Activates an Epithelial G-Protein-Coupled Receptor to Increase Colonic Secretion. *Cell Host Microbe*. 2018;23(6):775-785.e5. doi:10.1016/j.chom.2018.05.004

12. Seridi L, Leo GC, Dohm G. L., Pories W. J., Lenhard J. (2018) Time course metabolome of Roux-en-Y gastric bypass confirms correlation between leptin, body weight and the microbiome. *PLoS One*; 13 (5): e0198156, doi: 10.1371/journal.pone.0198156

13. Li S. N., Wu J.F. TGF-beta/SMAD signaling regulation of mesenchymal stem cells in adipocyte commitment. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11:41.

14. Ge X., Sathiakumar D., Lua B. J., Kukreti H., Lee M., McFarlane C Myostatin signals through miR-34a to regulate Fndc5 expression and browning of white adipocytes. *Int J Obes (Lond)*. 2017;41:137-148.

15. Naiemian S., Naeemipour M., Zarei M, Lari N. M., Gohari A., Behroozikhah M. R., Heydari H., Miri M. Serum concentration of asprosin in new-onset type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 2020;12:65. doi: 10.1186/s13098-020-00564-w

16. Chiavaroli A., Recinella L., Ferrante C., Martinotti S., Vacca M., Brunetti L., Orlando G., Leone S. Effects of central fibroblast growth factor 21 and irisin in anxiety-like behavior. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2017;31:797-802.

17. Шестопалов А. В., Шатова О. П., Гапонов А. М., Москалева Н. Е., Апполонова С. А., Тутьельян А. В., Макаров В. В., Юдин С. М., Румянцев С. А. Изучение содержания метаболитов обмена триптофана в сыворотке крови и каловых экстрактах у детей с ожирением. *Биомедицинская химия*. 2020;66(6):494-501.

REFERENCES

1. Recinella L., Orlando G., Ferrante C., Chiavaroli A., Brunetti L., Leone S. Adipokines: New Potential Therapeutic Target for Obesity and Metabolic, Rheumatic, and Cardiovascular Diseases *Front Physiol*. 2020;11:1-32. doi:10.3389/fphys.2020.578966

2. Farkhondeh T., Llorens S., Pourbagher-Shahri A. M., Ashrafizadeh M., Talebi M., Shakibaei M., Samarghandian S. An Overview of the Role of Adipokines in Cardiometabolic Diseases *Molecules*. 2020;25:5218. doi: 10.3390 / molecules25215218

3. Senesi P., Luzi L., Terruzzi I. Adipokines, Myokines, and Cardiokines: The Role of Nutritional Interventions. *Int J Mol Sci*. 2020;8(21):8372. doi:10.3390/ijms21218372.4.

4. Nguyen T.M. Adiponectin: Role in Physiology and Pathophysiology. *Int J Prev Med*. 2020;11:136.

5. Chen W., Wang L., You W., Shan T. Myokines mediate the cross talk between skeletal muscle and other organs. *J Cell Physiol*. 2021;236(4):2393-2412, doi:10.1002 / jcp. 30033.

6. Mallmann N.H., Lima E.S., Lalwani P. Dysregulation of Tryptophan Catabolism in Metabolic Syndrome. *Metab Syndr Relat Disord*. 2018;16:135-142

7. Christensen M. H., Fadnes D. J., Rost T. H., Pedersen E. R., Andersen J. R., Vage V., Ulvik A., Midttun O., Ueland P. M., Nygard O. K., Mellgren G. Inflammatory markers, the tryptophan-kynurenine pathway, and vitamin B status after

- bariatric surgery. PLoS One. 2018;13(2): e0192169. doi: 10.1371/journal.pone.0192169
8. Favennec M., Hennart B., Caiazzo R., Leloire A., Yengo L., Verbanck M., Arredouani A., Marre M., Pigeyre M., Bessede A., Guillemin G. J., Chinetti G., Staels B., Pattou F., Balkau B., Allorge D., Froguel P., Poulain-Godefroy O. The kynurenine pathway is activated in human obesity and shifted toward kynurenine monooxygenase activation. *Obesity (Silver Spring)*. 2015;23:2066-2074.
9. Shestopalov A.V., Shatova O. P., Komarova E. F., Rummyantsev S. A. Features of metabolic coupling in the system of «superorganism» (host-microbiota). *Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2020;10(2):95-103. doi: 10.37279/2224-6444-2020-10-2-95-103
10. Liu C., Wang C., Guan S, Liu H., Wu X., Zhang Z., Gu X., Zhang Y., Zhao Y., Tse L.A., Fang X. The Prevalence of Metabolically Healthy and Unhealthy Obesity according to Different Criteria. *Obes Facts*. 2019;12:78-90.
11. Bhattarai Y , Williams B. B., Battaglioli E. J. Gut Microbiota-Produced Tryptamine Activates an Epithelial G-Protein-Coupled Receptor to Increase Colonic Secretion. *Cell Host Microbe*. 2018;23(6):775-785.e5. doi:10.1016/j.chom.2018.05.004
12. Seridi L, Leo GC, Dohm G. L., Pories W. J., Lenhard J. (2018) Time course metabolome of Roux-en-Y gastric bypass confirms correlation between leptin, body weight and the microbiome. *PLoS One*; 13 (5): e0198156, doi: 10.1371/journal.pone.0198156
13. Li S. N., Wu J.F. TGF-beta/SMAD signaling regulation of mesenchymal stem cells in adipocyte commitment. *Stem Cell Res Ther*. 2020;11:41.
14. Ge X., Sathiakumar D., Lua B. J., Kukreti H., Lee M., McFarlane C Myostatin signals through miR-34a to regulate Fndc5 expression and browning of white adipocytes. *Int J Obes (Lond)*. 2017;41:137-148.
15. Naiemian S., Naeemipour M., Zarei M, Lari N. M., Gohari A., Behroozikhah M. R., Heydari H., Miri M. Serum concentration of asprosin in new-onset type 2 diabetes. *Diabetol Metab Syndr*. 2020;12:65. doi: 10.1186/s13098-020-00564-w
16. Chiavaroli A., Recinella L., Ferrante C., Martinotti S., Vacca M., Brunetti L., Orlando G., Leone S. Effects of central fibroblast growth factor 21 and irisin in anxiety-like behavior. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2017;31:797-802.
17. Shestopalov A. V., Shatova O. P., Gaponov A. M., Moskaleva N. E., Appolonova S. A., Tutelyan A. V., Makarov V. V., Yudin S. M., Rummyantsev S. A. Study of the content of tryptophan metabolism metabolites in blood serum and fecal extracts in obese children. *Biomedical chemistry*. 2020;66(6):494-501.

УДК: 616-006.487-037

DOI: 10.37279/2224-6444-2021-11-1-25-31

РАЗРАБОТКА МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ОЦЕНКИ АСФЕРИЧНОСТИ ОБЛАСТИ НАКОПЛЕНИЯ КАК НОВОГО ПРЕДИКТОРА НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ИСХОДА У ПАЦИЕНТОВ С НЕЙРОБЛАСТОМОЙ

Ядгаров М. Я.¹, Ликарь Ю. Н.¹, Шаманская Т. В.¹, Качанов Д. Ю.¹, Кайлаш Ч.¹, Киреева Е. Д.¹, Матвеев Н. В.², Щелькалина С. П.²

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева» МЗ РФ), ул. Саморы Машела, 1, 117198, Москва, Россия.

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ул. Островитянова, 1, 117997, Москва, Россия.

Для корреспонденции: Ядгаров Михаил Яковлевич, врач-кибернетик, аспирант ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева» МЗ РФ, e-mail: mikhail.yadgarov@mail.ru

For correspondence: Mikhail Ya. Yadgarov, cybernetic doctor, post-graduate student of the Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric, Hematology, Oncology and Immunology Moscow, Russia, e-mail: mikhail.yadgarov@mail.ru

Information about authors:

Ядгаров М. Я., <http://orcid.org/0000-0003-3792-1682>

Ликарь Ю. Н., <http://orcid.org/0000-0002-6158-2222>

Шаманская Т. В., <http://orcid.org/0000-0002-3767-4477>

Качанов Д. Ю., <http://orcid.org/0000-0002-3704-8783>

Кайлаш Ч., <http://orcid.org/0000-0002-7427-4560>

Киреева Е. Д., <http://orcid.org/0000-0003-3990-8879>

Матвеев Н. В., <http://orcid.org/0000-0003-0544-7752>

Щелькалина С. П., <http://orcid.org/0000-0003-3292-8949>

РЕЗЮМЕ

Целью данного исследования явилась разработка и реализация алгоритмов компьютерного анализа медицинских изображений для количественной оценки асферичности области накопления радиофармпрепарата в первичной опухоли, а также исследование прогностической значимости асферичности в качестве предиктора неблагоприятного исхода у пациентов с нейробластомой.

В это ретроспективное исследование были включены 142 первичных пациента (69 мальчиков, 73 девочки, медиана возраста 22,5 месяцев, диапазон 1-198 месяцев) с впервые выявленной нейробластомой. Всем пациентам проводилась сцинтиграфия с метайодбензилгуанидином, меченным ¹²³I. Регрессионный анализ Кокса, ROC-анализ и анализ Каплана-Мейера с лог-ранговым тестом в оценке бессобытийной выживаемости использованы для оценки прогностической значимости асферичности.

Медиана периода наблюдения составила 18 месяцев (от 7 до 78 месяцев; у 17 пациентов отмечались прогрессирование/рецидив заболевания, 10 пациентов умерли). Асферичность области накопления в одномерном регрессионном анализе Кокса является значимым предиктором неблагоприятного исхода ($p = 0,035$; отношение рисков (HR) = 1,106 [1,007; 1,215] для увеличения на одну единицу). Оптимальная точка отсечения для параметра асферичности в ROC-анализе выбрана равной 28,4%, чувствительность предиктора: 77,8% (95% ДИ: 65%; 92%), специфичность: 65,1% (95% ДИ: 52%; 75%). По результатам лог-ранг теста получены статистически значимые различия: у пациентов с высокой асферичностью (более 28,4%) и низкой асферичностью среднее значение бессобытийной выживаемости составило 42,9 (95% ДИ: 38,9%; 46,8%) и 56,6 (95% ДИ: 48,3%; 64,8%) месяцев соответственно ($p = 0,044$).

Впервые в РФ разработан и программно реализован метод оценки асферичности нейробластомы. В этом исследовании асферичность области накопления радиофармпрепарата в первичной опухоли, оцениваемая до начала лечения, позволила идентифицировать детей с высоким и низким риском прогрессирования/рецидива и летального исхода с чувствительностью 77,8% и специфичностью 65,1%.

Ключевые слова: нейробластома, асферичность, оценка рисков, неблагоприятный исход, ¹²³I-MIBG.

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR QUANTITATIVE ASSESSMENT OF THE ASPHERICITY OF ACCUMULATION REGION AS A NEW PREDICTOR OF ADVERSE OUTCOME IN PATIENTS WITH NEUROBLASTOMA

Yadgarov M. Ya.¹, Likar Yu. N.¹, Shamanskaya T. V.¹, Kachanov D. Yu.¹, Kailash Ch.¹,

Kireeva E. D.¹, Matveev N. V.², Shchelykalina S. P.²

¹Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric, Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russian Federation

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

SUMMARY

The aim of this study was the development and implementation of algorithms for computer analysis of medical images to quantify the asphericity of the area of radiopharmaceutical accumulation in a primary tumor, as well as to study the prognostic significance of asphericity as a predictor of an adverse outcome in patients with neuroblastoma.

This retrospective study included 142 primary patients (69 boys, 73 girls, median age 22.5 months, range 1-198 months) with newly diagnosed neuroblastoma. All patients underwent full-body scintigraphy with ^{123}I . Cox regression analysis, ROC analysis, and Kaplan-Meier analysis with a log-rank test in assessing event-free survival were used to assess the predictive value of asphericity.

The median follow-up period was 18 months (range 7 to 78 months; 17 patients had disease progression / relapse, 10 patients died). The asphericity of the accumulation area in univariate Cox regression analysis is a significant predictor of poor outcome ($p = 0.035$; hazard ratio (HR) = 1.106 [1.007; 1.215] for an increase of one unit). The optimal cut-off point for the asphericity parameter in the ROC analysis was chosen equal to 28.4%, predictor sensitivity: 77.8% (95% CI: 65%; 92%), specificity: 65.1% (95% CI: 52%; 75%). According to the results of the log-rank test, statistically significant differences were obtained: in patients with high asphericity (more than 28.4%) and low asphericity, the mean event-free survival rate was 42.9 (95% CI: 38.9%; 46.8%) and 56.6 (95% CI: 48.3%; 64.8%) months, respectively ($p = 0.044$).

For the first time in the Russian Federation, a method for assessing the asphericity of neuroblastoma has been developed and implemented in software. In this study, the asphericity of the radiopharmaceutical accumulation area in the primary tumor, assessed prior to treatment initiation, identified children with a high and low risk of progression / relapse and death, with a sensitivity of 77.8% and a specificity of 65.1%.

Key words: neuroblastoma, asphericity, risk assessment, unfavorable outcome, ^{123}I MIBG.

Нейробластома (НБ) – наиболее распространенная солидная экстракраниальная злокачественная опухоль у детей, являющаяся причиной около 16% всех случаев летального исхода от онкологических заболеваний в детском возрасте [1]. Нейробластома также является в значительной степени гетерогенной, как на гистопатологическом уровне, так и с точки зрения прогноза: как было показано ранее, низкодифференцированный гистологический вариант ассоциирован с неблагоприятным исходом [2], а на основе генетических (амплификация гена MYCN, аномалии хромосомы 1p36) и клинических маркеров (возраст, стадия опухолевого процесса) все пациенты стратифицируются на группы риска [3; 4]. Раннее выявление пациентов с низким риском (без неблагоприятных генетических аномалий, стадии опухоли 1-3 или 4S), которые относятся к группе наблюдения, позволяет уменьшить интенсивность терапии, и, следовательно, снизить токсичность и вероятность развития отдаленных нежелательных побочных эффектов. И, напротив, выделение пациентов групп высокого и «ультравысокого» риска важно для проведения им ранней, более агрессивной терапии. Однако оба подхода требуют точной стратификации риска, а существующая система оценки рисков, не включающая в анализ лабораторные предикторы и параметры накопления радиофармпрепарата в опухоли, не всегда способна точно стратифицировать пациентов на раннем этапе [5; 6; 7]. Сцинтиграфия с метайодбензилгуанидином, меченым ^{123}I (^{123}I -МИБГ) с протоколом однофотонной эмиссионной компьютерной томографией совмещенной с компьютерной томографией (ОФЭКТ/КТ) является неотъемлемой частью диагностического обследования в отношении стадирования

нейробластомы. Тем не менее, в настоящее время не существует количественного параметра, полученного на основе ОФЭКТ/КТ с ^{123}I -МИБГ, который являлся бы предиктором исхода пациента независимо от стадии опухоли. Было показано, что неоднородность накопления радиофармпрепарата (РФП) в первичной опухоли может отражать биологическую изменчивость пролиферации, ангиогенеза, некроза и гипоксии [8; 9]. В 2014 г. было предложено использовать количественную оценку асферичности (ASP) как параметра, отражающего гетерогенность опухоли [10]. В ряде исследований показана значимость асферичности в прогнозировании выживаемости пациентов с солидными опухолями, в частности, с раком простаты и молочной железы, в анализе позитронно-эмиссионной томографии, совмещенной с компьютерной томографией (ПЭТ/КТ) [11; 12]. Только одно исследование было посвящено оценке прогностической значимости асферичности нейробластомы, которое подтвердило, что асферичность является значимым предиктором неблагоприятного исхода; тем не менее, объем выборки был невелик – 23 первичных пациента [13]. Оценка асферичности области накопления является новым направлением в анализе медицинских изображений. Важным с клинической точки зрения является получение дополнительного, объективного прогностического фактора, позволяющего в совокупности с существующими предикторами неблагоприятного исхода более точно стратифицировать пациентов на группы риска с целью назначения врачами детскими-онкологами адекватного объема терапии.

Цель данного исследования – разработать и реализовать алгоритмы компьютерного анализа ОФЭКТ/КТ изображений для количественной

оценки асферичности области накопления радиофармпрепарата в первичной опухоли и определить прогностическую значимость асферичности в качестве предиктора неблагоприятного исхода у пациентов с нейробластомой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование носило ретроспективный характер, использованы данные протокола ОФЭКТ/КТ при сцинтиграфии с ^{123}I -МИБГ, выполненного пациентам, проходившим лечение нейробластомы в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Д. Рогачева» МЗ РФ в период 2014-2020 гг. В исследование были включены данные 142 первичных пациентов (69 мальчиков, 73 девочки, медиана возраста 22,5 месяцев, диапазон 1-198 месяцев) с впервые выявленной нейробластомой (НБ). Всем пациентам спустя 24 часа после введения радиофармпрепарата выполнялась сцинтиграфия с ^{123}I -МИБГ в режиме «все тело» с дополнительным протоколом ОФЭКТ/КТ области интереса на двухдетекторной гамма-камере Discovery 670 (GE Healthcare, USA) с использованием стандартных параметров.

Методы анализа изображений. Алгоритм кластеризации С-средних, основанный на нечеткой логике с числом итераций 7 и уровнем точности 0,0001, а также алгоритм Кенни (для сглаживания, поиска градиентов и подавления не-максимумов) были использованы для полуавтоматического поиска границ области интереса, с возможностью ручной коррекции и выделения границ ROI. Кодирование границ, поиск периметра и площади ROI проводились с помощью цепного кода Фримена. Асферичность была определена на основе расчета относительного увеличения площади поверхности области накопления РФП в сравнении с площадью поверхности изоволюметрической сферы.

Статистические методы. Для оценки характера распределения данных использовался критерий Шапиро-Уилка, описание количественных признаков проводилось с помощью медианы и квартилей в виде $Me [Q1; Q3]$ и с использованием 95% доверительного интервала для показателей чувствительности и специфичности. Сравнение трех групп пациентов с различным исходом на момент последнего наблюдения (без события, рецидив/прогрессия или летальный исход) по значению асферичности проводилось с использованием непараметрического критерия Краскела-Уоллиса, попарное сравнение проводилось с помощью U-критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони на множественные сравнения (для методов статистического анализа критический уровень значимости p выбран равным 0,05,

при множественных сравнениях с учетом поправки Бонферрони – 0,0017). Регрессионный анализ Кокса и анализ Каплана-Мейера с логранговым тестом на бессобытийную выживаемость использованы для оценки значимости ASP в качестве предиктора неблагоприятного исхода (рецидива/прогрессии/летального исхода) и расчета отношения рисков (hazard ratio, HR). Для оценки диагностической значимости ASP использовалась оценка параметра AUC (Area Under Curve, площадь под ROC-кривой) в ROC-анализе. Оценка доверительных интервалов для чувствительности и специфичности проводилась на основе расчета откорректированного метода Вальда.

Программные средства. Реконструкцию и анализ полученных совмещенных ОФЭКТ/КТ изображений выполняли на рабочей станции HERMES Medical Imaging suite (Hermes Medical Solutions, Stockholm, Sweden) как было показано ранее [2]. Для накопления данных, а также проведения предварительных расчетов использовалась программа MS EXCEL 2017. Статистическая обработка полученных данных выполнялась с помощью скриптов на языке программирования «R» и с использованием ПО «IBM SPSS Statistics 22». Авторское программное средство «Система количественной оценки объема и асферичности нейробластомы» реализовано на языке C# в программной среде Microsoft Visual Studio 2019.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Медиана периода наблюдения составила 18 месяцев (от 7 до 78 месяцев; у 17 пациентов отмечались прогрессирование/рецидив заболевания, 10 пациентов умерли). Нами был предложен и программно реализован собственный алгоритм определения метаболического объема (Metabolic tumor volume, MTV) и асферичности нейробластомы. Первым этапом является проведение порогового преобразования алгоритмом кластеризации С-средних, основанным на нечеткой логике, для получения оптимального соотношения чувствительности/специфичности в определении принадлежности пикселей к области интереса (области накопления РФП). Сглаживание изображения и поиск градиентов алгоритмом Кенни с последующим кодированием контура ROI на срезе цепным кодом Фримена позволяет рассчитать периметр и площадь ROI, а аппроксимация контура методом Рамера – Дугласа – Пекера уменьшает массив данных и упрощает их анализ [14]. Расчет асферичности опухоли проводился по формуле 1, как было показано в статье Apostolova I. [10]:

$$ASP = \sqrt[3]{H}, \text{ где } H = \frac{S^2}{36\pi MTV^2} \quad (1)$$

где: ASP – асферичность опухоли;
S – площадь поверхности опухоли;
MTV – метаболический объем опухоли.

Реализация алгоритма оценки асферичности нейробластомы представлена на рисунке 1.

Все пациенты были разделены на три группы: пациенты, умершие на момент последнего наблюдения (Л/И, n = 10), пациенты, у которых наблюдался рецидив/прогрессия опухоли (Р/П, n = 17) и пациенты без события (Б/С, n = 115). Результаты оценки асферичности и анализа статистической значимости различий ASP между группами пациентов приведены в табл. 1.

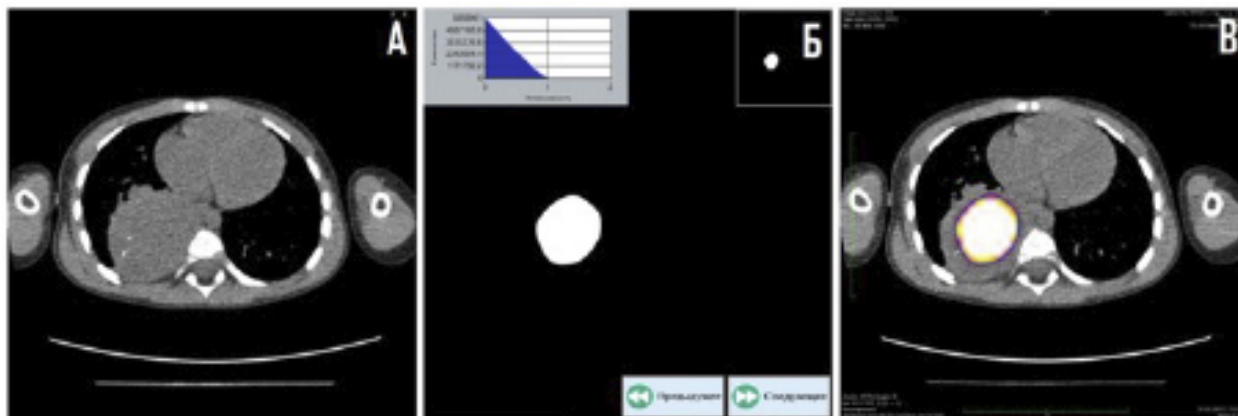


Рис. 1. Часть интерфейса разработанного программного обеспечения: выделение области интереса автоматическим методом. Пациент X, возраст 23 мес., нейробластома с локализацией в заднем средостении справа. А – КТ изображение (аксиальный срез). Б – ОФЭКТ, кластеризация методом С-средних. В – ОФЭКТ/КТ совмещенные изображения, контур области интереса кодирован цепным кодом Фримена.

Таблица 1

Сравнение значений параметров асферичности в трёх группах пациентов с различным исходом на момент последнего наблюдения

Группа, n		Асферичность, %
Л/И, 10		43,4 [31,6; 49,4]
Р/П, 17		28,9 [26,6; 36,3]
Б/С, 115		26,9 [25,1; 31,7]
Межгрупповое сравнение 1		H: 16,091 df: 2 p: 0,000*
Попарные сравнения 2	Л/И, Р/П	U: 19,0 p: 0,068
	Л/И, Б/С	U: 79,0 p: 0,000*
	Р/П, Б/С	U: 323,0 p: 0,083

Примечания: ¹Использовался критерий Краскела-Уоллиса, различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Указана статистика критерия (H), уровень значимости (p) и число степеней свободы (df). ²Использовался критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони, различия считались статистически значимыми при $p < 0,017$. Указана статистика критерия (U) и уровень значимости (p). * - есть статистически значимые различия. ASP – асферичность, Л/И – пациенты с летальным исходом, Р/П – пациенты с рецидивом/прогрессией, Б/С – пациенты без события. Описание данных приводится в форме Me [1Q; 3Q]

По итогам анализа получены статистически значимые различия асферичности между группой пациентов без события и группой пациентов с летальным исходом, причем большие значения асферичности характерны именно для группы пациентов с неблагоприятным исходом, что связано с большей гетерогенностью первичной опухоли. В одномерном регрессионном анализе Кокса асферичность является значимым предиктором неблагоприятного исхода ($p = 0,035$; отношение рисков (HR) = 1,106 [1,007; 1,215] для увеличения на одну единицу). Анализ ROC-кривых для асферичности позволил определить оптимальную

точку отсечения (cut-off value), равную 28,4% (рис. 2 А). Чувствительность асферичности как предиктора неблагоприятного исхода составила: 77,8% (95% ДИ: 65,1%; 92,2%), а специфичность: 65,1% (95% ДИ: 52,4%; 75,3%). По результатам лог-ранг теста получены статистически значимые различия в бессобытийной выживаемости: у пациентов с высокой ASP (более 28,4%) и низкой ASP среднее значение бессобытийной выживаемости составило 42,85 (95% ДИ: 38,9; 46,8) и 56,6 (95% ДИ: 48,3; 64,8) месяцев соответственно ($p = 0,044$), что наглядно продемонстрировано в анализе Каплана-Мейера (рис. 2 Б).

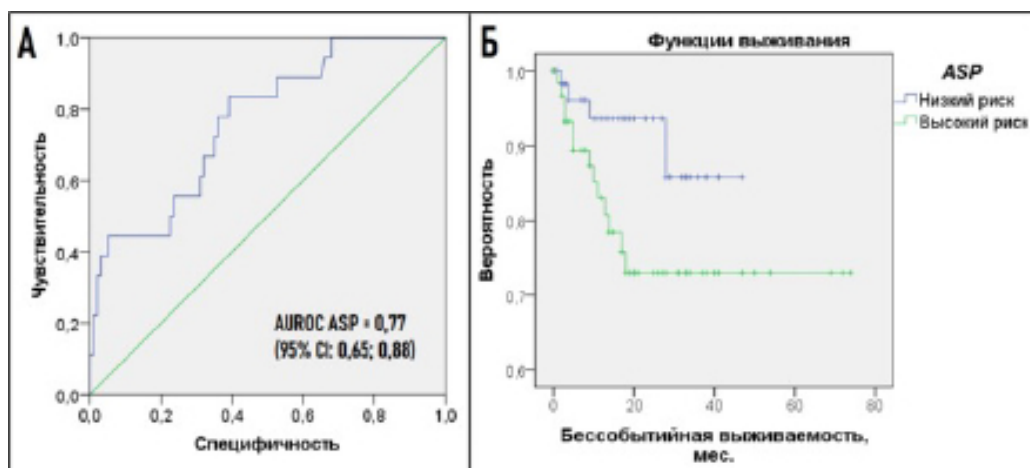


Рис. 2. Оценка асферичности (ASP) в качестве предиктора неблагоприятного исхода у пациентов с нейробластомой. А – ROC-анализ для ASP исход: любое событие, AUROC = 0,77. Б – анализ Каплана-Мейера, функции выживания представлены для пациентов с низким риском (ASP ≤ 28,4%) и высоким риском

ОБСУЖДЕНИЕ

Это ретроспективное исследование было посвящено оценке потенциала показателя асферичности области накопления в качестве нового предиктора неблагоприятного исхода у пациентов с нейробластомой. Это второе исследование в мире и первое исследование в РФ, демонстрирующее доказательства того, что асферичность, оцениваемая с использованием данных ОФЭКТ/КТ при сцинтиграфии с ^{123}I -МЙБГ полученных до начала лечения, может помочь стратифицировать пациентов с НБ в соответствии с их риском прогрессирования/рецидива и летального исхода. ASP первичной опухоли была значимым предиктором риска в одномерном регрессионном анализе Кокса (HR = 1,106 для увеличения показателя асферичности на одну единицу).

Существуют определенные преимущества в более точной инициальной стратификации пациентов по группам риска. Для пациентов группы низкого риска общая выживаемость очень хорошая, однако, прогрессирование заболевания

все же может происходить, что требует более интенсивного лечения, аналогичного лечению у пациентов с НБ группы промежуточного или высокого риска [12]. Определение подгруппы пациентов из группы высокого риска с лучшим прогнозом может позволить снизить интенсивность терапии для этих пациентов в будущем. Выявление же пациентов группы «ультравысокого риска» среди пациентов группы высокого риска позволит выявить кандидатов для ранней, более агрессивной терапии [15].

Асферичность области накопления в первичной опухоли как новый предиктор неблагоприятного исхода должна впоследствии быть соотнесена с известными предикторами (как генетическими, так и лабораторными: уровнями нейроспецифической энolahзы, лактатдегидрогеназы, ферритина, а также с интенсивностью накопления РФП, возрастом пациентов и т.д.), и использована в качестве одного из предикторов в мультивариантном анализе с целью более точного прогнозирования рисков у пациентов с нейробластомой.

ВЫВОДЫ

Чтобы улучшить исход у пациентов с НБ требуется более сложная, индивидуализированная стратификация риска. В нашем исследовании оценка асферичности – количественного параметра визуализации, относящегося к метаболической активности опухоли и отражающего ее гетерогенность – позволила идентифицировать пациентов с высоким и низким рисками прогрессирования/рецидива и летального исхода. В перспективе необходимо проведение более масштабного исследования, включающего оценку уже известных предикторов неблагоприятного исхода в дополнение к оценке асферичности, для проведения мультивариантного анализа. Разработанное программное обеспечение для оценки асферичности нейробластомы применимо для использования, как в научных исследованиях, так и в практической медицине.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kaatsch P. Epidemiology of childhood cancer. *Cancer treatment reviews*. 2010;36(4):277-285. doi:10.1016/j.ctrv.2010.02.003.
2. Кайлаш А., Киреева Е. Д., Вдовина И. С., Ядров М. Я., Шаманская Т. В., Рошин В. Ю., Ликарь Ю. Н. Неинвазивное определение неблагоприятного гистологического варианта у детей с нейрогенными опухолями по накоплению ¹²³I-МИБГ с использованием полуколичественной и количественной оценок. *Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии*. 2020;19(1):68-78. doi: 10.24287/1726-1708-2020-19-1.
3. Cohn S. L., Pearson A. D., London W. B., Monclair T., Ambros P. F., Brodeur G. M., Mosseri V. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG task force report. *Journal of clinical oncology*. 2009;27(2):289. doi: 10.1200/JCO.2008.16.6785.
4. Rosswog C., Schmidt R., Oberthuer A., Juraeva D., Brors B., Engesser A., Berthold F. Molecular classification substitutes for the prognostic variables stage, age, and MYCN status in neuroblastoma risk assessment. *Neoplasia*. 2017;19(12):982-990. doi: 10.1016/j.neo.2017.09.006.
5. Pinto N. R., Applebaum M. A., Volchenbom S. L., Matthay K. K., London W. B., Ambros P. F., Valteau-Couanet D. Advances in risk classification and treatment strategies for neuroblastoma. *Journal of clinical oncology*. 2015;33(27):3008. doi: 10.1200/JCO.2014.59.4648.
6. Olsen H. E., Campbell K., Bagatell R., DuBois S. G. Trends in conditional survival and predictors of late death in neuroblastoma. *Pediatric Blood & Cancer*. 2020;67(10):e28329. doi: 10.1002/pbc.28329.

7. Matthay K. K., Reynolds C. P., Seeger R. C., Shimada H., Adkins E. S., Haas-Kogan D., Villablanca J. G. Long-term results for children with high-risk neuroblastoma treated on a randomized trial of myeloablative therapy followed by 13-cis-retinoic acid: a children's oncology group study. *Journal of clinical oncology*. 2009;27(7):1007. doi: 10.1200/JCO.2007.13.8925.

8. Davnall F., Yip C. S., Ljungqvist G., Selmi M., Ng F., Sanghera, B., Goh V. Assessment of tumor heterogeneity: an emerging imaging tool for clinical practice?. *Insights into imaging*. 2012;3(6):573-589. doi: 10.1007/s13244-012-0196-6.

9. Yang Z., Tang L. H., Klimstra D. S. Effect of tumor heterogeneity on the assessment of Ki67 labeling index in well-differentiated neuroendocrine tumors metastatic to the liver: implications for prognostic stratification. *The American journal of surgical pathology*. 2011;35(6):853-860. doi: 10.1097/PAS.0b013e31821a0696.

10. Apostolova I., Steffen I. G., Wedel F., Lougovski A., Marnitz S., Derlin T., Brenner W. Asphericity of pretherapeutic tumour FDG uptake provides independent prognostic value in head-and-neck cancer. *European radiology*. 2014;24(9):2077-2087. doi: 10.1007/s00330-014-3269-8.

11. Jung J. H., Son S. H., Kim D. H., Lee J., Jeong S. Y., Lee S. W., Ahn B. C. CONSORT-Independent prognostic value of asphericity of pretherapeutic F-18 FDG uptake by primary tumors in patients with breast cancer. *Medicine*. 2017;96(46). doi: 10.1097/MD.00000000000008438.

12. Meißner S., Janssen J. C., Prasad V., Brenner W., Diederichs G., Hamm B., Makowski M. R. Potential of asphericity as a novel diagnostic parameter in the evaluation of patients with 68 Ga-PSMA-HBED-CC PET-positive prostate cancer lesions. *Ejnmri Research*. 2017;7(1):85. doi: 10.1186/s13550-017-0333-9.

13. Rogasch J. M., Hundsdoerfer P., Furth C., Wedel F., Hofheinz F., Krüger P. C., Schatka I. Individualized risk assessment in neuroblastoma: does the tumoral metabolic activity on 123 I-MIBG SPECT predict the outcome?. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2017;44(13):2203-2212. doi: 10.1007/s00259-017-3786-1.

14. Li L., Jiang W. An improved Douglas-Peucker algorithm for fast curve approximation. 2010 3rd International Congress on Image and Signal Processing. 2010;4:1797-1802. doi: 10.1109/CISP.2010.5647972.

15. Morgenstern D. A., Bagatell R., Cohn S. L., Hogarty M. D., Maris J. M., Moreno L., London W. B. The challenge of defining "ultra high risk" neuroblastoma. *Pediatric Blood & Cancer*. 2019;66(4):e27556. doi: 10.1002/pbc.27556.

REFERENCES

1. Kaatsch P. Epidemiology of childhood cancer. *Cancer treatment reviews*. 2010;36 (4):277-285. doi: 10.1016/j.ctrv.2010.02.003.

2. Kailash, A., Kireeva, E. D., Vdovina, I. S., Yadgarov, M. Ya., Shamanskaya, T. V., Roshchin, V. Yu., Likar, Yu. N. Non-invasive prediction of an unfavorable histological variant in patients with neuroblastic tumors using the quantitative and semiquantitative assessment of ¹²³I-MIBG uptake. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2020;19(1):68-78. (In Russ.). doi: 10.24287/1726-1708-2020-19-1.
3. Cohn S. L., Pearson A. D., London W. B., Monclair T., Ambros P. F., Brodeur G. M., Mosseri V. The International Neuroblastoma Risk Group (INRG) classification system: an INRG task force report. *Journal of clinical oncology*. 2009;27(2):289. doi: 10.1200/JCO.2008.16.6785.
4. Rosswog C., Schmidt R., Oberthuer A., Juraeva D., Brors B., Engesser A., Berthold F. Molecular classification substitutes for the prognostic variables stage, age, and MYCN status in neuroblastoma risk assessment. *Neoplasia*. 2017;19(12):982-990. doi: 10.1016/j.neo.2017.09.006.
5. Pinto N. R., Applebaum M. A., Volchenbom S. L., Matthay K. K., London W. B., Ambros P. F., Valteau-Couanet D. Advances in risk classification and treatment strategies for neuroblastoma. *Journal of clinical oncology*. 2015;33(27):3008. doi: 10.1200/JCO.2014.59.4648.
6. Olsen H. E., Campbell K., Bagatell R., DuBois S. G. Trends in conditional survival and predictors of late death in neuroblastoma. *Pediatric Blood & Cancer*. 2020;67(10):e28329. doi: 10.1002/pbc.28329.
7. Matthay K. K., Reynolds C. P., Seeger R. C., Shimada H., Adkins E. S., Haas-Kogan D., Villablanca J. G. Long-term results for children with high-risk neuroblastoma treated on a randomized trial of myeloablative therapy followed by 13-cis-retinoic acid: a children's oncology group study. *Journal of clinical oncology*. 2009;27(7):1007. doi: 10.1200/JCO.2007.13.8925.
8. Davnall F., Yip C. S., Ljungqvist G., Selmi M., Ng F., Sanghera, B., Goh V. Assessment of tumor heterogeneity: an emerging imaging tool for clinical practice?. *Insights into imaging*. 2012;3(6):573-589. doi: 10.1007/s13244-012-0196-6.
9. Yang Z., Tang L. H., Klimstra D. S. Effect of tumor heterogeneity on the assessment of Ki67 labeling index in well-differentiated neuroendocrine tumors metastatic to the liver: implications for prognostic stratification. *The American journal of surgical pathology*. 2011;35(6):853-860. doi: 10.1097/PAS.0b013e31821a0696.
10. Apostolova I., Steffen I. G., Wedel F., Lougovski A., Marnitz S., Derlin T., Brenner W. Asphericity of pretherapeutic tumour FDG uptake provides independent prognostic value in head-and-neck cancer. *European radiology*. 2014;24(9):2077-2087. doi: 10.1007/s00330-014-3269-8.
11. Jung J. H., Son S. H., Kim D. H., Lee J., Jeong S. Y., Lee S. W., Ahn B. C. CONSORT-Independent prognostic value of asphericity of pretherapeutic F-18 FDG uptake by primary tumors in patients with breast cancer. *Medicine*. 2017;96(46). doi: 10.1097/MD.0000000000008438.
12. Meißner S., Janssen J. C., Prasad V., Brenner W., Diederichs G., Hamm B., Makowski M. R. Potential of asphericity as a novel diagnostic parameter in the evaluation of patients with 68 Ga-PSMA-HBED-CC PET-positive prostate cancer lesions. *Ejnmri Research*. 2017;7(1):85. doi: 10.1186/s13550-017-0333-9.
13. Rogasch J. M., Hundsdorfer P., Furth C., Wedel F., Hofheinz F., Krüger P. C., Schatka I. Individualized risk assessment in neuroblastoma: does the tumoral metabolic activity on 123 I-MIBG SPECT predict the outcome?. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*. 2017;44(13):2203-2212. doi: 10.1007/s00259-017-3786-1.
14. Li L., Jiang W. An improved Douglas-Peucker algorithm for fast curve approximation. 2010 3rd International Congress on Image and Signal Processing. 2010;4:1797-1802. doi: 10.1109/CISP.2010.5647972.
15. Morgenstern D. A., Bagatell R., Cohn S. L., Hogarty M. D., Maris J. M., Moreno L., London W. B. The challenge of defining "ultra high risk" neuroblastoma. *Pediatric Blood & Cancer*. 2019;66(4):e27556. doi: 10.1002/pbc.27556.

ГАСПАРЕ АЗЕЛЛИ (1581-1626) И ЕГО ВКЛАД В ИЗУЧЕНИЕ ЛИМФАТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Фоминых Т. А., Дьяченко А. П., Захарова А. Н.

Кафедра судебной медицины, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь

Для корреспонденции: Фоминых Т. А., доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой судебной медицины Медицинской академии имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», e-mail: tanusha.ark@gmail.com

For correspondence: Fominykh T. A., MD, Professor, Head of the department of forensic medicine, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: tanusha.ark@gmail.com

Information about authors:

Fominykh T. A., <http://orcid.org/0000-0001-6572-2387>

D'yachenko A. P., <http://orcid.org/0000-0002-7959-2824>

Zakharova A. N., <http://orcid.org/0000-0001-6243-3360>

РЕЗЮМЕ

В статье описаны основные моменты жизни и деятельности итальянского анатома Гаспаре Азелли (1581-1626), одного из первооткрывателей лимфатической системы. Перечислены ученые, занимавшиеся изучением сосудистой системы, представлена современная трактовка анатомии лимфатической системы и ее значения в физиологических процессах. Приведена краткая биографическая справка о профессоре Азелли, описаны обстоятельства совершенного им анатомического открытия, дана оценка вкладу ученого в морфологические науки. Текст иллюстрирован рисунками из научных публикаций Г. Азелли.

Ключевые слова: Гаспаре Азелли, лимфатические сосуды, история медицины.

GASPARE ASELLI (1581-1626) AND HIS CONTRIBUTION TO STUDY OF LYMPHATIC SYSTEM

Fominykh T. A., D'yachenko A. P., Zakharova A. N.

Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

In the article the basic moments of life and scientific activity of the Italian anatomist Gaspare Aselli (1581-1626), one of discoverers of the lymphatic system are described. Scientists engaging in the study of the vascular system are enumerated, modern interpretation of the lymphatic system anatomy and its value in physiological processes is presented. A brief biography about professor Aselli is presented, the circumstances of the anatomic discovery accomplished by him are described, an estimation of inlay a scientist in morphological researches is given. Text is illustrated by pictures from Aselli's scientific publications.

Key words: Gaspare Aselli, lymphatic vessels, history of medicine.

Открытие лимфатической системы имеет давнюю и удивительную историю. Исследовательский интерес к анатомии и физиологии этой системы реализовался в параллели с сердечно-сосудистой системой, и находился долгое время в тени последней [16].

Непререкаемым авторитетом в изучении сосудистой системы был великий врач и ученый античности Клавдий Гален (131 – ок. 200), который описал открытую систему движения крови. Ошибочные представления К. Галена были опровергнуты лишь У. Гарвеем (William Harvey, 1578-1657). В 1628 г. он представил неопровержимые доказательства движения крови по замкнутому кругу, т.е. описал большой круг кровообращения.

На различия интенсивности цвета артериальной и венозной крови исследователи и лекари также давно обращали внимание. Так, древнерусские знахари выразительно прозвали артерии «боевыми жилами», которые несут «быструю алую кровь». Это потому, что гемоглобин, находящийся в эритроцитах – красных кровяных тельцах, открытых голландским анатомом и физиологом, основоположником научной микроскопии, Яном Сваммердамом (1637-1680), насыщен кислородом. Напротив, кровь, вытекающая из поврежденной вены – темно-красная, почти черная. Как сказали бы в старину – «черно-красные обратные жилы». Они заполнены темно-вишневой «медленной» кровью и собирают из всех органов продукты клеточного обмена.

Гемоглобин в этой крови связан уже не с кислородом, а с углекислым газом, что и делает её тёмной.

Но, как оказалось, существует также «белая кровь». Об этой «крови», или о загадочной «бесцветной жидкости», упоминали ещё Гиппократ (460-377 гг. до н.э.) и Аристотель (384-322 гг. до н.э.). А в 1564 г. итальянский врач и анатом Бартоломео Евстахий (Eustachius, ~1520-1574 гг.), анатомируя лошадь, открыл и описал грудной лимфатический проток, назвав его «белой грудной веной». Евстахий решил, что этот сосуд питает туловище. Заметим, что ещё Герофил из Халкедона (300-240 гг. до н.э.) также описал грудной лимфатический проток, хоть и не знал его назначения [1; 8; 14].

В современной морфологии эти сосуды называются лимфатическими, и, соответственно, их система – лимфатической. Она представлена капиллярами, разнокалиберными лимфатическими сосудами и располагающимися по их ходу лимфоузлами. Вместе с венами лимфатическая система обеспечивает дренаж органов, т.е. всасывание из тканей воды, белковых коллоидных растворов, липидных эмульсий, растворённых в воде кристаллоидов, а также осуществляет удаление из тканей микробов, продуктов распада клеток и других частиц, и, кроме того, обеспечивает лимфоцитопоэтическую и защитную функцию [5; 10].

Лимфатические капилляры представляют собой замкнутые с одного конца эндотелиальные трубки, а тонкостенные и снабженные клапанами сосуды лимфатической системы пронизывают все ткани и органы, за исключением центральной нервной системы, селезёнки, эпидермиса и эпителиального покрова слизистых оболочек, а также хрящей, хрусталика, оболочек глазного яблока и плаценты. Но всё это стало известно намного позже того, как Гаспаро Азелли, почти четыре столетия назад, сделал своё открытие [4] (Рис. 1).

Несмотря на то, что исследователи более раннего периода обращали внимание на образования в виде тяжёлой неясного назначения, фактически открытие лимфатических («млечных») сосудов (*vasa lactea s. chyliifera*) в 1622 г. принадлежит знаменитому итальянскому анатому и хирургу, профессору из Павии, Гаспаро Азелли [Gaspares Aselli (Asellio)]. Он выяснил, что содержимое загадочных на тот момент сосудов образуется в кишечнике; лимфатическая жидкость попадает в лимфатические узлы брыжейки, после чего поступает по сосудам в печень, представляя собой «белую кровь». Конечно, научной общественностью тех времен это открытие было встречено с недоверием. К слову, даже Уильям



Рис. 1. Гаспаре Азелли (гравюра А. Locatelli)

Гарвей (1578-1657), великий английский врач и анатом, создатель учения о кровообращении, считал лимфатические сосуды разновидностью вен [11; 12; 13].

Известную роль в открытии лимфатических сосудов, как это вообще нередко бывает в науке, сыграл случай. Это произошло при следующих обстоятельствах: когда Азелли выполнял вивисекцию собаки, он случайно повредил «нерв» брыжейки тонкой кишки животного и по белому цвету выделяющейся из этого «нерва» жидкости, назвал это «млечными сосудами». Теперь в анатомии именно эти «млечные сосуды» называют сосудами Азелли. Под этим подразумеваются лимфатические сосуды брыжейки тонкой кишки, которые отводят лимфу и во время пищеварения заполняются похожей на молоко эмульсией всосавшегося жира, поступающего из содержимого кишок. Существует также версия, согласно которой Азелли был первым учёным-анатомом, который научно разъяснил значение этих млечных сосудов [16; 17; 18]. Интересно, что Гарвей, уверенный в том, что лимфа оттекает в печень по портальной вене, не принял открытия Азелли и не признал существования лимфатических сосудов кишечника [7].

Открытие Азелли положило начало исследованиям лимфатической системы, продолжателем которых был Ж. Пеке (1622-1674). Он детально исследовал элементы лимфатической системы, в частности, сосуды и грудной лимфатический проток. Но первое и довольно подробное описание лимфатических сосудов, в том



Рис.2. Г. Азелли, «De lactibus s. lacteisvenis, quarto vasorum, novo invento dissertation»

числе и их клапанов, дал в 1653 г. исследователь из Швеции Олаф Рудбек (1630-1702), выполнивший довольно большое число вскрытий человеческих трупов. В этом же, 1653 году, Т. Бартолин (1616-1680) дал описание лимфатических сосудов печени. Именно Т. Бартолин предложил термины, используемые в анатомии до настоящего времени, а именно «лимфатические сосуды» и «грудной лимфатический проток». Правый лимфатический проток, а также клапан в устье грудного протока в 1662 г. открыл и описал Стенон [2; 6].

Азелли родился в 1581 г. в Кремоне, служил профессором анатомии и хирургии Падуанского университета. Кроме преподавания профессор занимался научными исследованиями, в частности, он осуществлял вскрытия собак, т.к. в те времена это не было запрещено. Так, однажды, желая продемонстрировать коллегам возвратный нерв, профессор Гаспаре и обнаружил в брыжейке кишечника собаки множество белых сосудов, содержавших мутную жидкость, напоминающую молоко. Вначале, обнаружив «белые шнуры», исследователь принял их за нервы, но понял, что ошибается, так как заметил, что нервы кишечника, отличались от этих образований и имели иную топографию. Кроме того, ученый обратил внимание на тот факт, что «млечные сосуды» проявлялись у сытых животных, в отличие от голодных, в брыжейке которых «новые сосуды» обнаружить не удавалось. Первоначально в соответствии с

представлениями Галена Азелли ошибочно полагал, что эта молочная жидкость собирается в поджелудочной железе, а затем транспортируется в печень для участия в кроветворении: «*traductio chyli ad hepar*» (движение лимфы по направлению к печени). Исследования лимфатической системы, предпринятые Ж. Пеке, У. Рудбеком, Т. Бартолином, внесли уточнения в представления о строении и функции данной системы [9; 15; 16].

Кроме того, Gaspare Aselli внес неоценимый вклад в науку, будучи первым, кто в 1627 издал цветные иллюстрации («ксилографии»), содержащиеся в книге «*De lactibus sive lacteis venis*». Цветная печать нынешнего типа, однако, стала возможной только столетия спустя [19] (Рис. 3).

Умер знаменитый итальянский анатом и хирург 14 апреля 1626 г., прожив всего 45 лет. Спустя год после его смерти в Милане был напечатан его основной труд – «Рассуждение о млечных сосудах, четвёртом, вновь открытом виде необходимых сосудов» («*De lactibus sive lacteis venis Quarto Vasorum Mesaraicorum genere Nouo Inuento Gasparis Aselli Cremonensis Anatomici Ticinensis Dissertatio*»). Кроме того, в этом сочинении Г. Азелли дал первое описание лимфатических узлов, в частности, скопления узлов в области корня брыжейки возле поджелудочной железы в качестве анатомического образования с признаками отдельно функционирующего органа [9]. В том же 1627 г. в Базеле вышло второе издание этого сочинения. Третье издание появилось спустя 13 лет в Лейдене (в 1640 г.).

Впоследствии именем Азелли были названы: «Поджелудочная железа Азелли» (*pancreas Aselli*) – скопление брыжеечных лимфатических узлов ниже поджелудочной железы и «Сосуды Азелли» – (млечные сосуды кишечника, *vasa chyliifera*) – лимфатические сосуды брыжейки тонкой кишки, которые во время пищеварения заполняются похжей на молоко эмульсией всосавшегося жира [3].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байтингер В. Ф., Дудников А. В., Курочкина О. С. История изучения лимфатической системы. Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. 2017;62(3):67-73.
2. Бернард С. Река жизни. М.: Мир, 1965.
3. Гончаров Н. И. Иллюстрированный словарь эпонимов в морфологии. Под ред. проф. И. А. Петровой. Волгоград: Издатель, 2009; 9-10.

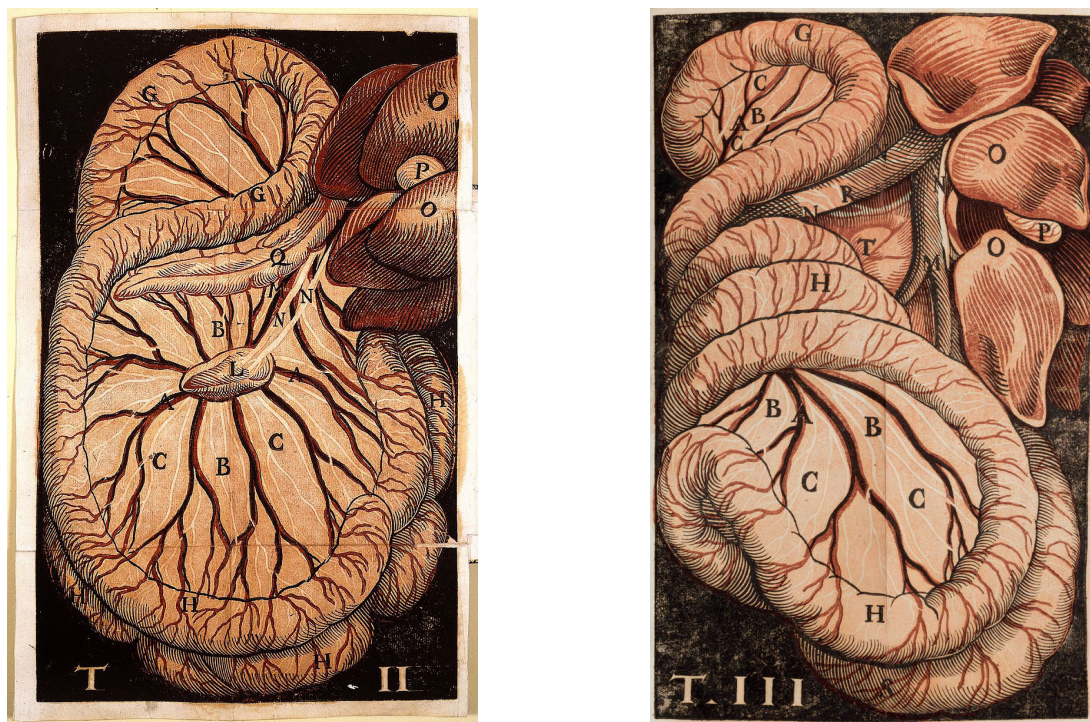


Рис. 3. Иллюстрации из публикации Г. Азелли: «De lactibus s. lacteisvenis, quarto vasorum, novo invento dissertation»

4. Петренко В. М. Лимфатическая система: анатомия и развитие. Международный журнал экспериментального образования. 2010;10:30-34.

5. Петренко В. М. Конституция лимфатической системы. Бюллетень СО РАМН. 2012;32(2):29-35.

6. Прокопьев Н. Я. Выдающиеся анатомы XV-XVI веков и их вклад в мировую науку. Педагогика высшей школы. 2015;1(1):7-15.

7. Фридман М., Фридланд Дж. Десять величайших открытий в истории медицины / пер. с англ. Е. Богатыренко. М.: Колибри, Азбука-Аттикус, 2012.

8. Этинген Л. Е. «Млечные» сосуды и другие загачные органы. Наука и жизнь. 2003;2:18-23.

9. Asellius G. De lactibus sive lacteis venis. Mediolani, Milan, 1627.

10. Cifarelli V., Eichmann A. The Intestinal Lymphatic System: Functions and Metabolic Implications. Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology. 2018;7(3):503-513. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.12.002.

11. Chikly B. Who discovered the lymphatic system. Lymphology. 1997; 30(4):186-93.

12. Choi I., Lee S., Hong You.-K. The New Era of the Lymphatic System: No Longer Secondary to the Blood Vascular System. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2012;2(4):a006445. doi:10.1101/cshperspect.a006445.

13. Csanyi G., Singla B. Arterial lymphatics in atherosclerosis: old questions, new insights, and remaining challenges. Journal of Clinical Medicine. 2019;8(4):495. doi:10.3390/jcm8040495

14. Lord R.S. The white veins: Conceptual difficulties in the history of the lymphatics. Medical History. 1968;12:174-184.

15. Loukas M., Bellary S. S., Kuklinski M. The lymphatic system: a historical perspective. Clinical Anatomy. 2011;24:807-816. doi: 10.1002/ca.21194.

16. Natale G., Bocci G., Ribatti D. Scholars and scientists in the history of the lymphatic system. Journal of Anatomy. 2017;231(3):417-429.

17. Oliver G., Detmar M. The rediscovery of the lymphatic system: Old and new insights into the development and biological function of the lymphatic vasculature. Genes and Development. 2002;16:773-783.

18. Suy R., Thomis S., Fourneau I. The discovery of the lymphatic system in the seventeenth century. Part II: the discovery of Chyle vessels. Acta Chirurgica Belgica. 2016;116:329-335.

19. Zanchin G., De Caro R. The nervous system in colours: the tabulae pictae of G.F. d'Acquapendente (ca. 1533-1619). Journal of Headache and Pain. 2006;7(5):360-366.

REFERENCES

1. Baytinger V.F., Dudnikov A.V., Kurochkina O.S. History of investigation of the lymphatic system. Questions of reconstructive and plastic surgery. 2017; 62(3):67-73. (In Russ).

2. Bernard S. The river of life. M.: Mir, 1965; 289. (In Russ).

3. Goncharov N.I. Illustrated glossary of eponyms in morphology / editor – I.A. Petrova. Volgograd: Publisher, 2009; 9-10. (In Russ).
4. Petrenko V.M. The lymphatic system: anatomy and development. International journal of experimental education. 2010; 10: 30-34. (In Russ).
5. Petrenko V.M. Constitution of lymphatic system. Bulletin of SB RAMS. 2012; 32(2): 29-35. (In Russ).
6. Prokopiev N.Ya. The great anatomists of XV-XVI centuries and their contribution to the world science. Pedagogy of high school. 2015; 1(1): 7-15. (In Russ).
7. Fridman M., Fridland G. Ten greatest discoveries in medical history. transl. H. Bogatyrenko. M.: CoLibry, Asbuka-Attikus, 2012; 432. (In Russ).
8. Etingen L.E. «Lacteal» vessels and other mysterious organs. Science and Life. – 2003; 2: 18-23. (In Russ).
9. Asellius G. De lactibus sive lacteis venis. Mediolani, Milan, 1627.
10. Cifarelli V., Eichmann A. The Intestinal Lymphatic System: Functions and Metabolic Implications. Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology. 2018;7(3):503-513. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.12.002.
11. Chikly B. Who discovered the lymphatic system. Lymphology. 1997; 30(4):186-93.
12. Choi I., Lee S., Hong You.-K. The New Era of the Lymphatic System: No Longer Secondary to the Blood Vascular System. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2012;2(4):a006445. doi:10.1101/cshperspect.a006445.
13. Csanyi G., Singla B. Arterial lymphatics in atherosclerosis: old questions, new insights, and remaining challenges. Journal of Clinical Medicine. 2019;8(4):495. doi:10.3390/jcm8040495
14. Lord R.S. The white veins: Conceptual difficulties in the history of the lymphatics. Medical History. 1968;12:174-184.
15. Loukas M., Bellary S. S., Kuklinski M. The lymphatic system: a historical perspective. Clinical Anatomy. 2011;24:807-816. doi: 10.1002/ca.21194.
16. Natale G., Bocci G., Ribatti D. Scholars and scientists in the history of the lymphatic system. Journal of Anatomy. 2017;231(3):417-429.
17. Oliver G., Detmar M. The rediscovery of the lymphatic system: Old and new insights into the development and biological function of the lymphatic vasculature. Genes and Development. 2002;16:773–783.
18. Suy R., Thomis S., Fournau I. The discovery of the lymphatic system in the seventeenth century. Part II: the discovery of Chyle vessels. Acta Chirurgica Belgica. 2016;116:329-335.
19. Zanchin G., De Caro R. The nervous system in colours: the tabulae pictae of G.F. d'Acquapendente (ca. 1533-1619). Journal of Headache and Pain. 2006;7(5):360-366.

КОЖА: МОРФОЛОГИЯ, ГИСТОХИМИЯ, ГИСТОФИЗИОЛОГИЯ**Цибулевский А. Ю.¹, Дубовая Т. К.²**¹Московский медицинский университет «РЕАВИЗ», 107564, Краснобогатырская, д. 2, стр. 2., Москва, Россия²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, 117997, ул. Островитянова, д. 1, Москва, Россия.**Для корреспонденции:** Цибулевский Александр Юрьевич: доктор медицинских наук, профессор кафедры морфологии и патологии; e-mail: auts77@gmail.com**For correspondence:** Alexandr Tcibulevsky, MD, PhD; professor of the Department of Morphology and Pathology, e-mail: auts77@gmail.com**Information about authors:****Tcibulevsky G. Y.**, <https://orcid.org/0000-0003-4449-7859>**Dubovaya T. K.**, <https://orcid.org/0000-0001-7936-180X>**РЕЗЮМЕ**

В статье представлен лекционный материал по изучению морфофункциональной характеристики кожи и ее производных, входящих в современный спектр активных и интерактивных форм обучения гистологии с целью эффективного формирования профессиональной компетентности будущих врачей специальностей «Лечебное дело», «Педиатрия» и «Стоматология», а также студентов биологических факультетов.

Ключевые слова: гистофизиология, гистохимия, кожа, эпидермис, дерма.**SKIN: MORPHOLOGY, HISTOCHEMISTRY, HISTOPHYSIOLOGY****Tcibulevsky A. Y.¹, Dubovaya T. K.²**¹Moscow Medical University «REAVIZ», Moscow, Russia.²Pirogov Russian National Research Medical University (Pirogov Medical University), Moscow, Russia.**SUMMARY**

The article presents lecture material on the study of the morphofunctional characteristics of the skin and its derivatives, included in the modern spectrum of active and interactive forms of teaching histology in order to effectively form the professional competence of future doctors of the specialties «General Medicine», «Pediatrics» and «Dentistry», as well as students of biological faculties.

Key words: histophysiology, histochemistry, skin, epidermis, dermis.

Кожа покрывает поверхность тела и является самым крупным органом. Функции кожи: защитная (механическая, радиационная, химическая, биологическая); рецепторная; участие в водно-солевом обмене (посредством потоотделения); экскреторная; участие в терморегуляции; метаболическая; депонирующая и др. Важность барьерной функции кожи наглядно демонстрируется при ее недостаточности. Например, ожоги большой площади приводят к повышенной трансэпидермальной потере воды, обезвоживанию, почечной недостаточности и шоку, иногда эти последствия не совместимы с жизнью [1; 2].

Источники развития в эмбриогенезе. Кожная эктодерма дает начало эпидермису, мезенхима является источником развития для дермы, кровеносных и лимфатических сосудов, а нейроэктодерма дает начало нервным структурам, рецепторам, а также некоторым клеткам эпидермиса (меланоцитам и клеткам Меркеля).

Морфофункциональная характеристика кожи

1. Анатомия. Общая площадь составляет 1,5 – 2 м², масса – 3 – 5 кг (самый тяжелый орган в организме человека). Состоит из двух частей – эпидермиса и дермы. Под кожей располагается гиподерма, которая образована жировой тканью, организованной в виде долек, разделенных прослойками рыхлой соединительной ткани. Обеспечивает подвижность кожи. Играет роль депо для липидов, гормонов, витаминов. Принимает участие в терморегуляции (ограничивает потери теплоты организмом).

2. Гистология. Эпидермис представляет собой многослойный плоский ороговевающий эпителий, в котором выделяют 5 слоев: базальный (содержит камбиальные элементы), шиповатый, зернистый, блестящий и роговой (образован плоскими роговыми чешуйками).

Эпидермис образован несколькими видами клеток: кератиноцитами (в процессе дифферен-

цировки превращаются в роговые чешуйки), меланоцитами (синтезируют и накапливают пигменты меланины), клетками Меркеля (выполняют функцию механорецепторов), клетками Лангерганса (являющиеся элементом иммунной системы кожи) и резидентные CD8 + Т-клетки памяти [3; 4; 5]. Базальная мембрана имеет извилистый контур (эпидермальные гребешки чередуются с дермальными сосочками). Это повышает прочность соединения эпидермиса с дермой и увеличивает площадь взаимного обмена веществ. Важным компонентом эпидермиса является CD44 – это эпидермальный трансмембранный гликопротеин, который, как считается, играет регулируемую роль в пролиферации кератиноцитов и поддерживает местный гомеостаз гиалуроновой кислоты. С возрастом его содержание снижается, что приводит к истончению эпидермиса и снижению упругости кожи. В процессе естественного старения утолщается базальная мембрана, в то время как содержание коллагена в ней уменьшается, это в свою очередь приводит к хрупкости кожи [6]. Период обновления эпидермиса составляет 20 – 90 суток (зависит от области кожи, возраста и др. факторов).

Производными эпидермиса являются сальные и потовые железы, ногти, волосы.

Дерма включает два слоя: сосочковый (образованный рыхлой соединительной тканью) и сетчатый (из плотной неоформленной соединительной ткани, которая и придает прочность коже). Клеточный состав: клетки фибробластического ряда, макрофаги, незрелые дендритные клетки (ДК), тучные клетки и некоторые резидентные CD4 + Т-клетки памяти. В ней также располагаются сальные и потовые железы, кровеносные и лимфатические сосуды, жировые клетки, большинство рецепторов, нервные волокна. Недавно в составе дермы был открыт неизвестный ранее вид клеток – телоциты. Характерными особенностями этих клеток являются малые размеры, крупное вытянутое ядро, незначительное количество цитоплазмы и наличие нескольких длинных тонких и толстых отростков – телоподий и способность экспрессировать антигены CD34 и PDGFR α (что позволяет их отличать от фибробластов и клеток Лангерганса, с которыми они имеют внешнее сходство). Имеются основания считать, что телоциты выполняют трофическую функцию по отношению стволовых клеток эпидермиса, а также принимают участие в регуляции фибробластов и других клеток соединительной ткани дермы.

С возрастом в дерме наблюдаются значительные изменения как в организации, так и в ар-

хитектуре большинства компонентных молекул экстрацеллюлярного матрикса.

Старение кожи также характеризуется эластолизом, аберрантным отложением дистрофических эластических волокон в сосочковом и сетчатом слоях дермы, чаще из-за потери окситалана [7].

В настоящее время хорошо известно, что ультрафиолетовое и инфракрасное излучение влияет на экспрессию генов как в кератиноцитах, так и в клетках фибробластического ряда, приводя к образованию морщин [8].

Гены, кодирующие матриксные металлопротеиназы (ММП), цинк-зависимые эндопептидазы, способны ремоделировать основные компоненты экстрацеллюлярного матрикса дермы ЕСМ [9]. При ингибировании этих генов происходит активация по крайней мере трех сигнальных путей: митоген-активированный киназный путь (МАРК), стресс-активируемый киназный путь (SАРК) и путь р38. Активация МАРК индуцирует повышенную экспрессию транскрипции белка-активатора 1 (АП-1), регулирующего экспрессию генов ММП [10]. Нормальная кожа человека, содержащая два про-онкогена *c-jun* и *c-fos*, постоянно экспрессирует высокие уровни *c-fos* и *junD*. При УФ и ИК облучении, а также развитии оксидативного стресса наблюдается повышение количества аминокислотных хромофоров (Trp, Tyr, Phe, His и Cys).

Окраска кожи и волос обусловлена пигментами меланинами – феомеланином (желтым, красным, коричневым) и эумеланином (черным).

3. Строение волоса. Различают три типа волос: пушковые, щетинистые и длинные. Волос состоит из стержня и корня, располагающихся соответственно над и под поверхностью кожи. Стержень снаружи покрыт роговыми чешуйками, образующими кутикулу. Камбиальные элементы, ответственные за рост и регенерацию волос, локализируются главным образом в нижней части корня волоса вблизи волосяного сосочка. Поседение волос связано с уменьшением содержания пигментов и накоплением пузырьков воздуха в мозговом веществе.

Мышца, поднимающая волос, образована гладкой мышечной тканью. Одним концом прикрепляется к волосяной сумке, другим – вплетается в соединительную ткань сосочкового слоя дермы.

4. Иннервация кожи. Афферентная (чувствительная). По функциональному признаку рецепторы кожи подразделяются на три группы: тактильные, терморепцепторы, болевые.

А. Тактильные рецепторы распознают разные виды раздражителей (прикосновение, давление, вибрация, щекотка), а также обеспечивают осязание в зонах безволосой части кожи. Виды

тактильных рецепторов: 1) свободные нервные окончания; 2) диски Меркеля; 3) тельца Мейснера; 4) тельца Фатер-Пачини; 5) рецепторы волосяных фолликулов.

Рецепторные аппараты различной специализации распределены по всей кожной поверхности неравномерно: на 1 см² приходится в среднем 25 тактильных рецепторов, 150 – 200 болевых, 10 – 13 холодowych, 1 – 2 тепловых.

Исследования, выполненные за последние годы, продемонстрировали важную роль папиллярных линий в функционировании кожного анализатора. Так, установлено, что кожа при сохранении папиллярных узоров различает расстояние между двумя точками, равное 0,01 мм, в то время как кожа, лишенная папиллярных узоров, регистрирует изменение внешнего давления между двумя точками только на расстоянии 1 мм. Предполагают, что механизм данного феномена заключается в том, что регулярные линии на поверхности кожи работают как частотный фильтр, благодаря чему сигнал от внешнего раздражителя к тактильным рецепторам передается в оптимальном для восприятия диапазоне частот. При этом наибольшая эффективность функционирования системы достигается при движении объекта-раздражителя перпендикулярно папиллярным линиям. Именно с этим обстоятельством связывают факт их организации в виде петель (при перемещении пальцев в любом направлении часть линий обязательно будет ориентирована под прямым углом по отношению к раздражителю).

Б. Различают два вида терморепрепторов: тепловые (40 – 42°C), представленные тельцами Руффини; строение: инкапсулированные, многократно ветвящиеся нервные окончания; холодowych (25 – 30°C), представленные колбами Краузе; строение: инкапсулированные ветвящиеся нервные окончания; свободные нервные окончания.

Показано, что скопления терморепрепторов образуют в коже мозаику из тепловых и холодowych пятен (диаметром приблизительно 1 мм), наибольшая концентрация которых отмечается в определенных зонах лица (губы, нос, лоб). При этом холодowych рецепторы располагаются преимущественно в поверхностных слоях кожи (около 0,17 мм), в то время как тепловые — несколько глубже (около 0,3 мм).

В. Считается, что специфических болевых рецепторов не существует. Их функцию выполняют свободные нервные окончания — ноцицепторы (от лат. *posens* «вредный»), широко распространенные в коже, мышцах, суставах, надкостнице, внутренних органах, представляющие собой терминалы дендрита чувствительного

нейрона. Характерной особенностью болевых рецепторов является высокая чувствительность к особым гуморальным факторам — аллогенным веществам, которые выделяются при повреждении или воспалении тканей. Эти факторы подразделяются на тканевые (гистамин, серотонин, ацетилхолин, ионы водорода, калия, кальция и др.), плазменные (брадикинин и др.), нейрогенные (субстанция Р, нейрокинин и др.). Предполагают, что эти гуморальные агенты изменяют ионную проницаемость мембраны нервных окончаний.

Эфферентная (двигательная) иннервация представлена симпатическими постганглионарными волокнами вегетативной нервной системы, оканчивающимися на гладкой мускулатуре сосудов, мышцах, поднимающих волосы, потовых железах. Полагают, что последние обладают двойной иннервацией — симпатическую и парасимпатическую.

5. Кровоснабжение кожи. Артериальные и венозные сосуды образуют три сети — под гиподермой, на границе дермы и гиподермы и на границе сетчатого и сосочкового слоев дермы. Лимфатические сплетения имеют ту же локализацию. Сосудистая сеть кожи организована по дискретному принципу: каждый ее участок содержит свой относительно автономный микрососудистый модуль. Благодаря такому строению микроциркуляторного русла, наличию многочисленных артериоло-венулярных анастомозов возможно быстрое и эффективное перераспределение кровотока между различными регионами кожи (по горизонтали) или (и) ее различными слоями (по вертикали), что представляется важным для осуществления терморегуляторной функции. Ведущая роль в терморегуляции принадлежит глубокой венозной сети кожи.

Морфологические методы оценки кожи и ее производных.

Общую морфологическую оценку операционного, биопсийного и аутопсийного материала кожи при световой микроскопии проводят с использованием рутинного метода окрашивания — гематоксилином и эозином. Для специфической идентификации клеточных и внеклеточных компонентов кожи могут быть использованы специальные методы гистохимического окрашивания (например: окраска пикрозирусом красным и окраски по Ван Гизону на коллагеновые волокна; окраска орсеином и по Вейгерту на эластические волокна тканей [11]).

Для анализа ультраструктурного строения клеток, межклеточных коммуникаций, базальной мембраны (*lamina lucida*, *lamina densa* и др.) используют трансмиссионную и сканирующую электронную микроскопию [12].

В последнее десятилетие для понимания биологии и протеомики компонентов кожи, а также для визуализации экспрессии различных белков в норме и при некоторых злокачественных новообразованиях широко используются иммуногистохимический метод, FISH, ПЦР-РВ, scRNA-seq и др., полученные результаты которых фиксируются в публичных картах The Human Protein Atlas.

Участие кожи в иммунных и воспалительных реакциях в норме и при патологии.

В отличие от CD4⁺ Т-клеток, CD8⁺ Т-клетки обладают цитотоксическим действием, способные уничтожить злокачественные или инфицированные клетки.

Они содержат МНСI антигены, которые способны секретировать цитолитические молекулы, включая перфорин и гранзимы, либо вызвать Fas-опосредованный апоптоз [13]. При формировании памяти большинство цитотоксических CD8⁺ Т-клеток экспрессируют фактор транскрипции T-bet и секретируют высокие уровни IFN- γ . Однако некоторые CD8⁺ Т-клетки синтезируют Gata3 и проявляют фенотип цитотоксических Т-клеток второго типа (Тс2) с секрецией IL-4, IL-5 и IL-13. При многих поражениях кожи (например, псориаз) эффекторные CD8⁺ Т-клетки памяти продуцируют IL-17, IL-22 и IL-17 / IFN- γ . Экспрессия хемокиновых рецепторов, влияние эффекторных лимфоцитов и отсутствие цитотоксичности (снижение экспрессии CD49a на фоне увеличения экспрессии IL-17), обеспечивают поддержание тканевого гомеостаза в месте повреждения кожи.

В эксперименте на коже мышей было выявлено, что Тс17 способствуют заживлению ран за счет высвобождения IL-13 при распознавании неклассических пептидов, представленных МНСI (H2-M3), полученных из комменсальных бактерий [14]. В целом, CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки обеспечивают широкий набор высокоспецифичных функций, коменсаторно-приспособительных реакций к различным видам повреждений инфекционной или онкологической природы, а также раневому процессу.

Описанный выше цитокиновый дисбаланс, также является причиной снижения продукции антимикробных белков (АМБ) и противовирусных белков (АВБ) в эпидермисе при atopическом дерматите. Это связано с повышением уровня цитокина T2 на фоне снижения IL-17, что приводит к низкой продукции АМБ кератиноцитами [15; 16; 17], нарушая защитный барьер и способствуя колонизации *Staphylococcus aureus*, проникновению микробных патогенов и их иммуностимулирующих компонентов в кожу и инфекции, вызываемые этим патогеном

[18; 19]. Поэтому для пациентов с atopическим дерматитом также характерен повышенный риск развития кожных инфекций, вызванных вирусными патогенами, включая вирус папилломы человека, вирус простого герпеса, вирус контагиозного моллюска и герпетическая экзема [20; 21].

Важно отметить, что нарушение функции кожного барьера также способствует повышению эпидермальной сенсibilизации к аллергенам и может объяснить высокую частоту аллергии у пациентов с хроническими иммунными заболеваниями кожи.

Меланома считается одним из самых иммуногенных типов рака, так как было идентифицировано несколько специфичных для нее антигенов, антител и функционально активных лимфоцитов [22; 23; 24]. Метастатическая меланома реагирует на иммуностимулирующие агенты, такие как IFNs и IL-2, а также индуцирует цитотоксические Т-лимфоциты, ассоциированные с антигеном-4 (CTLA-4) и PD-1 [25].

К факторам иммунной противоопухолевой активности относятся: (1) Трег-клетки и супрессивные клетки миелоидного происхождения; (2) противовоспалительные цитокины, такие как фактор роста опухоли (TGF) - β и IL-10; (3) нарушение презентации опухолевого антигена клетками, экспрессии антигена и дефектов процессинга антигена; (4) иммунные ингибирующие молекулы, такие как CTLA-4 и PD-1; (5) ферменты, катаболизирующие аминокислоты, такие как аргиназа и индоламин-2-3-диоксигеназа (IDO) [26; 27; 28].

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Klein P. A., Greene W. H., Fuhrer J., Clark R. A. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in outpatients with psoriasis, atopical dermatitis, or HIV infection. *Arch Dermatol.* 1997;133:1463–1465.
2. Rittie L., Fisher G. Natural and sun-induced aging of human skin. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015;5:a015370.
3. Boon T., Coulie P. G., Van den Eynde B. J., van der Bruggen P. Human T cell responses against melanoma. *Annu Rev Immunol.* 2016;24:175–208.
4. Garbe C., Eigentler T. K., Keilholz U., Hauschild A., Kirkwood J. M. Systematic review of medical treatment in melanoma: current status and future prospects. *Oncologist.* 2011;16:5–24.
5. Демьяшкин Г. А., Шаповалова Е. Ю., Маланичев М. Ю., Погосян Д. А., Батов М. А., Зорин И. А., Щекин В. И. Молекулярно-биологическая характеристика проме-

жучочных филаментов кератиноцитов интактной кожи в условии системного воспаления. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2020;64(3): 34-39

6. Harrison O. J., Linehan J. L., Shih H. Y., Bouladoux N., Han S. J., Smelkinson M., Sen S. K., Byrd A. L., Enamorado M., Yao C., Tamoutounour S., Van Laethem F., Hurabielle C., Collins N., Paun A., Salcedo R., O'Shea J. J., Belkaid Y. Commensal-specific T cell plasticity promotes rapid tissue adaptation to injury. *Sci* 2019; 363.

7. Mc Millan J. R., Akiyama M., Shimizu H. Epidermal basement membrane zone components: ultrastructural distribution and molecular interactions. *J Dermatol Sci* 2003;31:169-77.

8. Totte J., van der Feltz W., Hennekam M., van Belkum A., van Zuuren E., Pasmans S. Prevalence and odds of *Staphylococcus aureus* carriage in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol*. 2016;175:687–695.

9. Silva I., Long G. Systemic therapy in advanced melanoma: integrating targeted therapy and immunotherapy into clinical practice. *Curr Opin Oncol*. 2017;29:484–492.

10. Puchtler H., Waldrop F., Valentine L. Polarization microscopic studies of connective tissue stained with picro-sirius red FBA. *Beitr Pathol* 1973; 150:174-87.

11. Ong P., Ohtake T., Brandt C., Strickland I., Boguniewicz M., Ganz T., Gallo R., Leung D. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med*. 2012;347:1151–1160.

12. Menon G., Cleary G., Lane M. The structure and function of the stratum corneum. *J Pharm*. 2012;Oct 1;435(1):3-9.

13. Gebhardt T., Palendira U., Tschärke D. C., Bedoui S. Tissue-resident memory T cells in tissue homeostasis, persistent infection, and cancer surveillance. *Immunol Rev*. 2018;283:54–76.

14. Halle S., Halle O., Forster R. Mechanisms and dynamics of T cell-mediated cytotoxicity in vivo. *Trends Immunol*. 2017;38:432–443.

15. Montagna W., Kirchner S., Carlisle K. Histology of sun-damaged human skin. *J Am Acad Dermatol*. 1989; 21:907-18.

16. Nomura I., Goleva E., Howell M. D., Hamid Q. A., Ong P. Y., Hall C. F., Darst M. A., Gao B., Boguniewicz M., Travers J. B., Leung D. Y. Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes. *J Immunol*. 2003;171:3262–3269.

17. Wollenberg A., Wetzel S., Burgdorf W., Haas J. Viral infections in atopic dermatitis: pathogenic aspects and clinical management. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:667–674.

18. Kaya G., Saurat J. H. Dermatorporosis: A Chronic Cutaneous Insufficiency / Fragility Syndrome. *Dermatology* 2007;215: 284-94.

19. Singh D., Srivastava S., Chaudhuri T., Upadhyay G. Multifaceted role of matrix metalloproteinases (MMPs). *Front Mol Biosci* 2015;2.

20. Watson R., Gibbs N., Griffiths C. Damage to skin extracellular matrix induced by UV exposure. *Antioxid Redox Signal* 2014;21:1063-77.

21. Ong P. Y., Leung D. Y. Bacterial and viral infections in atopic dermatitis: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016;51:329–337.

22. Azijli K., Stelloo E., Peters G. J. New developments in the treatment of metastatic melanoma: immune checkpoint inhibitors and targeted therapies. *Anticancer Res*. 2014;34:1493–1505.

23. Klein P. A., Greene W. H., Fuhrer J., Clark R. A. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in outpatients with psoriasis, atopic dermatitis, or HIV infection. *Arch Dermatol*. 1997;133:1463–1465.

24. Fourcade J., Zarour H. M. Strategies to reverse melanoma-induced T-cell dysfunction. *Clin Dermatol*. 2013;31:251–256.

25. Sabat R., Philipp S., Hoflich C., Kreutzer S., Wallace E., Asadullah K., Volk H., Sterry W., Wolk K. Immunopathogenesis of psoriasis. *Exp Dermatol*. 2017;16:779–798.

26. Шаповалова Е. Ю., Демяшкин Г. А., Маланичев М. Ю., Погосян Д. А., Зорин И. А., Щекин В. И. Моделирование экспериментального сепсиса путем выполнения лигирования и пункции слепой кишки (CLP-процедура). *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2020; 3:150–158

27. Шаповалова Е. Ю., Демяшкин Г. А., Маланичев М. Ю., Погосян Д. А., Щекин В. И. Иммунофенотипическая характеристика пролиферации и апоптоза интактных кератиноцитов при системном воспалении. *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020;10(2):47–51

28. Wolk K., Mitsui H., Witte K., Gellrich S., Gulati N., Humme D., Witte E., Gonsior M., Beyer M., Kadin M., Volk H., Krueger J., Sterry W., Sabat R. Deficient cutaneous antibacterial competence in cutaneous T-cell lymphomas: role of Th2-mediated biased Th17 function. *Clin Cancer Res*. 2014;20:5507–5516.

REFERENCES

1. Klein P. A., Greene W. H., Fuhrer J., Clark R. A. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in outpatients with psoriasis, atopic dermatitis, or HIV infection. *Arch Dermatol*. 1997;133:1463–1465.

2. Rittie L., Fisher G. Natural and sun-induced aging of human skin. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2015;5:a015370.

3. Boon T., Coulie P. G., Van den Eynde B. J., van der Bruggen P. Human T cell responses against melanoma. *Annu Rev Immunol*. 2016;24:175–208.

4. Garbe C., Eigentler T. K., Keilholz U., Hauschild A., Kirkwood J. M. Systematic review of medical treatment

- in melanoma: current status and future prospects. *Oncologist*. 2011;16:5–24.
5. Demyashkin G. A., Shapovalova E. Yu., Malanichev M. Yu., Pogosyan D. A., Batov M. A., Zorin I. A., Shchekin V. I. Molecular and biological characteristics of keratin intermediate filaments in intact skin under systemic inflammation. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2020; 64(3): 34-39. (in Russian).
 6. Harrison O. J., Linehan J. L., Shih H. Y., Bouladoux N., Han S. J., Smelkinson M., Sen S. K., Byrd A. L., Enamorado M., Yao C., Tamoutounour S., Van Laethem F., Hurabielle C., Collins N., Paun A., Salcedo R., O'Shea J. J., Belkaid Y. Commensal-specific T cell plasticity promotes rapid tissue adaptation to injury. *Sci* 2019; 363.
 7. Mc Millan J. R., Akiyama M., Shimizu H. Epidermal basement membrane zone components: ultrastructural distribution and molecular interactions. *J Dermatol Sci* 2003;31: 169-77.
 8. Totte J., van der Feltz W., Hennekam M., van Belkum A., van Zuuren E., Pasmans S. Prevalence and odds of *Staphylococcus aureus* carriage in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol*. 2016;175:687–695.
 9. Silva I., Long G. Systemic therapy in advanced melanoma: integrating targeted therapy and immunotherapy into clinical practice. *Curr Opin Oncol*. 2017;29:484–492.
 10. Puchtler H., Waldrop F., Valentine L. Polarization microscopic studies of connective tissue stained with picro-sirius red FBA. *Beitr Pathol* 1973; 150: 174-87.
 11. Ong P., Ohtake T., Brandt C., Strickland I., Boguniewicz M., Ganz T., Gallo R., Leung D. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med*. 2012; 347:1151–1160.
 12. Menon G., Cleary G., Lane M. The structure and function of the stratum corneum. *J Pharm*. 2012;Oct 1;435(1):3-9.
 13. Gebhardt T., Palendira U., Tschärke D. C., Bedoui S. Tissue-resident memory T cells in tissue homeostasis, persistent infection, and cancer surveillance. *Immunol Rev*. 2018;283:54–76.
 14. Halle S., Halle O., Forster R. Mechanisms and dynamics of T cell-mediated cytotoxicity in vivo. *Trends Immunol*. 2017;38:432–443.
 15. Montagna W., Kirchner S., Carlisle K. Histology of sun-damaged human skin. *J Am Acad Dermatol*. 1989; 21:907-18.
 16. Nomura I., Goleva E., Howell M. D., Hamid Q. A., Ong P. Y., Hall C. F., Darst M. A., Gao B., Boguniewicz M., Travers J. B., Leung D. Y. Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes. *J Immunol*. 2003;171:3262–3269.
 17. Wollenberg A., Wetzel S., Burgdorf W., Haas J. Viral infections in atopic dermatitis: pathogenic aspects and clinical management. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:667–674.2
 18. Kaya G., Saurat J. H. Dermatoporosis: A Chronic Cutaneous Insufficiency / Fragility Syndrome. *Dermatology* 2007;215: 284-94.
 19. Singh D., Srivastava S., Chaudhuri T., Upadhyay G. Multifaceted role of matrix metalloproteinases (MMPs). *Front Mol Biosci* 2015;2.
 20. Watson R., Gibbs N., Griffiths C. Damage to skin extracellular matrix induced by UV exposure. *Antioxid Redox Signal* 2014;21:1063-77.
 21. Ong P. Y., Leung D. Y. Bacterial and viral infections in atopic dermatitis: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016;51:329–337.
 22. Azijli K., Stelloo E., Peters G. J. New developments in the treatment of metastatic melanoma: immune checkpoint inhibitors and targeted therapies. *Anticancer Res*. 2014;34:1493–1505.
 23. Klein P. A., Greene W. H., Fuhrer J., Clark R. A. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in outpatients with psoriasis, atopic dermatitis, or HIV infection. *Arch Dermatol*. 1997;133:1463–1465.
 24. Fourcade J., Zarour H. M. Strategies to reverse melanoma-induced T-cell dysfunction. *Clin Dermatol*. 2013;31:251–256.
 25. Sabat R., Philipp S., Hoflich C., Kreutzer S., Wallace E., Asadullah K., Volk H., Sterry W., Wolk K. Immunopathogenesis of psoriasis. *Exp Dermatol*. 2017;16:779–798.
 26. Shapovalova E. Yu., Demyashkin G. A., Malanichev M. Yu., Pogosyan D. A., Zorin I. A., Shchekin V. I. Modelirovanie eksperimental'nogo sepsisa putem vypolneniya ligirovaniya i punktsii slepoy kishki (CLP-protsedura) [Simulation of experimental sepsis by cecal ligation and puncture (CLP)]. *Ul'yanovskiy medikobiologicheskii zhurnal*. 2020; 3: 150–158. (in Russian).
 27. Shapovalova E. Yu., Demyashkin G. A., Malanichev M. Yu., Pogosyan D. A., Shchekin V. I. Immunophenotypic characteristics of proliferation and apoptosis of intact keratinocytes in systemic inflammation. *Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2020;10(2):47-51. (In Russ)
 28. Wolk K., Mitsui H., Witte K., Gellrich S., Gulati N., Humme D., Witte E., Gonsior M., Beyer M., Kadin M., Volk H., Krueger J., Sterry W., Sabat R. Deficient cutaneous antibacterial competence in cutaneous T-cell lymphomas: role of Th2-mediated biased Th17 function. *Clin Cancer Res*. 2014;20:5507–5516.

ПОВТОРНОЕ ЗАРАЖЕНИЕ SARS-COV-2: АНАЛИЗ СЛУЧАЕВ И МЕХАНИЗМОВ РЕЦИДИВОВ ИНФЕКЦИИ

Герасименко Д. А., Халилова А. С., Велиляева Д. Э., Манчиева А. Р., Сатаева Т. П.

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Сатаева Татьяна Павловна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: tanzcool@mail.ru

For correspondence: Sataieva Tatiana Pavlovna, MD, Professor, Head of the Microbiology, virusology and immunology Department, Medical Academy named after S.I.Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: tanzcool@mail.ru

Information about authors:

Gerasimenko D. A., <https://orcid.org/0000-0003-0852-8750>

Khalilova A. S., <http://orcid.org/0000-0001-5848-2629>

Velilyaeva D. E., <https://orcid.org/0000-0002-4782-108X>

Manchieva A. R., <https://orcid.org/0000-0001-6871-1536>

Sataieva T. P., <http://orcid.org/0000-0003-3154-3203>

РЕЗЮМЕ

В статье рассмотрена проблема повторного заражения инфекцией COVID-19, дана общая характеристика ситуации, обусловленной коронавирусной реинфекцией по состоянию на декабрь 2020 года, проведен глубокий анализ всех опубликованных данных с подобными случаями, проанализированы молекулярные механизмы вторичного заражения. В декабре 2019 года в китайском городе Ухань была зарегистрирована серия случаев пневмонии неизвестного происхождения, а в дальнейшем и локальные вспышки схожих по симптоматике заболеваний. Спустя месяц ученым удалось идентифицировать возбудителя заболевания: им оказался новый коронавирус (2019-nCoV), вызывающий заболевания у человека. Существуют данные о том, что выявленный в конце 2020 года штамм SARS-CoV-2 VUI 202012/01 характеризуется значительно большей способностью к распространению среди людей (увеличение трансмиссивности до 70%), а также предполагается увеличение репродуктивного числа (R) на 0,4 или больше. В настоящее время нет официально подтвержденных данных о случаях повторного заражения данным вариантом SARS-CoV-2. Однако, предполагается, что пациенты, ранее перенесшие COVID-19, вызванный любым из существующих штаммов нового коронавируса, могут быть более восприимчивы к повторному заражению штаммом VUI 202012/01. Это объясняется тем, что некоторые мутации способствуют уклонению вируса VUI 202012/01 от иммунного ответа.

Ключевые слова: вторичное заражение, коронавирус SARS-CoV-2, молекулярно-генетические механизмы, пандемия, повторное заражение, реинфекция, COVID-19.

SARS-COV-2 RE-INFECTION: THE ANALYSIS OF CASES OF MECHANISMS

Gerasimenko D. A., Khalilova A. S., Velilyaeva D. E., Manchieva A. R., Sataieva T. P.

Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

This article examines the problem of re-infection with COVID-19 infection, provides a general description of the situation caused by coronavirus reinfection as of December 2020, conducts an in-depth analysis of all published data with similar cases, and analyzes the molecular mechanisms of secondary infection. In December 2019, a series of cases of pneumonia of unknown origin was registered in the Chinese city of Wuhan, and later local outbreaks of similar symptoms of diseases. A month later, scientists were able to identify the causative agent of the disease: it turned out to be a new coronavirus (2019-nCoV), which causes diseases in humans. There is evidence that the Sars-CoV-2 strain VUI 202012/01, identified at the end of 2020, is characterized by a significantly greater ability to spread among humans (an increase in transmissivity of up to 70%), and an increase in the reproductive number (R) of 0.4 or more is also expected. Currently, there are no officially confirmed cases of re-infection with this variant of SARS-CoV-2. However, it is suggested that patients who have previously had COVID-19 caused by any of the existing strains of the new coronavirus may be more susceptible to re-infection with the VUI 202012/01 strain. This can be due to some mutations contributing to the escape of the VUI 202012/01 virus from the immune response.

Key words: secondary infection, SARS-CoV-2 coronavirus, molecular and genetic mechanisms, pandemic, re-infection, COVID-19.

В декабре 2019 года в китайском городе Ухань была зарегистрирована серия случаев пневмонии неизвестного происхождения, а в дальнейшем и локальные вспышки схожих по симптоматике заболеваний. Спустя месяц ученым удалось идентифицировать возбудителя заболевания: им оказался новый коронавирус (2019-nCoV), вызывающий заболевания у человека. Инфекция стремительно распространилась среди других стран, и в итоге 30 января 2020 года Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила чрезвычайную международную ситуацию в области общественного здравоохранения из-за этой глобальной вспышки пневмонии, а уже 11 марта 2020 года ВОЗ присвоила этим вспышкам статус пандемии [1; 2].

Новый коронавирус (2019-nCoV) принадлежит к семейству Coronaviridae и относится к порядку Nidovirales. Геном вируса 2019-nCoV составляет 29,903 нуклеотидов. 2019-nCoV входит в подгруппу бетакоронавирусов согласно филогенетическим показателям, выявленным в исследованиях вирусного генома [3; 6]. SARS-CoV-2 может вызвать болезнь, названную коронавирусной болезнью 2019 года (COVID-19). SARS-CoV-2 принадлежит к той же подгруппе группы коронавирусов (Betacoronavirus), что и вирусы SARS и MERS, которые вызвали две из самых серьезных эпидемий за последние годы. Предполагается, что, как и в случае с атипичной пневмонией и MERS, новый коронавирус 2019-nCoV имеет зоонозное происхождение [7; 8]. Основываясь на данных о быстро растущей распространенности инфекции и возможности её передачи бессимптомными носителями [3], можно сделать вывод, что SARS-CoV-2 может эффективно передаваться среди людей и обладает высоким потенциалом для запуска пандемии [4; 7; 8].

Ранее были исследованы случаи заражения новой коронавирусной инфекцией: как с летальным исходом, так и с полным выздоровлением пациентов [9; 10]. Однако на конец 2020 года стали появляться данные о том, что возможно повторное заражение SARS-CoV-2 [11]. У пациентов с тяжелым острым респираторным синдромом, вызванном новой коронавирусной инфекцией (SARS-CoV-2), после выздоровления обнаруживались антитела к вирусу, но восприимчивость ранее инфицированных лиц к реинфекции SARS-CoV-2 изучена недостаточно хорошо [12].

У пациентов с коронавирусной болезнью наиболее распространенными клиническими симптомами являются лихорадка и непродуктивный кашель, одышка и другие затруднения дыхания, потеря обоняния, а также другие не-

специфические симптомы, включая головную боль, одышку, усталость и миалгию. Кроме того, некоторые пациенты жалуются на расстройства пищеварительной системы, такие как понос и рвота [1; 2]. Выраженность этих симптомов при вторичном заражении варьируема, однако у людей, повторно заражающихся вирусом, инфекция чаще протекает бессимптомно или в лёгкой форме.

В случаях и первичного, и повторного заражения организм реагирует на антиген и стимулируется клеточный и гуморальный иммунитет. Клеточный иммунитет реализуется с помощью В- и Т-лимфоцитов. Как и при ответе на другие острые вирусные инфекции, профиль антител против вирусов SARS-CoV демонстрирует стандартную картину синтеза антител IgM и IgG, причем последние более длительно сохраняются в сыворотке крови переболевших [5]. Имеются данные о том, что число CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов в периферической крови больных SARS-CoV-2 существенно снижается.

Развитие острого респираторного дистресс-синдрома (ОРДС) является важным аспектом в патогенезе новой коронавирусной болезни. Huang и соавт. сообщили о случае, когда из срока одного пациента с подтвержденным SARS-CoV-2 и поступившего на ранней стадии вспышки, шесть умерли по причине ОРДС [1]. ОРДС является стандартным иммунопатологическим симптомом для вирусных инфекций SARS-CoV-2, SARS-CoV и MERS-CoV [7]. Неконтролируемый воспалительный ответ организма, приводит к выбросу большого количества противовоспалительных цитокинов и хемокинов иммунными эффекторными клетками при SARS-CoV инфекции, вызывая цитокиновый шторм при ОРДС [1]. У больных с инфекцией COVID-19 отмечается значительное повышение уровня цитокинов и хемокинов в крови, включая интерлейкины IL1-β, IL1RA, IL7, IL8, IL9, IL10; основной фактор роста фибробластов FGF2, а также GCSF, GMCSF, MCP1, MIP1α, MIP1β, PDGFB, IFNγ, IP10, TNFα и VEGFA [7]. Гиперцитокинемия приводит к тому, что иммунитет атакует клетки организма, и это провоцирует полиорганную недостаточность, и, в конечном итоге, цепочка повреждений органов приведет к летальному исходу в случаях тяжелого протекания SARS-CoV-2 инфекции, к тому же противовоспалительные цитокины IL2, IL7, IL10, GCSF, IP10, MCP1, MIP1α, и TNFα также способствуют увеличению степени тяжести заболевания [1].

Сообщения о случаях вторичной инфекции SARS-CoV-2 были впервые опубликованы в Гонконге, Нидерландах и Бельгии, Эквадоре [13-18]. В публикации Ye и соавторов сообщается о том,

чтобы среди 55 пациентов больницы Чжуннань университета Ухани, перенесших пневмонию COVID-19 с января по февраль 2020 года, было выявлено 5 случаев (9%) повторного инфицирования после выписки из стационара. Возрастной диапазон этой группы пациентов составлял 27 – 42 года. У четырех из пяти пациентов отмечена лихорадка без озноба, у одного была высокая температура (39,3°C) и лишь у одного пациента температура тела была в норме. Наблюдались также симптомы инфекции верхних дыхательных путей: у одного пациента был кашель, у одного болело горло, все пациенты сообщили об утомляемости. По результатам компьютерной томографии легких у всех пяти пациентов был обнаружен множественный симптом «матового стекла» [11].

Среди пациентов с реинфекцией SARS-CoV-2 один перенес заболевание бессимптомно, остальные четыре – с минимальной симптоматикой. Промежуток времени между положительным и отрицательным результатом анализа на COVID-19 варьировался от 4 до 17 дней. Очевидно, что клинические симптомы пациентов с реинфекцией SARS-CoV-2 аналогичны таковым у пациентов с первичной инфекцией [16].

В одной из работ отмечается, что в марте 2020 года 51-летняя женщина обратилась с симптомами: головная боль, лихорадка, миалгия, кашель, боль в груди и одышка, аносмия и нарушение восприятия вкуса. Сатурация составила 94%. Анализ мазка из носоглотки выявил положительный результат ПЦР на РНК SARS-CoV-2.

Спустя три месяца после появления первых симптомов пациентка отметила аналогичную симптоматику: головная боль, кашель и утомляемость, а также ринит. Анализ мазка из носоглотки на РНК SARS-CoV-2 снова оказался положительным, что позволило предположить повторное заражение. Симптомы исчезли через неделю, но в то же время анализ на антитела против SARS-CoV-2 был положительным.

Полноразмерное секвенирование генома показало, что первоначальное заражение было вызвано штаммом В.1.1 вируса SARS-CoV-2, а рецидивирующая инфекция – линией А. Обнаружено одиннадцать отличий между геномами двух штаммов (идентичность 99,7%). Поскольку генетических различий между штаммами со временем становится больше, перекрестный иммунитет может стать менее эффективным, что, вероятно, приведет к возникновению разнообразных клинических картин. Однако предположить степень тяжести протекания повторного заболевания практически невозможно [14].

Еще один случай повторного заражения был зарегистрирован Torres D. и соавторами. 36-лет-

няя женщина-врач поступила 20 марта 2020 г. в стационар с ринореей, болью в горле, повышенной температурой тела, диареей, астенией и легкой головной болью. Продолжительность симптомов составляла примерно семь дней, а через 24 дня они полностью исчезли. Взятый на седьмой день заболевания материал из носоглотки для анализа дал положительный результат на РНК SARS - CoV-2. Серологический тест с использованием иммуноферментного анализа был проведен через 23 дня после появления симптомов. По его результатам титр иммуноглобулина был 0,477, что свидетельствовало об отрицательной реакции. Примерно через 12 недель после первого эпизода COVID-19 у пациента зарегистрировали новые клинические симптомы: заложенность носа и ринорея, внезапная и полная аносмия, лобная головная боль и астения.

Серологический анализ на 13-й день после появления повторных симптомов показал положительный результат на иммуноглобулин А на COVID - 19 с титром 4240, причем результаты ПЦР мазков из носоглотки на 11 и 13 сутки симптомов были отрицательными. Результат анализа титра IgG на 20-й день симптомов оказался положительным со значением 1173, а через 45 дней – 7473.

На 11-й день повторного появления симптомов, была проведена компьютерная томография грудной клетки, что позволило выявить острую вирусную пневмонию, типичную для COVID-19. Патологические изменения легких, выявленные на компьютерной томографии грудной клетки, практически исчезли на двадцать четвертый день после появления симптомов. Обнаружение острой вирусной пневмонии позволяет предположить, что тяжесть симптомов первичного заболевания в данном случае менее выражена, чем тяжесть симптоматики повторного заболевания COVID-19 [20].

В Южной Корее были задокументированы случаи заражения COVID-19, подтвержденные при помощи ПЦР-теста. Причем сначала ПЦР показала отрицательный результат, а затем положительный с разницей во взятии материала 35 дней. Такое явление предположительно объясняется наличием неполных (дефектных) вирусных геномов [21].

Многочисленные анализы генома показывают, что вирусный геном после первичного заражения принадлежит к линии, отличающейся от линии вирусного генома после вторичного заражения. Первый вирусный геном, принадлежит по GISAID кладе V, по Nextstrain кладе 19A и линии Pangolin B.2. Второй вирусный геном принадлежит по GISAID кладе G, по Nextstrain

кладе 20A и линии Pangolin B.1.79. Помимо присутствия стоп-кодона в положении 64 в ORF8, приводящего к усечению 58 аминокислот в вирусном геноме после первичного заражения; вирусные геномы также отличаются еще на 23 нуклеотида, 13 из которых являются несинонимичными мутациями, что приводит к замене аминокислот. Разница в аминокислотах между двумя геномами находится в спайковом белке (в N-концевом домене, субдомene 2 и восходящей спирали), нуклеопротеине, неструктурных белках (NSP3, NSP5, NSP6, NSP12) и дополнительных белках (ORF3a, ORF8 и ORF10). Второй геном также содержит мутацию nsr6 L142F, которая встречается редко (0,009%) [13].

Антитела против SARS-CoV-2 были обнаружены с помощью иммуноферментного анализа на основе рекомбинантного нуклеокапсидного белка SARS-CoV-2 у пациентов с подтвержденным COVID-19 через 3–40 дней после появления симптомов [22]. Уровни антител к группе коронавирусов со временем снижаются (диапазон составляет 12–52 недели с момента появления симптомов). Благодаря данному явлению становится возможным явление реинфекции. В результате многочисленных наблюдений, существует утверждение, что уровни антител SARS-CoV-2 сохраняются до 94 дней после заражения [23], а недавние исследования показывают, что титры антител достигают пика в момент между 3 и 4 неделями и остаются относительно стабильными до 4 месяцев после постановления диагноза. Тем не менее, их нейтрализующая активность со временем значительно снижается [24]. Существует предположение, что величина ответа антител, связана с тяжестью заболевания, и существуют признаки того, что связанный с антителами иммунитет против SARS-CoV-2 может быть недолговечным у лиц, перенесших бессимптомную инфекцию или легкую форму заболевания [25]. В результате многочисленных наблюдений, было выявлено, что иммунный ответ у пациентов с легкой формой заболевания был значительно ниже, с более низкими уровнями ответа IgM и более низкими уровнями нейтрализующих антител, по сравнению с пациентами, у которых была выявлена тяжелая форма COVID-19 [26].

Один из ключевых вопросов при прогнозировании течения пандемии COVID-19, заключается в том, насколько хорошо и как долго иммунные ответы защищают хозяина от повторного заражения. Если для некоторых вирусов первичная инфекция может обеспечить пожизненный иммунитет, то для сезонных коронавирусов защитный иммунитет как правило недолговечен [27].

Реактивность оставшихся антител к белку нуклеокапсида указывает на предыдущий контакт с SARS-CoV-2, но не свидетельствует о том, присутствуют ли у пациента антитела, которые могут блокировать инфекцию (анти-спайк). Кроме того, уровни антител сильно зависят от времени после вирусного воздействия. Несмотря на то, что антитела могут исчезнуть в течение нескольких месяцев (особенно при легком течении заболевания), иногда они сохраняются. Наиболее важные нейтрализующие антитела, а также В-клетки памяти и Т-клетки проявляют относительную стабильность в течение как минимум 6 месяцев [28].

Помимо этого, после первичного заражения зафиксировано снижение уровня IgG – специфических иммуноглобулинов, синтезирующихся в организме больного через 2–3 недели после заражения, которые сохраняют информацию о поступившем вирусе и соответственно, оказывают на него подавляющее действие. Однако первыми в организме образуется IgM (на первой неделе), который обеспечивает первичный иммунный ответ. Помимо этого, через 5–7 дней после появления IgM, к нему присоединяется IgA, основной целью которого является защита слизистых оболочек организма. Однако, уровень иммуноглобулинов G не всегда снижается. Исследования пациентов с COVID-19 показали, что во время первичного инфицирования большинство антител не нейтрализуются, а уровень нейтрализующих антител – низкий (за исключением тяжелых случаев). Однако созревание В-клеток после первичной инфекции может привести к образованию долгоживущих плазматических клеток и В-клеток памяти. Во время повторного инфицирования эти В-клетки памяти могут быстро дифференцироваться в плазмобласты, которые, в свою очередь, продуцируют высокоаффинные антитела гораздо быстрее, чем во время первичного инфицирования [29].

В период с ноября по декабрь 2020 года в Великобритании, в частности в Юго-Восточной Англии, был зарегистрирован быстрый рост случаев заболевания COVID-19. Анализ последовательности вирусного генома выявил, что большая часть случаев относится к новому филогенетическому штамму, определяющемуся наличием множественных мутаций шипового белка (делеция 69-70, делеция 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H), а также мутаций в других геномных областях [30]. В базе данных Nextstrain новый вариант вируса принадлежит кладе 20B [31], а в базе данных GISAID он относится к кладе GR, линии B.1.1.7 [32].

Новый штамм SARS-CoV-2 часто упоминается как VUI 202012/01 (Вариант SARS-CoV-2 в стадии исследования, 2020 год, месяц 12, вариант 01) [30]. Существуют данные о том, что SARS-CoV-2 VUI 202012/01 характеризуется значительно большей способностью к распространению среди людей (увеличение трансmissивности до 70%), а также предполагается увеличение репродуктивного числа (R) на 0,4 или больше [33].

В настоящее время нет официально подтвержденных данных о случаях повторного заражения данным вариантом SARS-CoV-2. Однако, предполагается, что пациенты, ранее перенесшие COVID-19, вызванный любым из существующих штаммов нового коронавируса, могут быть более восприимчивы к повторному заражению штаммом VUI 202012/01. Это объясняется тем, что некоторые мутации способствуют уклонению вируса VUI 202012/01 от иммунного ответа [34].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вирус SARS-CoV-2 продолжает свое распространение по планете, вызывая все новые и новые случаи заболевания, создавая при этом высокий уровень рецидивов среди переболевших. Целью данного исследования было изучение случаев реинфекции, накопившихся за год, с первых выявленных случаев заражения вирусом SARS-CoV-2, в декабре 2019 года и на протяжении 2020 года. Описанные рецидивы не являются массовыми, но побуждают исследователей к дальнейшему изучению этой проблемы, что весьма актуально в условиях предстоящей массовой вакцинации в большинстве современных государств и надежды на то, что данная вакцина обеспечит длительный и устойчивый иммунный ответ.

После проведенного нами обзора, можно выделить несколько основных причин повторного заражения.

1. Для вируса SARS-CoV-2, как и для большинства изученных вирусов семейства Coronaviridae, специфические антитела IgG, сохраняются стабильными в среднем до 4 месяцев и только потом начинают постепенно снижаться, теряя свою нейтрализующую активность. Благодаря чему становится возможным явление реинфекции. В это же время встречаются и случаи, в которых выработка IgG к SARS-CoV-2 значительно ослаблена. Данные случаи, так же приводят к реинфекции, подтверждая важную роль IgG в защите организма от повторного заражения.

2. Повторное выявление у переболевших пациентов РНК вируса SARS-CoV-2 без возобнов-

ления симптомов болезни связано с тем, что в ряде случаев данные анализы являлись ложноположительными или ложноотрицательными. Важно отметить, что, помимо этого, встречались и случаи, свидетельствовавшие о том, что данные люди действительно являются носителями вируса SARS-CoV-2. Этот вопрос требует особого внимания, т.к. такие пациенты могут быть распространителями заболевания, не зная об этом.

3. Молекулярно-генетические особенности вируса SARS-CoV-2, свидетельствуют о том что, вирус продолжает постепенно мутировать и адаптироваться, повышая шанс возникновения новых штаммов. Вследствие этого, новые штаммы не всегда могут быть выявлены стандартными методами, применяемыми в рутинной клинической лабораторной диагностике. Этот факт непременно стоит учитывать в дальнейшем при анализе случаев повторного заражения вирусом SARS-CoV-2.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interest to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-733. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.
2. Wang C., Horby P.W., Hayden F.G., Gao G.F. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet.* 2020;395:470–473. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30185-9.
3. Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M. et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature.* 2020;579,7798:265-269. doi:10.1038/s41586-020-2008-3.
4. Ouassou H., Kharchoufa L., Bouhrim M., Daoudi N.E. The Pathogenesis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Evaluation and Prevention. *Journal of immunology research.* 2020. 1357983. doi:10.1155/2020/1357983.
5. Yin Y., Wunderink R.G. MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirology* 2018;23(2):130–7. doi:10.1111/resp.13196.
6. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B. Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in humans and its potential bat origin. *Nature.* 2020;579; 270–273. doi:10.1038/s41586-020-2012-7.
7. Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S., Groot R.J. et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol.* 2020;5:536–544. doi:10.1038/s41564-020-0695-z.
8. Zhang H.-W., Yu J., Xu H. J. Coronavirus international public health emergencies: implications

- for radiology management. *Academic Radiology*. 2020;27(4):463–467. doi: 10.1016/j.acra.2020.02.003.
9. Zhang B., Zhou X., Qiu Y., Song Y. et al. Clinical characteristics of 82 cases of death from COVID-19. *PLoS ONE*. 2020;15(7). doi:10.1371/journal.pone.0235458.
10. Sousa G., Garces T., Cestari V., Florêncio R. et al. Mortality and survival of COVID-19. *Epidemiology and Infection*. 2020;148, E123. doi:10.1017/S0950268820001405.
11. Ye G., Pan Z., Pan Y., Deng Q. et al. Clinical characteristics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 reactivation. *Journal of Infection*. 2020. 80(5), e14–e17. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.001.
12. Ju B., Zhang Q., Ge J., Wang R. et al. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Nature* 2020; 584: 115–19. doi:10.1038/s41586-020-2380-z.
13. To K.K., Hung I.F., Ip J.D., Chu A.W. et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa1275. doi:10.1093/cid/ciaa1275.
14. Van Elslande J., Vermeersch P., Vandervoort K., Wawina-Bokalanga T., et al. Symptomatic SARS-CoV-2 reinfection by a phylogenetically distinct strain. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa1330. doi:10.1093/cid/ciaa1330.
15. Prado-Vivar B., Becerra-Wong M., Guadalupe JJ., Marquez S., et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-CoV-2 variant, first confirmed event in South America. *Social Science Research Network electronic journal*. 2020. doi:10.2139/ssrn.3686174
16. Bongiovanni M, Basile F. Re-infection by COVID-19: a real threat for the future management of pandemia? *Infectious Diseases*. 2020. 52(8):581-582. doi: 10.1080/23744235.2020.1769177.
17. Chan P., Lui G., Hachim A., Ko R. et al. Serologic Responses in Healthy Adult with SARS-CoV-2 Reinfection, *Emerging infectious diseases*, 26(12), 3076–3078. doi: 10.3201/eid2612.203833.
18. Zhang K., Lau J.Y.N., Yang L., Ma Z.G. SARS-CoV-2 reinfection in two patients who have recovered from COVID-19. *Precis Clin Med*. 2020; pbaa031. doi: 10.1093/pccmedi/pbaa031
19. Ye G., Pan Z., Pan Y., Deng Q. et al. Clinical characteristics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 reactivation. *Journal of Infection*, 80(5), e14–e17. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.001.
20. Torres D.A., Ribeiro L., Riello A., Horovitz D. et al. Reinfection of COVID-19 after 3 months with a distinct and more aggressive clinical presentation: case report. *Journal of Medical Virology*. 2020. doi: 10.1002/jmv.26637.
21. Center for Disease Control and Prevention (CDC) USA. Common investigation protocol for investigating suspected SARS-CoV-2 reinfection. 2020. (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/php/reinfection.html>). Accessed on 22 Feb 2021.
22. Xiang F., Wang X., He X., Peng Z., et al. Antibody Detection and Dynamic Characteristics in Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020. 71(8):1930-1934. doi:10.1093/cid/ciaa461.
23. Byrne P., Walsh K.A., Carty P.G., Maire C. et al. Immune response following infection with SARS-CoV-2 and other coronaviruses: a rapid review. *Rev Med Virol*. 2020; e2162. doi:10.1002/rmv.2162.
24. Gudbjartsson D.F., Norddahl G.L., Melsted P., Gunnarsdottir K. et al. Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland. *New England Journal of Medicine*. 2020; 383:1724-1734. doi: 10.1056/NEJMoa2026116.
25. Seow J., Graham C., Merrick B., Acors S. et al. Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection. *medRxiv*. 07.09.2020. doi: 10.1101/2020.07.09.20148429
26. Wang Y., Zhang L., Sang L., Ye F., et al. Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity. *The Journal of Clinical Investigation*. 10.01.2020.20148429. doi: 10.1172/JCI138759.
27. Iwasaki A. What reinfections mean for COVID-19. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30783-0.
28. Jop de Vrieze. Reinfections, still rare, provide clues on immunity, *Science* 370 (6519), 20.10.2020; 895-897. doi: 10.1126/science.370.6519.895.
29. Hung T.K., Chan K.H., Yuan S., Wk T., et al. Serum antibody profile of a patient with COVID-19 reinfection(2020b) *Clinical Infectious Diseases* 23:ciaa1368. doi: 10.1093/cid/ciaa1368.
30. European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid increase of a SARS-CoV-2 variant with multiple spike protein mutations observed in the United Kingdom – 20 December 2020. ECDC: Stockholm; 2020.
31. Hadfield J., Megill C., Bell S.M., Huddleston J. et al. Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics*. 2018;34(23):4121-3. doi: 10.1093/bioinformatics/bty407.
32. Shu Y., McCauley J. GISAID: Global initiative on sharing all influenza data - from vision to reality. *Euro Surveill*. 2017;22(13):30494. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494
33. Davies N.G., Barnard R.C., Jarvis C.I., Kucharski A.J., et al. Estimated transmissibility and severity of novel SARS-CoV-2 Variant of Concern 202012/01 in England. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.12.24.20248822
34. Rahimi F., Talebi Bezmin Abadi A. Implications of the Emergence of a New Variant of SARS-CoV-2, VUI-202012/01. *Arch Med Res*. 2021 Jan 22:S0188-4409(21)00006-0. doi: 10.1016/j.arcmed.2021.01.001.

REFERENCES

1. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020;382(8):727-733. doi: 10.1056/NEJMoa2001017.

2. Wang C., Horby P.W., Hayden F.G., Gao G.F. A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet*. 2020;395:470–473. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30185-9.
3. Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M. et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature*. 2020;579,7798:265-269. doi:10.1038/s41586-020-2008-3.
4. Ouassou H., Kharchoufa L., Bouhrim M., Daoudi N.E. The Pathogenesis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): Evaluation and Prevention. *Journal of immunology research*. 2020. 1357983. doi:10.1155/2020/1357983.
5. Yin Y., Wunderink R.G. MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirology* 2018;23(2):130–7. doi:10.1111/resp.13196.
6. Zhou P., Yang X.L., Wang X.G., Hu B. Discovery of a novel coronavirus associated with the recent pneumonia outbreak in humans and its potential bat origin. *Nature*. 2020;579; 270–273. doi:10.1038/s41586-020-2012-7.
7. Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S., Groot R.J. et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020;5:536–544. doi:10.1038/s41564-020-0695-z.
8. Zhang H.-W., Yu J., Xu H. J. Coronavirus international public health emergencies: implications for radiology management. *Academic Radiology*. 2020;27(4):463–467. doi: 10.1016/j.acra.2020.02.003.
9. Zhang B., Zhou X., Qiu Y., Song Y. et al. Clinical characteristics of 82 cases of death from COVID-19. *PLoS ONE*. 2020;15(7). doi:10.1371/journal.pone.0235458.
10. Sousa G., Garces T., Cestari V., Florêncio R. et al. Mortality and survival of COVID-19. *Epidemiology and Infection*. 2020;148, E123. doi:10.1017/S0950268820001405.
11. Ye G., Pan Z., Pan Y., Deng Q. et al. Clinical characteristics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 reactivation. *Journal of Infection*. 2020. 80(5), e14–e17. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.001.
12. Ju B., Zhang Q., Ge J., Wang R. et al. Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection. *Nature* 2020; 584: 115–19. doi:10.1038/s41586-020-2380-z.
13. To K.K., Hung I.F., Ip J.D., Chu A.W. et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-coronavirus-2 strain confirmed by whole genome sequencing. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa1275. doi:10.1093/cid/ciaa1275.
14. Van Elslande J., Vermeersch P., Vandervoort K., Wawina-Bokalanga T., et al. Symptomatic SARS-CoV-2 reinfection by a phylogenetically distinct strain. *Clin Infect Dis* 2020; ciaa1330. doi:10.1093/cid/ciaa1330.
15. Prado-Vivar B., Becerra-Wong M., Guadalupe JJ., Marquez S., et al. COVID-19 re-infection by a phylogenetically distinct SARS-CoV-2 variant, first confirmed event in South America. *Social Science Research Network electronic journal*. 2020. doi:10.2139/ssrn.3686174
16. Bongiovanni M, Basile F. Re-infection by COVID-19: a real threat for the future management of pandemic? *Infectious Diseases*. 2020. 52(8):581-582. doi: 10.1080/23744235.2020.1769177.
17. Chan P., Lui G., Hachim A., Ko R. et al. Serologic Responses in Healthy Adult with SARS-CoV-2 Reinfection, *Emerging infectious diseases*, 26(12), 3076–3078. doi: 10.3201/eid2612.203833.
18. Zhang K., Lau J.Y.N., Yang L., Ma Z.G. SARS-CoV-2 reinfection in two patients who have recovered from COVID-19. *Precis Clin Med*. 2020; pbaa031. doi: 10.1093/pcmidi/pbaa031
19. Ye G., Pan Z., Pan Y., Deng Q. et al. Clinical characteristics of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 reactivation. *Journal of Infection*, 80(5), e14–e17. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.001.
20. Torres D.A., Ribeiro L., Riello A., Horovitz D. et al. Reinfection of COVID-19 after 3 months with a distinct and more aggressive clinical presentation: case report. *Journal of Medical Virology*. 2020. doi: 10.1002/jmv.26637.
21. Center for Disease Control and Prevention (CDC) USA. Common investigation protocol for investigating suspected SARS-CoV-2 reinfection. 2020. (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/php/reinfection.html>). Accessed on 22 Feb 2021.
22. Xiang F., Wang X., He X., Peng Z., et al. Antibody Detection and Dynamic Characteristics in Patients With Coronavirus Disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020. 71(8):1930-1934. doi:10.1093/cid/ciaa461.
23. Byrne P., Walsh K.A., Carty P.G., Maire C. et al. Immune response following infection with SARS-CoV-2 and other coronaviruses: a rapid review. *Rev Med Virol*. 2020; e2162. doi:10.1002/rmv.2162.
24. Gudbjartsson D.F., Norddahl G.L., Melsted P., Gunnarsdottir K. et al. Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland. *New England Journal of Medicine*. 2020; 383:1724-1734. doi: 10.1056/NEJMoa2026116.
25. Seow J., Graham C., Merrick B., Acors S. et al. Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection. *medRxiv*. 07.09.2020. doi: 10.1101/2020.07.09.20148429
26. Wang Y., Zhang L., Sang L., Ye F., et al. Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity. *The Journal of Clinical Investigation*. 10.01.2020.20148429. doi: 10.1172/JCI138759.
27. Iwasaki A. What reinfections mean for COVID-19. *The Lancet Infectious Diseases*. 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30783-0.
28. Jop de Vrieze. Reinfections, still rare, provide clues on immunity, *Science* 370 (6519), 20.10.2020; 895-897. doi: 10.1126/science.370.6519.895.
29. Hung T.K., Chan K.H., Yuan S., Wk T., et al. Serum antibody profile of a patient with COVID-19 reinfection(2020b) *Clinical Infectious Diseases* 23:ciaa1368. doi: 10.1093/cid/ciaa1368.

30. European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid increase of a SARS-CoV-2 variant with multiple spike protein mutations observed in the United Kingdom – 20 December 2020. ECDC: Stockholm; 2020.
31. Hadfield J., Megill C., Bell S.M., Huddleston J. et al. Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics*. 2018;34(23):4121-3. doi: 10.1093/bioinformatics/bty407.
32. Shu Y., McCauley J. GISAID: Global initiative on sharing all influenza data - from vision to reality. *Euro Surveill*. 2017;22(13):30494. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494
33. Davies N.G., Barnard R.C., Jarvis C.I., Kucharski A.J., et al. Estimated transmissibility and severity of novel SARS-CoV-2 Variant of Concern 202012/01 in England. medRxiv. 2020. doi: 10.1101/2020.12.24.20248822
34. Rahimi F., Talebi Bezmin Abadi A. Implications of the Emergence of a New Variant of SARS-CoV-2, VUI-202012/01. *Arch Med Res*. 2021 Jan 22:S0188-4409(21)00006-0. doi: 10.1016/j.arcmed.2021.01.001.

УДК: 611.018+616.0918+616.056.52

DOI: 10.37279/2224-6444-2021-11-1-51-60

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ ЖИРОВОЙ ТКАНИ И ЕЁ РОЛЬ В ФОРМИРОВАНИИ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Демьяненко И. А., Ткач А. В.

Кафедра гистологии и эмбриологии Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Демьяненко Инна Алексеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии и эмбриологии Медицинской академии имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: innademianenko@mail.ru

For correspondence: Demyanenko Inna Alekseevna, PhD, Associate Professor, Department of histology and embryology, Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: innademianenko@mail.ru

Information about authors:

Demyanenko I. A., <http://orcid.org/0000-0001-6148-7076>

Tkach A. V., <http://orcid.org/0000-0002-9234-3021>

РЕЗЮМЕ

В статье представлен обзор современных литературных источников по морфофункциональным особенностям жировой ткани, как органа, выполняющего эндокринную и иммунную функции. Ожирение играет ведущую роль в формировании инсулинорезистентности и метаболического синдрома. Увеличение массы висцеральной жировой ткани способствует дисрегуляции секреции адипоцитокинов, которые оказывают прямое или опосредованное влияние на реализацию эффектов инсулина в периферических тканях и метаболизм глюкозы, системное воспаление, нарушение функции эндотелия, проатерогенный статус, ускоряя развитие и прогрессирование сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета 2 типа и других, предшествующих их возникновению патологических состояний.

Ключевые слова: жировая ткань, адипоцитокины, ожирение, метаболический синдром.

FUNCTIONAL MORPHOLOGY OF ADIPOSE TISSUE AND ITS ROLE IN THE FORMATION OF METABOLIC SYNDROME

Demyanenko I. A., Tkach A. V.

Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

The article provides an overview of modern literature on the morphological and functional features of adipose tissue, as an organ that performs endocrine and immune function. Obesity plays a leading role in the formation of insulin resistance and metabolic syndrome. An increase in the mass of visceral adipose tissue leads to the dysregulation of the secretion of adipocytokines, which have a direct or indirect effect on the implementation of the effects of insulin in peripheral tissues and glucose metabolism, systemic inflammation, endothelial dysfunction, atherogenic status, accelerating the development and progression of cardiovascular diseases, type 2 diabetes mellitus and other pathological conditions preceding their occurrence.

Key words: adipose tissue, adipocytokines, obesity, metabolic syndrome

Изучение метаболического синдрома (МС) является одним из приоритетных научных задач современной медицины, поскольку данная патология характеризуется высокой распространенностью, значимым влиянием на возникновение и течение различных заболеваний, что приводит к снижению трудоспособности и ухудшению качества жизни. Метаболический синдром по Н. Arnesen (1992) представляет собой сочетание как минимум двух из пяти нарушений: генерализованное ожирение, артериальную гипертензию, инсулинорезистентность с гиперинсулинемией, дислипидемию, и склонность к тромбообразованию. В мире по данным ВОЗ распространенность МС составляет от 20 до 40%. В России около 50 % взрослого население

имеют избыточную массу тела, из них явное ожирение выявляется у 28,5% женщин и 15 % мужчин. При сохранении таких высоких темпов роста избыточной массы тела к 2025 г. ожидается двукратное увеличение числа страдающих ожирением [1; 2; 3]. Формирование МС обусловлено наследственно. Известно, что ген к инсулиновым рецепторам локализован на 19-й хромосоме. Более 50 мутаций этого гена достоверно изучено. Наличие МС повышает в несколько раз риск развития таких серьезных заболеваний, как гипертоническая болезнь и сахарный диабет 2 типа (СД 2 типа). МС ассоциируется с субклиническими нарушениями в жизненно важных органах. Это проявляется в утолщении стенки сонной артерии, повышении жёсткости артерий,

диастолической дисфункции, увеличении размеров полости левого желудочка, гипертрофии миокарда левого желудочка, а также в снижении фильтрационной функции почек и микроальбуминурии. Также как следствие МС в ряде клинических случаев определяется неалкогольный стеатогепатит и неалкогольная жировая болезнь печени [4; 5]. Избыточное употребление пищи, содержащей жиры и низкая физическая активность являются наиболее важными факторами, способствующими развитию МС [6].

Одним из основных факторов развития и прогрессирования МС является специфическая функциональная активность адипоцитов жировой ткани [7; 8; 9]. Основные участки локализации: подкожная жировая клетчатка, висцеральная жировая ткань, желтый костный мозг, сальник, молочная железа. ЖТ в определенных местах образует депо жировой ткани. Различают два типа жировой ткани: белую (WAT), широко распространенную в организме человека, и бурую (BAT), встречающуюся у новорожденных детей и в небольшом количестве у взрослых. WAT имеет мезенхимальное происхождение, BAT развивается из мезодермы (миотома сомитов) [10; 11]. Развитие адипоцитов WAT происходит из малодифференцированных фибробластов, а адипоцитов BAT – из миобластов. Также известно, что под действием гормона ирисина, вырабатываемого скелетной мышечной тканью, WAT может превращаться в BAT. Формирование различных типов адипоцитов регулируются миогенным регуляторным фактором Myf5. При активации Myf5 происходит развитие адипоцита BAT, при отсутствии этого фактора – адипоцита WAT. Эти типы клеток различаются как по происхождению, так и тем, что имеют различное морфологическое строение, метаболическую активность и функции. Энергетический баланс в белой жировой ткани поддерживается в основном за счет аккумуляции энергии в виде триглицеридов. У бурой жировой ткани энергия рассеивается в виде тепла в ходе термогенеза [10; 12]. По данным Wu J. et al. (2012 г.) выделяют еще третий тип переходный - бежевую (beige) жировую ткань, функции которой окончательно не установлены. Она локализована у взрослого подкожно между ключиц и вдоль позвоночного столба. Известно, что адипоциты белой жировой ткани могут претерпевать трансдифференцировку в адипоциты бурой через бежевую жировую ткань. Этот феномен «коричневения» белой жировой ткани, возникающий при холодовом воздействии и длительной стимуляции β 3-адренорецепторов, служит важным механизмом поддержания энергетического обмена и температурного гомеостаза термогенеза [12].

Распределение и концентрация белой жировой ткани имеет различия в зависимости от возраста и пола, а также выявляется неравномерность в её распределении в организме: поверхностное и глубокое расположение. Поверхностный слой располагается преимущественно подкожно и образуют гиподерму, которая содержит около 80% всех запасов жира и локализуется преимущественно в области передней брюшной стенке, в лопаточной и ягодично-бедренной областях. Висцеральные (глубокие) скопления белой жировой ткани локализованы вокруг внутренних органов и в зависимости от локализации делятся на мезентериальную, ретроперитонеальную, сальниковую жировую и перигонадную ткани [13; 14; 15].

Основу ЖТ составляют адипоциты, содержащие в себе гранулы накопленного жира (триглицериды). По метаболической активности подкожная жировая клетчатка и висцеральный жир существенно отличаются: абсорбция триглицеридов висцеральной жировой тканью происходит на 50 % активнее [16]. Оттенок белой жировой ткани варьирует от белого до темно-желтого в зависимости от рациона питания и содержания в жире каротиноидов. Кроме адипоцитов, жировая ткань содержит стромальную сосудистую фракцию (SVF) включая преадипоциты, фибробласты, эндотелиальные клетки сосудов, а также лейкоциты, тучные клетки и макрофаги [17; 18]. Прослойки рыхлой соединительной волокнистой ткани делят жировую ткань на дольки, размеры которых прямо пропорциональны степени выраженности этой ткани.

Адипоциты белой жировой ткани содержат одну большую каплю жира при световой микроскопии, однако при электронно-микроскопическом исследовании адипоцита в цитоплазме могут визуализироваться мельчайшие капли жира, которые не окружены мембраной [19]. Ядро белого адипоцита уплощенное или в форме полумесяца. Адипоциты бурой жировой ткани содержат в цитоплазме несколько небольших капель жира и округлое, центрально расположенное ядро. Благодаря наличию в этих клетках большого количества митохондрий, содержащих железосодержащие ферменты - цитохромы, островки этой ткани визуальны могут иметь следующие цвета: светло-кофейный, темно-шоколадный или буровато-красноватый. Бурый жир располагается в области шеи, над ключицами, вдоль позвоночника, в подмышечной, медиастинальной, перикардальной, околопочечной и околонадпочечниковой, трахео-пищеводной, межреберной и мезентериальной областях, а также образует комочки Биша на лице. У новорожденных BAT составляет около 5% массы тела [11]. Считалось,

что бурый жир присутствует только у грудных детей, способствуя их температурной адаптации после рождения. Но в 2007 году ВАТ у взрослых была обнаружена шведскими исследователями методами позитронно-эмиссионной томографии (FDG PET) для фтородезоксиглюкозы при отслеживании метастазирования опухолей. Основные депо ВАТ находятся в надключичной области, области шеи, изредка имеют паравerteбральную, средостенную, парааортальную и надпочечную локализации [20; 21; 22]. В настоящее время известно, что количество бурой жировой ткани у женщин больше, чем у мужчин, что обуславливает повышенный метаболизм ВАТ в женском организме [10].

Бурая жировая ткань активна только при низкой температуре окружающей среды. ВАТ осуществляет несократительный термогенез, то есть происходит теплопродукция за счет липолиза под влиянием симпатических воздействий и адреналина. Скорость термогенеза сохраняет постоянство температуры тела, необходимое для поддержания метаболических процессов в организме на нормальном уровне. ВАТ хорошо васкуляризована и иннервирована, в ней много симпатических нервных волокон. На мембранах бурых адипоцитов находится большое количество норадреналиновых рецепторов. Окислительная способность адипоцитов бурой жировой ткани примерно в 20 раз выше, чем белой жировой ткани [11]. При этом большая часть энергии идет на теплопродукцию и лишь незначительная часть свободной энергии запасается в виде АТФ. На мембранах митохондрий бурой жировой ткани активен разобщающий белок (UCP1, термогенин). Производство тепла при помощи UCP1 в бурой жировой ткани происходит с разобщением процессов клеточного дыхания и фосфорилирования, позволяя протонам возвращаться из межмембранного пространства в матрикс митохондрий, то есть быстрое окисление питательных веществ происходит с низкой интенсивностью производства АТФ.

В висцеральной жировой ткани на 100-200 белых адипоцитов приходится один бурый адипоцит, а при ожирении соотношение этих клеток изменяется в сторону уменьшения бурых адипоцитов, вплоть до полного их отсутствия. Ученые Диабетического Центра Джослина обнаружили, что бурая жировая ткань может повышать толерантность к глюкозе, усиливать чувствительность к инсулину, снижать массу тела и усиливать обмен веществ [16].

Промежуточная разновидность жировой ткани – бежевая жировая ткань представлена бежевыми адипоцитами. В подкожной и висцеральной белой жировой ткани бежевые адипоциты

встречаются в виде диффузно локализованных клеток. Под действием некоторых других стимулов, например при низкой температуре, их численность возрастает. Установлено, что бежевые жировые клетки имеют как общие генетические маркеры с бурыми адипоцитами (UCP1, Pgc1a, Cidea и PRDM16), так и специфические маркеры (Cited 1, Tmem 26, CD 137 и Tbx 1). Бежевые адипоциты обладают многими биохимическими и морфологическими характеристиками классических бурых адипоцитов, характеризующимися множественными липидными каплями, большим содержанием митохондрий и экспрессией UCP1. Однако бежевая жировая ткань сочетает в себе свойства не только буровой, но и белой жировой ткани. Так, у бежевых адипоцитов, как и у белых, очень низкая базовая экспрессия гена UCP1, отвечающего за образование термогенина, участвующего в преобразовании энергии в тепло. В то же время, бежевые адипоциты обладают способностью переключаться на аналогичную бурым адипоцитам программу преобразования энергии, наращивая экспрессию UCP1 под воздействием низкой температуры окружающей среды или вырабатываемого во время физической нагрузки гормона ирисина – продукта протеолитического распада белка, кодируемого геном FNDC5 (fibronectin type III domain containing 5). Это проясняет механизм «сжигания жира»: ирисин, вырабатываемый мышечной тканью, активизирует преобразование белой жировой ткани в бурую или в бежевую. Этот процесс предотвращает отложение жира и способствует уменьшению массы тела при ожирении, что, в свою очередь, положительно влияет на течение сахарного диабета 2 типа. Морфология бежевых адипоцитов зависит от состояния последних: в обычных условиях они имеют характеристики белых адипоцитов, при активации – бурых адипоцитов [12; 21].

Появление избыточной массы тела и развитие ожирения связано с увеличением доли белой жировой ткани в организме. Абсолютная масса ЖТ составляет в среднем 10-20% от массы тела, однако при ожирении может увеличиваться до 35-50 % и более [23; 24]. При этом увеличение объема ЖТ происходит не только в местах типичной локализации, но и локально: эпикардальная, периваскулярная и паранефральная ЖТ. Нарушение механизмов регуляции метаболических процессов при ожирении сопровождается характерными морфологическими изменениями в белой жировой ткани. Происходит увеличение размеров жировых клеток и появление белых адипоцитов неправильной формы. Гипертрофированные адипоциты могут достигать 200 мкм в диаметре [25]. Содержание

жира в адипоцитах повышается, отмечается уменьшение межклеточных пространств, истончение межклеточных перегородок и разрыв части из них с образованием жировых кист, что обусловлено атрофией от давления. Между жировыми клетками определяются тонкие волокна рыхлой соединительной ткани. Отмечается увеличение количества кровеносных сосудов в ЖТ и интенсивное ее кровоснабжение, а также хорошо выраженная иннервация. В сосудах микроциркуляторного русла стромы жировой ткани выявляются признаки нарушения кровообращения в виде полнокровия сосудов, стаза форменных элементов крови и диapedезных кровоизлияний. Вследствие нарушения кровообращения сосудов микроциркуляторного русла, в ЖТ развиваются признаки гипоксии, адипонекроз, лимфоцитарно-макрофагальная инфильтрации, с дальнейшими проявлениями воспалительных реакций и фиброза. Очаги воспаления локализованы вокруг гипертрофированных адипоцитов и в сосудистой стенке, пролиферация соединительной ткани представлена интерстициальным и периваскулярным склерозом [26; 27].

Белым жировым клеткам свойственны такие процессы метаболизма, как гликолиз, пентозный цикл и цикл Кребса, в результате которых образуется АТФ для осуществления синтеза жирных кислот, липогенеза и липолиза. Липолиз инициируется норадреналином посредством взаимодействия с β_3 -адренорецепторами и глюкагоном с помощью цАМФ, активирующего триглицеридную липазу. Среди гормонов, оказывающих липолитический эффект следует отметить соматотропин и гормоны щитовидной железы (трийодтиронин и тироксин). Глюкокортикоиды тормозят липогенез, однако этот эффект может нивелироваться их способностью вызывать гипергликемию и стимулировать секрецию инсулина. Липогенез активируется инсулином и $\alpha 2$ -адреномиметиками. Основным эффектом инсулина связан со стимуляцией синтеза нейтральных жиров из глюкозы и жирных кислот, торможения липолиза и снижения уровня глюкозы в крови.

При ожирении гипертрофированные адипоциты потребляют больше глюкозы, в результате активации гликолиза определяется повышенное образование α -глицерофосфата. Наряду с этим характерен повышенный липогенез: скорость синтеза жирных кислот из глюкозы, связанная с активацией ферментов липогенеза, возрастает в несколько раз. Гипертрофированные адипоциты висцеральной жировой ткани обладают высокой чувствительностью к липолитическому действию катехоламинов и низкой чувствительностью к антилиполитическому действию инсулина, что

вызывает развитие инсулинорезистентности [28; 29].

Морфологические изменения жировой ткани при ожирении проявляются гипертрофией и гиперплазией адипоцитов: жировые клетки способны как увеличиваться в размерах, так и пролиферировать и дифференцироваться из клеток-предшественниц. Гиперплазия адипоцитов ведет к появлению малых адипоцитов, которые более чувствительны к инсулину и обладают большей способностью к накоплению жира. Установлено, что переход к гиперплазии обусловлен ограниченными способностями роста жировой клетки. Так в норме адипоциты могут содержать 0,3-1 мкл жира, и в случае повышения этого показателя утрачивают способность накапливать лишний жир, что приводит к эктопическому отложению жира в других тканях и развитию феномена липотоксичности [30]. При выраженной гипертрофии адипоциты подвергаются снижению относительного количества и плотности рецепторов к инсулину и соответственно - чувствительности к данному гормону. Метаболические особенности висцеральной жировой ткани проявляются количественной неоднородностью распределения рецепторов. Наблюдается повышенное содержание β_3 -адренорецепторов, рецепторов к глюкокортикоидам и андрогенам, но пониженное содержание β_2 -адренорецепторов и рецепторам к инсулину [28; 31; 32]. Кроме того, избыточный объем и эктопическая локализация жировой ткани приводят к нарушению не только ее метаболической, но и секреторной функции.

Согласно современным представлениям, белая жировая ткань – это не только энергетическое депо, но и орган, обладающий ауто-, пара- и эндокринной функцией и секретирующий большое количество белковых факторов и гормоноподобных пептидов с различными биологическими эффектами, получивших название адипоцитокинов. Некоторые из адипоцитокинов могут оказывать влияние на чувствительность к инсулину и метаболизм глюкозы, что определяет связь между ожирением в составе метаболического синдрома с одной стороны и СД 2 типа и/или патологии сердечно-сосудистой системы - с другой. В настоящее время идентифицировано более 50 адипоцитокинов: лептин, адипонектин, адипсин, фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), ретинолсвязывающий белок 4 (RBP4), трансформирующий фактор роста (TGF β), интерлейкины (IL-1, IL- 6, IL-8, IL-10, IL-18), ингибитор активатора плазминогена - 1(PAI-1), резистин, остеоонектин, висфатин, ангиотензин и др.

Наиболее высоко экспрессируемым жировой тканью адипоцитокином является адипонектин - продукт гена *adipoQ*. Он представляет со-

бой белок, обладающий сродством к коллагену VIII и X типов и синтезируемый только зрелыми адипоцитами. Секреция адипонектина встречается исключительно в жировой ткани, причем в висцеральном жире она ниже, чем подкожном. Адипонектин в большом количестве присутствует в циркулирующей плазме и составляет в норме 5–20 мкг/мл, причем его концентрации выше у женщин, чем у мужчин. При метаболическом синдроме характерно снижение уровня адипонектина в сыворотке крови. Одним из основных свойств адипонектина является повышение чувствительности периферических тканей к инсулину, снижение уровня свободных жирных кислот в сыворотке крови с уменьшением содержания триглицеридов в клетках печени и мышечной ткани [33; 34]. Помимо этого, адипонектин ингибирует экспрессию адгезивных молекул в эндотелиальных клетках и образование цитокинов макрофагами, следствием чего является угнетение воспалительных процессов в сосудистой стенке [35; 36]. Биологический эффект адипонектина также связан с регулированием энергетического гомеостаза, противовоспалительными, противоопухолевыми и антиатерогенными свойствами [37].

Другой адипоцитокин - резистин угнетает инсулин-опосредованный захват глюкозы тканями-мишенями, является антагонистом инсулина, участвует в стимуляции механизмов воспаления, активации эндотелия и пролиферации гладких мышечных клеток сосудов, что позволяет рассматривать его в качестве маркера развития заболеваний сердечно-сосудистой системы. Ученые Пенсильванского университета С. М. Steppan и соавт. (2001) определили роль резистина как связующего звена между ожирением и сахарным диабетом. Было показано в экспериментальных исследованиях, что у мышей с ожирением уровень данного адипокина в крови повышен, а при применении у них препаратов, снижающих инсулинорезистентность, концентрация резистина уменьшена [38].

Еще одним медиатором инсулинорезистентности при метаболическом синдроме является фактор некроза опухоли альфа (TNF- α). В жировой ткани TNF- α активно экспрессируется адипоцитами висцерального жира. Полагают, что TNF- α оказывает в основном ауто- и паракринное действие и имеет большое значение для развития инсулинорезистентности преимущественно в жировой ткани. TNF- α снижает активность тирозинкиназы инсулинового рецептора и фосфорилирования тирозина субстрата инсулинового рецептора, вызывает торможение экспрессии ГЛЮТ-4 (внутриклеточных переносчиков глюкозы) в мышечной и жировой ткани [39].

TNF- α индуцирует липолиз и стимулирует липогенез в печени, способствуя высвобождению жирных кислот в кровь и повышению уровня циркулирующих свободных жирных кислот. TNF- α может действовать в синергизме с другими адипоцитокинами – интерлейкинами 1 и 6, а также стимулировать секрецию лептина. Обратная корреляция наблюдается между уровнем адипонектина и лептина [14; 39].

Лептин играет важную роль в развитии инсулинорезистентности и нарушении метаболизма липидов и глюкозы. Помимо своих основных метаболических функций, лептин оказывает глубокое влияние на ряд других физиологических процессов, таких как фертильность и иммунитет. Данный адипоцитокин продуцируется преимущественно белыми адипоцитами гиподермы. Лептин также может вырабатываться бурными адипоцитами, а также клетками других органов, таких как скелетные мышцы, слизистая желудка, плацента, эпителий молочной железы, гипофиз. У женщин секреция лептина примерно в 2 раза выше, чем у мужчин. Лептин осуществляет свое действие на уровне гипоталамуса, регулируя пищевое поведение (снижает аппетит путём ингибирования синтеза нейропептида Y - NPY), а также влияет на активность симпатической нервной системы и ряд нейроэндокринных функций (гипофизарно-надпочечниковой, гонадной и тиреоидной систем). Ведущими биологическими эффектами лептина являются: поддержание энергетического гомеостаза, контроль действия инсулина на глюконеогенез и транспорт глюкозы [35; 39].

Врожденный дефицит лептина у людей приводит к развитию булимии, ожирения, иммунодепрессии и гипоталамического гипогонадизма; приобретенный – приводит к стимуляции потребления пищи и угнетению иммунитета, снижению активности щитовидной и половых желез [14]. Лептин значительно снижает секрецию инсулина панкреатическими β -клетками, следовательно существует прямая зависимость между уровнем лептина и степенью инсулинорезистентности. При метаболическом синдроме формируется селективная центральная резистентность к лептину, когда клетки перестают утилизировать жирные кислоты в достаточных количествах, приводя избытку этого энергетического материала в организме и увеличению свободных жирных кислот в крови. Ответной реакцией на это является прекращение липолиза в жировой ткани и секреции жирных кислот в кровь, при этом триглицериды аккумулируются в адипоцитах в возрастающих количествах. В жировой ткани возрастает число незрелых адипоцитов, не имеющих ферментных систем

для аккумуляции и мобилизации депонированного жира. Лептин, как и TNF- α , является эндогенным липотропным веществом, снижающим риск развития стеатоза печени и жировой дистрофии. Также лептин обладает противовоспалительным эффектом. Пониженные уровни лептина могут предрасполагать к повышенной восприимчивости к инфекции, вызванной снижением Т-клеточных иммунных ответов у истощенных людей.

Снижение уровня экспрессии транспортера глюкозы GLUT-4 приводит к повышенной секреции и увеличению уровня синтеза специфического протеина - RBP4 (ретинол-связывающего белка 4) в ЖТ, индуцирующего развитие инсулинорезистентности. Функцией RBP4 является транспорт витамина А к тканям – мишеням. Повышение уровня RBP4 в сыворотке крови приводит к системной инсулинорезистентности, тогда как его снижение усиливает действие инсулина. Выявлена взаимосвязь между уровнем RBP4 и высоким риском развития жирового гепатоза, СД 2 типа, нефропатии и сердечно-сосудистых заболеваний [18; 40].

Состояние ожирения характеризуется так называемым слабым системным воспалением. 10% клеток WAT представляют собой CD14 + CD31 + макрофаги. Количество макрофагов, присутствующих в WAT, напрямую коррелирует с ожирением и размером адипоцитов. Число макрофагов в ЖТ у человека при ожирении увеличивается от 4% до 12% (Weisberg S.P. et al., 2003). В ЖТ макрофаги находятся в двух функциональных фенотипах: M1 – провоспалительные макрофаги (вызывают латентное воспаление) и M2 - резидентные противовоспалительные (играют важную роль в тканевом гомеостазе). Между макрофагами и адипоцитами существует определённая связь: при ожирении воспалительные сигналы M1 макрофагов стимулируют развитие инсулинорезистентности. Основным звеном в воспалительном процессе в жировой ткани является самоподдерживающийся цикл с участием TNF α и NF κ B (фактор транскрипции, контролирует экспрессию генов иммунного ответа). Происходит взаимное влияние макрофагов и гипертрофированных адипоцитов и M1. Выделяемый M1 макрофагами TNF α взаимодействует с рецептором адипоцита и стимулирует липолиз с образованием свободных жирных кислот. Свободные жирные кислоты способны активировать TLR4 (толловый рецептор, участвующий во врождённых иммунных реакциях) и NF κ B, в результате чего запускается экспрессия ряда провоспалительных генов (в том числе TNF α). В условиях высококалорийной диеты и гипертрофии адипоцитов воспалительный цикл замыкается [25].

Макрофаги являются основным источником TNF- α и вырабатывают примерно 50% ИЛ-6 из WAT. Макрофаги, присутствующие в WAT людей с ожирением, продуцируют более высокие уровни TNF- α , IL-6 и хемокинов (цитокинов, регулирующих миграцию лейкоцитов в ткани) по сравнению с таковыми у людей без избыточной массы тела. Фактически такие маркеры воспаления, как С-реактивный белок (СРБ) и ИЛ-6, повышены у лиц с ожирением, хотя не в той же степени, как в случаях классических воспалительных состояний. Наличие системного воспаления и дислипидемия повышает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и СД II типа при ожирении, особенно в случае висцерального ожирения [13; 18; 27].

ЖТ содержит небольшое количество сосудов, но благодаря развитой системе капилляров в норме каждый адипоцит получает все необходимые вещества. Увеличение размеров адипоцитов может вызывать гипоксию ЖТ. При гипоксии происходит стимуляция экспрессии провоспалительных адипокинов, что изменяет метаболизм адипоцитов и функциональное состояние ЖТ в целом, а также стимулирует и поддерживает воспалительный процесс [41].

Биологическим индикатором метаболических изменений при ожирении является TGF- β 1 (трансформирующий фактор роста бета-1) - цитокин, участвующий в регуляции клеточного роста, пролиферации и дифференцировки, а также апоптоза клеток. Недавние исследования показали возможное влияние TGF- β 1 на ожирение. Определено, что TGF- β 1 играет центральную роль в развитии метаболического синдрома в детском возрасте, который является прогностическим признаком метаболического синдрома у взрослых, неалкогольной жировой болезни печени и СД 2 типа. Кроме того, TGF- β 1 является мощным инициатором пролиферации мезангиальных клеток почек, приводящей к хроническому заболеванию почек, и существует связь между уровнем TGF- β 1 в сыворотке крови и факторами риска прогрессирования почечной патологии [42; 43].

При абдоминальном ожирении определяется повышенный уровень в плазме крови ингибитора активатора плазминогена-1 (ИТАП-1), вырабатываемого в жировой ткани и относящегося к семейству ингибиторов сериновых протеаз. Экспрессируется он в большей степени адипоцитами висцерального жира. ИТАП-1 регулирует активность антикоагулянтной и фибринолитической систем, оказывая влияние на состояние кровотока в сосудах. Механизм действия ИТАП-1 связан с ингибированием

тканевого активатора плазминогена и урокиназы, что способствует нарушению процессов фибринолиза, повышая риск макрососудистых осложнений [44]. При метаболическом синдроме существует повышенная экспрессия ИТАП-1 гена и положительная корреляция между показателем ИТАП-1 и параметрами метаболического синдрома: уровнем гликемии натощак, инсулина триглицеридов, липопротеидов низкой плотности, массой висцеральной жировой ткани и индексом массы тела [17].

Жировая ткань является вторым после печени источником ангиотензина, причём больше выражен синтез этого белка адипоцитами висцеральной жировой ткани, чем подкожной. Также адипоциты вырабатывают ферменты, конвертирующие ангиотензиноген в ангиотензин I и ангиотензин II, участвующий в механизмах развития артериальной гипертензии. Ангиотензин II является проатерогенным белком, способствуя нарушению целостности стенки сосудов [17]. Также, установлено, что компоненты ренин-ангиотензиновой системы воздействует на процессы адипогенеза. Так, ангиотензин II стимулирует рост и дифференцировку преадипоцитов; влияет на кровоток в сосудах жировой ткани и симпатическую активность в ней; тормозит липолиз и стимулирует липогенез, снижает инсулинзависимое поглощение глюкозы, увеличивает глюконеогенез в печени и гликогенолиз [45].

Наряду с секрецией адипокинов, жировая ткань содержит ферменты, которые активируют взаимопревращение и инактивацию половых стероидов, регулирующих специфику распределения жира в организме и играющих определенную роль в развитии метаболического синдрома. Наиболее изученными из ферментов являются цитохром P450 зависящая ароматаза, 3β -гидроксистероидная дегидрогеназа (ГСД), 3α ГСД, 11β ГСД1, 17β ГСД, 7α -гидроксилаза и 5α -редуктаза. Ароматаза способствует превращению андрогенов в эстрогены, 11β ГСД1, 17β ГСД и 5α -редуктаза конвертирует тестостерон в его активный дериват дигидротестостерон. 11β ГСД1 также катализирует превращение кортизона в кортизол. Повышение его экспрессии в адипоцитах приводит к развитию висцерального ожирения, инсулинорезистентности и дислипидемии, поэтому использование фармакологической инактивации 11β ГСД1 уменьшает проявление вышеназванных нарушений. Соотношение 17β ГСД и цитохром P450 зависимой ароматазы положительно коррелирует с ожирением, способствуя локальному увеличению продукции андрогенов в висцеральных жировых депо. Установлено, что стероидный и пептидный компоненты эндокринной функции

жировой ткани тесно взаимосвязаны: адипоцитокнины выполняют в жировой ткани роль модификаторов активности стероидных ферментов, например, ароматаза стимулируется лептином, ИЛ-6, ФНО-альфа [45].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Жировая ткань является органом, выполняющим эндокринную и иммунную функции. При увеличении массы висцеральной жировой ткани происходит нарушение регуляции выработки адипоцитокинов, способствующих хроническому иммунному воспалению, которое играет основополагающую роль в формировании инсулинорезистентности и патогенезе метаболического синдрома и его осложнений. Дисбаланс адипоцитокинов сопряжен с развитием СД 2 типа, артериальной гипертензии, дислипидемии, гиперкоагуляции, жирового гепатоза, атеросклероза, кардиальных и других осложнений.

Дальнейшее изучение эндокринной функции жировой ткани и свойств адипоцитокинов представляет широкие возможности поиска новых методов медикаментозного лечения ожирения, его осложнений и коморбидных состояний.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лобанова М. В. Метаболический синдром или синдром «X». Медицинский журнал. 2008;24(2):105-109.
2. Калашникова М. Ф. Метаболический синдром: современный взгляд на концепцию, методы профилактики и лечения. Эффективная фармакотерапия. 2013;55:52-63.
3. Кастуева Н. Д., Цидаева Т. И., Беликова З. Ф., Майсурадзе Л. В. Патогенетические аспекты метаболического синдрома у женщин репродуктивного возраста (обзор литературы). Кубанский научный медицинский вестник. 2019;(26)2:162-172. doi:10.25207/1608-6228-2019-26-2-162-172.
4. Колопкова Т. А., Блинова В. В., Скворцов Ю. И., Субботина В. Г. Метаболический синдром X – пандемия XXI века. Саратовский научно-медицинский журнал. 2008;21(3):130-134.
5. Смирнова Л. Е., Виноградов В. Ф., Смирнов А. В., Ковтунова Н. П., Качалова А. С. Метаболический синдром с позиций кардиолога и гастроэнтеролога: современные аспекты проблемы Верхневолжский медицинский журнал. 2012;10 (2):11-15.
6. Рекомендации экспертов Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома, Практическая медицина. 2010;44(5):81-101.

7. Ильницкий А.Н., Прощаев К.И. Метаболический синдром. Мн.: Инторгсервис. 2004.
8. Гинзбург М. М., Крюков Н. Н. Ожирение. Влияние на развитие метаболического синдрома. Профилактика и лечение. М.: Мед-практика. 2002.
9. Беляков Н. А., Сеидова Г. Б., Чубриева С. Ю., Глухов Н. В. Метаболический синдром у женщин (патофизиология и клиника). СПб: СПбМАПО: 2005.
10. Медведев Л. Н. Елсукова Е. И. Бурая жировая ткань: молекулярные основы регулируемого термогенеза. К: Амальгама. 2002.
11. Мяделец О. Д., Мяделец В. О., Соболевская И. С., Кичигина Т. Н. Белая и бурая жировые ткани: взаимодействие со скелетной мышечной тканью. Вестник ВГМУ. 2014;13(5):32-44.
12. Кокшарова Е. О., Майоров А. Ю., Шестакова М. В., Дедов И. И. Метаболические особенности и терапевтический потенциал бурой и «бежевой» жировой ткани. Сахарный диабет. 2014;4:5-15. doi:10.14341/DM201445-15.
13. Berry D. C., Stenesen D., Zeve D. et al. The developmental origins of adipose tissue. *Development*. 2013; 140(19): 3939–3949. doi:10.1242/dev.080549.
14. Bjørndal B., Burri L., Staalesen V. et al. Different Adipose Depots: Their Role in the Development of Metabolic Syndrome and Mitochondrial Response to Hypolipidemic Agents. *Journal of Obesity*. 2011. doi:10.1155/2011/490650.
15. Соловьева А. В., Ракита Д. Р. Клиническое значение висцеральных депо жировой ткани. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2017;12(4):358-361. doi:10.14300/mnnc.2017.12100.
16. Баранова А. В. Генетика адипокинов: секреторный дисбаланс жировой ткани как основа метаболического синдрома. *Генетика*. 2008;44(10):1338-1355.
17. Бутрова С. А., Дзгоева Ф. Х. Висцеральное ожирение - ключевое звено метаболического синдрома. *Ожирение и метаболизм*. 2004;1:10-16.
18. Косыгина А. В. Адипоцитокينات в научной и клинической практике. *Ожирение и метаболизм*. 2011;1:32-39.
19. Rajala M., Scherer E. The Adipocyte – at the Crossroads of Energy Homeostasis, Inflammation. And Atherosclerosis. *Endocrinology*. 2003;144(9):3765-3773. doi:10.1210/en.2003-0580.
20. Nedergaard J., Bengtsson T., Cannon B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007;293(2):444-452. doi:10.1152/ajpendo.00691.2006.
21. Елсукова Е. И., Медведев Л. Н. Новый тип термогенных адипоцитов: происхождение, свойства, функции. В мире научных открытий. 2016;80(8):97-127. doi:10.12731/wsd-2016-8-97-127.
22. Егоров А. Д., Пеньков Д. Н. Ткачук В. А. Молекулярные и клеточные механизмы адипогенеза. Сахарный диабет. 2015;18(2):12-19. doi:10.14341/DM201512-19.
23. Николаев Д. В., Смирнов А. В., Бобринская И. Г., Руднев С. Г. Биоимпедансный анализ состава тела человека. М: Наука. 2009
24. Сундукова Е. Л., Миняйлова Н. Н., Ровда Ю. И. Физиологические и эндокринологические аспекты жировой ткани, количественные и топографические методы ее диагностики в клинической практике. *Мать и дитя в Кузбассе*. 2009;38(3):3-8.
25. Стафеев Ю. С., Меньшиков М. Ю., Цоколаева З. И., Шестакова М. В., Парфенова Е. В. Молекулярные механизмы возникновения латентного воспаления при метаболическом синдроме. Вероятная роль сиртуинов и рецепторов активации пролиферации пероксисом γ. *Биохимия*. 2015;10:1480-1492.
26. Милица К. Н., Сорокина И. В., Мирошниченко М. С., Плитень О. Н. Иммуногистохимические особенности жировой ткани сальника и подкожной жировой клетчатки у лиц с избыточной массой тела, ожирением и метаболическим синдромом. *Morphologia*. 2016;10(3):203-207. doi:10.26641/1997-9665.2016.3.203-207.
27. Свеклина Т. С., Таланцева, М. С. Барсуков А. В. Метаболический синдром и воспаление: актуальные вопросы патогенеза. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013;3:7-10.
28. Дробышевская В. А. Нарушение липидного обмена у пациентов с алиментарным ожирением (обзор литературы). *Проблемы здоровья и экологии*. 2010;26(4):109- 114.
29. Хакунов Р. Н. Метаболический синдром: история вопроса. Обзор литературы. *Новые технологии*. 2012;4:318-324.
30. Красильникова Е. И, Симоненкова А. В. Карабицкая Н. Л., Шапкина Е. А., Баранова Е. И. Особенности строения и функционирования жировой ткани в норме и при развитии ожирения. *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова*. 2012;19(3):99-107.
31. Порядин Г. В., Осколок Л. Н. Патофизиологические аспекты метаболического синдрома. *Лечебное дело*. 2011;4(4-10).
32. Frayn K., Karpe F. Integrative physiology of human adipose tissue. *Int. J. Obes. Relat. Meabol. Disord.* 2003;27(8):875-888. doi: 10.1038/sj.ijo.0802326.
33. Chandran M. I., Phillips S. A., Ciaraldi T., Henry R. R. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care*. 2003;26(8):2442-2450. doi: 10.2337/diacare.26.8.2442.
34. Fruhbeck G., Gomez-Ambrosi J. et al. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2001;280(6):827-847. doi:10.1152/ajpendo.2001.280.6.E827.
35. Matsubara M., Maruoka, S., Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur. J. Endocrinol.* 2002;47(2):173-180. doi:10.1530/eje.0.1470173.

36. Matsubara M., Maruoka, S., Katayose S. Decreased plasma adiponectin concentrations in women with dyslipidemia. 2002;87(6):2764-2769. doi:10.1210/jcem.87.6.8550.

37. Ермакова М. А., Шпагина Л. А. Взаимосвязь маркеров эндотелиальной дисфункции резистина и адипонектина при артериальной гипертензии в условиях высокого профессионального риска. Медицина и образование в Сибири. 2014;2:33.

38. Вербовой А. Ф., Цанова И. А., Вербовая Н. И., Галкин Р. А. Резистин – маркер сердечно-сосудистых заболеваний. Ожирение и метаболизм. 2017;14(4):5-9. doi:10.14341/omet201745-9.

39. Бутрова С. А. Метаболический синдром: патогенез, клиника, диагностика, подходы к лечению РМЖ. 2001;2:56-60.

40. Васюк Ю. А., Садулаева И. А., Ющук Е. Н., Трофименко О. С., Иванова С. В. Ретинол-связывающий белок как маркер сердечно-сосудистого риска у пациентов с артериальной гипертензией и ожирением. Российский кардиологический журнал. 2018;156(4):14-18. doi:10.15829/1560-4071-2018-4-14-18.

41. Zatterale F., Longo M., Naderi J. Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. Front. Physiol., 29 January 2020 Available at. doi:10.3389/fphys.2019.01607.

42. Morrison J. A., Friedman L. A., Wang P., Glueck C. J. Metabolic syndrome in childhood predicts adult metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus 25 to 30 years later. J. Pediatr. 2008;152(2):201-206. doi:10.1016/j.jpeds.2007.09.010.

43. Suthanthiran M., Gerber L. M., Schwartz J. E. Circulating transforming growth factor- β 1 levels and the risk for kidney disease in African Americans. Kidney Int. 2009;76(1):72–80. doi:10.1038/ki.2009.66.

44. Кельмамбетова З. Р. Гагарина, А. А., Гордиенко А. И., Бакова А. А., Химич Н. В., Садовой В. И., Ушаков А. В. Фактор Виллебранда и ингибитор тканевого активатора плазминогена- 1 в динамике развития инфаркта миокарда у больных сахарным диабетом. Таврический медико-биологический вестник. 2013;16 (3): 85-88.

45. Дедов И. И., Мельниченко Г. А., Бутрова С. А. Жировая ткань как эндокринный орган. Ожирение и метаболизм. 2006;1:6-13.

REFERENCES

1. Lobanova M. V. Metabolic syndrome or syndrome «X». Medical journal. 2008;24(2): 105-109. (In Russ.).

2. Kalashnikova M. F. Metabolic syndrome: a modern view of the concept, methods of prevention and treatment. Effective pharmacotherapy. 2013;55:52-63. (In Russ.).

3. Kastueva N. D., Tsiadaeva T. I., Belikova Z. F., Maisuradze L. V. Pathogenetic aspects of metabolic syndrome in women of reproductive age (literature review). Kuban Scientific Medical Bulletin. 2019;(26)2:162-172. doi:10.25207/1608-6228-2019-26-2-162-172. (In Russ.).

4. Kolopkova T. A., Blinova V. V., Skvortsov Yu. I., Subbotina V. G. Metabolic syndrome X - pandemic of the XXI century. Saratov Journal of Medical Scientific Research, 2008;21(3):130-134. (In Russ.).

5. Smirnova L. E., Vinogradov V. F., Smirnov A. V., Kovtunova N. P., Kachalova A. S. Metabolic syndrome from the perspective of a cardiologist and gastroenterologist: modern aspects of the problem Verkhnevolzhsky medical journal. 2012;10(2):11-15. (In Russ.).

6. Recommendations of experts of the All-Russian Scientific Society of Cardiology for the diagnosis and treatment of metabolic syndrome, Practical medicine. 2010;44(5): 81-101. (In Russ.).

7. Ilnitskiy A. N., Proshchaev K. I. Metabolic syndrome. Minsk: Intorgservice. 2004. (In Russ.).

8. Ginzburg M. M., Kryukov N. N. Obesity. Influence on the development of metabolic syndrome. Prevention and Treatment. M.: Medical practice. 2002. (In Russ.).

9. Belyakov N. A., Seidova G. B., Chubrieva S. Yu., Glukhov N. V. Metabolic syndrome in women (pathophysiology and clinical picture). SPb: SPbMAPO: 2005. (In Russ.).

10. Medvedev L. N., Elsukova E. I. Brown adipose tissue: molecular basis of regulated thermogenesis. K: Amalgam. 2002. (In Russ.).

11. Myadec O. D., Myadec V. O., Sobolevskaya I. S., Kichigina T. N. White and brown adipose tissue: interaction with skeletal muscle tissue. Vestnik VSMU. 2014;13 (5):32-44. (In Russ.).

12. Koksharova E. O., Mayorov A. Yu., Shestakova M. V., Dedov I. I. Metabolic characteristics and therapeutic potential of brown and «beige» adipose tissue. Diabetes. 2014;4:5-15. doi:10.14341 / DM201445-15. (In Russ.).

13. Berry D. C., Stenesen D., Zeve D. et all. The developmental origins of adipose tissue. Development. 2013;140(19):3939–3949. doi:10.1242/dev.080549.

14. Bjørndal B., Burri L., Staalesen V. et all. Different Adipose Depots: Their Role in the Development of Metabolic Syndrome and Mitochondrial Response to Hypolipidemic Agents. Journal of Obesity. 2011. doi:10.1155/2011/490650.

15. Solovieva A. V., Rakita D. R. Clinical significance of visceral depots of adipose tissue. Medical Bulletin of the North Caucasus. 2017;12(4):358-361. doi:10.14300/mnnc.2017.12100. (In Russ.).

16. Baranova A. V. Genetics of adipokines: secretory imbalance of adipose tissue as the basis of metabolic syndrome. Genetics. 2008;44(10):1338-1355. (In Russ.).

17. Butrova S. A., Degoeva F. Kh. Visceral obesity is a key link in the metabolic syndrome. Obesity and metabolism. 2004;1:10-16. (In Russ.).

18. Kosygina A. V. Adipocytokines in scientific and clinical practice. Obesity and metabolism. 2011; 1: 32-39. (In Russ.).

19. Rajala M., Scherer E. The Adipocyte – at the Crossroads of Energy Homeostasis, Inflammation. And

- Atherosclerosis. Endocrinology. 2003;144(9):3765-3773. doi:10.1210/en.2003-0580.
20. Nedergaard J., Bengtsson T., Cannon B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2007;293(2):444-452. doi:10.1152/ajpendo.00691.2006.
21. Elskova E. I., Medvedev L. N. A new type of thermogenic adipocytes: origin, properties, functions. In the world of scientific discovery. 2016;80(8):97-127. doi:10.12731/wsd-2016-8-97-127. (In Russ.).
22. Egorov A. D., Penkov D. N., Tkachuk V. A. Molecular and cellular mechanisms of adipogenesis. *Diabetes.* 2015;18(2):12-19. doi:10.14341/DM2015212-19. (In Russ.).
23. Nikolaev D. V., Smirnov A. V., Bobrinskaya I. G., Rudnev S. G. Bioimpedance analysis of human body composition. M: Science. 2009. (In Russ.).
24. Sundukova E. L., Minyaylova N. N., Rovda Yu. I. Physiological and endocrinological aspects of adipose tissue, quantitative and topographic methods of its diagnosis in clinical practice. *Mother and child in Kuzbass.* 2009;38(3):3-8. (In Russ.).
25. Stafeev Yu. S., Menshikov M. Yu., Tsokolaeva Z. I., Shestakova M. V., Parfenova E. V. Molecular mechanisms of latent inflammation in metabolic syndrome. Probable role of sirtuins and peroxisome proliferation activation receptors γ . *Biochemistry.* 2015;10: 1480-1492. (In Russ.).
26. Milita K. N., Sorokina I. V., Miroshnichenko M. S., Pliten O. N. Immunohistochemical characteristics of omentum adipose tissue and subcutaneous adipose tissue in overweight, obese and metabolic syndrome patients. *Morphologia.* 2016;10(3):203-207. doi:10.26641/1997-9665.2016.3.203-207. (In Russ.).
27. Beetroot T. S., Talantseva, M. S. Barsukov A. V. Metabolic syndrome and inflammation: topical issues of pathogenesis. *Clinical laboratory diagnostics.* 2013;3: 7-10. (In Russ.).
28. Drobyshevskaya V. A. Lipid metabolism disorders in patients with alimentary obesity (literature review). *Health and ecology problems.* 2010; 26(4):109- 114. (In Russ.).
29. Khakunov R. N. Metabolic syndrome: history of the issue. Literature review. *New technologies.* 2012;4:318-324. (In Russ.).
30. Krasilnikova E. I., Simonenkova A. V. Karabitskaya N. L., Shapkova E. A., Baranova E. I. Features of the structure and functioning of adipose tissue in health and development of obesity. *Scientific notes of St. acad. I.P. Pavlova.* 2012;19(3):99-107. (In Russ.).
31. Poryadin G. V., Oskolok L. N. Pathophysiological aspects of metabolic syndrome. *General medicine.* 2011;4(4-10). (In Russ.).
32. Frayn K., Karpe F. et al. Integrative physiology of human adipose tissue. *Int. J. Obes. Relat. Meabol. Disord.* 2003;27(8):875-888. doi:10.1038/sj.ijo.0802326.
33. Chandran M. I., Phillips S. A., Ciaraldi T., Henry R. R. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care.* 2003;26(8):2442-2450. doi: 10.2337/diacare.26.8.2442.
34. Fruhbeck G., Gomez-Ambrosi J. et al. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2001;280(6):827-847. doi:10.1152/ajpendo.2001.280.6.E827.
35. Matsubara M., Maruoka, S., Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur. J. Endocrinol.* 2002;47(2):173-180. doi:10.1530/eje.0.1470173.
36. Matsubara M., Maruoka, S., Katayose S. Decreased plasma adiponectin concentrations in women with dyslipidemia. 2002;87(6):2764-2769. doi:10.1210/jcem.87.6.8550.
37. Ermakova M. A., Shpagina L. A. Interrelation of endothelial dysfunction markers resistin and adiponectin in arterial hypertension in conditions of high occupational risk. *Medicine and education in Siberia,* 2014;2:33. (In Russ.).
38. Verbovoy A. F., Tsanova I. A., Verbovaya N. I., Galkin R. A. Resistin - a marker of cardiovascular diseases. *Obesity and Metabolism.* 2017;14(4):5-9. doi:10.14341/omet201745-9. (In Russ.).
39. Butrova S. A. Metabolic syndrome: pathogenesis, clinical picture, diagnosis, approaches to the treatment of breast cancer. 2001;2:56-60. (In Russ.).
40. Vasyuk Yu. A., Sadulaeva I. A., Yushchuk E. N., Trofimenko O.S., Ivanova S. V. Retinol-binding protein as a marker of cardiovascular risk in patients with hypertension and obesity. *Russian journal of cardiology.* 2018;156(4):14-18. doi: 10.15829 / 1560-4071-2018-4-14-18. (In Russ.).
41. Zatterale F., Longo M., Naderi J. Chronic Adipose Tissue Inflammation Linking Obesity to Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Front. Physiol.,* 29 January 2020 Available at. doi:10.3389/fphys.2019.01607.
42. Morrison J. A., Friedman L. A., Wang P., Glueck C. J. Metabolic syndrome in childhood predicts adult metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus 25 to 30 years later. *J. Pediatr.* 2008;152 (2):201-206. doi:10.1016/j.jpeds.2007.09.010.
43. Suthanthiran M., Gerber L. M., Schwartz J. E. Circulating transforming growth factor- β 1 levels and the risk for kidney disease in African Americans. *Kidney Int.* 2009;76(1):72-80. doi:10.1038/ki.2009.66.
44. Kelmambetova Z. R. Gagarina, A. A., Gordienko A. I., Bakova A. A., Khimich N. V., Sadovoy V. I., Ushakov A. V. von Willebrand factor and tissue plasminogen activator inhibitor - 1 in the dynamics of the development of myocardial infarction in patients with diabetes mellitus. *Tavrichesky medical and biological bulletin.* 2013;16(3):85-88. (In Russ.).
45. Dedov I. I., Melnichenko G. A., Butrova S. A. Adipose tissue as an endocrine organ. *Obesity and metabolism.* 2006;1:6-13. (In Russ.).

УДК: 616.98-036-07-08:578.834.11

DOI: 10.37279/2224-6444-2021-11-1-61-75

КОРОНАВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ (МУТАЦИИ, ГЕНОТИПЫ)

Хайтович А. Б., Ермачкова П. А.

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии, Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Хайтович Александр Борисович, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», e-mail: khaytovych@rambler.ru

For correspondence: Aleksandr B. Khaitovich, MD, Professor of the Department of Microbiology, Virusology and Immunology, Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: khaytovych@rambler.ru

Information about author:

Khaitovich A. B., <http://orcid.org/0000-0001-9126-1182>

Yermachkova P. A., <http://orcid.org/0000-0002-8782-4007>

РЕЗЮМЕ

В публикации проанализированы исследования о выявленных мутациях и их влиянии на изменчивость коронавируса; о выделенных генотипах (линиях, кластерах, клайдах) у SARS-CoV-2, которые имеют важное значение для: оценки биологических свойств коронавируса; определения эпидемиологических путей заноса и распространения вируса; изучения эволюции и происхождения вируса; определения влияния вируса на клинические проявления; разработки лекарственных препаратов, воздействующие на некоторые мишени вируса. В работе описаны генотипы (кластеры, типы, линии) у SARS-CoV-2 и их географическое и временное распространение.

Ключевые слова: коронавирус, геном, мутации, генотипы, кластеры, типы, линии, S-белок.

CORONAVIRUS (GENOME STRUCTURE, REPLICATION)

Khaitovich A. B., Yermachkova P. A.

Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

SUMMARY

The publication analyzes studies on identified mutations and their impact on the variability of coronaviruses; on the identified genotypes (lines, clusters, clades) in SARS-CoV-2, which are important for: assessing the biological properties of coronaviruses; determination of the epidemiological pathways for the introduction and spread of the virus; studying the evolution and origin of the virus; determining the effect of the virus on clinical manifestations; drug development that targets some of the targets of the virus. The work describes the genotypes (clusters, types, lines) of SARS-CoV-2 and their geographical and temporal distribution.

Key words: coronavirus, genome structure, mutations, genotypes, clusters, types, lines, S-protein.

В ранее опубликованных работах описана современная таксономия и классификация коронавируса, которые известны с 30-х годов прошлого столетия, выделенные от различных источников, в том числе от млекопитающих, птиц и других представителей животного мира [1; 2]. В этих работах описаны коронавирусы, имеющие медицинское значение и вызывающие заболевания среди людей, а также обобщены данные иностранных и отечественных исследований, посвященные структуре, геному и репликации, и их особенностям у 7 видов коронавируса, вызывающие заболевания среди людей. В работах большое внимание уделяется описанию вируса SARS-CoV-2, который вызвал пандемию COVID-19, продолжающуюся до настоящего времени [1; 2]. Данная публикация яв-

ляется продолжением работ по обобщению многочисленных результатов исследований вируса SARS-CoV-2 и посвящена мутациям и генотипам этого вируса. Полученные данные играют существенную роль в понимании эволюции вируса, его происхождения, изменении его патогенности и инфекционности, лечении заболевания, разработке профилактических препаратов и других проблемных вопросах.

Мутации.

Мутации – это изменения в кодирующей последовательности генома, которые ведут к изменениям структуры и функции различных биологических объектов, в том числе и вирусов, и передаются по наследству. Различают спонтанные и индуцированные мутации. Спонтанные мутации происходят при отсутствии каких-ли-

бо воздействий из вне, способные вызвать изменения в нуклеиновой кислоте, и чаще всего связаны с ошибками при репликации (частота - 10^6 - 10^9), что может приводить к изменениям в геноме, влияющие на структуру и функцию вирусных частиц, в том числе и у коронавирусов (*HCoV*). Индуцированные мутации продуцируются мутагенами и повышают частоту спонтанных мутаций. Мутации возникают тремя типами молекулярных изменений: точечная - нуклеотидная замена (изменение единственного кодона, кодирующий одну аминокислоту) в мРНК и изменяет аминокислотную последовательность в протеине; сдвиг рамки считывания (frameshift) делеции или вставки нуклеотидов; интеграция транспозонов, IS-последовательностей в нуклеиновой кислоте (делеция) и включение новых фрагментов нуклеиновой кислоты, которые вызывают чрезвычайные изменения в генах.

РНК-вирусы характеризуются высокой частотой мутаций, которые до миллиона раз превышают у их хозяев. Частота мутаций управляет эволюцией вируса и вариабельностью генома, тем самым позволяя вирусам избегать иммунный ответ организма, развивать лекарственную устойчивость, влиять на патогенность вируса, изменять клиническое течение патологических процессов. Мутации отмечены у всех вирусов, в том числе и у коронавирусов. Геномы коронавирусов, размер которых колеблется примерно между 26 000 и 32 000 основаниями, включает в себя переменное число (от 6 до 11) открытых рамок считывания (ORFs). Первая ORF, составляющая примерно 67% всего генома, кодирует 16 неструктурных белков, в то время как остальные кодируют вспомогательные и структурные белки [3]. Трансляция обеих ORF приводит к синтезу двух полипротеинов, которые подвергаются действию вирусных протеиназ для высвобождения компонентов комплекса репликации-транс-

крипции и имеет некоторые отличия у разных видов *HCoV* (рис.1) [4; 5; 6].

Мутации в S-белке (рецептор-связывающем домене коронавирусов).

Из тринадцати мутаций, идентифицированных в области, кодирующей S-белка, шесть - были в субъединице S2, где по две - находились в слитом пептиде (FP) и в гептадном повторе 1 (HR1). Когда мутации S2 были выявлены на фоне мышиноного коронавируса (*MHCoV*) дикого типа, карциноэмбриональным антигеном мышинным (mCEACAM), опосредованная инфекционность была сильно затруднена. Вместе с тем, комбинации четырех изменений остатка S2 опосредовали расширение диапазона хозяев [7]. В другом исследовании было продемонстрировано, что парные мутации в домене HR1 и FP гепаран сульфат связывающего варианта *MHCoV* были достаточными для устранения зависимости с карциноэмбриональным антигеном человека (hCEACAM), а не mCEACAM в качестве рецептора, расширяя диапазон хозяина [8; 9; 10].

Показано, что S-белки всех коронавирусов имеют большое сходство, особенно в S2-областях, но они значительно отличаются в деталях и механизмах проникновения. Специфичность связывания рецепторов различна; конформационные последствия связывания рецепторов различаются; время протеолитического расщепления по отношению к высвобождению вируса, прикреплению и интернализации (от лат. *interims* — внутренний, что означает процесс освоения внешних структур, в результате которого они становятся внутренними регуляторами), также отличаются [11; 12].

Рецептор-связывающий домен (RBD) в белке шипа это наиболее вариабельная часть генома *HCoV*. Установлено, что мутация шести аминокислот в RBD является критической для связывания с рецепторами ACE2 (angiotensin-

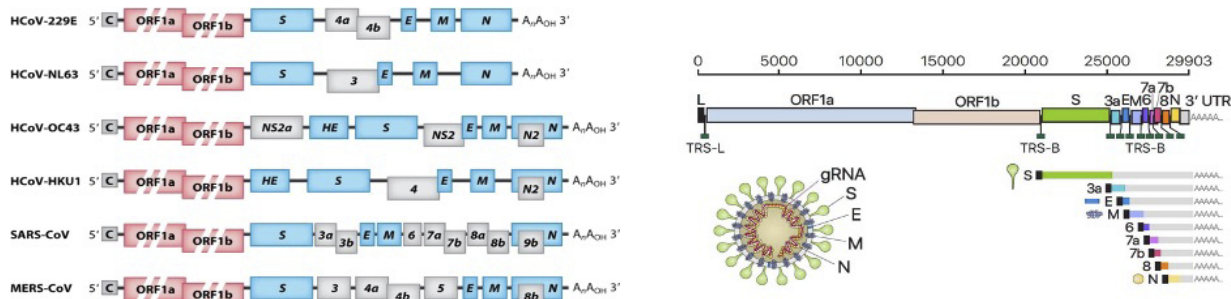


Рис. 1. Схемы сравнительного строения геномов у коронавирусов разных видов, вызывающих заболевания у людей [4, 5].

Условные обозначения:

А. Структура геномов у вирусов HCoV 229E, HCoV NL63, HCoV OC43, HCoV HKU1, SARS-CoV, MERS-CoV; Б. Структура генома вируса SARS-CoV-2.

converting enzyme 2) и для определения диапазона хозяев *SARS-CoV*-подобных вирусов. Координаты мутаций в *SARS-CoV* - Y442, L472, N479, D480, T487, Y4911, которые соответствовали L455, F486, Q493, S494, N501, Y505 в *SARS-CoV-2*, где пять, из этих шести остатков, различаются между собой. Анализ показал, что *SARS-CoV-2* может связывать человеческий ACE2 с высокой степенью аффинности. Для оценки степени аффинности использовались вычислительные методы и проведенный анализ показывает, что взаимодействие вируса с клеткой не являлись идеальным; последовательность RBD *SARS-CoV-2* отличается от *SARS-CoV* и связь не оптимальная для связывания рецептора. Поэтому высокоаффинное связывание S-белка спайка *SARS-CoV-2* с человеческим ACE2, вероятнее, является результатом естественного отбора на человеческом, или подобном человеку ACE2, который позволяет возникать другому оптимальному связыванию. Это может быть одним из доказательств того, что *SARS-CoV-2* не является продуктом целенаправленных манипуляций (рис. 2) [6; 13; 14; 15].

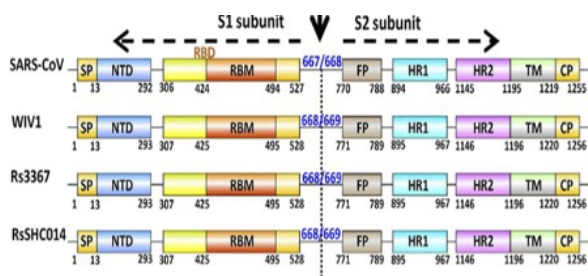


Рис. 2. Строение S-белка у коронавирусов разных видов [6].

Условные обозначения: Общая структура RBD *SARS-CoV-2*, связанного с ACE2.

(а) Общая топология мономера шиповидного белка *SARS-CoV-2*. NTD, N-терминальный домен. RBD, рецептор-связывающий домен. RBM, рецептор-связывающий мотив. SD1, поддомен 1. SD2, поддомен 2. FP, пептид слияния. HR1, гептадный повтор 1. HR2, гептадный повтор 2. TM, трансмембранная область. IC, внутриклеточный домен.

(б) Последовательность и вторичные структуры RBD *SARS-CoV-2*. RBM окрашен в красный цвет.

(с) Общая структура RBD *SARS-CoV-2*, связанного с ACE2. ACE2 окрашен в зеленый цвет. Ядро RBD *SARS-CoV-2* окрашено в голубой цвет, а RBM — в красный. Дисульфидные связи в RBD *SARS-CoV-2* показаны в виде линии и обозначены желтыми стрелками. N-концевая спираль ACE2, ответственная за связывание, помечена.

Исследования ACE2 рецептора на мышах показало, что изменение структуры рецептора, может привести к изменению концентрации Ang II и Ang (1-7), а также апелина, нейротензина, кинина, что может служить одним из подходов к лечению COVID-19 [6, 16]. Кроме того, некоторые исследования показали эффективное действие противовоспалительного, иммунодепрессивного стероидного препарата - дексаметазона - на течение коронавирусной инфекции и снижение риска возникновения осложнений [17; 18].

Мутация у *SARS-CoV-2* в гене RdRp.

Мутагенная способность вируса зависит от нескольких факторов, включая точность вирусных ферментов, реплицирующих нуклеиновые кислоты, таких как РНК-зависимая РНК-полимераза *SARS-CoV-2* (от англ. RNA-dependent RNA-polymerase - RdRp). Проведен геномный анализ 220 геномных последовательностей у вирусов, выявленных у инфицированных пациентов *SARS-CoV-2* в различных странах (с декабря 2019 г. по март 2020 г.) [19]. Данные о структуре геномов взяты из баз данных GISAID и GenBank и затем математически обработаны. Проведено выравнивание геномов с использованием Clustal Omega (программа выравнивания между тремя или более последовательностями), а для оценки статистической значимости применяли U-критерий Манна-Уитни (от англ. Mann-Whitney U-test - статистический критерий, используемый для оценки различий между двумя независимыми выборками по уровню какого-либо признака, измеренного количественно) и критерий Фишера (F-критерий - статистический критерий при выполнении нулевой гипотезы имеет F-распределение и проводится путём сравнения значения статистики с критическим значением распределения Фишера при заданном уровне значимости) [20; 21]. Результат исследований выявил 8 новых повторяющихся мутаций у *SARS-CoV-2*, расположенных в позициях 1397, 2891, 14408, 17746, 17857, 18060, 23403 и 28881. Мутации в положениях 2891, 3036, 14408, 23403 и 28881 наблюдаются преимущественно в Европе, а мутации, расположенные в позициях 17746, 17857 и 18060 обнаружены исключительно в Северной Америке. Впервые в исследовании была выявлена и предсказана молчащая мутация, связывающая фрагмент в гидрофобном расщеплении *SARS-CoV-2* в гене RdRp, которая соседствует с идентифицированной мутацией 14408 - в Англии (в штамме от 9 февраля 2020 г.). Другая мутация в RdRp, изменяющая его аминокислотный состав появилась 20 февраля 2020 г. в Ломбардии, Италия. Вирусы с мутацией RdRp имели медиану из 3

точечных мутаций с диапазоном 2–5 или медиану из 1 мутации с диапазоном 0–3 (значение $p < 0,001$). В настоящее время для лечения *SARS-CoV-2* используется несколько препаратов, нацеленных на ферменты RdRp, некоторые из них имеют предсказанный связывающий фрагмент в гидрофобной расщелине *SARS-CoV-2* RdRp, которая соседствует с идентифицированной мутацией 14408, это свидетельствует о возможной предрасположенности вирусных фенотипов к лекарственной резистентности [20; 21]. До сих пор наиболее часто используемым и надежным тестом для диагностики COVID-19 является ОТ-ПЦР, выполняемая с использованием мазков из носоглотки или других образцов из верхних дыхательных путей. Используются различные гены-мишени РНК, при этом часть тестов направлена на обнаружение RdRp и ORF1. Праймерный зонд RdRpSARSr имеет более низкую чувствительность, чем другие тесты [22].

Мутация G614 (мутация D614 в настоящее время называется G614). Мутация в геноме *SARS-CoV-2* повышает вероятность НСoV проникать в клетки организма человека от 2,5 до 8 раз. В результате точечной мутации G614 произошла замена в 614 аминокислоте, участвующей в строительстве S-белков оболочки вируса, с помощью которого он прикрепляется к рецепторам клетки, с аспарагиновой кислоты - на глицин. Эта мутация в ранний период пандемии была характерна для более, чем половины изученных штаммов вируса, а в настоящее время встречается повсеместно, и помогает вирусу проникать в организм, ускорять его распространение между самыми разными типами человеческих клеток, приводит к большей вирусной нагрузке у человека. Мутация G614 почти всегда встречается вместе с другой мутацией P314L и меняет работу участка ORF1b, который важен для копирования РНК-вируса и его размножения внутри зараженных клеток. При этом наиболее сильно могут пострадать легкие, печень и кишечник, т.е. мутации оказывают влияние на клинические проявления и вызывает полиорганные поражения с тяжелыми формами заболевания. Кроме того, мутация G614 делает вирус более устойчивым к иммунитету и вероятно может усиливать патогенность за счет увеличения степени контагиозности, что проявится в появлении новых штаммов [23; 24; 25].

Мутации в 103 геномах *SARS-CoV-2*. В ходе обработок баз данных было отобрано 103 штамма с имеющимися мутациями. У штаммов *SARS-CoV-2* (NC 045512), RaTG13 и GD Pangolin-CoV наследственное состояние определялось на основании сравнения геномных последовательностей и выравниваний. Ресурс для анализа и

сравнение геномов, созданного в University of California, Santa Cruz, основан на инструменте поиска BLAT (программа для быстрого нахождения 95% последовательностей и установления сходства длиной 25 оснований и более). В общей сложности идентифицировано мутаций в 149 участках геномных последовательностей среди 103 секвенированных штаммов. Родовые состояния были определены как 43 повторяющиеся (синомимические), 83 - не повторяющиеся (несиномимические), две стоп-мутации. Выявленные мутации были как синомимические - 65,1% (28/43), так и не синомимические (уникальные мутации) - 84,3% (70/83). Полученные результаты указывают на недавнее происхождение этих мутаций. Несиномимичные мутации, которые имели производные аллели, по крайней мере, в двух штаммах *SARS-CoV-2*, затрагивали шесть белков, как в структурных, так и неструктурных белков: ORF1ab (A117T, I1607V, L3606F, I6075T), S (H49Y, V367F), ORF3a (G251V), ORF7a (P34S), ORF8 (V62L, S84L) и N (S194L, S202N, P344S) [26], что указывает на возможности происхождения мутаций в структуре разных белков у *SARS-CoV-2*.

Мутация, вызвавшая делецию размером 382 н.п., в нуклеотидной последовательности генома вируса.

Делеция 382 нп в нуклеотиде штаммов *SARS-CoV-2* отсекает открытую рамку считывания 7b (ORF7b) и ORF8; удаляет регуляторную последовательность транскрипции ORF8 (TRS); устраняет транскрипцию ORF8. Самый ранний вариант делеции 382 н.п. был обнаружен в Сингапуре 29 января 2020 г., причем вирусы с делецией циркулировали в стране и составляли 23,6% (45/191) образцов *SARS-CoV-2*, проверенных в этом исследовании. Затем *SARS-CoV-2* с такой же мутацией была обнаружена на Тайване. Мутации одновременно с другими удалениями в белке ORF 7b / 8 различной длины, от 62 до 345 нп, были обнаружены и в других географических точках, включая Австралию, Бангладеш и Испанию [27].

Аналогичная мутация описана во время эпидемии атипичной пневмонии в 2003/2004 г. в ORF8 *SARS-CoV*, когда также наблюдалось ряд делеций, и в конечном итоге варианты их стали преобладающими, что привело к гипотезе, что ORF8 был эволюционной точкой для адаптации *SARS-CoV* к людям. Мутации в ORF8 *SARS-CoV* были связаны со снижением репликативной приспособленности и ослаблением вируса. Тем не менее, из-за успешного контроля эпидемии атипичной пневмонии, важность этих мутаций для эпидемиологической оценке *SARS-CoV* у людей, не была установлена [28; 29; 30; 31].

Делеционные вирусы *SARS-CoV-2* с мутацией 382 н.п. показали значительно более высокую репликативную приспособленность *in vitro* по сравнению с диким штаммом, тогда как в вирусной нагрузке у пациентов не наблюдалось различий, что указывает на то, что варианты мутационных вирусов сохранили свою репликативную приспособленность. При инфекции *SARS-CoV-2* наблюдался устойчивый антителый ответ на ORF8, что позволяет предположить, что появление делеций ORF8 может быть связано с иммунным отбором и во время продолжительной передачи *SARS-CoV-2* в человеческой популяции могут возникать дополнительные варианты делеции среди штаммов, выделенных от людей. Появление нескольких штаммов *SARS-CoV-2* с делециями ORF8 в сочетании с доказательством сильного иммунного ответа на ORF8 указывает на то, что отсутствие ORF8 может способствовать уклонению от иммунной системы хозяина. Полученная информация может иметь ключевой характер об эволюционном поведении *SARS-CoV-2* по мере адаптации вируса к новым человеческим хозяевам и появлении новых вариантов [28].

Мутация в RBD белка-шипа в положении 501. В настоящее время (декабрь 2020 г.) в Великобритании обнаружено несколько новых и, вероятно, более инфекционных штаммов коронавируса - это VOC202012/01 и N501Y (мутация в RBD белка-шипа в положении 501, где аминокислота аспарагин N заменена тирозином Y), а также делеции 144, N501Y, A570D, D614G, P681H, T716I, S982A, D1118H. Мутация N501Y располагается около связи с рецептором ACE2, что приводит к прочному связыванию вируса с рецептором и придает преимущество данному штамму в способности заражать клетки. Исследования показывают, что новые штаммы могут более часто вызывать патологический процесс у детей в возрасте от 11 до 17 лет. VOC202012/01 обладает большей контагиозностью, а базовое репродуктивное число R соответствует от 0,39 до 0,93 и отличается 17 мутациями: 14 несинонимичными и тремя делециями, а восемь расположены в спайк-белке [32; 33]. Эта мутация стремительно распространяется в мире и заносится в разные страны. Однако о влиянии мутации на изменения в инфекционности патологического процесса, влиянии на выработку специфического (адаптивного) иммунитета, достоверных данных в научных публикациях пока нет и вероятно, что, как и другие известные в настоящее время мутации, существенного влияния на эти процессы не оказывает.

Представленные результаты исследований по структуре генома коронавирусов и изменчи-

вости показывают, что все процессы, носящие наследственный характер связаны с мутациями и редко с рекомбинациями. Все *HCoV*, вызывающие заболевания у людей обладают этой способностью. Скорость мутации оценена как $0.80 - 2.38 \times 10^{-3}$ нуклеотидов в год, что было документально доказано для *SARS-CoV* [34]. По сравнению с *SARS-CoV* варибельность в геномах *SARS-CoV-2* и *MERS-CoV* менее выражена, она еще ниже у других видов коронавирусов. Установлено, что во время вспышки 2003/2004 гг. адаптивные мутации в S-белке *SARS-CoV* приводили к более сильному связыванию с рецептором ACE2. Кристо-ЭМ анализ предоставил структурные доказательства того, что S-белок *SARS-CoV-2* связывается с ACE2 с еще более сильной аффинностью [35, 36]. Учитывая, что рецептор-связывающий домен также содержит преобладающие нейтрализующие эпитопы, вариации в этом домене могут иметь отношение к разработке вакцины против *SARS-CoV-2* [9; 37].

Кроме того, предполагается, что вторичные структуры РНК генов *SARS-CoV-2* являются лекарственными мишенями. Существует возможность смоделировать влияние общих мутаций структуры РНК *SARS-CoV-2* и восприимчивости генома к интерференции со стороны мРНК в клетке хозяина. Влияние мутаций на вторичные структуры, мишени мРНК предполагает потенциальную основу для разработки вакцин, указывает на эволюцию коронавируса, его естественное происхождение, обеспечивает лучшее понимание тропизма и патогенеза вируса [38].

Генотипы.

Генотипов основных штаммов нового коронавируса семь: GR, G, GH, O, S, L и V. Однако штаммы географически распределены неравномерно: на каждом континенте циркулирует преимущественно не более двух основных вариаций. Данные о степени распространения геномов по миру предоставляет GISAID (материалы исследования с декабря 2019 г. по декабрь 2020 г.), где географически отображено 3469 типов вариации генотипа (рис. 3 и 4) [39]. В свою очередь Nextstrain отображает эволюционные связи вируса *SARS-CoV-2* с продолжающейся пандемией COVID-19. Показано первоначальное появление коронавируса в Ухане, Китай, в ноябре-декабре 2019 г., за которым последовала устойчивая передача инфекции от человека к человеку, приведшая к развитию пандемии [40].

Известные спонтанные мутации, которые обнаружены у *SARS-CoV-2*, выявили в геномных последовательностях среди штаммов, циркулировавших в начале пандемии как минимум две группы генотипов: L-тип и S-тип, которые отличались в зависимости от места и времени

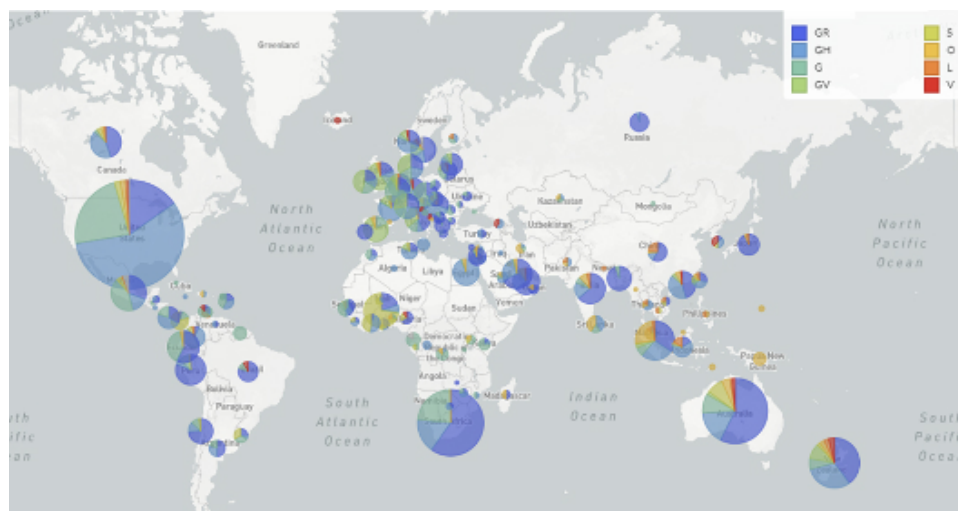


Рис. 3. Данные о степени распространения вариантов генома SARS-CoV-2 по континентам мира с декабря 2019 г. по декабрь 2020 г. отображены 3469 типов вариации генотипа [41].

Условные обозначения: Вверху справа перечислены варианты генома. Цвет соответствует изображению на карте, где преобладает тот или иной генотип.

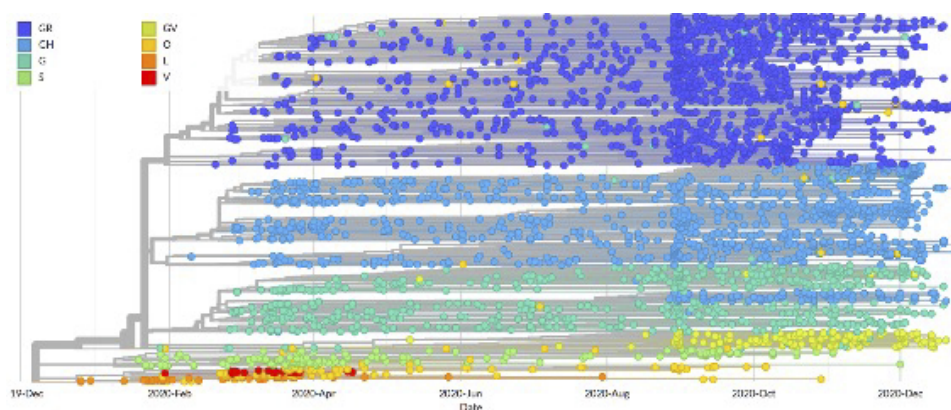


Рис. 4. Эпидемиология различных геномов SARS-CoV-2 с декабря 2019 г. по декабрь 2020 г. [41].

Условные обозначения: Слева вверху: обозначения основных типов геномов (GR, GH, G, S, GV, O, L, V). Изображено 3540 вариантов исследованных геномов за 1 год пандемии.

выявления. Отличия в геномах вирусов состоят в виде двух однонуклеотидных полиморфизма (от англ. Single nucleotide polymorphism - SNP). Группы штаммов отличались один от другого по последовательностям аминокислот в нуклеиновой кислоте, которая произошла в одном типе нуклеотида в геноме под влиянием спонтанной мутации, по сравнению с другим типом нуклеотида. Генетических рекомбинаций при этом не обнаружено. Линии S и L генотипов могут быть четко определены только двумя тесно связанными SNP в положениях 8,782 (ORF1ab: мутация T8517C) и 28,144 (ORF8: мутация C251T, S84L). Хотя мутация T8517C в ORF1ab не изменяет последовательность белка (она заменяет кодон AGT (Ser) на AGC (Ser)), что может повлиять на ORF1ab перевод, так как AGT явля-

ется предпочтительным, в то время как AGC не является таковым. ORF1ab - кодирует репликазу / транскриптазу, необходимую для репликации вирусного генома и играет роль в вирусном патогенезе. Репликаза *HCoV* обладает широким спектром ферментативной активности, несколько nsps (nonstructural proteins) охарактеризованы как многофункциональные субъединицы [41]. L-линия (~70%) была более распространена, чем S-линия (~30%) у исследованных вирусов SARS-CoV-2. S-линия эволюционно более тесно связана с коронавирусами животных [42]. Изучение различий по времени показало, что вирус S-типа, по-видимому, старше, и вызывает не такие тяжелые формы COVID-19, как второй L-тип, который появился позднее. Две разновидности нового коронавируса различались и

своим географическим распространением. В г. Ухане 96,3% заболевших заразились *SARS-CoV-2* L-типа, а за пределами этого города таких было меньше - 61,6%, однако позднее доля L-типа снизилась до 60%, что вероятно связано с низкой тяжестью заболевания и/или экологической пластичностью. У одного пациента из Австралии, обнаружили одновременно L- и S-разновидности, т.е. у некоторых штаммов выявлялись смешанные генотипы. Кроме того, анализ мутационной нагрузки показал, что в линии L накоплено значительно большее число производных мутаций, чем в линии S ($P < 0,0001$, критерий суммы рангов Уилкоксона). Эти результаты подтверждают мнение о том, что две линии вирусов *SARS-CoV-2* могли испытывать различное избирательное давление извне. Чтобы определить эволюционные изменения, связанные с линиями L и S, было исследовано геномное выравнивание *SARS-CoV-2* и других высоко родственных вирусов. Оказалось, что нуклеотиды линии S в сайтах 8,782 и 28,144 были идентичны ортологическим сайтам (гомология, возникающая вследствие непосредственной эволюции данной последовательности в процессе видообразования; гомология может также возникать при внутривидовой дубликации последовательности; в этом случае непосредственный потомок данного гена (ортолог), существовавшего у предкового вида, во вновь образовавшемся виде может образовать семейство генов, члены этого семейства называются паралогами [26]) и наиболее близкородственных вирусов. Примечательно, что оба сайта были высоко консервативны и в других вирусах. Хотя L-линия (~70%) была более распространенной, чем S-линия (~30%) у исследованных вирусов *SARS-CoV-2*, S-линия была эволюционно более связана с коронавирусами животных [26; 43].

Определена нуклеотидная последовательность уникального участка мРНК коронавируса MHV-A59. Обнаружены две открытые рамки считывания (ORF): ORF1 потенциально кодирует белок из 261 аминокислоты; его аминокислотная последовательность содержит элементы, которые указывают на свойства связывания нуклеотидов. ORF2 предсказывает белок из 413 аминокислот; в нем отсутствует кодон инициации трансляции, и, вероятно, является псевдогеном. Аминокислотная последовательность ORF2 имеет 30% гомологии с последовательностью гемагглютинаина HA1 вируса гриппа С. Короткий участок нуклеотидов ORF2 имеет 83% гомологии с нуклеотидными последовательностями МНС класса I. Предполагается, что оба сходства являются результатом рекомбинаций [44].

Позднее было изучено 160 полных геномов вируса, отобранных по всему миру из разных

стран (период с 24 декабря 2019 года по 4 марта 2020 года). Исследователи выявили уже три центральных варианта (генотипа), отличающихся аминокислотными изменениями, которые назвали А, В и С, причем А являлся наследственным типом от летучей мыши из коронавируса [45]. Типы А и С встречались чаще за пределами Восточной Азии, то есть в США и Австралии. Тип А подразделялся на два подкласса А, которые отличаются между собой мутацией T29095C. Тип А, вероятно, мутировал в тип В двумя мутациями: T8782C и C28144T, меняющий лейцин на серин. Тип В, является наиболее распространенным в Восточной Азии, и его наследственный геном, по-видимому, не распространился за пределы этого региона без предварительной мутации в В-тип, что указывает на иммунологическую или экологическую устойчивость этого типа за пределами Азии. Тип С отличается от своего родительского типа В мутацией G26144T, которая превращает глицин в валин и возник за пределами материкового Китая, встречается в основном у жителей Европы (Франции, Италии, Швеции и Англии), а также в США (Калифорнии), Бразилии, Сингапуре, Тайване и Южной Корее [46].

Несколько мутаций коронавируса *SARS-CoV-2* устойчивы к воздействию антител, что заключается в механизме его взаимодействия с белковым сегментом RBD, который *SARS-CoV-2* использует для проникновения в клетки. При этом некоторые из этих мутаций широко распространены у заболевших на территории Европы, а в Нидерландах и Дании выявлена неуязвимая для всех антител мутация [47].

Мутация в генах человека также влияет на иммунный ответ организма при инфицировании коронавирусом. Исследования показали, что пациенты с мутациями в генах TYK2, DPP9, OAS, IFNAR2 госпитализированы в тяжелом состоянии. Мутация в гене TYK2 приводит к гиперактивации процессов воспаления, повреждающая, в первую очередь, ткань легких. А мутация IFNAR2 нарушает синтез интерферона, играющего важную роль в начале заболевания [48].

В июне 2020 г. проведен анализ более 10422 геномов *SARS-CoV-2* с использованием специальных алгоритмов, который считывал всю генетическую базу данных и удалял из нее те части генома и фрагменты генов, которые полностью совпадали или были идентичны. Использовался подход, когда номер аллеля каждой нуклеотидной последовательности гена в геноме вируса, создавал тип последовательности ST, которая кодировалась как последовательность номеров аллелей для каждого из 10 генов в вирусном геноме. Такой подход позволял связывать ST

в четко определенные клональные комплексы (СС), которые согласуются с филогенией. Была построена карта генома вируса *SARS-CoV-2*, показывающая длину в парах оснований 10 ORF, количество аллелей в текущей базе данных и преобладание двух верхних аллелей каждого ORF в изолятах базы данных штаммов. Используя алгоритм для построения минимального связующего дерева (MST) и идентификации основателей, было выявлено 24 СС (клональных комплексов - генотипов), которые представляют 79% (4352/5510) всех уникальных ST. Показано, что оценка ST и СС согласуется с множественными внедрениями вируса в определенных географических точках. Кроме того, использовалась временная оценка соотношения ST / СС, чтобы выявить колебания, а также замену некоторых ST новыми линиями в определенных географических точках. Затем глобальный регион происхождения для каждой последовательности генома был сопоставлен с каждой СС, и была выявлена сильная связь некоторых СС с определенными географическими местоположениями. Геномы СС 255, 300, 301, 317, 348, 355, 369, 399, 454, 498, 985, 1063, 1148 выявлены преимущественно в Европе. Геномы СС 26, 800 и 927 обнаружены в основном в Азии. Геном СС256 циркулирует на западном побережье США и в штате Вашингтон (первые два изолята были из Китая и первый - из Вашингтона еще 19.01.2020). Геном СС258 обнаружен на восточном побережье США, но связан с другими СС, встречающимися преимущественно в Европе, где и первоначально находился, а затем, и в других местах в США. Анализ показал, что 99% изолятов происходят из СС258 и его потомков СС 768, 800, 844 и 1063, которые несут мутацию G25563T в ORF3a (88% всех изолятов, которые несут эту мутацию). Геном СС800 преобладает на Ближнем Востоке (75% в Саудовской Аравии и Турции) и связан с ST338 и ST258, который в основном встречается в США, что указывает на то, как происходила передача вируса из США на Ближний Восток [48; 49].

Исследовались химерные варианты (химера — организм, состоящий из генетически разнородных клеток) у RBD. В отличие от изменения отдельных аминокислот, химерные RBD показывают, что RBD 2 и 3 клайда (совокупность вирусов, схожие по генетической последовательности) совместимы с человеческим ACE2. Возможно, что рекомбинация с вирусом клайда 1 обеспечит совместимость с человеческим ACE2. Следует отметить, что RBD *SARS-CoV-2* содержит больше контактных участков с человеческим ACE2, которые находятся в клайде 1. Предполагается, что *SARS-CoV-2* возник

в результате рекомбинации между клайдом 1 и другими представителями [50].

Временные графики, наиболее распространенных в мире 12 СС, показывают появление новых СС с течением времени, таких как СС255, СС300 и СС258. СС4, самые первые штаммы - представляли 60% секвенированных геномов в середине января, но к середине марта снизились до 5%. Временной график в Китае показывает экспансию местных клонов (СС4 и СС256), которые, вероятно, распространились на другие страны в начале пандемии, а затем со временем уменьшились в Китае. СС258 был впервые выделен в Китае в середине марта, тогда как к концу февраля он уже представлял 14% геномов в Европе, потенциально отражая передачу новых СС обратно в Китай позднее в период пандемии. К концу января, СС4 представлял 39% секвенированных геномов в Китае, но был выделен в г. Ухани (Китай) в единственном числе. Это показывает, что циркулирующие клоны могут по-разному выявляться в один и тот же момент времени в разных частях одной и той же страны. В Европе выявлено разнообразие во времени и расширение локальных СС300 и СС255 (после середины февраля 2020 г.). В США обнаружена двойная циркуляция: на западном и восточном побережьях с доминированием СС258 (более 45%). В Вашингтоне, отмечается замена СС256 на СС258, возможно, путем проникновения с Восточного побережья или Европы. В Нью-Йорке наблюдалась другая картина, которая сопровождалась постоянным доминированием СС258. Тем не менее, более детальный взгляд на ST в Нью-Йорке, а не на СС, указывает на изменяющуюся эпидемиологическую картину со снижением ST258 и ростом тесно связанных SLV и DLV с ST258 [48; 49].

С функциональной точки зрения, установлено существование 24 клональных групп *SARS-CoV-2*, состоящие из родственных друг другу штаммов вирусов, из которых 6 генотипов (кластерных групп) основные. С помощью инструмента GNUMVID можно быстро вводить последовательности и кластеризовать последовательности всего генома в быстро меняющейся пандемии, и использовать для временного отслеживания появляющихся клонов (генотипов) для выявления вероятного географического и временного происхождения вирусов [49], что чрезвычайно важно для оценки географической циркуляции *SARS-CoV-2* [51; 52].

Исследования, в этом направлении, выполнили и российские ученые, которые получили предварительные результаты, подтверждающие эту возможность [52; 53]. Филогеографический анализ, секвенированных геномов 211 штаммов

SARS-CoV-2, выделенные в России в марте-апреле 2020 г., в сравнении с данными базы GISAID, дополненный материалами историй путешествий пациентов, от которых были изолированы геномы, показал, что получено 67 строго синхронизированных интродукций (заселение какой-либо территории новым видом вируса) в России. Все, кроме одного из этих штаммов, поступили из некитайских источников, предполагая, что закрытие границы с Китаем помогло задержать распространение *SARS-CoV-2* в России. Анализ мутаций, произошедших в геномах во временном и территориальном распространении позволил выделить, по меньшей мере, 9 различных линий штаммов вирусов (кластеров, генотипов), которые соответствовали передаче внутри страны. Отдельный кластер передачи соответствовал внутрибольничной вспышке в Российском научно-исследовательском институте травматологии и ортопедии имени Вредена Р.Р. в г. Санкт-Петербурге [52]. Анализ показал, что только первые два случая заболеваний в России в январе 2020 г. были связаны с завозом из Китая. Появление последующих случаев заболеваний со 2 марта 2020 г. считалось связанным с завозом из Италии и затем до 21 марта 2020 г. регистрировались в России только завозные случаи из Китая, Италии, Испании и Великобритании, где внутри стран проходила циркуляция вируса [52].

В другом исследовании был проведен филогенетический анализ и оценка изменений в исследуемых вирусных геномах, разделенных на четыре основных кластера. Ключевое направление эволюции генома вируса *SARS-CoV-2* сопряжено с появлением единичной мутации в гене S (D614G) [54].

Филогенетический анализ выявил родословные и показал, что множественные индивидуальные образцы филогенетически переплетаются с последовательностями геномов, обнаруженных при циркуляции внутри России. Установлено, что самый ранний пациент вернулся в Россию из Франции, этот образец содержал в кладе французские и датские последовательности, но в предковом родстве оказался французским в более ранних датах и, следовательно, является более правдоподобным источником. Кроме того, по филогенетическому положению кладов установлен импорт генотипа из Швейцарии в Республику Саха, генотипа из Саудовской Аравии в Чеченскую Республику; ряд генотипов не указывают конкретной территории куда произошел занос, но указывает откуда - из США, Дании, Франции, Чили, Англии, Швеции и др. стран Европы [53; 54].

Кроме территориальной, появилась возможность выявить и временную зависимость по филогеографическому анализу. Временная динамика распространения *SARS-CoV-2* в России показала, что после внедрения в популяцию людей вирус распространился по всей России. Москва и Санкт-Петербург являются крупными транспортными узлами, вместе обслуживая 77% международных воздушных перевозок во всей России, поэтому была сформулирована гипотеза, что вирус был ввезен через эти города и распространен по всей России через них. Однако филогенетический анализ показал, геномы, выделенные от пациентов в г. Москве или г. Санкт-Петербурге, не находятся на более коротких ветках, чем образцы из других регионов; на самом деле, ветви, ведущие к ним, имеют тенденцию быть достоверно немного длиннее (0,88 против 0,37, $p = 0,006$), что предполагает развитие эпидемии в России с вектором практически одновременно внедрением во множественные регионы [52; 53].

Самой большой вспышкой в г. Санкт-Петербурге произошла в Российском научно-исследовательском институте травматологии и ортопедии имени Вредена Р.Р., где выявлено от 2 до 4 различных интродукций и их начальное быстрое распространение, было ограничено установлением карантина. Родословная вспышки в г. Санкт-Петербурге, определила человека с историей путешествий в Испанию. Образцы образуют три отдельные группы, каждая со своим набором мутаций. Самая большая группа, группа (кластер, генотип) 1, включает в себя 41 последовательность, полученную в период с 3 по 22 апреля 2020 г. и представляет собой российскую линию передачи. Группа 2 содержит 7 из 9 последовательностей в другом кладе, которая несет английскую последовательность генома. Группа 3 включает 4 последовательности и представляет собой собственный клад, но в другой отличительной российской линии передачи. Группы 1 и 2 принадлежат к линии, определенной тремя мутациями в положениях 28881, 28882 и 28883, и дополнительно определяются мутациями в положениях 26750 и 1191 соответственно. Напротив, группа 3 принадлежит к другой линии и поддерживается мутацией в положении 20268, которая широко распространена в мире и появилась в начале филогенетической истории *SARS-CoV-2*, а также двумя дополнительными мутациями, что является убедительным доказательством того, что группа 3 происходит не из того источника, что группы 1 и 2. Байесовский анализ показал как минимум два разных попадания *SARS-CoV-2* - 1-2 группы (среднее значение - 15 марта) и 3 группы (сред-

нее значение - 17 марта), Оценка филодинами-ческих параметров была стабильная, поскольку контактный коэффициент (R_e) составлял 3,72 (95% ДИ 2,48-5,05) до 8 апреля 2020 г. и снизился до 1,38 (95% ДИ 0,48-2,41) после 8 апреля 2020 г. [52; 53].

Следует обратить внимание на то, что базовый стеблевой кластер включал 100 идентичные последовательности геномов российских штаммов, а также 4323 последовательности геномов у штаммов, циркулирующих за пределами России. Этот непосредственный предок пяти российским линиям передачи и 19 стволовым синглтонам (одиночные), указывает на то, что эти последовательности были многократно завезены в Россию и может быть положено не только в эпидемиологическую оценку происходящих процессов, но и на эффективность профилактических и противоэпидемических мероприятий, проводящихся в России.

Недавние результаты исследования показали, в геноме *SARS-CoV-2* отсутствует какая-либо потенциально рецидивирующая мутация, значительно повышающая трансмиссивность *SARS-CoV-2* на данном этапе. Подтверждено, что геномное разнообразие популяции коронавируса в настоящее время все еще очень ограничено. Следует предположить, что *SARS-CoV-2* будет расходиться в фенотипически различные линии. Однако исследователи утверждают, что нет оснований полагать, что этот процесс приведет к появлению какой-либо линии с повышенной способностью передачи в её человеческом организме [52; 55].

Таким образом, анализ результатов исследований *SARS-CoV-2* по возможному появлению мутаций показал, что их накопление происходит медленно - замена в нуклеотидных последовательностях со средней скоростью ~ 1 на 1000 нуклеотидов на сайт в год [56], т.е. геном накапливает, в среднем, одну мутацию на 2-3 передачи вируса, поэтому он не столь изменчив как вирус гриппа и ВИЧ. Секвенирование геномов возбудителя меняет понимание возникновения и передачи заболеваний, ускоряя идентификацию патогенов и способствуя обмену данными между исследователями [57 - 59]. Изучение генотипов, отображающих истинную изменчивость вируса, помогает оценить эпидемиологические закономерности распространения вируса в мире и дает надежду на получение вакцинного препарата, обладающего стабильными свойствами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Коронавирусы в процессе репликации и своей жизнедеятельности обладают способностью к наследственной изменчивости генома посред-

ством, в первую очередь, спонтанных мутаций, но частота их относительно невысока по сравнению с другими РНК вирусами, такими как вирус гриппа А и ВИЧ. Представленные результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что мутации оказывают влияние на вирус, который эволюционирует и может формировать географические варианты штаммов (европейские, североамериканские и азиатские), которые могут сосуществовать, причем каждый из них характеризуется разными паттернами мутаций.

Генетические варианты со временем будут продолжать возникать в результате спонтанных мутации и естественного отбора, и вероятно, могут появиться другие варианты мутаций типа делеций с устойчивой передачей *SARS-CoV-2* у людей. Хотя метагеномика может предоставить в настоящее время передовые инструменты для отслеживания меняющейся динамики *SARS-CoV-2*, в первую очередь необходимо изучать сложные механизмы наследственной изменчивости, лежащие в основе патогенности, эпидемиологического процесса, моделей передачи и иммунитета хозяина, чтобы обеспечить более полное понимание происходящей пандемии заболевания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хайтович А. Б. Коронавирусы (таксономия, структура вируса). Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2020;10(3):69–75. doi:10.37279/2224-6444-2020-10-3-69-81.
2. Хайтович А. Б. Коронавирусы (структура генома, репликация). Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. 2020;10(4):82–93.
3. Wu A., Peng Y., Huang B., Ding X., Wang X., Niu P., et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. Cell Host Microbe. 2020;27(3):325–328. doi:10.1016/j.chom.2020.02.001.
4. Fung T. S., Liu D. X. Human Coronavirus: Host-Pathogen Infection. Annual Review of Microbiology. 2019;73:529-557. doi:10.1146/annurev-micro-020518-115759.
5. Kim D., Lee J.-Y., Yang J.-S., Kim J. W., Kim V. N., Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. Cell. 2020;181(4):914-921.e10. doi:10.1016/j.cell.2020.04.011.
6. Lan J., Ge J., Yu J., Shan S., Zhou H., Fan S., Zhang Q., Shi X., Wang Q., Zhang L., Wang X. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor binding domain bound

- to the ACE2 receptor. *Nature*. 2020;581(7807):215-220. doi:10.1038/s41586-020-2180-5.
7. Almazan F., DeDiego M.L., Galan C., Escors D., Alvarez E., Ortego J., Sola I., Zuñiga S., Alonso S., Moreno J.L., Nogales A., Capiscol C., Enjuanes L. Construction of a severe acute respiratory syndrome coronavirus infectious cDNA clone and a replicon to study coronavirus RNA synthesis. *J Virol*. 2006;80(21):10900-10906. doi:10.1128/JVI.00385-06.
8. de Haan, C. A., Te Lintelo E., Li Z., Raaben M., Wurdinger T., Bosch B. J., and Rottier P. J. Cooperative involvement of the S1 and S2 subunits of the murine coronavirus spike protein in receptor binding and extended host range. *J. Virol*. 2006;80:10909–10918. doi:10.1128/JVI.00950-06.
9. Fung S. Y., Yuen K. S., Ye Z. W., Chan C. P., D. Y. A tug-of-war between severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 and host antiviral defense: lessons from other pathogenic viruses, *Emerging Microbes & Infections*. 2020;9(1):558-570. doi:10.1080/22221751.2020.1736644.
10. Glowacka I., Bertram S., Muller M.A., Allen P., Soilleux E., Pfefferle S., Steffen I., Tsegaye T.S., He Y., Gnirss K., Neimeyer D., Schneider H., Drosten C. Evidence that TMPRSS2 activates the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein for membrane fusion and reduces viral control by the humoral immune response. *J. Virol*. 2011;85(9):4122-4134. doi: 10.1128/JVI.02232-10.
11. Li F., Berardi M., Li W., Farzan M., Dormitzer P. R., Harrison S. C. Conformational states of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein ectodomain. *J. Virol*. 2006; 80(14):6794–6800. doi: 10.1128/JVI.02744-05.
12. Narayanan K., Huang C., Makino S. SARS coronavirus accessory proteins. *Virus Res*. 2008;133(1):113-121. doi:10.1016/j.virusres.2007.10.009.
13. Zhu X., Liu O., Du L., Lu L., Jiang S. Receptor-binding domain as a target for developing SARS vaccines. *J. Thorac. Dis*. 2013;5(2):142–148. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2013.06.06.
14. Wan Y., Shang J., Graham, R., Baric R.S., Li F. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: An Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *J. Virol*. 2020;94(7):120-127. doi: 10.1128/JVI.00127-20.
15. Tay M. Z., Poh C. M., Rénia L., MacAry P. A., Ng L.F.P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(6):363-374. doi:10.1038/s41577-020-0311-8.
16. Alenina N., Bader M. ACE2 in Brain Physiology and Pathophysiology: Evidence from Transgenic Animal Models. *Neurochem Res*. 2019;44(6):1323-1329. doi:10.1007/s11064-018-2679-4.
17. Bunim J. J., Black R. L., Lutwak L., Peterson R. E., Whedon G. D. Studies on dexamethasone, a new synthetic steroid, in rheumatoid arthritis: a preliminary report; adrenal cortical, metabolic and early clinical effects. *Arthritis Rheum*. 1958;1(4):313-331. doi:10.1002/art.1780010404.
18. Jones G., Sebba A., Gu J., Lowenstein M. B., Calvo A., Gomez-Reino J. J., Siri D. A., Tomsic M., Alecock E., Woodworth T., Genovese M. C. Comparison of tocilizumab monotherapy versus methotrexate monotherapy in patients with moderate to severe rheumatoid arthritis: the AMBITION study. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(1):88-96. doi:10.1136/ard.2008.105197.
19. Graham R. L., Sparks J. S., Eckerle L. D., Sims A. C., Denison M. R. SARS coronavirus replicase proteins in pathogenesis. *Virus Res*. 2008;133(1):88-100. doi:10.1016/j.virusres.2007.02.017.
20. Pachetti M., Marini B., Benedetti F., Giudici F., Mauro E., Storici P., Masciovecchio C., Angeletti S., Ciccozzi M., Gallo R.C., Zella D., Ippodrino R. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J Transl Med*. 2020;18(1):179. doi:10.1186/s12967-020-02344-6.
21. Sola I., Almazán F., Zúñiga S., Enjuanes L. Continuous and Discontinuous RNA Synthesis in Coronaviruses. *Annu. Rev. Virol*. 2015;2(1):265-288. doi: 10.1146/annurev-virology-100114-055218.
22. Sethuraman N., Jeremiah S. S., Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020;323(22):2249-2251. doi:10.1001/jama.2020.8259.
23. Korber B., Fischer W. M., Gnanakaran S. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*. 2020;182(4):812-827. doi:10.1016/j.cell.2020.06.043.
24. Zhang L., Jackson C. B., Mou H. SARS-CoV-2 spike-protein D614G mutation increases virion spike density and infectivity. *Nat Commun*. 2020;11(1):6013. doi:10.1038/s41467-020-19808-4.
25. Plante J.A., Liu Y., Liu J., Xia H., Johnson B.A., Lokugamage K.G., Zhang X., et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature*. 2020. doi:10.1038/s41586-020-2895-3.
26. Tang X., Wu C., Li X., Song Y., Yao X., Wu X., Duan Y., Zhang H., Wang Y., Qian Z. Cui J., Lu J. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review*. 2020;7(6):1012–1023. doi: 10.1093/nsr/nwaa036.
27. Su Y.C.F., Anderson D.E., Young B.E., et al. Discovery and Genomic Characterization of a 382-Nucleotide Deletion in ORF7b and ORF8 during the Early Evolution of SARS-CoV-2. *mBio*. 2020;11(4):1610-1620. doi:10.1128/mBio.01610-20.
28. Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q., Liu X.L., Zhuang Z.X., Cheung C.L., Luo S.W., Li P.H., Zhang L.J., Guan Y.J., Butt K.M., Wong K.L., Chan K.W., Lim W., Shortridge K.F., Yuen K.Y., Peiris J.S.M., Poon L.L.M. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science*. 2003;302:276–278. doi:10.1126/science.1087139.
29. He J-F., Peng G-W., Min J., Yu D.W., Liang W.J., Zhang S.Y., Xu R.H. Chinese SARS Molecular

- Epidemiology Consortium. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China. *Science*. 2004;303:1666–1669. doi:10.1126/science.1092002.
30. Chiu R. W. K., Chim S. S. C., Tong Y-K., Fung K.S.C., Chan P. K. S., Zhao G-P., Lo Y.M.D. Tracing SARS-coronavirus variant with large genomic deletion. *Emerg. Infect. Dis.* 2005;11:168–170. doi:10.3201/eid1101.040544.
31. Lau S. K. P., Feng Y., Chen H., Luk H. K. H., Yang W-H. Severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus ORF8 protein is acquired from SARS-related coronavirus from greater horseshoe bats through recombination. *J. Virol.* 2015;89:10532–10547. doi:10.1128/JVI.01048-15.
32. Zhu N., Zhang D., Wang W. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-733. doi:10.1056/NEJMoa2001017.
33. Zhou P., Yang X. L., Wang X. G. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-273. doi:10.1038/s41586-020-2012-7.
34. Zhao Z., Li H., Wu X, Zhong Y., Zhang K., Zhang Y-P., Boerwinkle E., Fu Y-X. Moderate mutation rate in the SARS coronavirus genome and its implications. *BMC Evol Biol.* 2004;4:21. doi: 10.1186/1471-2148-4-21.
35. Neuman B.W., Kiss G., Kunding A.H., Bhella D., Baksh M. F., Connelly S., Droese B., Klaus J. P. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology *J. struct. Biol.* 2011;174(1):11–22. doi:10.1016/j.jsb.2010.11.021.
36. Wrapp D., Wang N., Corbett K. S., Goldsmith J. A., Se C.-L., Abion O., Graham B.S., McLellan J.S. Cryo-EM structure of 2019 nCoV peak in prefusion conformation. *Science*. 2020;367(6483):1260-1263. doi:10.1126 / science. abb2507.
37. Jiang S., Du L., Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerg. Microbes. Infect.* 2020;9:275–277. doi:10.1080/22221751.2020.1723441.
38. Rad S. A., McLellan A. D. Implications of SARS-CoV-2 Mutations for Genomic RNA Structure and Host microRNA Targeting. *Int J Mol Sci.* 2020;21(13):4807. doi:10.3390/ijms21134807.
39. GISAID – Genomic epidemiology of hCoV-19. 2020. Available at: <https://www.gisaid.org/epiflu-applications/phylogenomics/>. Accessed January 3, 2021.
40. Nextstrain – Genomic epidemiology of novel coronavirus - Global subsampling. 2020. Available at: <https://nextstrain.org/ncov/global/>. Accessed January 3, 2021.
41. Subissi L., Posthuma C. C., Collet A. One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2014;111(37):E3900-E3909. doi:10.1073/pnas.1323705111.
42. Lu R., Zhao X., Li J., et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet.* 2020;395(10224):565-574. doi:10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
43. Yu W.B., Tang G. D., Zhang L., Corlett R. T. Decoding the evolution and transmissions of the novel pneumonia coronavirus (SARS-CoV-2 / HCoV-19) using whole genomic data. *Zool Res.* 2020;41(3):247-257. doi:10.24272/j.issn.2095-8137.2020.022.
44. Luytjes W., Bredenbeek P. J., Noten A. F., Horzinek M. C., Spaan W. J. Sequence of mouse hepatitis virus A59 mRNA 2: indications for RNA recombination between coronaviruses and influenza C virus. *Virology.* 1988;166(2):415-422. doi:10.1016/0042-6822(88)90512-0.
45. Ren W., Li W., Yu M., Wendong L. Full-length genome sequences of two SARS-like coronaviruses in horseshoe bats and genetic variation analysis. *J Gen Virol.* 2006;87(11):3355-3359. doi:10.1099/vir.0.82220-0.
46. Forster P., Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2020;117(17):9241-9243. doi:10.1073/pnas.2004999117.
47. Greaney A.J., Starr T.N., Gilchuk P., Zost S.J., Binshtein E., Loes A.N., Hilton S.K., Huddleston J., Eguia R., Crawford K.H.D., Dingens A.S., Nargi R.S., Sutton R.E., Suryadevara N., Rothlauf P.W., Liu Z., Whelan S.P.J., Carnahan R.H., Crowe Jr. J.E., Bloom J.D. Complete Mapping of Mutations to the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain that Escape Antibody Recognition. *Cell Host Microbe.* 2020;1931-3128. doi:10.1016/j.chom.2020.11.007.
48. Moustafa A. M., Planet P. J. Rapid whole genome sequence typing reveals multiple waves of SARS-CoV-2 spread. *BioRxiv.* 2020;1-7. doi:10.1101/2020.06.08.139055.
49. Letko M., Marzi A., Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol.* 2020;5(4):562-569. doi:10.1038/s41564-020-0688-y.
50. Menachery V. D., Yount B. L. Jr, Debbink K., Agnihothram S., Eralinski L., Plante J. A., Graham R.L., Scobey T., Ge X-Y., Donaldson E.F., Randell S. H., Lanzavecchia A., Marasco W. A., Shi Z-L., Baric R. S. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat Med.* 2015;21(12):1508-1513. doi:10.1038/nm.3985.
51. Andersen K. G., Rambaut A., Lipkin W. I., Holmes E. C., Garry R. F. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med.* 2020;26(4):450-452. doi:10.1038/s41591-020-0820-9.
52. Комиссаров А. Б., Сафина К. Р., Гарушанц С. К., Фадеев А. В., Сергеева М. В., Иванова А. А., Даниленко Д. М., Лиознов Д., Шнейдер О. В., Швырев Н., Спиринов В., Глызин Д., Щур В., Базыкин Г. А. Геномная

эпидемиология ранних стадий вспышки атипичной пневмонии в России. medRxiv. 2020;1-43. doi:10.1101/2020.07.14.20150979.

53. Краснов Я. М., Попова А. Ю., Сафронов В. А., Федоров А. В., Баданин Д. В., Щербакова С. А., Кутырев В. В. Анализ геномного разнообразия SARS-CoV-2 и эпидемиологических признаков адаптации возбудителя COVID-19 к человеческой популяции. Проблемы особо опасных инфекций. 2020;(3):70-82. doi:10.21055/0370-1069-2020-3-70-82.

54. van Dorp L., Richard D., Tan C. C. S., Shaw L. P., Acman M., Balloux F. No evidence for increased transmissibility from recurrent mutations in SARS-CoV-2. Nat Commun. 2020;11(1):5986. doi:10.1038/s41467-020-19818-2.

55. Rambaut A. Phylogenetic analysis of nCoV-2019 genomes. 176 genomes. Virological. January 2020. Available at: <https://virological.org/t/phylogenetic-analysis-176-genomes-6-mar-2020/356>. Accessed January 3, 2021.

56. Sawicki S. G., Sawicki D. L., Siddell S. G. A contemporary view of coronavirus transcription. J Virol. 2007;81(1):20-29. doi:10.1128/JVI.01358-06.

57. Pairo-Castineira E., Clohisey S., Klaric L., Bretherick, A. D., Rawlik, K., Pasko, D., Baillie, J. K. Genetic mechanisms of critical illness in Covid-19. Nature. 2020; doi:10.1038/s41586-020-03065-y.

58. Wise J. Covid-19: New coronavirus variant is identified in UK. BMJ. 2020;16(371):4857. doi: 10.1136/bmj.m4857.

59. Rambaut A, Loman N., Pybus O. Preliminary genomic characterization of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations. ARTIC Network. Dec 2020. Available at: <https://virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563>. Accessed January 3, 2021.

REFERENCES

1. Khaitovich A.B. Coronavirus (taxonomy, virus structure). Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine. 2020;10(3):69–75. doi: 10.37279/2224-6444-2020-10- 3-69-81. (In Russ).

2. Khaitovich A.B. Coronavirus (genome structure, replication). Crimean Journal of Experimental and Clinical Medicine. 2020;10(4):82–93. (In Russ).

3. Wu A., Peng Y., Huang B., Ding X., Wang X., Niu P., et al. Genome Composition and Divergence of the Novel Coronavirus (2019-nCoV) Originating in China. Cell Host Microbe. 2020;27(3):325–328. doi:10.1016/j.chom.2020.02.001.

4. Fung T. S., Liu D. X. Human Coronavirus: Host-Pathogen Infection. Annual Review of Microbiology. 2019;73:529-557. doi:10.1146/annurev-micro-020518-115759.

5. Kim D., Lee J-Y., Yang J-S., Kim J. W, Kim V. N., Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. Cell. 2020;181(4).14:914-921.e10. doi:10.1016/j.cell.2020.04.011.

6. Lan J., Ge J., Yu J., Shan S., Zhou H., Fan S., Zhang Q., Shi X., Wang Q., Zhang L., Wang X. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor binding domain bound to the ACE2 receptor. Nature. 2020;581(7807):215-220. doi:10.1038/s41586-020-2180-5.

7. Almazan F., DeDiego M.L., Galan C., Escors D., Alvarez E., Ortego J., Sola I., Zuñiga S., Alonso S., Moreno J.L., Nogales A., Capiscol C., Enjuanes L. Construction of a severe acute respiratory syndrome coronavirus infectious cDNA clone and a replicon to study coronavirus RNA synthesis. J Virol. 2006;80(21):10900-10906. doi:10.1128/JVI.00385-06.

8. de Haan, C. A., Te Lintelo E., Li Z., Raaben M., Wurdinger T., Bosch B. J., and Rottier P. J. Cooperative involvement of the S1 and S2 subunits of the murine coronavirus spike protein in receptor binding and extended host range. J. Virol. 2006;80:10909–10918. doi:10.1128/JVI.00950-06.

9. Fung S. Y., Yuen K. S., Ye Z. W., Chan C. P., D. Y. A tug-of-war between severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 and host antiviral defense: lessons from other pathogenic viruses, Emerging Microbes & Infections. 2020;9(1):558-570. doi:10.1080/22221751.2020.1736644.

10. Glowacka I., Bertram S., Muller M.A., Allen P., Soilleux E., Pfefferle S., Steffen I., Tsegaye T.S., He Y., Gnirss K., Neimeyer D., Schneider H., Drosten C. Evidence that TMPRSS2 activates the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein for membrane fusion and reduces viral control by the humoral immune response. J. Virol. 2011;85(9):4122-4134. doi: 10.1128/JVI.02232-10.

11. Li F., Berardi M., Li W., Farzan M., Dormitzer P. R., Harrison S. C. Conformational states of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein ectodomain. J. Virol. 2006; 80(14):6794–6800. doi: 10.1128/JVI.02744-05.

12. Narayanan K., Huang C., Makino S. SARS coronavirus accessory proteins. Virus Res. 2008;133(1):113-121. doi:10.1016/j.virusres.2007.10.009.

13. Zhu X., Liu O., Du L., Lu L., Jiang S. Receptor-binding domain as a target for developing SARS vaccines. J. Thorac. Dis. 2013;5(2):142–148. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2013.06.06.

14. Wan Y., Shang J., Graham, R., Baric R.S., Li F. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: An Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. J. Virol. 2020;94(7):120-127. doi: 10.1128/JVI.00127-20.

15. Tay M. Z., Poh C. M., Rénia L., MacAry P. A., Ng L.F.P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. Nat Rev Immunol. 2020;20(6):363-374. doi:10.1038/s41577-020-0311-8.

16. Alenina N., Bader M. ACE2 in Brain Physiology and Pathophysiology: Evidence from Transgenic Animal

- Models. *Neurochem Res.* 2019;44(6):1323-1329. doi:10.1007/s11064-018-2679-4.
17. Bunim J. J., Black R. L., Lutwak L., Peterson R. E., Whedon G. D. Studies on dexamethasone, a new synthetic steroid, in rheumatoid arthritis: a preliminary report; adrenal cortical, metabolic and early clinical effects. *Arthritis Rheum.* 1958;1(4):313-331. doi:10.1002/art.1780010404.
18. Jones G., Sebba A., Gu J., Lowenstein M. B., Calvo A., Gomez-Reino J. J., Siri D. A., Tomsic M., Alecock E., Woodworth T., Genovese M. C. Comparison of tocilizumab monotherapy versus methotrexate monotherapy in patients with moderate to severe rheumatoid arthritis: the AMBITION study. *Ann Rheum Dis.* 2010;69(1):88-96. doi:10.1136/ard.2008.105197.
19. Graham R. L., Sparks J. S., Eckerle L. D., Sims A. C., Denison M. R. SARS coronavirus replicase proteins in pathogenesis. *Virus Res.* 2008;133(1):88-100. doi:10.1016/j.virusres.2007.02.017.
20. Pachetti M., Marini B., Benedetti F., Giudici F., Mauro E., Storici P., Masciovecchio C., Angeletti S., Ciccozzi M., Gallo R.C., Zella D., Ippodrino R. Emerging SARS-CoV-2 mutation hot spots include a novel RNA-dependent-RNA polymerase variant. *J Transl Med.* 2020;18(1):179. doi:10.1186/s12967-020-02344-6.
21. Sola I., Almazán F., Zúñiga S., Enjuanes L. Continuous and Discontinuous RNA Synthesis in Coronaviruses. *Annu. Rev. Virol.* 2015;2(1):265-288. doi:10.1146/annurev-virology-100114-055218.
22. Sethuraman N., Jeremiah S. S., Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* 2020;323(22):2249-2251. doi:10.1001/jama.2020.8259.
23. Korber B., Fischer W. M., Gnanakaran S. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell.* 2020;182(4):812-827. doi:10.1016/j.cell.2020.06.043.
24. Zhang L., Jackson C. B., Mou H. SARS-CoV-2 spike-protein D614G mutation increases virion spike density and infectivity. *Nat Commun.* 2020;11(1):6013. doi:10.1038/s41467-020-19808-4.
25. Plante J.A., Liu Y., Liu J., Xia H., Johnson B.A., Lokugamage K.G., Zhang X., et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. *Nature.* 2020. doi:10.1038/s41586-020-2895-3.
26. Tang X., Wu C., Li X., Song Y., Yao X., Wu X., Duan Y., Zhang H., Wang Y., Qian Z., Cui J., Lu J. On the origin and continuing evolution of SARS-CoV-2. *National Science Review.* 2020;7(6):1012-1023. doi:10.1093/nsr/nwaa036.
27. Su Y.C.F., Anderson D.E., Young B.E., et al. Discovery and Genomic Characterization of a 382-Nucleotide Deletion in ORF7b and ORF8 during the Early Evolution of SARS-CoV-2. *mBio.* 2020;11(4):1610-1620. doi:10.1128/mBio.01610-20.
28. Guan Y., Zheng B.J., He Y.Q., Liu X.L., Zhuang Z.X., Cheung C.L., Luo S.W., Li P.H., Zhang L.J., Guan Y.J., Butt K.M., Wong K.L., Chan K.W., Lim W., Shortridge K.F., Yuen K.Y., Peiris J.S.M., Poon L.L.M. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science.* 2003;302:276-278. doi:10.1126/science.1087139.
29. He J-F., Peng G-W., Min J., Yu D.W., Liang W.J., Zhang S.Y., Xu R.H. Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China. *Science.* 2004;303:1666-1669. doi:10.1126/science.1092002.
30. Chiu R. W. K., Chim S. S. C., Tong Y-K., Fung K.S.C., Chan P. K. S., Zhao G-P., Lo Y.M.D. Tracing SARS-coronavirus variant with large genomic deletion. *Emerg. Infect. Dis.* 2005;11:168-170. doi:10.3201/eid1101.040544.
31. Lau S. K. P., Feng Y., Chen H., Luk H. K. H., Yang W-H. Severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus ORF8 protein is acquired from SARS-related coronavirus from greater horseshoe bats through recombination. *J. Virol.* 2015;89:10532-10547. doi:10.1128/JVI.01048-15.
32. Zhu N., Zhang D., Wang W. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020;382(8):727-733. doi:10.1056/NEJMoa2001017.
33. Zhou P., Yang X. L., Wang X. G. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature.* 2020;579(7798):270-273. doi:10.1038/s41586-020-2012-7.
34. Zhao Z., Li H., Wu X, Zhong Y., Zhang K., Zhang Y-P., Boerwinkle E., Fu Y-X. Moderate mutation rate in the SARS coronavirus genome and its implications. *BMC Evol Biol.* 2004;4:21. doi:10.1186/1471-2148-4-21.
35. Neuman B.W., Kiss G., Kunding A.H., Bhella D., Baksh M. F., Connelly S., Droese B., Klaus J. P. A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. *J. struct. Biol.* 2011;174(1):11-22. doi:10.1016/j.jsb.2010.11.021.
36. Wrapp D., Wang N., Corbett K. S., Goldsmith J. A., Se C.-L., Abion O., Graham B.S., McLellan J.S. Cryo-EM structure of 2019 nCoV peak in prefusion conformation. *Science.* 2020;367(6483):1260-1263. doi:10.1126 / science. abb2507.
37. Jiang S., Du L., Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. *Emerg. Microbes. Infect.* 2020;9:275-277. doi:10.1080/22221751.2020.1723441.
38. Rad S. A., McLellan A. D. Implications of SARS-CoV-2 Mutations for Genomic RNA Structure and Host microRNA Targeting. *Int J Mol Sci.* 2020;21(13):4807. doi:10.3390/ijms21134807.
39. GISAID – Genomic epidemiology of hCoV-19. 2020. Available at: <https://www.gisaid.org/epiflu-applications/phylogenomics/>. Accessed January 3, 2021.
40. Nextstrain – Genomic epidemiology of novel coronavirus - Global subsampling. 2020. Available at:

<https://nextstrain.org/ncov/global/>. Accessed January 3, 2021.

41. Subissi L., Posthuma C. C., Collet A. One severe acute respiratory syndrome coronavirus protein complex integrates processive RNA polymerase and exonuclease activities. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(37):E3900-E3909. doi:10.1073/pnas.1323705111.

42. Lu R., Zhao X., Li J., et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395(10224):565-574. doi:10.1016/S0140-6736(20)30251-8.

43. Yu W.B., Tang G. D., Zhang L., Corlett R. T. Decoding the evolution and transmissions of the novel pneumonia coronavirus (SARS-CoV-2 / HCoV-19) using whole genomic data. *Zool Res*. 2020;41(3):247-257. doi:10.24272/j.issn.2095-8137.2020.022.

44. Luytjes W., Bredenbeek P. J., Noten A. F., Horzinek M. C., Spaan W. J. Sequence of mouse hepatitis virus A59 mRNA 2: indications for RNA recombination between coronaviruses and influenza C virus. *Virology*. 1988;166(2):415-422. doi:10.1016/0042-6822(88)90512-0.

45. Ren W., Li W., Yu M., Wendong L. Full-length genome sequences of two SARS-like coronaviruses in horseshoe bats and genetic variation analysis. *J Gen Virol*. 2006;87(11):3355-3359. doi:10.1099/vir.0.82220-0.

46. Forster P., Forster L., Renfrew C., Forster M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117(17):9241-9243. doi:10.1073/pnas.2004999117.

47. Greaney A.J., Starr T.N., Gilchuk P., Zost S.J., Binshtein E., Loes A.N., Hilton S.K., Huddleston J., Eguia R., Crawford K.H.D., Dingens A.S., Nargi R.S., Sutton R.E., Suryadevara N., Rothlauf P.W., Liu Z., Whelan S.P.J., Carnahan R.H., Crowe Jr. J.E., Bloom J.D. Complete Mapping of Mutations to the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain that Escape Antibody Recognition. *Cell Host Microbe*. 2020;1931-3128. doi:10.1016/j.chom.2020.11.007.

48. Moustafa A. M., Planet P. J. Rapid whole genome sequence typing reveals multiple waves of SARS-CoV-2 spread. *BioRxiv*. 2020;1-7. doi:10.1101/2020.06.08.139055.

49. Letko M., Marzi A., Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol*. 2020;5(4):562-569. doi:10.1038/s41564-020-0688-y.

50. Menachery V. D., Yount B. L. Jr, Debbink K., Agnihothram S., Eralinski L., Plante J. A., Graham R.L.,

Scobey T., Ge X-Y., Donaldson E.F., Randell S. H., Lanzavecchia A., Marasco W. A., Shi Z-L., Baric R. S. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat Med*. 2015;21(12):1508-1513. doi:10.1038/nm.3985.

51. Andersen K. G., Rambaut A., Lipkin W. I., Holmes E. C., Garry R. F. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med*. 2020;26(4):450-452. doi:10.1038/s41591-020-0820-9.

52. Комиссаров А. Б., Сафина К. Р., Гарушанц С. К., Фадеев А. В., Сергеева М. В., Иванова А. А., Даниленко Д. М., Лиознов Д., Шнейдер О. В., Швырев Н., Спиринов В., Глызин Д., Щур В., Базыкин Г. А. Геномная эпидемиология ранних стадий вспышки атипичной пневмонии в России. *medRxiv*. 2020;1-43. doi:10.1101/2020.07.14.20150979.

53. Краснов Я. М., Попова А. Ю., Сафронов В. А., Федоров А. В., Баданин Д. В., Щербакowa С. А., Кутырев В. В. Анализ геномного разнообразия SARS-CoV-2 и эпидемиологических признаков адаптации возбудителя COVID-19 к человеческой популяции. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020;(3):70-82. doi:10.21055/0370-1069-2020-3-70-82.

54. van Dorp L., Richard D., Tan C. C. S., Shaw L. P., Acman M., Balloux F. No evidence for increased transmissibility from recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Nat Commun*. 2020;11(1):5986. doi:10.1038/s41467-020-19818-2.

55. Rambaut A. Phylogenetic analysis of nCoV-2019 genomes. 176 genomes. *Virological*. January 2020. Available at: <https://virological.org/t/phylogenetic-analysis-176-genomes-6-mar-2020/356>. Accessed January 3, 2021.

56. Sawicki S. G., Sawicki D. L., Siddell S. G. A contemporary view of coronavirus transcription. *J Virol*. 2007;81(1):20-29. doi:10.1128/JVI.01358-06.

57. Paairo-Castineira E., Clohisey S., Klaric L., Bretherick, A. D., Rawlik, K., Pasko, D., Baillie, J. K. Genetic mechanisms of critical illness in Covid-19. *Nature*. 2020; doi:10.1038/s41586-020-03065-y.

58. Wise J. Covid-19: New coronavirus variant is identified in UK. *BMJ*. 2020;16(371):4857. doi:10.1136/bmj.m4857.

59. Rambaut A, Loman N., Pybus O. Preliminary genomic characterization of an emergent SARS-CoV-2 lineage in the UK defined by a novel set of spike mutations. *ARTIC Network*. Dec 2020. Available at: <https://virological.org/t/preliminary-genomic-characterisation-of-an-emergent-sars-cov-2-lineage-in-the-uk-defined-by-a-novel-set-of-spike-mutations/563>. Accessed January 3, 2021.